HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Macrophage Migration Inhibition現象における血清因子の影響
Author(s)	菊地, 由生子; 森川, 和雄
Description	
Citation	結核の研究, 32, 9-16
Issue Date	1972
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26816
Type	departmental bulletin paper
File Information	32_P9-16.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Macrophage Migration Inhibition 現象における血清因子の影響*

菊地由生子・森川和雄
（北大結核研究所病理部門）

（受付　11月29日，1971）

従来，遅延型過敏症成立生体の諸反応は，主として細胞性免疫で説明されており，体液性因子が関与していると云う確実な結論は，現在まで出されていない。一方，遅延型過敏症の in vitro assay の1つの方法として，遅延型過敏症成立生体から得た macrophage 又は末梢白血球の capillary migration inhibition 現象の観察が用いられるようになって来た[1]。この際，感作生体のリンパ球を特異抗原と共に培養すると，その上清に migration inhibition (MI)を惹起する有効物質として，migration inhibition factor (MIF)[2]が出されることが知られている。そして，このMI現象は薬理学的な有効物質のMIFによる現象であって，感作生体の抗血清には影響されないと云う考えが支配的[3]であり，現在迄詳しい検索なされていない。最近，少数の報告[4)〜7)]により，MI現象には抗血清も関与しうる事実が報告されている。一方，遅延型過敏症生体における抗血清の影響については，cytophilic antibody (Nelson)の "macrophage disappearance reaction"[8]，遅延型過敏症抗血清移入の成立[9]，同種移植の移植片脱落促進現象[10]などが報告されている。

我々は，結核菌により遅延型に感作された家兎の肺胞細胞のMI現象をしらべた際，その感作家兎の抗血清を遊走培地に加えるとMI現象が多くの場合増強されることを観察して来た。そこで今回は，MI現象を示す液性因子が抗血清中に存在するか否か，存在するとすれば，どんな物質かを検索するために実験を行なった。

実験材料と方法

実験は1）〜9）まであるが，これらの実験に共通の材料，方法についてまとめて述べ，個々の点に関しては，各実験の項に記載する。

1）**動物**：体重3,000g前後の家兎，♂，♀110匹，

2）**感作抗原と感作方法**：結核菌加熱死菌 H37Rv 株10mgに，Freund adjuvant を添加して皮下に感作し，1カ月おいて再感作後，約2週目に5mgの同死菌の生食水浮遊液を静注し，4日目に肺胞採取の実験に供した。他方，結核菌抗原と比較の意味で，bovine γ-globulin(BGG)を抗原として，20mg 皮下又は BGG 20mg に complete adjuvant を加えて感作し，6週後に同量の BGG で再感作した家兎肺胞細胞を用いた。

3）**遊走用肺胞細胞**

Myrvic[11]の方法にならって肺胞細胞を採取するが，家兎は頸動脈より全採血をして，肺組織から出来るだけ血球を除く。その後気管上部から摘出した肺に，heparin 0.5 U/mlの割合に加えた Hanks 液で経気管性に肺を満し，数回肺胞細胞を洗い出す。これをHanks 液で3回洗って最終的には，20%正常家兎血清を加えた Eagle MEM 培養液で15×10^6/mlの濃さの細胞浮遊液とする。

4）**遊走実験用抗原**

a）ツベルクリン蛋白（TPtと略す）は三塩化酢酸沈澱蛋白を25μg/mlの割合で用いた。

b）ツベルクリン多糖体（TPsと略す）は，80% methanol 画分[12]を用い，10μg/mg の割合で遊走培地に加えた。

c）BGG は 50μg/ml の割合で使用した。

5）**肺胞細胞の capillary migration 法**[13]

上記の方法で採取した細胞浮遊液は，水流真空ポンプで，一端を seal した hematocrit 用 capillary に吸入し，800 rpm，1分間正確に遠心して細胞を capillary の seal 端につめる。細胞と培養液の境界面で capillary を切り，これを24×24mmの cover glass の中央に silicon grease ではりつける。一方，Mackaness chamber の変法として，3穴の凝集反応用 hole glass を用い，sampleを加えた培養液で満し，capillary をはりつけた面を液面にむけて cover glass を3穴それぞれに paraffin で封印する。この際気泡を入れないように注意する。この chamber を37°C，5% CO_2 ガス下で培養し，24，48時間で macrophage の migration area を測定する。測定は倒立顕微

* 本研究は，第21回日本アレルギー学会総会シンポジウムに発表した。

鏡の stage 上の副尺つき目盛で，migration area の縦横の直径の積をとり，3穴の平均を出す。対照群のそれとの間の比を%で示し，これを migration index (MI)とする。

$$MI = 100 \times \frac{\text{抗原＋資料加培養液での migration area}}{\text{資料加培養液での migration area}}$$

