



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	細胞移入によるツベルクリン・アレルギーの研究
Author(s)	山本, 健一; YAMAMOTO, Ken-ichi; 有馬, 純 他
Citation	結核の研究, 23-24, 15-21
Issue Date	1966-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/26762">https://hdl.handle.net/2115/26762</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	23_24_P15-21.pdf



## 細胞移入によるツベルクリン・アレルギーの研究

山本 健一・有馬 純・高橋 義夫

(北海道大学結核研究所予防部)

(昭和41年1月10日受付)

### 緒 言

われわれは従来、ツベルクリン・アレルギー発来の際について種々の検討を行なってきた<sup>1)</sup>。その結果、われわれはツ・アレルギー発来は Freerksen<sup>2)</sup> のように抗原抗体反応の立場をとらない人もあるが、抗原抗体反応が基調になるものであり、いわゆる感作状態は結核蛋白によって惹起され、従って反応抗原としてはこれ又結核蛋白が主役を演ずるものと考えている。一方、ツ反応に関与する抗体に関しては、近年、進藤<sup>3)</sup> は血流中の不完全抗体がツ・アレルギーに深い関係をもつと提唱しているが、既に、われわれは蛋白静注による結核感動物の一過性脱感作発現の際に血中抗体はなんら影響をこうむらないこと、その他血中抗体とツ反応の消長を見た各種の実験結果から、少くとも血流中にはツ・アレルギーに直接関係するなんらかの抗体が存在するという結論には到達出来なかった<sup>4)</sup>。従って、われわれは現在、従来一般に考えられているように、ツ・アレルギーに関与する抗体は組織乃至細胞鉤着性のものであろうと考えざるを得ない立場に立っている。

ところで、Chase<sup>5)</sup> 以来結核感動物の細胞移入によるツ・アレルギーの伝達実験が数多くなされて来た<sup>6)~10)</sup>。これらの実験結果はひとしく感作細胞がツ・アレルギーに関与する抗体を担うものであることを示したものであるが、なお、この伝達に関与する諸因子については種々論議のあるところである。即ち、移入細胞が生きていることを必須条件とする人々に対し、Lawrence<sup>11)</sup> の“Transfer factor”説をはじめとし、必ずしも生きた細胞を必要としないとする一派<sup>12)13)</sup>がある。また、移入細胞がツ反応の場で抗原と直接反応すると考える Metaxas<sup>14)</sup>、これを後に実験的に明らかにした Feldman<sup>14)</sup> の報告に対し、Sabesin<sup>15)</sup> はツ型皮膚反応の起っている場所で抗原と抗体が直接交渉する頻度が少ないと考えられる実験結果から、これに反論している。さらに、感作細胞移入で発来するツ反応の持続についても見解の一致

が見られていない<sup>17)</sup>のが現況である。

そこで、今回は、このようなツ・アレルギーにおける不明確な抗体側の諸因子を追求するため、手はじめに細胞移入により伝達ないし賦与されるツ・アレルギーと血中抗体との関係、移入前 donor に対する脱感作処置、移入細胞の物理的処置のツ・アレルギー伝達への影響などをしらべ、ツ・アレルギーの本質ならびに様式について興味ある知見を得たので報告する。

### 実験材料と方法

**細胞：**移入に使用した結核感動物細胞は Hartley 系モルモットにヒト型結核菌仲野株の 100℃ 30分間加熱死菌の Adjuvant (Arlacel : Drackeol=1.5 : 8.5 混合) 浮遊液を菌量にして 10 mg 皮下接種し、その後約 6 週目に脾を取り出して細切、型の如く<sup>18)</sup> Tyrode 液を用いて細胞浮遊液を作製した。また、実験の目的によっては、同様にして調製した正常モルモットの脾細胞浮遊液をも使用した。

**細胞移入方法：**細胞浮遊液は全実験を通じて、正常モルモットの左右腋窩皮下にそれぞれ 0.5ml、腹腔と静脈内にそれぞれ 1ml 宛、合計 3ml 注射した。しかし、実験目的によっては単独に皮下または静脈内にも移入した。

**細胞移入数：**移入した細胞数は 1 匹について、凡そ  $10^7 \sim 10^8$  個であった。なお、細胞数の算定にはクリスタル紫による核染色法と血球計算盤を用いた。

**脱感作処置：**細胞 donor である結核死菌感動物モルモットに PPD-S (予研より分与されたもの) を 1 mg 静注した。これと同時にツ反応を行ない、24 時間後ツ反応が陰性化したことを確めて、脱感作動物として実験に供した。なお、対照として生食水を PPD-S の代りに静注した。

