

接触過敏症の伝達因子に関する研究

〔第2篇〕 伝達因子の抗原特異性に関する検討

京都大学結核胸部疾患研究所 内科学第二（主任：教授 辻 周介）

福 間 謙 助

1. 緒 言

前編¹⁾に述べた如く、著者は 2,4-Dinitrofluorobenzene (DNFB) 感作動物の腹腔滲出細胞及び脾臓細胞を破壊して作成した細胞抽出液を、透折或はゲル濾過によって Inhibitor を除去した後 Recipient に静脈注射する事によって DNFB 接触過敏症の受身伝達に成功した。更に、著者は感作動物の血清についても、細胞抽出液の場合と同様の方法によって Inhibitor を除去した後、過敏症の受身伝達実験を行ない、感作血清中にも弱いながら Transfer Factor が存在することを証明した。

以上の実験成績は、従来より生細胞を使用しなければ不可能であると信じられていた接触過敏症の受身伝達が、必ずしも生細胞を用いなくとも成功し得ることを立証した点で免疫学上重要な意義を有するものと考えられた。

Turk and Asherson²⁾ はモルモットにおける接触過敏症の受身伝達実験を企図して、Picryl Chloride, Oxazolone 誘導体に Freund's Complete Adjuvant を加えて、夫々感作した動物のリンパ節細胞及び脾臓細胞より抽出液を作成し、これを夫々 Recipient の腹腔内に注射し、注射後直ちに Picryl Chloride に対する皮膚反応を試験した結果、Picryl Chloride 感作群、Oxazolone 誘導体感作群及び対照実験としての Freund's Complete Adjuvant 感作群の何

れに於ても略同程度の反応を認めたという。彼等はこの実験成績からして、以前に Turk³⁾ が細胞成分によって接触過敏症の受身伝達に成功したという報告を撤回して、之は伝達材料による非特異的な皮膚の反応性の亢進に基ずくもので真の受身伝達ではないと報告している。此の Turk 等の実験は、著者が第1篇¹⁾にて報告した細胞成分による DNFB 感受性の受身伝達実験とは、動物の感作方法に本質的な相違がある。すなわち、Turk 等は Picryl Chloride でモルモットを感作する場合、同時に結核死菌を含む Adjuvant を使用したが、著者等は DNFB 単独で皮膚塗布感作を行なった点が大いに異なるのである。

従って著者は、Freund's Complete Adjuvant を用いることが、Turk 等の認めた非特異的な感受性の亢進をもたらしたものか否かを吟味する必要があると考えた。この為に、DNFB, Picryl Chloride 及び P-nitrosodimethylaniline (NDMA) の3種の Chemicals を用いて感作及び受身伝達実験を行い、之等の薬剤による接触過敏症の特異性及び Complete Adjuvant が非特異的に他種薬剤に対する反応性を亢進せしめるか否かを吟味する目的で本実験を行なった。

2. 実験材料及び実験方法

(1) 実験動物：本実験にはすべて市販白色成熟雌モルモットを使用した。

受身伝達実験の与え手 (Donor) 及び受け手 (Recipient) は第1篇と同様に体重 400~500 g 及び 350~400 g のモルモットに限定して使用した。尚能動感作実験の際においても、使用動物は感作開始時に 350~400 g の体重のものを使用した。

(2) 感作方法：

i) 能動感作実験に於ける感作方法

予めモルモットの側腹部の毛を手でむしって脱毛し、残った毛を電気バリカンをもって剪毛した後、毛筆を用いて 2% DNFB 及び 2% NDMA 溶液の塗布感作を行なった。又、Challenge も同様皮膚塗抹によって行なった¹⁾。尚 NDMA による感作の場合は、2% NDMA アセトン溶液として、塗布感作に使用した。更に接触過敏症の成立について Freund's Complete Adjuvant がどのやうな影響をもっているかを検する為に、BCG 死菌感作及び BCG 死菌感作と DNFB 又は NDMA による 2 重感作を行なった。すなわち、BCG 乾燥死菌 10 mg を生理的食塩水 0.25 ml に浮遊させ、流動パラフィン 0.5 ml、ラノリン 0.25 ml とを十分に混合させ、項部皮下に注射を行なった。二重感作動物群では此の注射と同時に、2% DNFB 純エタノール溶液又は 2% NDMA アセトン溶液を、上述した様な BCG による処置を行なったモルモットの側腹部に塗布感作を開始した。感作は 1 日 1 回 7 日間塗布し、最終感作後 10 日目に第 1 篇¹⁾にて記述したと同様の方法で Challenge 操作を行ない、Challenge 後 6 日目に皮膚テストを行なった。尚対照として、NDMA 及び DNFB で単独感作及び Challenge を行なった感作群も用意した。

