



Title	抗体産生機構に関する免疫病理学的研究：II 抗ツベルクリン抗体反応における γ G, γ M保有細胞について
Author(s)	森川, 和雄; MORIKAWA, K.; 奥山, 春枝 他
Citation	結核の研究, 25-26, 45-52
Issue Date	1967-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26776
Type	departmental bulletin paper
File Information	25_26_P45-52.pdf



抗体産生機構に関する免疫病理学的研究

II 抗ツベルクリン抗体反応における γ G, γ M 保有細胞について

森川和雄・奥山春枝

河内薫・浜田栄司

高橋明男

(北海道大学結核研究所病理部)

(昭和41年10月10日受付)

同じ特異性を持ちながら、物理化学的に異った構造を有する幾つかの抗体ツベルクリン分子が発見されてから数年にもなる。その内広く研究の対象になっているものは IgG と IgM であることも衆知である。今日この兩種グロブリンの構造、性格については確かに種々の知識がえられているが、両者同志の関係殊に抗体反応における両者の産生機構ならびに役割については多種類の意見が出されており、今日といえどもまだ推察の域を脱していないようである。

所で遅延型アレルギー反応性を感作動物のリンパ球によって被動的に健常動物に移行させることが出来る事は古くから発見され¹⁾、多数の追試から確認の段階迄達している。つまり感作リンパ球には遅延型アレルギー抗体(抗体として今日確認しうるものではないが)が含まれるわけである。一方前記 IgM 型の抗体は一般には類リンパ球 (lymphoid cell) で作られるという意見が強い^{2)~8)}。もしそうであれば、遅延型抗体は IgM ではないかとの疑いが出て来る⁷⁾。われわれは以前から遅延型アレルギーに関する実験を継続しているが、動物を結核死菌で感作した時、IgM 型抗体が重要な役割を演ずる事を見出している⁹⁾。そこでわれわれが調べて来た抗ツベルクリン抗体産生機構において IgM 型抗体、並びに IgG 型抗体がいかに役を演じているか知りたいたと考えた。ただ以前の蛍光法の研究で証明されえた抗体は IgG 型抗体のみであるらしい実験事実があった¹⁰⁾。つまり 2-mercaptoethanol に感受性がないということである。しかし IgM の有する validity や、又その量的な関係も考えられ、必ずしも IgM 型抗体が全く関係しなかったと断言出来るわけではないと考えられる。

そこで今回は γ M, γ G 含有細胞を蛍光的に染色し、「ツ」抗体反応における兩種細胞の消長を観察し、更に

従来のわれわれの技術から兩種グロブリンの産生母細胞を決める一つの助けをやってみたいと考えたのである。ただ後述の如く蛍光法には今日の技術をもってしても断然とした技術上の限度があり、成績の判定にも限りがある。従ってわれわれの成績が最終的な結論に直結しているとは残念ながら云えない。

実験材料及び方法

1. 蛍光抗体法について

1) γ G, γ M の分画：正常家兎血清 140 ml を次の第 I 緩衝液で一度透析後沈澱物を除いて、DEAE—セルロースカラム 6.7×68 cm を用い、次の階段的溶出法¹¹⁾で分画した。緩衝液 I : 0.0175 M 磷酸緩衝液 (pH 6.3), II : 0.04 M (pH 5.9), III : 0.1 M (pH 5.8), IV : 0.4 M (pH 5.2)。

第 I 緩衝液で溶出された画分は免疫電気泳動法及び超遠心分析法で γ G であり、他の成分を含まないことを確認したので、これをそのまま γ G 画分とした。

一方、第 IV 緩衝液で溶出された画分 500 ml を 104, 400 g で 6 時間超遠心し、沈澱管の下層 1/2 を集め、同じ操作を 4 回行ない最終的に総計 7.5 ml に濃縮した。これを 0.1 M NaCl を含む 0.05 M Tris-HCl 緩衝液で一度透析後同緩衝液を溶媒として Sephadex G 200 カラム 4.5×125 cm でゲル濾過した。始めに溶出した画分を更に Sephadex G 25 を用いて Batch 法で濃縮した。これは免疫電気泳動では γ M に概当する沈降線を示した。一方超遠心分析では 19 S 成分の他に 4 S よりも更に小さい成分の混入が認められるがこれを γ M 画分として以下の実験に使用した。

2) 抗「ウサギ γ G, γ M」ニワトリ血清の作製

上記 γ G, γ M 画分 (蛋白濃度 1%) の夫々 1 ml に等

量の incomplete adjuvant (Arlacel 1 : Drackeol 9) を加え、ニワトリ腿部に5日間隔で筋注4回、adjuvant なしで静注1回により感作し、最終感作後14日に全採血し血清をえた。

これらの抗血清は夫々感作に用いた γ G 抗原には8倍、 γ M 抗原には16倍の抗体価（沈降反応重層法、血清稀釈）を示した。

3) 抗「ニワトリ γ グロブリン」家兔血清の作製

正常ニワトリを全採血し分離した血清から $\frac{1}{2}$ 硫酸飽和により γ グロブリンをとり、その1ml (蛋白濃度2.4%) に等量の incomplete adjuvant を加え、正常家兔に筋注及び adjuvant なしを静注、4日間隔で各2回宛繰返し感作した。最終感作後18日に全採血し血清をえた。この抗血清のニワトリ γ グロブリンに対する沈降抗体価は512倍であった。