**細胞の物理的破壊処置：**細胞浮遊液を移入直前に音波振盪機 (佐久間製作所製 50-5 型) 10 KC, 10 分間作用、あるいはドライアイス・アセトンによる凍結融解を 10 回行って細胞を破壊し、そのまま移入した。

第 1 表 細胞移入経路とツ感作の持続

細胞数	経路	OT 10×						OT 50×	
		2 日	8 日	14 日	21 日	29 日	45 日	55 日	90 日
2.5×10 <sup>7</sup>	皮下	$\frac{+}{12 \times 12}$	$\frac{++}{12 \times 18}$	$\frac{++}{13 \times 16}$	$\frac{++}{16 \times 20}$	$\frac{\pm}{10 \times 12}$	$\frac{+}{17 \times 17}$	$\frac{\pm}{5 \times 5}$	-
	静脈	-	$\frac{+}{11 \times 14}$	$\frac{+}{11 \times 14}$	$\frac{++}{16 \times 20}$	-	$\frac{++}{16 \times 20}$	$\frac{++}{13 \times 20}$	$\frac{++}{16 \times 21}$
1.1×10 <sup>7</sup>	皮下	-	$\frac{++}{14 \times 16}$	$\frac{++}{15 \times 20}$	$\frac{++}{14 \times 18}$	$\frac{++}{15 \times 20}$	$\frac{++}{15 \times 17}$	$\frac{++}{18 \times 20}$	$\frac{++}{13 \times 17}$
	静脈	$\frac{\pm}{7 \times 7}$	$\frac{++}{16 \times 16}$	$\frac{++}{14 \times 16}$	$\frac{++}{13 \times 18}$	$\frac{\pm}{10 \times 10}$	$\frac{++}{13 \times 16}$	$\frac{++}{13 \times 15}$	-

細胞との混合移入に用いた抗原：ツベルクリン活性ペプタイド TAP<sup>19)</sup> (阪大, 山村教授より分与を受けた。) および結核菌体多糖体画分 BS-1 (北大結研予防部製: H 37 Rv ソートン 8 週培養 Urea 抽出 分析値: 窒素 < 0.1%, グルコース 96%)。これらは細胞浮遊液に混合, 37°C 15 分間放置後, recipient 1 匹につき 500 r の割合で注射した。

ツ型皮膚反応: 皮内反応抗原には次の 3 種を用いた。旧ツベルクリン (以下 OT) 10 倍液, 時に 50 倍液 0.1 ml, PPD-S 25 r, 100 r を 0.1 ml にそれぞれ含ませたもの, TAP を同様 0.1 ml に 100 r 含ませたもの。これらの抗原はいずれも recipient の腹部皮内に注射, 24 時間後に発赤の縦横を測定し, 又, 硬結の有無を記載した。実験によっては対照抗原として, 卵白アルブミ 50 r, *Candida albicans* 菌体蛋白画分 (本研究所在細菌部前川博士より分与された。) 300 r を 0.1 ml に含ませて皮内注射に用いた。

血中抗体: ツベルクリン多糖体画分を感作抗原として型の如く<sup>20)</sup> 緬羊赤血球による Middlebrook-Dubos 反応と, この反応判定後, 各試験管に補体約 4 単位を加え 4°C 30 分放置, ついで 37°C 30 分間反応させる受身溶血反応<sup>21)</sup> (passive homolysis) を行なった。

### 実験結果

#### 1) 細胞移入後ツ・アレルギーの持続

免疫細胞を recipient 皮下あるいは静脈に移入後, 日を追ってツ皮内反応を検べたが, 表 1 に示すように, 皮下, 静脈いずれの経路から細胞を移入した場合でも, ツ反応は細胞移入後 2 日目から出現し 2 乃至 3 ヶ月の長期間に亘って持続した。