なお，% inhibitionとしては(100—MI) を示した。

6) 抗血清

血清の沈降価が充分高くなるように結核死菌 10 mg に adjuvant を加えて，5～6回皮下に感作し，沈降価が64×～128×に達した動物から採血使用した。BGG 感作は，20mgづつ2又は3回皮下に注射して，沈降価の高いものを選んだ。

7) 血清分画

a) 飽和硫安法：型の如く飽和硫安液を30%，60%，80%と階段的に濃度を上げて，各々で得られた画分を用いた。

b) DEAE-Sephadex A-50 column chromatography 90×2.5cmのcolumnで，0.1M tris-HCl buffer pH 8.3で分画を開始し，連続的に NaCl 濃度を0.3Mまで漸増して溶出させた。試料は starting buffer で透析後で13mℓ，流速15mℓ/hr，5 mℓづつ fraction collector で集め，分光光度計で O.D.280mμを測定した。

c) Sephadex G-75 gel filtration

90×2.5 cm の column に Sephadex をつめ，0.15 M NaCl-0.01M tris-HCl buffer, pH 8.3 を用いた。試料は starting buffer で透析し，2 mℓ(正常血清) 又は3 mℓ(抗血清) を用いた。流速 6.5 mℓ/hr，5 mℓづつ fraction collectorで集め，O.D. 280mμを測定した。

8) 血清分画画分の免疫電気泳動法(IE)による同定

免疫電気泳動法は，基本的に Scheidegger[14] 法に従った。Noble agar を精製し，pH 8.6 の veronal buffer (Laurell)[15] を用いて，40mA，45分通電した。硫安分画々分は5～6倍に濃縮し，chromatography で得た画分は20～30倍まで可及的に濃縮してから，0.15M NaCl で透析し，電気泳動後に抗兎全血清で沈降線を作った。

結　　果

1. 結核死菌感作家兎肺胞細胞の capillary migration inhibition test

TPt 25μg/mℓ を加えた培養液で，免疫兎の肺胞細胞を migrate させると，migration index 75% 以下で MI 現象がみられたものは20例中12例，75%以上で MI 現象の弱いか，みられなかったもの8例であった。抑制が弱かった原因は最終感作後1カ月以上を経過したものが含まれていたためと思われる。

次に正常血清の代りに自家血清，すなわち結核血清を用いた例と比較すると，27例中10例は，結核血清を用いた方に MI 現象強く，ほぼ同程度のもの12例，逆によく migrate する例5例であった(表1)。

表1　感作家兎肺胞細胞のMIに及ぼす結核血清の影響

		例
$\frac{\text{抗原＋正常血清}}{\text{正常血清}} \times 100$	>	$\frac{\text{抗原＋抗血清}}{\text{抗血清}} \times 100$	10/27
	≒		12/27
	<		5/27

2. 遊走培地内結核血清の濃度による影響

沈降価 64×又は 128×の結核血清を正常血清で3段階に稀釈して培養液に加え，まず感作細胞の migration をしらべた。図1に示すように，抗原を加えなくても多くの場合，抗血清の濃度が高いほど MI 現象がつよかった。この培養液に抗原を加えると migration area は，全体に小さくなり，一層 MI 現象が著明になった。同様の実験を正常細胞について行なうと，抗原を加えない場合の MI 現象は抗血清の濃度に影響されなかったが，抗原を加えると抗血清の濃度に比例して MI 現象がつよかっ

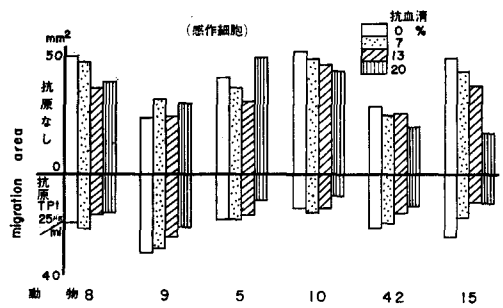

図1　Migration におよぼす結核血清の影響

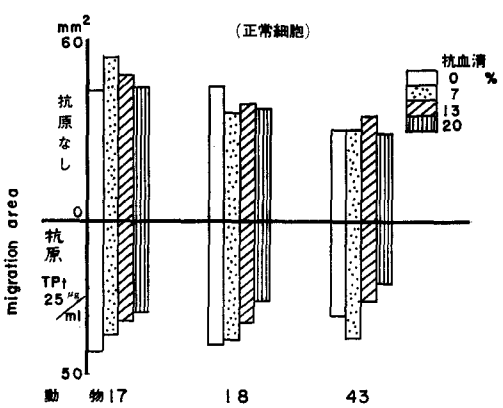

図2　Migration におよぼす結核血清の影響

た。すなわち抗血清中には抗原の存在下で，MI 現象を起す因子のあることが，示唆された(図２)。

3．「ツ」蛋白抗原の抗血清による吸収試験

TPt と抗血清の組合せで生ずる沈降物質を除いた上清は，MI 現象を惹起すか否かをしらべた。培養時の TPt 濃度が25μg/mℓとなるように調整して，沈降価の高い抗血清を，正常血清で３段階に稀釈したものと合わせて，4°C，１週間振盪しながら incubate し，充分つよく吸収を試みた。これを 10,000rpm，20分遠心し，その上清を遊走培地に20%の割合にそれぞれ加えて，感作及び正常細胞の MI 現象をしらべた。