次にこの抗血清から $\frac{1}{2}$ 硫酸飽和で γ グロブリンを沈澱させ、生食水で充分な透析後冷室に保存した。

4) 螢光抗体染色法

a) 抗原：前記抗「ウサギ γ M」ニワトリ血清をウサギ γ G で吸収したもの、及び抗「ウサギ γ G」ニワトリ血清はそのまま、尚抗ツベルクリン蛋白抗体の検出のための抗原として、我々の所でツベルクリンより作ったツベルクリン蛋白 (TPt) を 2 mg/ml の濃度とし、ウサギ肝アセトン末で吸収して用いた。

b) 抗体： γ G, γ M の検出のためには、抗「ニワトリ γ グロブリン」ウサギ γ グロブリンを FITC と TMR で前報¹⁰⁾の如くラベルし、抗体液を作った。抗ツベルクリン蛋白抗体検出のためには結核家兔血清 γ グロブリンを FITC で標識して用いた。

c) 染色：上記抗原の中にはさんだサンドイッチ法で染色した。染色法は前報¹⁰⁾に準ずるが、 γ M, γ G 検出のための染色時間として抗原液の添加及び螢光抗体液添加時間は何れも室温30分で行なった。

2. 検査材料

正常家兔及び予め結核死菌感作家兔の足蹠に「ツ」蛋白画分 (TPt) を注射し、経時的に膝關節リンパ節をとり、一次及び二次抗体反応における陽性細胞を追跡した。

一方正常及び結核死菌感作家兔に TPt を静注し、脾について日を追って追跡もしてみた。

3. 螢光法陽性細胞の同定

螢光法陽性細胞の固定については、前報⁹⁾¹⁰⁾に述べた通り、スライドガラス上の陽性細胞をまず螢光顕微鏡でカラー撮影後、カバーガラスを丁寧にはがし、慎重に水洗の上、再固定し、洗滌後 hematoxylin-eosin, methylgreen-pyronin などで染色し、前記撮影と同じ視

野を再び撮影し、両写真スライドを比較しつつ検討した。

成 績

実験 1 脾における検索

正常兔及び結核兔に TPt 5 mg を静注し、6, 24, 48, 72時間、5, 7 及び 10 日後に屠殺して脾を摘出し、95% エタノール固定後、パラフィン切片を作製し、抗ツベルクリン蛋白抗体 (抗 TPt 抗体と略)、 γ G 及び γ M を螢光抗体サンドイッチ法で染色し、更に同一切片をヘマトキシリン・エオジン法で染色して螢光陽性細胞の同定を行なった。成績は表1にまとめた。

抗 TPt 抗体は、5日後に、濾胞周辺にうすく染まる細胞が僅かにみられる程度で、それ以後は証明出来なかった。一方再感作群では48時間後に、赤髄小血管周囲にうすく深まる細胞が僅かに出現し始め、そのあと72時間、5日とやや増加の傾向を示し、濾胞の周辺や赤髄に小集団状にみられた。しかし、全体としてあまり強く螢光染色陽性の細胞はみられず、7日及び10日後には証明出来なかった。

γ G についてみると、初感作、再感作共、大き血管の中及びその周囲滲出液が螢光染色でよく染まるのが特徴的であった。時間的に経過を追ってみると、初感作群では、6時間後には赤髄洞内にごく少量の細胞が染まるのみであったが、24時間になると、陽性細胞が濾胞周辺にごく少しかみられ、その他この様な濾胞周辺部がび漫性にうすく緑色に光るのがみられた。48時間になると、赤髄全体がうすく染まるが、はっきりした細胞の形をとっているのは、濾胞内にも洞内にも少ししか認められなかった。72時間には、陽性細胞がかなり増加し、濾胞周辺や小血管周囲に若い形の細胞が出現してきた。赤髄洞内小血管周囲にも同じ様な細胞の小集団が認められた。5日後にはこの様な細胞が更に増加し、光度も強くなっ

表 1 脾内各種グロブリンの出現
(TPt 5mg 静注)

	正 常 兔			感 作 兔		
	γ G	γ M	Tbc	γ G	γ M	Tbc
6 時 間	+	+	-	±	±	-
24 時 間	±	+	-	+	±	-
48 時 間	+	±	-	++	±	±
72 時 間	±	±	-	+	+	±
5 日	++	±	±	+	±	+
7 日	+	±	-	+	±	-
10 日	+	±	-	±	±	-