ii) Donor の感作方法

DNFB 感作モルモットには第 1 篇¹⁾に記載した通りに 1 日 1 回 7 日間連続反復塗布感作を行ない、最終感作後 10 日目に Challenge 操作を加え、6 日目の動物を Donor として使用した。

BCG 死菌感作モルモットとしては、前述した Freund's Complete Adjuvant を接種し、その後 10 週目にツベルクリン反応強陽性のモルモットを Donor として受身伝達実験に使用した。

次に Freund's Complete Adjuvant が、DNFB 感受性の受身伝達に如何なる影響を示すかを見る為に、 Freund's Complete Adjuvant と DNFB との二重感作モルモットを次の様に作成した。 Freund's Complete Adjuvant をモルモットの項部に 1 ml 注射した後、上記したと同様の処置で脱毛したモルモ

ト側腹部に 2% DNFB の塗布感作及び Challenge を行なった。しかし DNFB 塗布感作開始時期については、BCG 死菌感作後 10 週目にツベルクリン強陽性である事を確かめたあとで DNFB 塗布感作を開始した Donor 群と、BCG 死菌感作を施行したと同時に DNFB 塗布感作を開始した Donor 群との 2 群を使用した。

(3) 伝達材料 (腹腔滲出細胞、リンパ節細胞及び脾臓細胞)

採集法は第 1 篇¹⁾に述べたと同様である。即ち、流動パラフィンをモルモットの腹腔内に注入し、4 日目に心臓穿刺によって採血致死せしめた後、開腹し Hanks 液⁴⁾を用いて腹腔内を洗滌して、腹腔滲出細胞浮遊液を採集した。同時に頸下部、頸部、胸部、腋窩部、腸間膜及び大腿部のリンパ節及び脾臓を別々に取出し鉗を用いて細切した後 Hanks⁴⁾液に浮遊せしめガーゼにより濾過して、リンパ節細胞浮遊液及び脾臓細胞浮遊液を得た。

細胞浮遊液は各々 1000 r.p.m. 10 分間の遠沈を 3 回繰返して夾雑物を除いた。腹腔滲出細胞は Packed Cell 1 ml 中に $1.0 \sim 2.5 \times 10^9$ 、脾臓細胞は $2.5 \sim 3.8 \times 10^9$ の割に細胞を含んでいた。その腹腔滲出細胞では 90~94% が大単核細胞であり、5~6% が小リンパ球及び好中球であった。脾臓細胞に於いてはリンパ球 38% であった。又リンパ節細胞では $2.0 \sim 3.5 \times 10^9$ の割に細胞を含んでおり、その 95% 以上はリンパ球であった。

細胞浮遊液は 1000 r.p.m. 10 分間遠沈後 5 倍の蒸溜水で稀釈して -20°C にて保存された。

(4) 細胞抽出液作成法：

腹腔滲出細胞、リンパ節細胞及び脾臓細胞の浮遊液は、第 1 篇¹⁾と同様にアセトン・ドライアイス法で凍結融解操作を行ない細胞破碎液を得た。之を冷却遠沈操作する事によって上清と沈渣に分離した (以下上清を細胞抽出液と称する)。

(5) 細胞抽出液よりの分画：

i) 透析による分画作成

第 1 篇¹⁾と同様に細胞抽出液は Cellophane Tubing (Size 32/20 Visking Company U.S.A.) に充填した後、10 倍量の蒸溜水に対して 4°C にて透析を行なった。しかし本実験に於ては、DNFB に対する感受性の Transfer Factor には比較的 low molecular weight のものがあり、透析の際の微細な条件の差によって内液にも残り得るし、又外液中にも移行し得るものであることが第