結果は表２に示すように，収吸抗血清の上清の濃度が高いほど migration area が小さかった。この現象は感作細胞，正常細胞を問わずみとめられたので，2.で得られた結果からすると，沈降性のTPt 抗原又は抗血清が充分吸収されなかったか，或いは，その沈降性抗原―抗体結合物は，MI 現象に強い関連性がなかったものと考えられる。

表２　抗血清による抗原吸収試験

absorb anti-serum	normal serum	migration area (㎟) immune macrophage 1	2	13	33	38	normal macrophage 35
0%	20%	16.0	30.9	30.5	33.2	11.7	42.3
7	13	14.1	27.6	24.8	26.3	6.7	37.7
13	7	12.2	19.0	21.1	25.0	6.5	39.7
20	0	8.5	19.8	27.5	22.5	4.5	29.6

4．「ツ」多糖体の影響

一般に遅延型反応に関係がなく，沈降抗原といわれるTPsが，感作及び正常細胞の MI 現象にどう影響するか，また結核血清との相関，TPt 抗原との比較も行なった。図３に示すように，感作細胞では正常血清加培養液内では，TPs，TPt 共に MI 現象がみられ，抗血清と組合わせると，更に migration area が小さくなり，MI 現象の増強がみられた。同様に，正常細胞に TPsと抗血清

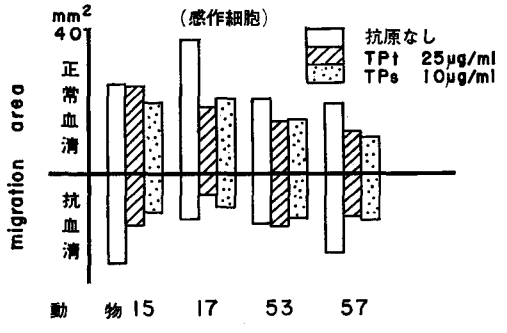

図３　Migration におよぼす TPs 抗原の影響

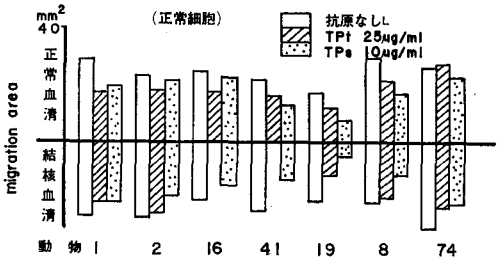

図４　Migration におよぼす TPs 抗原の影響

を組合わせると(図４)，感作細胞より弱いが，migration areaが小さくなった。又 TPs と正常血清の組合わせでも migration areaの或程度の縮小があったところから，TPs，TPt 共に非特異的抑制作用があると思われる。

5．抗 BGG 血清の影響

結核血清の MI 作用と比較するために，即時型感作抗 BGG 血清の MI 作用をしらべた。結果は表３に示すように，感作細胞及び正常細胞に対して，共に BGG 抗原のみでは MI 現象を起さなかった。しかし，BGG と抗 BGG 血清の組合わせで MI 現象をみると，いずれの場合も MI 現象がみられた。

表３　抗ＢＧＧ血清のＭＩに及ぼす影響

Migration Index (%)

使用細胞 感作	番号	培養液加 正常血清	抗BGG血清
BGG 20mg	26	95.4	
	31	125.0	76.3
	32	95.7	67.4
	35	97.1	69.3
	36	71.7	74.8
BGG 20mg + compl.adj	126	108.6	
	29	103.9	77.0
	30	108.8	75.6
正常家兎	1	94.5	87.4
			68.5
			84.2
	2	96.2	53.9
			61.3
			75.7

6．結核血清の非動化及び補体の影響

結核血清を 56°C，30分，型の如く非動化して，遊走培地に加え，６例の正常細胞について，MI 現象をしらべた。結果は表４に示すように，ほとんどの場合，抗血清の MI 作用が低下或いは消失して，よく migrate する結果を得た。そこで，非動化血清に，新鮮モルモット血

清を培養液の1%の割合に加えて正常細胞の MI 現象をしらべた(表5)。2種類の結核血清についてみると，非動化により migration index は上昇し，補体を加えると再び migration index が低下する傾向がみられた。この作用が補体そのものの作用でなく，抗血清中の因子と関連することは，補体のみを培養液中に加えても MI 作用がみられなかったことから知れる。

表4　抗血清非動化の影響

Migration Index (%)