ており、赤髄内にはところどころに集団をなして沢山みられた。7日、10日後にははっきりとした細胞の形をとるものはずっと減少し、赤髄内に小集団が僅かにみられる程度となった。その他に、濾胞内に網目状に染まるものが増加してきた。これは細網細胞の突起が染まるものと思われる。再感作群では、6時間後、全体にやや緑色にそまり、濾胞周辺に5・6個の細胞集団が少しみられた。24時間では赤髄洞が拡張し、その中に滲出している細胞が不規則にうすくそまっていた。48時間後は、濾胞周辺や髓質小血管周囲に陽性細胞が集団的に沢山みとめられた。72時間になると、陽性細胞はやや光度を減じ、濾胞周辺の細胞集団はなおみとめられた。5日以後は、濾胞内の細網細胞の網目構造が著明となり、個々の細胞の形態はむしろ不明瞭となってきた。しかし、濾胞内、髓質血管周囲には少量の陽性細胞が散在していた。

γ M は、 γ G の様な血管内及び血管周囲滲出物の染色性は明瞭でなかった。初感作6時間目には、濾胞内にうすく染まる細胞がごく少量みとめられるにすぎない。24時間目でもまだ弱く、濾胞内或は赤髄内に陽性細胞が僅かに散在していた。48時間になり、染色性はあまり強くないが、濾胞或は赤髄内に γ G細胞と同じ程度に散在していた。72時間では陽性細胞は数をまし、濾胞内、特にその周辺に集団をなしてみられた。5日では陽性細胞の数はやや減少し始め、その光度も減少してきた。この時期では濾胞より赤髄の方がやや多くみられた。7日及び10日後では更に数が減少し、濾胞内にごく僅かの陽性細胞が散在しているのみとなった。

以上のように、抗 TPt 抗体産生細胞は、再感作群5日目に僅かにみられるのみであった。一方 γ G及び γ Mは初期より僅かながらみとめられ、初感作群では72時間乃至5日、再感作群では48時間を頂点として以後次第に減少を示した。両グロブリン保有細胞共、初感作群に比し

再感作群の方が消失が早く、又 γ M細胞の方が γ G細胞より早期に減少した。 γ G細胞は一般に γ M細胞よりも強く染まり、明らかに形質細胞の形をとっている。又血管内、血管周囲の滲出が、 γ G染色でよくそまっていた。 γ M細胞は核が割合大きくて円形、細胞質が中等度のものが多く、又明らかに形質細胞とみなされる細胞にも γ Mが証明された。出現する陽性細胞の分布は両グロブリン細胞共初期には濾胞内、殊に濾胞周辺に多くみられ、後期には赤髄の小血管周囲に多くみられた。なお、両グロブリン細胞の分布は大体同じ傾向を示すが、しかし同一局所での詳細な観察では、両グロブリンが証明される細胞は別個の細胞とみなされる。

実験2 リンパ節における検査

正常及び感作兎の足蹠皮下に TPt 2mg 注射し、初感作では24, 72時間, 5, 7, 10及び14日後、再感作群では2, 6, 24, 48, 72時間, 5, 7及び10日後に所属臓器リンパ節を摘出し、脾と同様にパラフィン切片で観察した。成績は表2に示した。

まず、抗 TPt 抗体は、初感作群では全経過を通じて殆んど染色されず、5日以後に髄索内にうすく僅かにみとめられるに過ぎなかった。一方再感作群では5日後に髄索内及び皮質周辺に形質細胞及び Russell body をもった形質細胞が中等度にみられたが、その後は陽性細胞は急激に減少した。

γ G細胞をみると、初感作群24時間では、全体によく光り、特に皮質周辺に強かった。濾胞内にも強く染まった細胞が散在し、細網細胞の網目様構造がみられた。皮質周辺及び髄索には集団状にみられた。72時間では陽性細胞の数を更に増し、光度も増強していた。又血管周囲も染まり、濾胞内細網細胞突起もよく染色された。5日及び7日後も、72時間と同様強く染色され、特に皮質周辺から髄索にかけて陽性細胞が多く、又強く染まってみられた。10日、14日後は、やや数が減少しているが、皮質周辺、髄索の血管周囲によく光る細胞が多数みとめられた。再感作群は、2時間後からかなりの細胞が γ Gを持っているのが認められた。特に洞内貪食細胞や洞内皮細胞及び皮質内細網細胞突起が、あまり光度は強くはないがかなりの量に染まっていた。個々の陽性細胞はあまりはっきりしないが、しかし皮質、髄索を通じ全体に散在してみられた。6時間でも、血管壁、髓洞内皮、細網細胞突起の網目様構造の染色性が強く、又皮質内には染色陽性の形質細胞が散在してみられた。24時間以後も、この網目様構造の染色性は変わらずに強く染まっており、個々の陽性細胞はやや数は減少するが、皮質周辺及び髄索内に集団状にあるいは散在性に染色された。10日目に

表2 局所リンパ節内各種グロブリンの出現 (TPt 2mg 足蹠注射)