#### 2) 細胞移入後ツ・アレルギーを獲得した動物の血中抗体

上述のように, 正常動物に免疫細胞移入後, 数回のツ反応検査によってツ・アレルギーが出現且つ保持されていることを確め, 同時に血中抗体をしらべた。なお, ツ反応は採血直後に検した。成績は第 2 表に示すように, 細胞移入後 37 日目の動物の血中には Middlebrook-Dubos 反応および受身溶血反応で抗体を検出し得なかつ

第 2 表 ツ感作と血中抗体の関係

実験群	動物番号	ツ反応 (OT. 10×)	M-D 反応	溶血反応
免疫細胞移入後	1	$\frac{++}{17 \times 22}$	0	0
	2	$\frac{++}{12 \times 16}$	0	0
	3	$\frac{++}{18 \times 15}$	0	0
	4	$\frac{++}{20 \times 18}$	0	0
	5	$\frac{++}{15 \times 15}$	0	0
	6	$\frac{++}{17 \times 17}$	0	0
BCG 5 mg 免疫 5 週目	7	$\frac{++}{17 \times 17}$	20×	1280×
	8	$\frac{++}{15 \times 20}$	0	320×
	9	$\frac{++}{18 \times 18}$	160×	1280×

た。これに反し、BCG 5mg 免疫動物では陽性ツ反応とともに血中抗体が検出され、とくに溶血反応に高い抗体価が見られた。

3) 脱感作動物細胞移入時のツ・アレルギー

免疫動物を細胞採取前日に PPD-S 静注により一過性に脱感作し、その脾細胞を移入した場合は表 3 に明らかなように、細胞移入後 1 日目のツ反応は対照に比して著しく弱かったが、4 日目には対照と同程度の陽性反応を示した。

第 3 表 一過性脱感作動物細胞移入によるツ感作

Donor の処置	Donor のツ反応	動物番号	細胞数	ツ反応 (OT 10×)		
				1 日	3 日	12 日
生食水静注	+	1	7.0×10 <sup>7</sup>	+ 12×14	± 10×10	++ 17×17
		2	4.7×10 <sup>7</sup>	+ 12×16	± 10×10	+ 11×11
		3	7.9×10 <sup>7</sup>	+ 11×13	+ 10×13	++ 12×14
PPD 1mg 静注	-	4	5.7×10 <sup>7</sup>	+ 10×12	+ 11×15	++ 13×15
		5	9.6×10 <sup>6</sup>	-	+ 11×15	++ 14×16
		6	7.1×10 <sup>7</sup>	-	+ 13×13	++ 13×21

4) 移入細胞に対する物理的破壊処置のツ・アレルギー伝達能への影響

音波振盪あるいは凍結融解で破壊した免疫細胞を移入して 1, 3, 10 日目および 30 日目にツ反応を行った成績

第 4 表 破壊免疫細胞移入の場合のツ感作

細胞の処置	動物番号	細胞数	ツ反応 (OT 10×)			
			1 日	3 日	10 日	20 日
Sonic 10'	1	0	-	-	+ 11×13	-
	2		-	-	++ 14×20	-
凍結融解 10 回	3	0	-	-	++ 14×18	-
	4		-	-	+ 13×15	-
無処置対照	5	19×10 <sup>7</sup>	+ 9×9	-	+ 11×14	± 10×10
	6		± 8×8	-	+ 13×11	+ 13×15

を表 4 に示した。移入後 1, 3 日目はいずれも反応は陰性に終わったが、10 日目に陽性反応が出現した。しかし、20 日目では反応は再び陰性化した。

5) 細胞移入後のツ・アレルギー持続の吟味

a) 免疫細胞浮遊液に混在する菌体抗原による感作の可能性の吟味

実験 1) に示されたように、細胞移入後ツ・アレルギー伝達の持続をしらべるため、繰返し同一動物にツ反応を行うと、反応は細胞移入後かなり長期間持続した。このことは、移入細胞と共に recipient に運び込まれる感作抗原、即ち死菌による活動免疫の可能性を一応考えさせる。この点をしらべるため、正常細胞に予め結核加熱死菌(ヒト型仲野株) 1 mg, 0.01 mg をそれぞれ混合して、移入しその後 1 日目から日を追って OT 10 倍液, 50 倍液あるいは PPD-S 25r で皮内反応をしらべた。表 4 に示すように、死菌 0.01 mg 混合群では細胞移入