1 篇¹⁾の実験結果から想像出来たので、透折時間は第1 篇の24時間と異なり12時間とした。透折内液は冷却遠沈操作により水可溶性画分と、水不溶性画分に分離して、水可溶性画分のみを伝達実験に使用した。

ii) Sephadex G-25 による分画方法

第1 篇¹⁾と同様に、Sephadex G-25 powder を蒸溜水で洗滌後、緩衝液 PBS-EDTA¹⁾で平衡せしめカラムに充填した。前記の5 倍稀釈細胞抽出液の各々10 ml を用いて、90 ml/hr の速度で Gel Filtration を行ない、フラクションコレクターを用いて10 ml 宛の分画を採取した。尚、伝達実験にあたっては、得られた分画を細胞抽出液の原量まで凍結濃縮した後使用した。

(6) Recipient の伝達方法

観血的に露出せしめた頸静脈内注射によって伝達材料を Recipient に投与した。

(7) 接触性過敏症の判定方法：

i) テスト液及び濃度

- ① DNFB
- ② NDMA
- ③ Picryl Chloride
- ④ 国立予防衛生研究所製旧ツベルクリン液

以上の4 種のテスト液について皮膚の感受性テストを行なった。

DNFB, NDMA 及び Picryl Chloride は、始めにアセトンに溶解し、十分に溶解した後で等量のオリーブ油を加え、以下記述する濃度にした。即ち受身伝達された動物に使用した場合は、DNFB Picryl Chloride 共に1%溶液、NDMA は0.5%溶液とし、旧ツベルクリンは10倍稀釈液を使用した。能動感作を行なった動物群については、DNFB, NDMA 共に0.1%溶液を、Picryl Chloride については0.5%溶液、又旧ツベルクリンは250倍稀釈液で感受性テストを行なった。

尚、ここに用いた濃度は無処置動物においては反応を示さない最高濃度である。

ii) テスト方法及び判定基準

受身伝達を行なった動物については、伝達後24時間目に皮膚の感受性テストを行なった。

DNFB, NDMA, Picryl Chloride の各溶液を5 mg 標準白金耳を用いて塗布した。此の場合、溶液内に浅く白金耳をひたした後、塗布前に一度容器の壁に此の白金耳を附着させて塗布する溶液の量を一定にする事が大切であり、若しその注意を怠った場合は薬

剤の毒性反応の出現を見る恐れがあった。

旧ツベルクリン液は皮内に注射した。

皮膚の感受性は5, 24, 48, 72時間目の局所反応を観察し、以下の判定基準に従い判定した。

判定基準

接触過敏症の判定基準

- ：全く反応の認められない場合
- ±：被検液の色のために発赤の有無の判定し難い場合（実験成績としては陰性の範囲に入れた。）
- ＋：明瞭な発赤は認められるが境界不鮮明な場合
- ++：瀰漫性且つ境界の鮮明な発赤で硬結を伴うもの

ツベルクリン反応の判定基準は、24, 48時間目の発赤、硬結によって判定した。

本実験に於ても、飼育ケージの汚染によって他の動物が感作される可能性を考慮し、常にケージを洗滌するとともに、伝達実験に用いたモルモットの飼育ケージに同時に1～2匹の未処置動物を入れ、この動物にも同時に皮膚反応を試みて、飼育ケージ内での感作が行なわれないことを毎常検した。

3. 実験成績

(1) 能動感作における DNFB 接触過敏症の特異性の検討：

DNFB による能動感作を行ったモルモットについて、DNFB 感受性の特異性を DNFB, Picryl Chloride 及び NDMA を使って検討した。皮膚テストは最終感作後10日目に行った。その実験成績を表1に示す。即ち、DNFB で能動感作された4匹のモルモットは総て DNFB 皮膚テストで、陽性の反応を示したが、一方 Picryl Chloride に対しては全く反応は陰性であり、NDMA に対しても一匹において24時間目だけに微弱且つ不明瞭な反応を認めたが他はすべて陰性であった。しかし、微弱であるにせよ、何らかの反応性が NDMA に対して認められた事により、DNFB と NDMA 相互の交叉反応性について更に検討を要するものと思われたので次の様な実験を行った。即ち、NDMA 能動感作を行ったモルモットの DNFB, Picryl Chloride 及び NDMA に対する感受性について特異性の検討を行なった。実験成績は表2に示