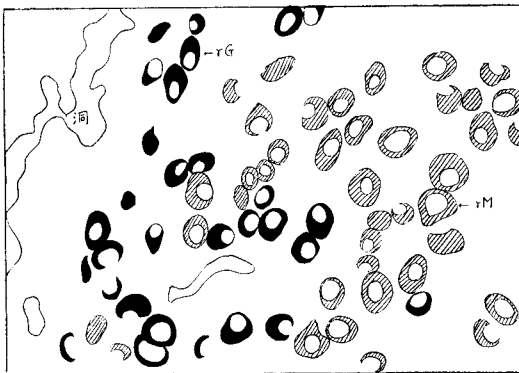
	正 常 兎			感 作 兎		
	γ G	γ M	Tbc	γ G	γ M	Tbc
2 時 間				+	+	-
6 時 間				+	+	-
24 時 間	+	+	-	+	-	-
48 時 間				+	±	-
72 時 間	+	+	-	+	-	-
5 日	+	+	±	+	±	±
7 日	+	+	-	+	+	+
10 日	+	+	±	+	+	+
14 日	+	±	±			

もなおかなり染色性が残っているのがみとめられた。

γ M 細胞は、初感作24時間後は、 γ G 細胞よりは数は少ないが、濾胞内に集団状にみられた。72時間後には、その数を増し、光度も強くなり、皮質周辺に特に多く、その他皮質中心に集団状にみとめられた。5日後から7日後にかけて、皮質内に小集団をなしたり、あるいは皮質周辺から髄索にかけて割合びまん性に、光度を更に増した細胞がみられた。10日目より陽性細胞の数が減少し始め、14日目は更に減少し、光度もかなり減退した。一方再感作群では、2時間後、皮質内に明らかに細胞集団がみられ、又洞内貪食細胞もよく染まっていた。しかし、 γ G 染色のような網目様構造はみられなかった。6時間後は染色性が低く、皮質周辺に少しみられる程度で、24時間から72時間にかけてその染色性が弱く不規則であった。5日以後再びよく染色され、光度はあまり強くはないが、皮質周辺に沢山の細胞がびまん性に染まっているのがみとめられた。

以上の様に、 γ G 細胞及び γ M 細胞共初めよりかなりの数の陽性細胞がみとめられ、初感作群では両グロブリン細胞共72時間から5日目までを頂点として、皮質周辺、髄索に大量に出現していた。再感作群では、むしろ2、6時間の様な初期に強く、それ以後はあまり著明な変動なしに10日目まで陽性細胞が存在した。又再感作群の初期には、洞内貪食細胞に両グロブリンが軽度に染色された。両グロブリン細胞の分布をみると、図1にみられるように、 γ G 細胞は皮質の周辺、洞に面した近くに多く、又髄索にも多数みられ、 γ M 細胞は皮質内に多く、集団状にみられた。皮質内両グロブリン細胞の分布は、皮質中心側に γ M 細胞の集団があり、それより洞に近い所に γ G 細胞が集団状乃至びまん性にみられた。この様に、両グロブリン細胞の分布領域は明らかに違いを示していた。抗 TPt 抗体細胞の分布は、皮質周辺及び髄

図 1



索小血管周囲に多くて、 γ G 細胞の分布とはほぼ同じであった。又その形から形質細胞とみなされる。 γ G 細胞は明らかに形質細胞が殆んどであるが、 γ M 細胞は脾にみられたと同様に、核の割合大きく、細胞質の少ない若い形の細胞から、明らかに形質細胞とみなされる細胞まで種々の形のものが見られた。なお、胚中心では両グロブリンが網目様構造を示してみられ、血管周囲、血管壁及び皮質内細網細胞の網目様構造が γ G 染色で著明に陽性にみられた。

総括および考按

以上の成績に若干の補足をしながら、実験成績の若干について考按を加えたい。

先ず用語について私達の提案を示したい。抗体グロブリンに少くも3つのクラスがあることは以前から注目せられ、更に最近にはもう2つのクラス (IgD¹²⁾, IgE¹³⁾ の存在を述べる学者もいる。今回われわれが取上げた2種のグロブリンについては電気泳動的に γ_2 グロブリン及び β_2 あるいは γ_1 グロブリンと言われ、又分子量から後者は特にマクログロブリンとも呼ばれた。更に超遠心分析の結果から7Sと19Sグロブリンなどと各種の名称が出されていた。しかしこれが全て γ G あるいは IgG 及び γ M あるいは IgM と統一されて呼ばれることになったのである¹⁴⁾。そこで γ G と IgG とは全く同じ物質をさすわけであるが、私達は特異性を持たない—あるいは特異性のわからない、いわゆる natural globulin に属するものを γ G あるいは γ M と呼び、特異性抗体グロブリンのみを IgG, IgM と呼びわけたいのである。もっとも全ての γ G は何かの特異性を持ったグロブリンと考える人も多い。しかしある実験者がある研究の目標としている血清中の抗体グロブリンは物理化学的には全く区別つかない同じクラスのグロブリンの一部にすぎないことを考えれば、前者を IgG, IgM, 後者を γ G, γ M と表現することによって成績の表現が容易になると考えられるのである。このような提案に従えば、今回われわれが調べたのは γ G, γ M 保有細胞であり、決して IgG, IgM 保有細胞だけではないわけになる。陽性細胞は特異抗体グロブリン産生細胞に限らず、これと同じ物理化学的性格を有する同種グロブリン産生細胞、血清中の γ G, γ M を貪食した細胞も含まれるであろうし、更に組織間の血清 γ G, γ M も陽性に染まってよいわけである。