第 5 表 加熱結核死菌混合正常細胞移入によるツ感作

細胞数	混合死菌量	動物番号	OT 10×				OT 50×	PPD 25r
			1 日	2 日	9 日	14 日	21 日	35 日
4.5×10 <sup>7</sup>	1 mg	1	-	-	-	++ 12×21	+ 12×16	++ 15×20
		2	-	-	-	++ 13×20	+ 11×16	++ 15×20
	10 <sup>-2</sup> mg	3	-	-	-	++ 14×15	-	-
		4	-	-	-	++ 15×18	-	-

後 13 日目になってはじめてツ反応が陽転し、その後再び陰性化した。これに対して死菌 1 mg 混合群では 14 日目に反応が出現し以後 35 日目(実験終了日)まで日を追ってツ反応は増強した。しかし、いずれの場合にも菌混合細胞移入後 1 乃至 9 日目にはツ反応の陽転は認められなかった。

b) 細胞移入後、頻回行われるツ反応のツ・アレルギーへの影響

正常細胞を移入した動物においても、細胞移入直後にツ反応を行うと、その約 1 週後に陽性ツ反応がみられることに着目し、次の実験を行なった。正常および免疫細胞移入の 2 群をさらにそれぞれ 2 つに分け、その一方には細胞移入後 1, 7, 14, 35 日目にツ反応を行ない、他の半数には 1 日目を除き、細胞移入後 7 日目から同様にツ反応を実施した。その結果を表 6 に示した。表に明らかなように、正常細胞移入群では細胞移入後 1 日目に

第6表 細胞移入後のツ反応による感作への影響

Donor	細胞数	動物番号	ツ反応 (OT 10×)			
			1日	7日	14日	35日
正	5.3×10 <sup>7</sup>	1	-	± 13×19	+ 11×13	-
		2	-	+ 12×12	-	-
		3	-	± 8×8	-	-
		4	/	-	-	-
		5	/	-	-	-
		6	/	-	-	-
常	7.8×10 <sup>7</sup>	7	+ 10×12	+ 13×13	± 20×22	± 17×22
		8	-	+ 12×12	± 15×18	± 12×16
		9	+ 10×11	± 16×16	± 16×20	± 18×15
		10	/	± 8×8	+ 11×12	± 20×18
		11	/	± 10×8	± 20×20	± 20×18
		12	/	-	+ 12×13	± 17×17

ツ反応を行った動物にのみ7日目あるいは14日目に一時的にツ反応が陽転し、これに反して細胞移入後7日目からツ反応を行った動物においては終始陰性に終わった。一方、免疫細胞移入群では移入後1日目に既に陽性反応がみられ、7日目以後35日目迄続いた。同様なことは移入後7日目からツ反応を行った群でもみられた。

6) 細胞移入によるツ型皮内反応の特異性

a) OT, a 卵白アルブミンおよび *Candida albicans* 菌体蛋白による皮内反応の比較

免疫細胞移入後 recipient にみられるツ反応の特異性らなびに正常細胞を移入後早期の OT 皮内注射によって一時的に出現するツ反応の特異性を検討するために、それぞれの細胞移入後、1, 7日目にツ反応を行い、7日目に全例ツ陽性を示したのを確めて、9日目に OT 10倍液と対照抗原として卵白アルブミン 50 r, *Candida albicans* 菌体蛋白画分 300 r を用い同時に皮内反応を行い、ツ型皮膚反応の出現をしらべた。その成績を表7でみると、両細胞移入群ともに9日目にみられた反応は OT に特異的なツ型皮膚反応であることが明かになった。