表1 DNFB 感作モルモットの PC, DNFB, NDMA に対する交叉反応試験

動物番号	試験薬剤	5時間目	24時間目	48時間目
586	DNFB	—	+	+
	PC	—	—	—
	NDMA	—	+	—
587	DNFB	—	++	+
	PC	—	—	—
	NDMA	—	—	—
588	DNFB	—	+	+
	PC	—	—	—
	NDMA	—	—	—
589	DNFB	—	++	++
	PC	—	—	—
	NDMA	—	—	—

註 最終感作後10日目のテスト

す如く, NDMA 感作動物 4 匹中 3 匹は NDMA に対する反応が著明陽性であり, 他の 1 匹は陰性であった。DNFB 及び Picryl Chloride の両者に対しては, 全動物において陰性の成績を得た。以上の実験成績により, DNFB 又は NDMA に対する接触過敏症には抗原特異性の存することを確認し得た。

次に, 前述した如く Turk and Asherson²⁾ は Donor を感作する際に, Picryl Chloride 或は Oxazolone 誘導体と共に Freund's Complete

表2 NDMA 感作モルモットに対する PC, DNFB, NDMA の交叉反応試験

動物番号	試験薬剤	5時間目	24時間目	48時間目
582	NDMA	—	±	+
	PC	—	—	—
	DNFB	—	—	—
583	NDMA	—	+	+
	PC	—	—	—
	DNFB	—	—	—
584	NDMA	—	—	—
	PC	—	—	—
	DNFB	—	—	—
585	NDMA	—	+	+
	PC	—	—	—
	DNFB	—	—	—

註 最終塗布感作後10日目のテスト

Adjuvant を注射しており, 又特に Freund's Complete Adjuvant の単独注射のみによって感作された Donor の細胞より作製した細胞抽出液の注射によっても Picryl Chloride に対する感受性の増大を見たと報告している。従って著者は, Turk and Asherson の実験成績を充分検討する為には, 接触過敏症に及ぼす Freund's Complete Adjuvant の影響を検討する必要があると考えて, 受身伝達実験に先立って, DNFB と Freund's Complete Adjuvant, 或は NDMA と Freund's Complete Adjuvant による二重能動感作を行った動物の DNFB, NDMA, Picryl Chloride 及び ツベルクリンの各種皮膚反応について実験を行った。対照としては DNFB 単独感作群, NDMA 単独感作群及び Freund's Complete Adjuvant 単独注射群について比較検討を加えた。

実験成績は表3に示す通りである。即ち, DNFB 単独感作群においては, 10 匹中 7 匹が DNFB 皮膚反応陽性 (70%) であったが, 一方 DNFB と Freund's Complete Adjuvant 二重感作群では陽性反応は 7 匹中僅か 1 匹 (14%) に認められたに過ぎなかった。即ち単独感作群の方が二重感作群と比較して反応陽性率が高かった。これと同様の傾向が NDMA 感作の場合にも認められ, 感作動物の NDMA 皮膚反応は単独感作群で 10 匹中 7 匹に陽性の反応を示し (70%), 二重感作群では 7 匹中 3 匹のみが陽性 (42%)

表3 BCG 死菌感作の接触性過敏症の惹起に及ぼす影響

感作方法	テスト液			
	DNFB	NDMA	PC	「ツ」
Freund's Complete Adjuvant	0/6	0/6	0/6	5/6
DNFB	5/7	0/7	1/7	0/7
Freund's Complete Adjuvant + DNFB	1/7	0/7	0/7	3/7
NDMA	0/7	6/7	0/7	0/7
Freund's Complete Adjuvant + NDMA	0/7	3/7	0/7	4/7

註 Freund's Complete Adjuvant (BCG 死菌 10 mg を含む) 接種と同時に DNFB 又は NDMA 塗布感作を開始し, 後で Challenge 操作を行なった。成績は 48 時間判定に依る。

%)で両群の間に明かな差異があった。更に「ツ」反応について観察すると、Freund's Complete Adjuvant 単独注射群では「ツ」反応陽性8匹中6匹、DNFBとの二重感作群では7匹中3匹、NDMAとの二重感作群では7匹中4匹であって、二重感作群の何れも、単独注射群と比較して「ツ」反応陽性率が低率であった。即ち、これらの実験成績は総て単独感作の方が二重感作と比較して強い感受性を獲得する事を表わしている。

DNFB, NDMA 或は BCG による各種感作動物における Picryl Chloride 皮膚反応は DNFB 単独感作群に於て1例の陽性反応を認めた他は総て陰性であった。