所で IgM は古く1937年 Heidelberg 氏¹⁵⁾によって発見せられ、その後続々とその性格がわかって来ている¹⁶⁾。分子量では γ G の6倍に相当しているが¹⁷⁾、決して γ G の重合物質とは考えられていない。糖含量に大き

な差異が見られている¹⁶⁾。抗赤血球抗体¹⁸⁾、ワツセルマン抗体¹⁹⁾、リウマチ因子²⁰⁾、自家抗体²¹⁾²²⁾、チフス菌O抗原の抗体²³⁾などが IgM の性格を有することが古くから知られている。最近は通常の水溶性蛋白質に対する抗体にも IgM が発見されるようになり、同じ determinant group に対する IgG, IgM という 2 種の抗体が検出されるようになったのである。

抗体のこのような物理化学的に全く異なるクラスの出現を決定する因子としては多数のものがあるが、これをまとめると¹⁶⁾、

1) 抗原の化学的組成：先述の各種 IgM 抗体からも推察される通り、化学的には一般に大分子又は細胞のような複雑抗原に対する抗体は IgM 型である傾向が強い。

2) 感作の方法や期間：感作の初期には IgM が作られ、免疫後時間がたつと、あるいは免疫を長く続けると IgG 抗体産生に変わる²⁴⁾²⁵⁾。感染症における抗体が、感染初期に IgM、中期以後 IgG 系に変わることが知られている²⁶⁾。

3) 年齢：個体発生時に未熟なものは IgM 抗体反応しか示さない。例えば成熟動物では IgG 反応しか起こさないチフス菌抗原が、新生動物では IgM 反応を起こす事実である²⁷⁾。

4) 抗体産生の場所：同じリンパ節内でも場所によって抗体の出来る種類が異るとの報告⁸⁾もある。これに関しては後程ふれる。

5) 遺伝的因子：この例として、O型のヒトは IgM 型同種血球凝集素を産生し易く、AあるいはB型ヒトは IgM 型を産生し易いとの報告²⁸⁾を見る。またマウスの系統によって両種抗体の産生態度に一定を認めた報告²⁹⁾もある。

6) 動物種：系統発生的に原始的な動物では IgG 反応しか起こしえない事実³⁰⁾がある。また肺炎菌多糖類に対し、ウマは IgM 型、ウサギその他は IgG 型抗体を作り易い³¹⁾。

さてわれわれは既に結核死菌免疫ウサギで Boyden 抗体は IgM が先ず現われ、後期に IgG が遅れて出現するのを認めた⁹⁾。またその抗体の量的問題から見ると IgM 抗体が IgG より重要な役割を演ずることも認めた。

遅延型アレルギーと IgM との密接な関係を強張する学者もいる⁷⁾。そこで直接にこの γ M の産生状態を細胞レベルで観察したいというのが今回の願目であった。

その方法として蛍光法をとった場合、しかし幾つかの障害に突き当たる。まず、ウサギの γ M を染めるためにはウサギ γ M 抗原・抗体系を作らねばならない。具合

の悪いことに γ M はウサギ血清中には僅か 1% 以下しか含まれていない。そこで大量の血清から γ M の分離・精製が第一の仕事になった。IgM の分離には多くの人が多くの方法で分離しているが、われわれはクロマトグラフ法を超遠心法を重ねて使用した。この方法はロスが多いかも知れないが精製という面では優れたものと考えられる。なお、超遠心像では最終産物に 19S 以外に 4S よりもっと小さい分子の混入を見た。

遠心前には見られず、また超遠心の回数を重ねると若干増量するかも知れたので、あるいは超遠心という操作による解離副産物であるかも知れない。しかし免疫電気泳動的には抗 γ M 血清と一本の沈降線しか認めえなかつた。

一方 γ G の方は Sober の第 I 画分を使用した。超遠心的にも免疫電気泳動的にもこれだけで充分単一成分をえたことを破認した。

さてこれらでニワトリを免疫したのであるが、抗原量の少いこと、抗体価の上昇率を考え、ニワトリに決めたのである。ただ通常なら Freund の Complete adjuvant を使用する所であるが、われわれの場合、結核死菌の使用は許されない。その抗血清に抗「ツ」抗体が入って来たら実験の目的にあわない。従って死菌を除いた incomplete adjuvant を用いざるをえなかつた。

それで抗体価の上昇も著明でなかつたのである。抗体価が低ければ、直接法で蛍光染色は不可能である。ために抗ニワトリグロブリン抗体をウサギに作らせ、これをラベルして間接的に抗 γ G, 抗 γ M の定着場所を知ったわけである。勿論抗 γ M 抗体は交叉反応を起すべき抗体成分を除くため γ G 抗原で吸収を行ってある。

次に染色成績であるが、一般的に γ G は鮮かによく染まるが、 γ M の染まりは悪い。染色時間を加減しても影響は見られない。 γ G, γ M 共に同じ数の夫々の抗体分子と結合するとすれば、分子の大きさに相当して染色態度にも差が現われるのではないかも想像した。又抗 γ M 抗体は γ G で吸収されているために染色性の低下が起ったのかもしれない。