血清		正常細胞 1	4	2	3	30	31
結核	33	71.8	71.7			61.4	57.1
	33-I	108.5	58.7			73.6	90.6
	38	82.3	77.5	33.7	80.8		
	38-I	127.4	96.8	77.0	75.6		
	63				75.8		
	63-I				93.9		
正常	NRS	97.1	75.7	63.4	91.2	93.5	70.2
	NRS-I	125.3	91.5			92.5	71.0

I：56℃　30′ 非動化

表5　Complement の影響

Migration index (%)

血清		正常家兎 1	2	3	
結核	13	78.9	79.2	61.4	
	13-I	81.6	80.4	73.6	
	13-I+C′	65.5	68.2	83.6	
	22	81.3	74.4		
	22-I	84.5	86.6		
	22-I+C′	78.9	79.2		
正常	1	97.6	113.2	93.5	
	1-I			92.9	
	1-I+C′			107.0	
モルモット	C′	91.1	126.5		
		97.8			I：56℃ 30′ inactivation
	C-I	96.1	102.8		

7．抗血清中の macrophage cytophilic factor の影響

結核血清と対照の正常血清を用意し，それぞれ一部をとって非動化した。又結核血清の γ-globulin は30%飽和硫安法で塩析して得たものを，Eagle MEM 培養液で透析して用いた。

正常細胞15×10⁶/mℓの細胞浮遊液 0.5 mℓに対し，各々の血清又は γ-globulin 1 mℓを加えて，37°C，1時間 incubate した。それを新鮮な Eagle MEM 液で1回洗ってから細胞を capillary につめ，正常血清を加えた培養液で MI 実験を行なった。この際，非動化血清で処理した群には，非動化正常血清を用いた。それぞれの群で，migration index を出すと表6の如くである。すなわち，抗血清で処理した4例のうち3例では MI 現象がみられ，非動化抗血清処理では MI 現象はみられなかった。又，正常血清でも非動化によって migration index が上昇する傾向がみられた。すなわち，抗血清中には 56°C，30′ で効力が低下し，macrophage cytophilic で，MI 作用を示す factor があることが示唆された。しかし，γ-globulin 中の cytophilic factor ではないかと考えられる。

表6　cytophilic factor の検索

Migration Index (%)

serum	37	38	normal macrophage 39	40	49	56
TRS	69.6	112.0	80.3	76.7		
TRS-I	101.3	125.2	95.7	117.6		
TRS-γ-gl					11.9	102.1
NRS	101.2	100.5	71.9	87.1		
NRS-I	117.4	114.2	101.3	101.1		

TRS：結核血清　NRS：正常血清　I：56℃，30

8．結核血清の飽和硫安分画々分の影響

上述の結核血清中の活性因子は，どの血清分屑にあるかを，まず検討するために，型の如く，飽和硫安の30%，50%，80%及び80%以上で塩析を行ない，Hanks 液で透析後，O.D. 280mμ を測定して蛋白量の目安とし，蛋白量を一定にして培養液に加え正常細胞の遊走試験を行なった。免疫電気泳動法で，主として γ-globulin を含む硫安30%及び50%の画分に MI 作用はなく，albumin，α-globulin を含む硫安80%及び80%以上の画分に MI 現象がみられた。そこで，更に多種類の結核，及び正常血清について，γ-globulin を含む硫安50%以下の画分(Fr. Ⅰ)と，albumin を含む硫安60～80%の画分（Fr. Ⅱ）の2つ

表7　抗血清画分のMⅠ作用

Migration Index (%)

分画血清		分画硫安濃度 50%以下	60-80%
結核血清	No. 2	110.2	86.3
	13	97.8	75.1
	15	90.4	81.9
	22	139.9	90.1
	33	103.5	80.7
正常血清	No. 1	130.8	97.7
	2	113.8	105.9
	3	105.4	117.2
	4	92.4	94.4
	5	92.2	103.8

に分けて，MI 現象をしらべた。結果は，表7に示すように，結核血清Fr. Ⅱだけに，MI作用がみられ，Fr. Ⅰ及び正常血清のFr. Ⅰ，Ⅱ共にMI現象がみられなかった。

9. 血清飽和硫安画分の column chromatography 分画と各画分の MI 作用

1) 結核血清画分の DEAE-Sephadex A-50 fraction

結核血清 No. 15の60～80%飽和硫安画分について分画した。条件は，実験方法7)のb)に記載した。結果は図5に示すような溶出曲線が得られた。この fraction のうちから，大きな peak に一致した5つの画分をとり出し，O.D.280mμ を測定した。これを蛋白量の目安として調整してから各々を Eagle MEM 液で透析し，遊走培地に加え，MI 作用をしらべた。% inhibition は，Fr. 3 が16.5%，Fr. 4 が12.9%でよわい MI 作用であっ