第7表 細胞移入によるツ型皮内反応の特異性

Donor	移入細胞数	動物番号	1日	7日	9日		16日	
			OT 10×	OT 10×	OT 10×	E-A 50r	Candida Pr. 300r	OT 10×
免	1.0×10 <sup>8</sup>	1	-	± 13×18	+ 11×13	-	-	± 8×12
		2	-	± 15×18	+ 13×13	-	± 8×8	± 14×20
		3	-	± 17×21	± 15×15	-	-	± 14×14
正	4.1×10 <sup>7</sup>	4	-	+ 12×10	± 7×7	-	-	-
		5	-	± 14×20	+ 11×12	-	-	+ 12×13
		6	-	+ 15×15	+ 12×12	-	-	-

b) 正常細胞移入で惹起されるツ・アレルギーの脱感作処置による影響

正常細胞移入後現われるツ型皮膚反応の特異性をみるために細胞移入と同時におよび3日目にツ反応を行ない、7日目に PPD-S 1 mg を静注し、1時間後にツ反応を行った。対照として生食水を静注する群を置いた。結果を表8に示した。これから明らかのように、正常細胞移入に引続きツ反応の反復によって出現するツ・アレルギーは PPD-S の静注によって確実に消失した。

第8表 細胞移入で惹起されるツ・アの PPD 静注による消失

移入細胞数	動物番号	細胞移入後				
		同時	3日	7日	14日	
6.6×10 <sup>7</sup>	1	-	-	生食水静注	+ 12×12	-
	2	-	-		+ 12×17	-
	3	-	-		± 15×15	-
	4	-	-	PPD-S 1mg 静注	-	-
	5	-	-		-	-
	6	-	-		-	-

ツ反応： OT 10× 移入細胞： 正常

c) 正常細胞に TAP あるいは結核菌体多糖体画分 BS-1 を混合移入した場合のツ・アレルギー  
正常細胞移入に際して、予め TAP あるいは結核菌体

多糖体画分 BS-1 をそれぞれ 500 r 混合した場合ツ・アレルギーの出現が見られるか否かをしらべた。皮内反応抗原として TAP 混合群には TAP 100 r を、また、BS-1 混合群には OT 10 倍液を用い、対照の正常細胞単独移入群には PPD-S あるいは TAP をそれぞれ 100 r 用いた。なお、正常細胞単独移入群については PPD-S あるいは TAP を注射する時期を移入と同時に進行群と 6 日目に初めて行う群とに分けて前述の OT を以てする同種の実験の場合と同様の現象がみられるかどうかを検した。結果を表 9 に示した。まず、移入前に細胞に TAP を混合した群では 6 日目にツ反応が陽性になった。一方 BS-1 混合群では反応は全く陰性に終わった。正常細胞単独移入群では PPD-S でも TAP でも OT の場合と同様に細胞移入と同時に皮内反応を行った場合にのみ 6 日目に一時的にツ反応が陽性を示した。

第 9 表 正常細胞移入と PPD, TAP 及び多糖体画分

移入細胞数 と混合抗原	皮内反応 抗 原	動物 番号	細胞移入後		
			同 時	6 日	14 日
3.1 × 10 <sup>7</sup>	PPD-s 100r	1	-	$\frac{+}{11 \times 14}$	-
		2	-	$\frac{+}{11 \times 12}$	-
		3	/	-	$\frac{+}{12 \times 13}$
		4	/	-	-
	TAP 100r	5	-	$\frac{+}{12 \times 14}$	-
		6	-	$\frac{+}{12 \times 14}$	-
		7	/	-	-
		8	/	-	-
4.8 × 10 <sup>7</sup> + TAP 500r	TAP 100r	9	/	$\frac{+}{12 \times 14}$	
		10	/	$\frac{+}{10 \times 8}$	
4.8 × 10 <sup>7</sup> + BS-1 500r	OT 10 ×	11	/	-	
		12	/	-	

TAP: 山村 BS-1: H37RV 菌体多糖体画分  
PPD-s: 子研

総括 並びに 考按

われわれは、Chase ら以後多くの研究者によって確め

られているように、結核死菌感作モルモットの脾細胞浮遊液の移入によって正常モルモットにツ・アレルギーを伝達し得た。しかし、橋本ら<sup>22)</sup>は単に結核感作モルモット脾細胞の移入によってはツ・アレルギーは伝達出来ず、donor を予め BCG 生菌静注処置後の脾滲出細胞によってのみツ・アレルギーの伝達が可能であったと報告している。彼我の実験条件を見ると、動物の感作条件、脾細胞浮遊液調製法、移入細胞数および移入経路などについて甚だしい差異が認められないので、なぜこのような相反する結果が生ずるかは目下のところ不明である。