ここで文献的に見た IgG, IgM 産生細胞論を見ると、IgG が形質細胞系で作られるという意見には全てが賛成しているようであるが、問題なのは IgM の方で、新生児では形質細胞がまだ出現していないような時期に IgM が見られること²⁷⁾、macroglablinemia 患者に形質細胞は少いが、見られないこと^{2)~4)}、IgM 生産場所は IgG とは異なること⁸⁾、IgM 反応なしで IgG 反応から出発させるような抗原が見つかること³²⁾、その他から IgM 産生系は形質細胞系ではなく独立の lympho-

reticular の細胞系から IgM が作られる意見がある (Stavitsky⁷², 花岡⁸² Svelag, Mandel³³²)。しかし Bussard³⁴, Hirschhorn ら³⁵ は IgM も形質細胞で作られるとし, Norsal³⁶, Mellors³⁷, Coons ら³⁸ は両型の抗体は同時に形質細胞で作られると述べているのである。

さてわれわれの今回の成績では, γ G 細胞は幼弱なあるいは若干成熟した形質細胞の形態をとっていることが多いが, 中には小リンパ球と見分けのつかない小形のものもある。他方 γ M 細胞は核が割合大きくて円形, 細胞質が中等量のものが多いが, 明らかに形質細胞と見なされる細胞あるいは形質細胞と区別つけられないものも見つかる。

また γ G 細胞は集団をなしていても一般に孤立性あるいは独立性に認められることが多いのに反し, γ M 細胞は他種の細胞あるいは網様構造に接していたり, または陽性細胞同志が互いに網様に連絡しているものが多い。ここでいう他の細胞とは網細細胞やリンパ球が多いが, 変性が強く, 時には細胞質のみが附着し, 附着細胞の種類を判断出来ないこともある。このような場合は一見 γ M 細胞の突起のようにも見える。

以上から両型保有細胞には若干の相異が見られるようであるが, γ M が明らかに形質細胞と思われるものに見られたり, 両者の中間形ともいえる小型陽性細胞を見たことは必ずしも両型は夫々独特の形態をとるとは云えないようである。普通染色による形態学で両系統を厳格に分離する方法のない現在, これ以上推論を進めるのは危険であろう。ただこれに関連して, 私達は成熟した形質細胞は抗体産生の終末細胞であって, もはや抗体蛋白合成は終わった形と考えている。電顕で拡張した現面小胞体で満たされた形質細胞ではもはや抗体蛋白の合成は行なわれてはいないと考えている。つまり immature plasma cell がそ本当の抗体産生細胞と云える。

Norsal 一派³⁶は先述の如く γ M 細胞は γ G 細胞の前身であり, 一定の時間がたつとその切換えが行なわれると考えている。その際一過性ではあるが double producer と呼ぶ両型抗体を胞体を持った細胞群を認めている。われわれの実験は, このような事実を確認する段階迄進んだものではないが, 明らかな double producer を認めることは出来なかった。

次に両型細胞の出現場所を見ると, 先ずこの実験で理想から言えば同一の切片を色素をかえた γ G, γ M 抗体で染めるか, 二重染色—二重撮影法などによって区別をはっきりさせるべきであったのだが, これは成功しなかったのである。それで連続切片の隣り合わせの切片を, 1枚は γ G, 他の1枚は γ M 染色をしたのである。従っ

て両切片には 4μ の差があり, 同一細胞がこの2枚にまたがる可能性は少ない。

だから正確な結果とは云えない。しかし集団として両者を見た時, 両者の分布を推定することは可能と考えられる。図1はこのようにして模写した2枚のスライドからの合成図である。結果的には成績で見られたように, 両型細胞の分布には明瞭な差異が認められた。

これも両系が夫々独立の産生系である意見を考えたくなる成績である。しかしわたたははまだ抗体反応の一断面を眺めたにすぎない。もっと広い分野から総合判断しなければならぬと考えられる。

次に時間的に両型細胞の数的変動を見よう。まず正常群では TPt 注射後早期から γ G, γ M 細胞が認められる。これは他の抗体グロブリン, あるいは正常グロブリンを産生する細胞であろう。両型細胞共ピークの時間はほぼ一致している。一方感作鬼ではピークの時間は正常群より早く来るが, 両型グロブリンについては時間的に余りはっきりした差はない。また量時に見ると感作群の第二次反応は相対的に見て正常群の第一次反応より弱い印象がある。このように IgM 反応が IgG 反応に先行するという今迄の成績には合致しないもので, むしろ γ G の方が先行するのにも見える。その理由の一つとしては先述の γ M の染色性が γ G より低いことをあげたい。おそらく γ M 反応は実際はわれわれのえた所見より, もっと強いものだと考えたい。