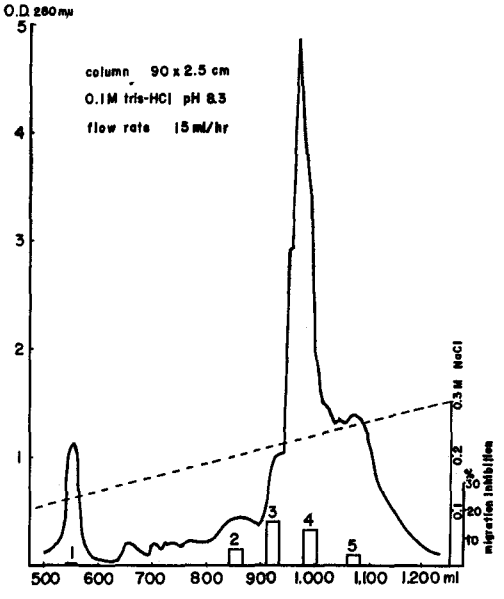

図5 結核血清80%飽和硫安画分の DEAE-Sephadex A-50 fraction とその MI

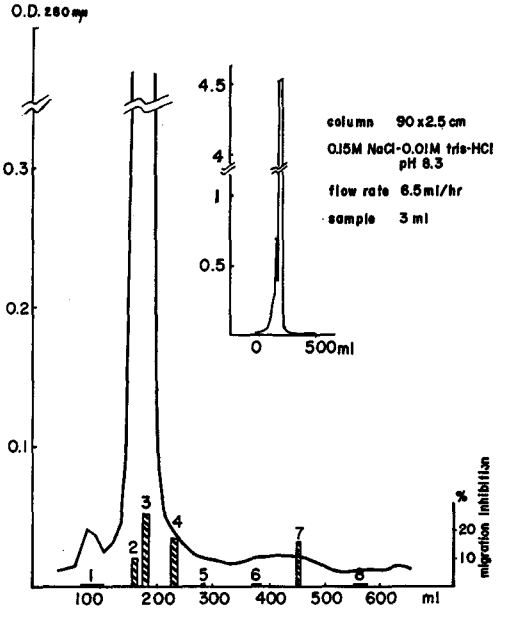

図7 結核血清60%以上飽和硫安画分の Sephadex G-75 fraction とその MI

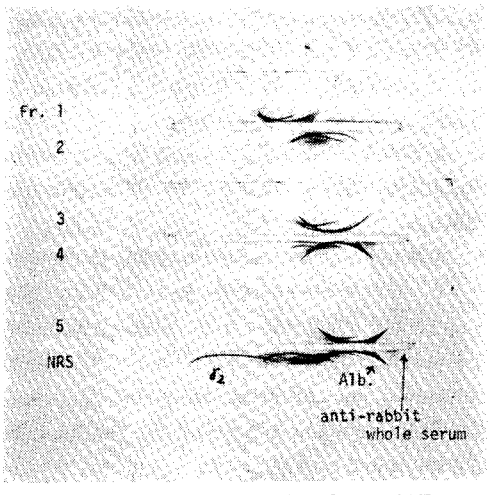

図6 結核血清80%飽和硫安画分の DEAE-Sephadex A-50 fraction の免疫電気泳動像

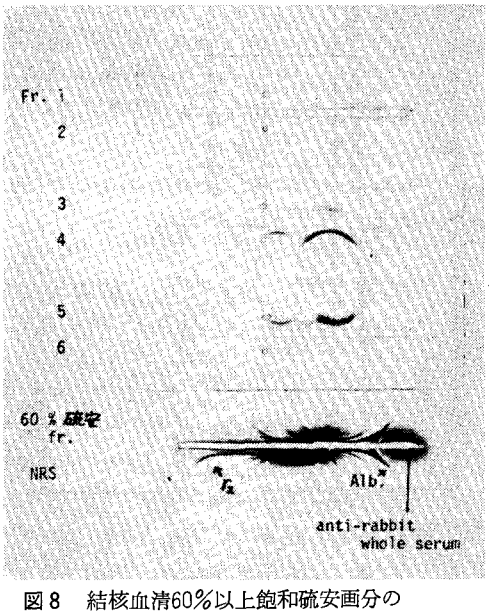

図8 結核血清60%以上飽和硫安画分の Sephadex G-75 faction の免疫電気泳動像

た。これらの画分を濃縮後，IEを行なうと，図6に示すように albumin，α-globulin に易動度をもつことが知れた。

2) 結核血清の Sephadex G-75 fraction

結核血清 No.13 の 60% 以上飽和硫安画分について，Sephadex G-75 gel filtrationを行なった。条件は実験方法7)のc)に述べた。結果は図7に示す溶出曲線が得られ，8つの画分をとり出して，1)と同様にMI現象をしらべた。すなわち，Fr. 3 に比較的強いMI 現象 (26.0% inhibition) がみられ，Fr. 4 (17.1%)，Fr. 7 (13.4%)にも弱い MI 現象がみとめられた。これらの画分を各々濃縮して IE を行なうと，図8に示すように，Fr. 3，4 は albumin，α-globulin に易動度が一致するが，Fr. 7 は蛋白量が低いためか，或いは抗兎血清中に対応する沈降抗体がないためか，沈降線が得られなかった。