以上の実験成績より能動感作によって獲得された接触過敏症に免疫学的特異性のあることは殆ど疑いの余地はない。特に BCG を含む Freund's Complete Adjuvant と DNFB 若しくは NDMA をもってする二重感作においても、感作動物における感受性の量的変化は認められたが、非特異的皮膚反応は全く認められなかった。

従って接触過敏症の受身伝達実験において Turk and Asherson²⁾ の主張する様な非特異的反応が存在するとすれば、その非特異性の原因は Donor に求められるものでなく、Recipient に求められなければならないと考えられる。

(2) 受身伝達された DNFB 感受性の特異性に関する検討

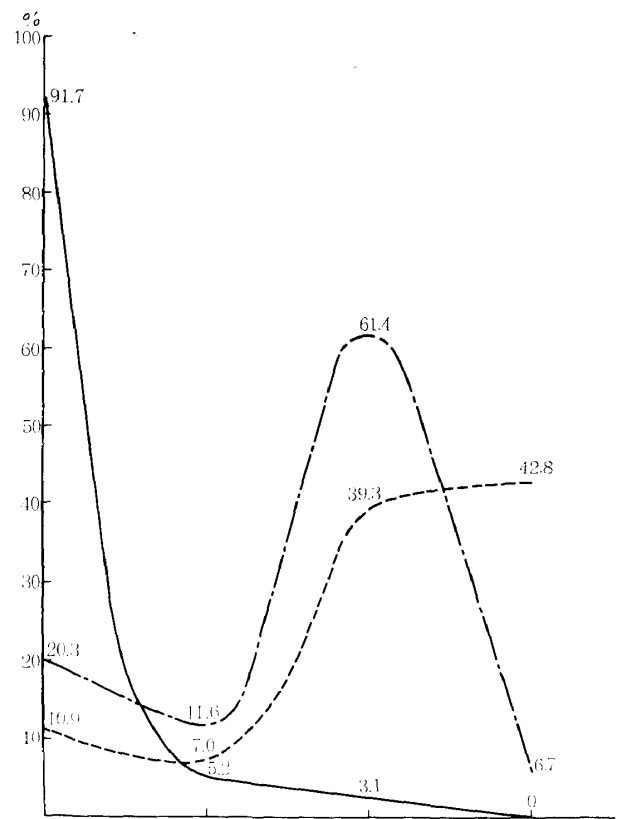
著者は上述の如き、Recipient の感受性の変化を検討する為に、DNFB 感作モルモット及び Adjuvant 加結核死菌感作モルモットの腹腔滲出細胞、脾臓細胞より得た伝達材料を Recipient に投与した後、DNFB と同時に NDMA, Picryl Chloride を用いて感受性のテストを行い、伝達された感受性の特異性について検討を加えた。

実験成績は表4及び表5に示すごとく、DNFB 感作モルモットより得た材料を伝達された Recipient は、DNFB に対してのみ感受性があり、Picryl Chloride 又は NDMA に対しては全く無反応であった。更に Freund's Complete

Adjuvant のみにより感作された動物より得た伝達材料を投与した Recipients に於ては、土の反応を示すものが7匹中2匹に認められ、24時間判定で+の反応を示したものが1匹あった。此の事は図1に示した無処置動物の非特異反応出現率と比較すると、非特異反応が出現していると考えられる。即ち、Turk 等の Freund's Complete Adjuvant のみで感作された動物より得た伝達材料は、Recipient の皮膚感受性を非特異的に亢進させるという報告と一致している。

(3) Freund's Complete Adjuvant と DNFB による二重感作を受けたモルモットより得た伝達材料の受身伝達実験

Turk 等²⁾ の実験成績と、著者が第1篇に報



皮膚反応の程度
 1% DNFB 溶液塗布による無処置動物の非特異反応出現率 (Toxicity control) 例数97匹
 DNFB 感受性の受身伝達を行なった動物の皮膚反応 (腹腔滲出細胞抽出液28匹、脾臓細胞抽出液44匹)