次に、このような細胞移入によって伝達されるツ・アレルギーは一般には 4 乃至 6 日間保持されるのみで、長期間持続しないとされている。しかし、ツ・アレルギーの持続状態を追究して行くため細胞移入後、同一動物にツ反応を反復実施したわれわれの実験ではツ反応は細胞移入後 2 ヶ月以上にわたって陽性であった。このような現象を Metaxas ら<sup>14)</sup>はツ反応に用いた非加熱ツベルクリンによる活動免疫によるものであると説明している。これに対し、Pass ら<sup>17)</sup>は少なくとも OT には全く感作能がないことを認め、この種の実験に OT を用いた場合は OT による活動免疫は考えられないと論じている。また本実験でわれわれが用いたツベルクリンは OT であり、なお、また、この OT の 10 倍稀釈液 0.1ml を同一の正常モルモットに毎週 1 回 6 回皮内注射を繰返して行ったわれわれの実験ではツ反応は終始陰性に終わった。以上のことから今回の実験成績に見られたような免疫細胞移入後のツ反応の持続は OT 単独注射の反復によるものでないことは明らかである。しかし、最近、橋本ら<sup>23)</sup>は 1 回の OT 皮内注射によってモルモットにツ・アレルギーを賦与することが出来たと報告している。この点もわれわれの実験成績と相反するが、同じ OT といっても製造に用いた菌株あるいは製造所によって、その抗原性に差があるのかも知れない。このことについては将来慎重に検討する必要がある。

次に、このツ・アレルギーの持続は感作に用いた結核死菌ないしはそれに由来する抗原物質が donor の細胞と共に移入され、それが recipient に感作原として働いたのではないかも考えられる。この点を明らかにするため、われわれは正常細胞と結核死菌と混合して移入する実験を試みた。即ち、予め混合する菌量を 0.01mg と 1 mg としたが、菌 0.01 mg 混合細胞液は鏡検によっては容易に菌を検出し得ない状態にあり、死菌感作モルモット脾細胞浮遊液の鏡検所見に近いものである。これに反して、菌 1 mg 混合細胞液は鏡検で容易に菌を見出し得た。さて、菌 0.01 mg 混入細胞を移入された動物で

は、移入後2週目に一過性にツ・反応が陽転したにすぎず、その後反応は陰性に終った。従って、この程度の菌量では活動感作は成立しがたいと考えられる。一方、菌1 mg 混入群ではツ反応は2週以後引続いて陽性を呈した。以上の成績からたとえ移入細胞に感作に用いた結核死菌ないし菌体成分が混入されていたとしても、それらは極めて僅少である筈であるから、それによって持続性ツ・アレルギーが能動的に成立したとは考え難い。

さらに、超音波10分、凍結融解10回の物理的破壊処置を施した免疫細胞を移入したところ、移入後10日目のみ一過性のツ・アレルギーが見られたことは興味深い。このような物理的処置を施すと細胞は殆んど破壊死滅するので、出現した一過性のツ・アレルギーは遊離した抗体様物質によって recipient の組織細胞がある時間を経て一時的に感作されたものとも考えられるし、又一方、丁度正常細胞が adjuvant 効果を発揮するように、破壊死滅した細胞もまた adjuvant 効果を持っているのかも知れない。いずれの想定が正しいかは将来の研究に俟たねばならない。

ところで、ツ・アレルギーの伝達実験に際して、移入細胞を破壊すると、その伝達能は消失することが多くの人々によって認められているが、われわれの実験もほぼ同様の結果に到達した。しかし、Lawrence<sup>11)</sup>、Cumming<sup>12)</sup>、Jeter<sup>13)</sup> は細胞を破壊してもアレルギーは伝達されると報告している。但し Lawrence は人間以外の動物では破壊細胞によるツ・アレルギーの伝達には遂に成功していない。最近、泉<sup>24)</sup> はウサギの肺胞滲出細胞の凍結融解分画物でツ・アレルギー伝達に成功したと報告している。但し、彼の実験成績を見ると、分画物移入直後にはツ・アレルギーは出現しておらず、分画物移入後ツ反応を繰返すことによってはじめてツ・アレルギーが発現して来ているので、これが果して分画物の直接作用によるものがどうかにはわかに断定出来難いように思う。