もう一つ不思議に思われるのは, 第1次反応の γ G, γ M 反応が相当強いものであることである。普通1次反応における特異抗体細胞すなわち IgM, IgG 細胞の出現はごく微量にすぎず, 血清抗体価もごく低い。これに反し2次反応では抗体細胞は遙かに多量に続々と出現し血清抗体価も著しく高い価に達する。このようなことから, 1次反応に見られた γ G, γ M 細胞反応は, いわゆる memory cell を産生するための反応であるか, あるいは非特異的な刺激反応であったといわざるをえない。普通染色でも1次反応においてすら, 多量の形質細胞の出現を認めることが出来る。このように一旦形質細胞系と判断されえた細胞が, 再び memory cell と呼ばれるような未成熟の小形細胞に先祖帰り (dedifferentiation) するものであろうか。しかしこれは今迄の常識に反する。すると非特異的に γ グロブリン合成が盛んになったものであろうか。しかし血清グロブリン量は1次反応ではそう増加しないものである。すれば, これらの細胞は成熟しないで死滅するものなのであろうか。

更に large pyroninophilic cell とこれらの γ G, γ M 細胞更には真の IgG, IgM 細胞この関連性をもって具

体的に、そして一関して調べてみる必要があると思われる。但しその研究に現在の螢光法を利用するのは期待が薄いようである。

もう少し感度の良い検出法を考えねばならない段階に来ていると思われるのである。

われわれが前報迄に染色しえた抗「ツ」抗体細胞は IgG 細胞であった。もし γ M 細胞でなく、特異抗体をもつ IgM 細胞を染め、同定しえたら実験は更に進展しうると思われる。われわれの今回の成績は IgG, IgM の細胞レベルでの研究のいわば踏段になるものだと信じている。

結 論

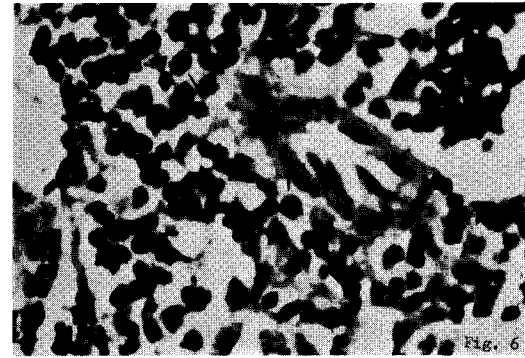
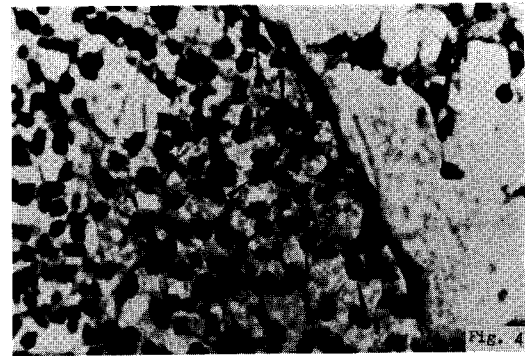
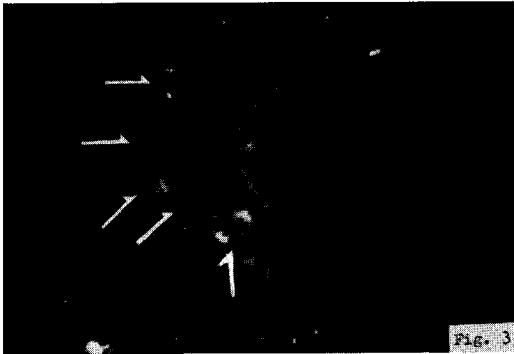
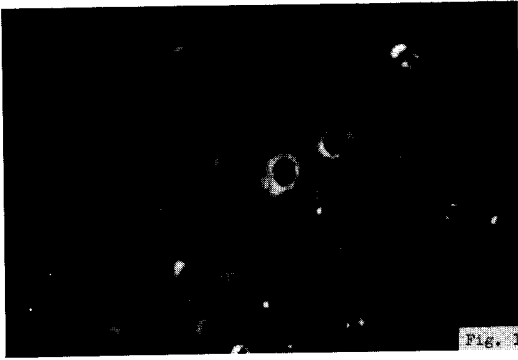
正常ウサギ及び結核死菌免疫ウサギに「ツ」蛋白画分 TPt を静注した際の脾、および足臍に注射した際の膝臓リンパ節について、 γ G, γ M の出現を螢光法で見るために、先ず技術的方法論を開拓し、更に時間的に出現の様態を観察した。

TPt 注射によって γ G, γ M は共に一定の経過を増量し、次第に減少したが、そのピーク時は両型ともほぼ同様であった。また、正常群と感作群の染色陽性グロブリン量には著しい差異は認められなかった。

γ G 保有細胞は形質細胞系に属し、 γ M 細胞はリンパ細胞系に属するものが多いが、形質細胞と目されるものに IgM を認めた場合もあり、両型細胞を形態的に区別するのは困難である。しかし両型細胞はその存在部位においては明らかな相違を示した。