3) 正常血清の Sephadex G-75 fraction

正常血清 No. 2 の 60%以上飽和硫安画分 2 mℓ について，結核血清と同じ条件で gel filtrationを行なった。その結果，図9の溶出曲線を得た。結核血清の溶出曲線に類似の pattern を得たので，ほぼ対応する画分について8つをとり出し，MI 作用をしらべた。その結果Fr. 7 にのみよわいMI 作用(13.8%)をみとめたが，IE による沈降線は得られなかった。

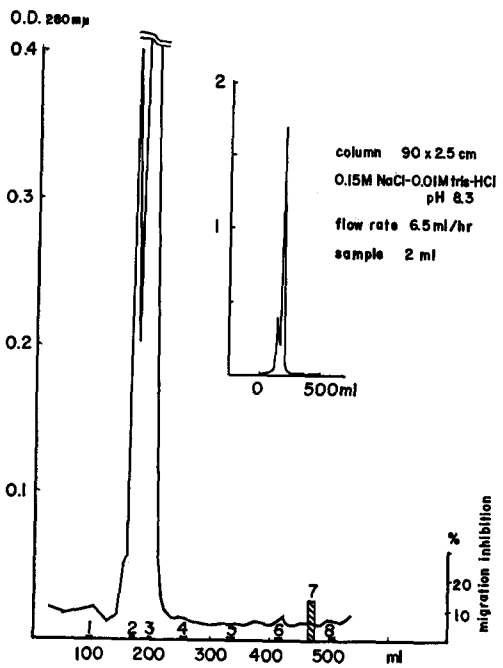

図9 正常血清60%以上飽和硫安画分の Sephadex G-75 fraction とその MI

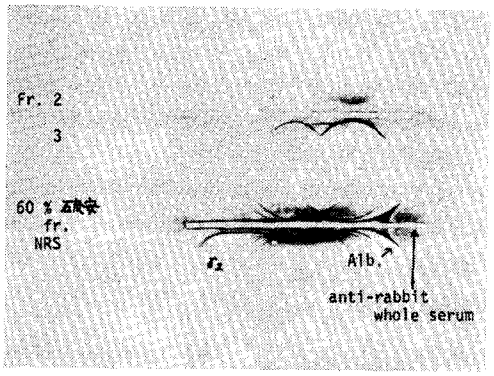

図10 正常血清60%以上飽和硫安画分の Sephadex G-75 fraction の免疫電気泳動像

総括及び考案

以上をまとめると，

1. 結核死菌感作家兎肺胞細胞の capillary migration は「ツ」蛋白抗原によって抑制される。遊走培地内に自家結核血清を入れると，MI 現象が増強されるものが多い。

2. MI 現象に対する結核血清の濃度の影響は，沈降価の高い結核血清を正常血清で3段階に稀釈して培養液に加え MI 現象をみると，抗原を加えた場合には，感作細胞でも正常細胞でも，抗血清の濃度に比例して MI 現象が増強された。

3. 「ツ」蛋白抗原の抗血清による吸収試験では，正常血清で3段階に稀釈した結核血清とTPt抗原を合わせて充分吸収した上清について，MI 現象をしらべると，2. とほぼ類似の結果が得られた。

4. 「ツ」多糖体の MI 作用では，

感作細胞に対しては，TPt抗原と同様の MI 作用がみられ，結核血清との組合わせでは，感作細胞はもちろん，正常細胞に対してもある程度の MI 作用がみられた。

5. 抗 BGG 血清は，BGG 感作細胞と正常細胞に対して抗原と共同して MI 作用を示す。

6. 結核血清の非動化により，抗血清の MI 作用は低下又は消失し，補体を加えると，その MI 作用はある程度回復した。

7. 結核血清中の macrophage cytphilic factor の影響をみると，抗血清及び正常対照血清で，37°C，1時間処理した正常肺胞細胞の MI 現象は，抗血清処理細胞に抗原を組合わせた場合のみ MI 現象がみられた。非動化抗血清で処理しても，MI 現象はみられなかった。又，結核血清の 30% 飽和硫安分画 γ-globulin で処理した細胞では，MI 現象はみられなかった。

8. 結核血清の飽和硫安分画々分の影響をみると，30% 及び 50%飽和硫安分画による γ-globulin を含む画分

には，MI 作用がみられなかった。一方，80%及び80%以上飽和硫安分画による albumin, α-globulin を含む画分に，MI 作用がみとめられた。

9．60～80%飽和硫安画分のcolumn chromatography 分画々分については，

1) DEAE-Sephadex A-50 画分で，得られた5つの画分中，albumin, α-globulin に易動度をもつFr. 3 及び4によわい MI 作用をみとめた。