さて、われわれが注目している細胞移入後ツ反応の繰返しによって出現して来るツ・アレルギーは移入細胞が正常細胞か免疫細胞かによって明らかな差異を示した。即ち、正常細胞の場合は移入後極めて早期にツ反応を行うことによるのみ7日目以後に一過性のツ・アレルギーが出現した。一方、免疫細胞移入後同様にツ反応を繰返して行くと、持続性のツ・アレルギーが出現した。この場合、移入後7日目に初めて反応をみると反応は甚だ弱い、その後はかなり増強した。このような差異をどのように考えたらよいであろうか。われわれの実験では donor と recipient の関係は正常細胞移入の場合も免疫細胞移入の場合もいずれも isologous ではないので両者

の rejection に時間的な差はない<sup>25)</sup>ものと考えられる。従って、免疫細胞には正常細胞と異って、なにかツ・アレルギー発来に関与する因子が存在していて、これが移入細胞が reject される前に recipient の細胞に移され、このことが持続性ツ・アレルギー発来の原因になっていると考えるのが妥当であろう。

PPD-S、結核菌体蛋白抗原、BCG および結核死菌などを既に強度のツ・アレルギーを保持している動物に静注すると一過性にツ・アレルギーが消失することは既に著者ら<sup>26)</sup>が報告したところであるが、このような脱感作処置を予め受けた動物の脾細胞を移入した場合、移入後1日目のツ反応は殆んど出現しない。即ち、ツ・アレルギーの伝達能が非常に低下していたことは注目に値しよう。これは移入細胞の担うツ・アレルギーの抗体と考えるべき物質が脱感作処置によって反応能力に低下を来した結果と想像される。以上の事実はツ・アレルギーの細胞による伝達実験では免疫細胞はツ・アレルギーに直接関与する抗体様の物質をもっていることの有力な証左であろう。

正常細胞移入直後か、あるいは、移入後早期にツ反応を行うことによって、その後出現して来るツ反応は確かに OT に特異的の反応であろうか。この点に関しては、卵白アルブミンおよび *Candida albicans* の菌体蛋白では皮膚反応は全く見られなかったこと、このツ・アレルギーは PPD-S の静注により確実に脱感作が可能であったこと、さらに、正常細胞にツベルクリン活性のない結核菌体多糖体画分を混合移入しても、一過性ツ・アレルギーは出現しなかったことなどから、特異性を疑う余地はないと思われる。しかも OT 以外にも PPD-S、殊にツ・アレルギー賦与能はないが、ツ活性をもつ TAP でも、それらを正常細胞と混合して移入するか、または細胞移入直後にそれらを皮内注射すると、その後1週目にツ・アレルギーが一過性に出現することは、この現象はツベルクリンないしは結核菌体蛋白系の特異的免疫反応であることを確証するものであろう。

正常細胞移入の場合のツ・アレルギー発現の機序を説明する上で Bloch<sup>27)</sup>らの実験は示唆に富む。彼等は正常モルモット腹腔滲出細胞に PPD を *in vitro* で吸着させモルモットの足蹠に注射し12日後に定型的なツ反応の出現を認めた。この事実の説明は、われわれの実験の場合と同様、正常細胞の Adjuvant 効果に求めるのが妥当であろう。

最後に、ツ・アレルギーと血中抗体との関係については、少くとも従来われわれが行った諸実験の結果からは両者に関連を認めることは出来なかったが<sup>11,4)</sup>、進藤<sup>32)</sup>は

ツ・アレルギーと血中の不完全抗体と密接な関係があると主張している。そこで本実験では、免疫細胞移入により強いツ・アレルギーを獲得したモルモットの血清について Middlebrook-Dubos 反応と同時に不完全抗体と平行関係をもつ受身溶血反応を検べたが、いずれの反応も成績は全く陰性に終わった。これに反して、これら動物とほぼ同じ強さのツ・アレルギーを保持している BCG 免疫モルモットの血清には両反応、特に受身溶血反応はかなり高度に陽性反応を呈した。これらの事実を総合すると、ツ・アレルギーは血中の不完全抗体に直接関係するものでないことが明らかである。