文 献

- 1) Chase, M. W. : Proc. Soc. Exp. Bio. Med., **59**, 134 (1945)
- 2) Curtain, C. C. & O'Dea, J. F. : Austral. Ann. Med., **8**, 143 (1959)
- 3) Dutcher, T. F. & Fahey, J. L. : Proc. Soc. Exp. Med., **103**, 452 (1960)
- 4) Kritzman, J. et al. : J. Lab. & Clin. Med., **57**, 905 (1961)
- 5) Mellors, R. C. et al. : J. Exp. Med., **110**, 875 (1959)
- 6) Zucker-Franklin, D. et al. : Blood **20**, 56 (1962)
- 7) Stavitsky, A. B. et al. : Molecular & Cellular Basis of Antibody Formation, p577 Academic Press (1965)
- 8) 花岡正男 : 最新医学, **19**, 3137 (昭39)
- 9) 森川和雄 : 結核, **41**, 361 (1966)
- 10) 奥山春枝他 : 結核の研究, **21/22**, 13 (1965)
- 11) Sober, H. A. & Peterson, E. A. : Fed. Proc., **17**, 1116 (1958)
- 12) Rowe, D. S. & Fahey, J. L. : J. Exp. Med., **121**, 185 (1965)
- 13) Ishizaka, K. et al. : J. Allergy, **37**, 169 & 336 (1966)
- 14) Report of WHO Committee for Nomenclature of Human Ig : Mol. & Cell. Basis of Antibody Formation, p 269, Academic Press (1965)
- 15) Heidelberger, M. & Pedersen, K. O. : J. Exp. Med., **65**, 393 (1937)
- 16) Fahey, J. L. : Advances in Immunol., **2**, p44, Academic Press (1962)
- 17) Müller-Eberhard, H.J. & Kunkel, H. G. : Clin. Chim. Acta, **4**, 252 (1959)
- 18) Deutsch H. F. et al. : J. Immunol., **56**, 183 (1947)
- 19) Davis, B. D. et al. : J. Immunol., **50**, 1 (1945)
- 20) Kunkel, H. G. et al. : J. Clin. Invest., **38**, 424 (1959)
- 21) pressmann, D et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **96**, 773 (1957)
- 22) Goodman, H. C. et al. : J. Clin. Invest., **39**, 1595 (1960)
- 23) Grubb, R. & Swahn, B. : Acta Pathol. et Microbiol. Scand., **43**, 305 (1958)
- 24) Abelson, N. M. & Rawson, A. J. : Transfusion, **1**, 116 (1961)
- 25) Bauer, D. C. & Stavitsky, A. B. : Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., **47**, 1677 (1961)
- 26) Laurell, A. B. & Malmquist, J. : Acta Pathol. et Microbiol. Scand., **51**, 187 (1961)
- 27) Smith, R. T. : Cellular Aspects of Immunity, Ciba Found. Symp., p348, J. & A. Churchill Ltd., London (1960)
- 28) Rawson, A. J. & Abelson, N. M. : J. Immunol., **85**, 640 (1960)
- 29) Fahey, J. L. & Lawrence, M. E. : Fed. Proc., **21**, 19 (1962)
- 30) Papermaster, B. W. et al. : J. Exp. Med., **119**, 105 (1964)
- 31) Kabat, E. A. : J. Exp. Med., **69**, 103 (1939)
- 32) Ada, G. L. et al. : Nature, **199**, 1257 (1963)
- 33) Svehag, S. & Mandel, B. J. : J. Exp. Med., **119**, 1 & 21 (1964)
- 34) Bussard, A. E. & Binet, J. L. : Molec. & Cell. Basis of Antibody Formation, p 477 (1963)
- 35) Hirschhorn, K. et al. : Science, **142**, 1185 (1963)
- 36) Nossal, G. J. V. et al. : J. Exp. Med., **119**, 485 (1964)
- 37) Mellors, R. C. & Korngold, L. : J. Exp. Med., **118**, 387 (1963)
- 38) Wellensiek, H. J. & Coons, A. H. : J. Exp. Med., **119**, 685 (1964)



<写真説明>

- Fig. 1. 正常兎に TPt 足蹠注射後72時間の膝関節リンパ節, 抗 γ G 蛍光染色, 形質細胞が陽性に染色されている。
- Fig. 2. 同上リンパ節, 抗 γ M 蛍光染色, γ M 細胞集団が見られる。細胞の形態は reticular であるが形質細胞様のもも見られる。
- Fig. 3. 正常兎に TPt 注射後7日の膝関節リンパ節, 抗 γ M 蛍光染色, 矢印の陽性細胞を次の写真と比較する。
- Fig. 4. Fig. 3. 写真撮影後, 同じ切片をヘマトキシリン・エオジン染色, Fig. 3. の矢印陽性細胞に再び矢印がつけてある。 γ M 細胞は原形質が互いに連絡しようとする傾向を示す。
- Fig. 5. 正常兎に TPt 静注48時間の脾, 抗 γ M 蛍光染色, 矢印の γ M 陽性細胞が見られる。
- Fig. 6. 正常兎に TPt 静注72時間の脾, ヘマトキシリン・エオジン染色, 抗 γ G 陽性細胞は矢印の細胞である。幼弱な形質細胞と判断される。