2) Sephadex G-75 画分では，結核血清分画々分8つについて，しらべると albumin, α-globulinを含むFr. 3，4に比較的強い MI 現象が，抗原存在下でみられた。Fr. 7にも，よわい MI 作用がみられたが，IE で，易動度を知ることは出来なかった。

正常血清の同様の分画で得られた画分のうち，抗血清のFr. 7に対応する画分によわいMI 現象がみられた。このことから，結核血清にみられたFr. 7のMI 現象は，結核血清に特異的な因子ではないと考えられる。

以上が総括である。さて，遅延型感作動物の血清中に，MI 現象を起す因子があるという報告は比較的少なく，その因子の性状についても意見はまちまちである。Amos[4]らは一定の方法で BCG 感作したモルモット血清中に出来る cytophilic antibody が，特異抗原の存在下で MI 現象を起すが，これは macrophage，リンパ球などの細胞免疫学的機序で起きた現象でなく，2次的な MI 現象としておきたものであるとしている。又，Heise[5]らは，BCG 感作モルモット血清中の cytophilic antibody 及び感作 macrophage の加熱溶出物質が，MI 現象を惹起し，これはSephadex G-200による分画で，γ-globulin であることを報告している。我々の得た血清因子は，cytophilic ではあるが，albumin, α-globulin附近に易動度をもつ点で大きく異っている。最近 Nelson[16]は，マウスを，羊赤血球に adjuvantをつけて感作した7日目の血清中にみられるfast α_1-globulinが，遅延型反応に関係のあることを報告している。これは凍結融解に弱いが，耐熱性で，trypsin 感受性であり，補体結合能力はないという。又，免疫学的特異性をもつが，γ_2-globulin などの従来の抗体免疫グロブリンとは明らかに異った抗体であるという。我々の得た因子は，易動度，免疫学的特異性のある事，cytophilic の性質がある事，などの点で類似するが，補体が関与しているらしい点，それと共に耐熱性の点で異っている。一方，Bloom[17]らは，MIFの純化の過程で，その分子量は50,000～75,000で，α-globulin 又はそれより早い易動度をもっと報告している。しかし，それには免疫学的特異性はなく，純粋に薬理学的な mediator であろうとしている。他方 Amos[18]らは，不溶性抗原を用いて感作リンパ球培養上清から MIF を得，完全に抗原を除外してみると，MIFには MI 作用はなく，抗原を加えてはじめて MI 作用がみられた点から，MIF は "antibody-like" factorで，免疫学的特異性を強調している。又，最近，山本[19]らは，BCG cell wall で脱感作したモルモット血清中には，MIF とよく一致した作用を示す因子があり，Sephadex G-200で分画すると，albumin に一致する画分に有効因子を見出した。これは MIF が血中に流入したものと考えている。

これらの報告を合わせ考えれば，Nelson の fast α_1-globulin からなる cytophilic antibody と，MIF の性状及び血中に混入する可能性などから，両者の関連性が浮び上がるが，互に異った場で，異った条件下における成績であり，結論は今後の検索にまたねばならない。しかし，少なくとも，albumin, α-globulin附近に易動度をもつ物質が，何らかの意味において遅延型反応と密接な関係があると思われる。我々の教室の奥山[20]は，結核感作 macrophage の抗原処理培養上清に皮膚反応有効物質が含まれ，これは albumin, α-globulin に易動度を有すると報告している。又 Pick[21]らは，感作リンパ球を用いて同様の実験をし，slow α-globulinを証明して，皮膚反応性物質として報告した。更に Dupuy[22]らが IgX と呼んでいる遅延型感作動物のリンパ球から得られる一種の免疫グロブリンも，β-globulin より早い易動度をもつと指摘し，その transfer の成功を報告している。又，Cole[4]ら，Rauch[23]ら，Tsuji[24]らも α-globulin を主に含む血清画分による遅延型過敏症の passive transfer を報告している。

我々の見出した因子もこの辺の物質に近いと思われるが，即時型感作血清としての対照であるBGG抗血清が，結核血清と同様の MI 作用を示した事実は，結核菌感作血清中に，いわゆる即時型反応に関与する血清抗体が共存し，結核血清による MI 作用の桟序解明を複雑にしている可能性がある。又「ツ」多糖体は一般に，血清沈降反応と関連性が深いとされているが，我々の用いた粗な「ツ」多糖体にも，結核血清と共同した MI 作用があり，少くとも分画しない生の結核血清には，いわゆる血清抗体と抗原との共同作用が，MI 現象に関与しているとも考えられる。しかし，Amos らによると，BCG 感作による cytophilic antibody は，「ツ」多糖体[25]抗原とつよい親和性があるという。従って，Chaparas らによって報告されたように，「ツ」多糖体が MI 現象を示す事実と考え合わせて，興味がある。