## 結 び

結核死菌免疫モルモットおよび正常モルモットの脾細胞を正常モルモットに移入してツ・アレルギーの発来を追究し、次の結果を得た。

1) 免疫細胞を移入された recipient ではツ反応は細胞移入後早期に出現し、その後ツ反応検査を反覆実施することにより長期に亘って陽性反応が見られた。

2) 免疫細胞移入後早期に出現するツ・アレルギーは免疫生細胞そのものによって伝達されたものであり、他方、移入後約1週目以降に出現するツ・アレルギーは前者とは別な機序で生ずるものと思われる。

3) 免疫細胞移入後の後期にツ・アレルギーを示すモルモットの血中には Middlebrook-Dubos 反応および受身溶血反応に対応する抗体は検出されなかった。

4) 免疫動物を予め PPD-S 静注により脱感作処置後その細胞を移入すると、初期のツ・アレルギーは著しく弱かったが、後期には無処置対照と変らない強さを示した。

5) 凍結融解あるいは音波振盪で破壊された免疫細胞を移入した場合、早期のツ・アレルギーはみられず、ただ10日目に一時的にツ・アレルギーが出現した。

6) 正常細胞移入直後あるいは、その後早期にツ反応を行うと。移入後1ないし2週目に一過性にツ・アレルギーが出現した。このような動物はOT以外の他の蛋白抗原とは皮内反応を呈さず、且つ PPD-S 静注により脱感作された。また、正常細胞に TAP あるに結核菌体多糖体画分を混合移入すると、ツ活性のない後者の場合は全くツ・アレルギーは出現せず、TAP ではツ・アレルギーが発来した。以上の事実から、この正常細胞移入後に見られるツ・皮内反応は定型的な特異的免疫反応と考えられる。

(本論の要旨は昭和39年4月5日第39回日本結核病

学会総会において発表した。)

## 文 献

- 1) 高橋義夫：日本細菌学雑誌，15，935，昭35.
- 2) Freerksen, E : Dtsch. med. Wschr., 85, 1926, 1960.
- 3) Sindo, T : Jap. J. Exp. Med., 35, 181, 1965.
- 4) Takahashi, Y : Festschrift für Prof. Michalka, 51. Jahrgang (1964), der "Wiener Tierärztliche Monatschrift" p. 112.
- 5) Chase, M. W. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 59, 134, 1945.
- 6) Kirchheimer, W. F., and Weiser. R. S. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 66, 166, 1947.
- 7) Cummings, M. M., et al. : Public Health Rep, 62, 994, 1947.
- 8) Stavitsky, A. B. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 67, 225, 1948.
- 9) Metaxas, M. N. and Metaxas-Buehler M. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 69, 163, 1948.
- 10) Lawrence, H. S., : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 71, 516, 1949.
- 11) Lawrence, H. S., : J. Clin. Invest., 34, 219, 1955.
- 12) Cummings, M. M., et al. : Am. Rev. Tuberc. 73, 246, 1956.
- 13) Jeter, W. S. et al. : J. Bact., 74, 680, 1957.
- 14) Metaxas, M. N. and Metaxas-Buehler M. : J. Imm., 75, 333, 1955.
- 15) Feldman, J. D. and Najarian J. S. : J. Imm., 91, 306, 1963.
- 16) Sabesin, S. M. and Friedman, R. M. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 118, 838, 1965.
- 17) Pass. C.M.S. et al., : Am Rev. Resp. Dis., 83, 372, 1961.
- 18) 山本健一 他：結核の研究：第17,18集，1，昭38
- 19) Yamamura, U. et al. : Biochem. Biorhysica acta. 35, 295, 1959.
- 20) 藤田誠一：結核の研究：第13集，13，昭33.
- 21) 細田行雄：アレルギー，7，219，昭33.
- 22) 橋本達一郎 他：日本網内系学会誌，4，68，昭39.
- 23) 橋本達一郎 他：第40回日本結核病学会総会にて発表
- 24) 泉 孝英：アレルギー，13，583，昭39.
- 25) Bauer, A. J. and Stone S. H. : J. Imm. 86, 177, 1961.
- 22) Arima, J. et al. : Compt. rend. Soc. Biol. 161, 195, 1962.
- 27) Bloch, H. and Nordan, A. A : Nature, 187, 434, 1961.