いずれにしても，MI 現象は，遅延型過敏症の in vitro での表現であるにせよ，MI 現象は遅延型過敏症に特有な MIF によってだけ起こる現象ではないであろう。他に，いくつかの複雑な因子が MI 現象を惹起しうると考えられる。その1つが血清因子である。ことに in vivo

での遅延型反応には，macrophage，リンパ球，抗原が関与するばかりでなく，常に血清因子の介在が考慮されなければならない。いわゆる抗体，cytophilic antibody，補体などが，抗原と直接或いは細胞相互の干渉を介して，間接的にMI現象に関与する可能性がある。

この意味においても，MI現象における血清因子の作用桟序の解明は，意義あるものと思われる。

結　　論

1) 結核死菌感作家兎肺胞細胞の capillary migration は，「ツ」蛋白抗原により抑制され，抗血清により抑制は増強された。

2) 結核血清は，濃度に比例して，感作及び正常細胞の migration inhibition をおこした。

3) 「ツ」蛋白抗原は，抗血清による吸収後も抗血清の濃度に比例してMI現象を示した。

4) 「ツ」多糖体抗原は，「ツ」蛋白抗原とほぼ同程度のMI作用を示した。

5) 抗BGG血清は，BGG感作細胞，正常細胞に対し，抗原と共同して作用を示した。

6) 結核血清の非動化はMI作用を低下させ，complement の添加によりある程度回復した。

7) 結核血清中に macrophage cytophilic factor があり，MI作用を示した。これは非動化によりその作用は失なわれた。

8) 結核血清の飽和硫安分画々分では，γ-globulin を含む画分にMI作用はなく，albumin などを含む画分にMI作用がみられた。

9) 結核血清60～80%飽和硫安画分のcolumn chromatography (DEAE-Sephadex A-50, Sephadex G-75) では albumin, α-globulin を含む画分にMI作用をみとめた。正常血清の同画分には，MI作用はみられなかった。

10) 以上の血清因子は，抗原の存在下でMI作用を示し，免疫学的特異性を示した。

文　　献

1) Bloom, B.R,. and Bennett, B. : Science, 153, 80, 1966.
2) Bennett, B., and Bloom, B.R. : Proc. U.S. Nat. Acad. Sci., 59, 756, 1968.
3) David, J.R., AL-Askari, S., Lawrence, H.S., and Thomas, L. : J. Immunol., 93, 264, 1964.
4) Amos, H.E., Gurner, B.W., Olds, R.J., and Cooms, R.R.A. : Intern. Arch. Allergy, 32, 496, 1967.
5) Heise, E.R., Han, S., and Weiser, R.S. : J. Immunol., 101, 1004, 1968.
6) Carpenter, R.R. : J. Immunol., 91, 803, 1963.
7) Dumonde, D.C., Wolstencroft, R.A., Panayi, G. S., Matthew, M., Morley, J., and Howson, W.T., Nature, 224, 38, 1969.
8) Nelson, D.S., Nature, 212, 259, 1966.
9) Cole, L.R., and Favour, C.B. : J. Exptl. Med., 101, 391, 1955.
10) Stetson, C.A., and Dempulos, R. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 73, 687, 1958.
11) Myrvic, Q.N., Leake, E.S., and Fariss, B. : J. Immunol., 86, 128, 1968.
12) 小林豊司：結核の研究11，109，昭和34年
13) 菊地由生子：免疫実験操作法，p.137，日本免疫学会編，1971.
14) Scheidegger, J.J. : Intern. Arch. Allergy, 7, 103, 1955.
15) Laurell, C.B., Laurell,S., and Skoog, N. : Clin. Chem., 2, 99, 1956.
16) Nelson, D.S. : Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 48, 329, 1970.
17) Bloom, B.R., and Bennett, B. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 169, 258, 1970.
18) Amos, H.E., and Lachmann, P.J. : Immunology, 18, 269, 1970.
19) Yamamoto, K., and Takahashi, Y. : Nature, New Biology, 233, 261, 1971.
20) 奥山春枝，森川和雄，菊地由生子：結核の研究 31, 31, 1971.
21) Pick, E., Krejici, J., Cech, K., and Turk, J. : Immunology, 17, 74, 1969.
22) Dupuy, J., Perey, D.Y., and Good, R.A. : Lancet, 1, 551, 1960.
23) Rauch, H.C., and Favour, C.B. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 87, 231, 1960.
24) Tsuji, S., Oshima, S., Oshiro, M., and Izumi, T. : J. Immunol., 93, 83, 1964.
25) Chaparas, S.D., Thor, D.E., Godfrey, H.P., Baer, H., and Hedrick, S.R. : Science, 170, 637, 1970.