図1

表 4 DNFB 塗布感作 Donor より受身伝達された DNFB 感受性の特異性に関する検討

細胞の種類	伝達材料の分画方法	投 与 量		動 物 番 号	皮 膚 反 応			
		Packed Cell 相当量	総蛋白量		DNFB	PC	NDMA	
腹腔滲出細胞	透析内液の水	1 ml	26 mg	498	++	—	/	
				499	++	—		
				500	+	—		
脾 臓 細 胞	可 溶 性 画 分	1.5 ml	39.8 mg	501	+	—	/	
				502	++	—		
				503	+	—		
				504	+	—		
腹腔滲出細胞	SephadexG-25 画分	P ₁	1 ml	23 mg	573	++	/	—
					574	++		—
					575	++		—
		P ₂	1 ml	2.4 mg	576	—	/	—
					577	—		—
					578	—		—

註 Donor は DNFB 塗布感作を行なった後 Challenge を行なって6日目判定は48時間目の成績に依る。

表 5 Freund's Complete Adjuvant 感作 Donor より受身伝達された DNFB, PC, NDMA に対する特異性に関する検討

伝 達 材 料	投 与 量		動物番号	試験薬剤	皮 膚 反 応			
	総蛋白量	Packed Cell 相当量			5時間目	24時間目	48時間目	72時間目
* 腹腔滲出細胞抽出液の透析内液	38.5 mg	1.0 ml	571	NDMA	—	—	—	—
				DNFB	—	±	±	—
		1.0 ml	568	NDMA	—	—	—	—
				DNFB	—	—	—	—
		1.0 ml	569	NDMA	—	—	—	—
				DNFB	—	—	—	—
		1.0 ml	570	PC	—	—	—	—
		DNFB	—	—	—	—		
	0.3 ml	566	PC	—	—	—	—	
		DNFB	—	—	—	—		
	1.0 ml	572	PC	—	—	—	—	
		DNFB	—	±	±	—		
	1.0 ml	567	PC	—	±	—	—	
		DNFB	—	+	—	—		

* Freund's Complete Adjuvant (BCG 乾燥死菌 10 mg を含む) 接種後10週目の「ツ」反強陽性¹のモルモットを Donor として使用した。

告した実験成績の相違は、先述した如く Freund's Complete Adjuvant を使用したかしたかという事である、此の事が Turk 等の実験で非特異的な感作促進効果を示したのではないかと考えられたので、次の様な実験を行なった。

Freund's Complete Adjuvant 注射後、10週目より DNFB 感作を実施し、最終感作後10日目に Challenge を加えたモルモットより採集した腹腔滲出細胞、リンパ節細胞及び脾臓細胞の各抽出液の画分を投与した Recipient について、DNFB, NDMA, Picryl Chloride 及びツベルクリンの皮膚反応について試験した。表6はその実験成績を示すものである。前述した DNFB 単独感作の場合と異なり、腹腔滲出細胞抽出液及びリンパ節細胞抽出液を投与された Recipient では、DNFB を始め NDMA, Picryl Chloride 及び ツベルクリンの総ての皮膚反応

が陰性であったにも拘らず、脾臓細胞抽出液を投与された Recipient では DNFB 皮膚反応は9匹中7匹に陽性で、更に NDMA に対しても9匹中2匹に陽性反応が見られた。

これと同様な傾向が表7に示したように、 Freund's Complete Adjuvant の注射と同時に DNFB 塗布感作を開始し、最終感作10日目に Challenge を加えたモルモットの脾臓細胞抽出液透析内液の受身伝達の際にも認められた。此の抽出液を投与された Recipient は DNFB 皮膚反応についても13匹中10匹が陽性であり、且つ NDMA についても13匹中4匹が明らかな陽性反応を示した。しかし Freund's Complete Adjuvant の注射の時期とは無関係に、 Picryl Chloride 及び ツベルクリンに対する反応は何れも陰性であった。

以上 Freund's Complete Adjuvant と DNFB による二重感作動物の細胞抽出液透析内液を用

表 6 BCG 死菌感作後 DNFB 感作を行なったモルモットの伝達材料による受身伝達実験

細胞の種類	伝達材料の分画方法		投 与 量		実 験 動物数	伝 達 成 功 率			
			Packed Cell 相当量	総蛋白質量		DNFB	NDMA	PC	OT
腹腔滲出細胞	SephadexG-25 分画	P ₁	1.0 ml	24.5 mg	5	1/5	0/5	0/5	0/5
		P ₂	1.0 ml	1.35 mg	6	0/6	0/6	0/6	0/6
		P ₃	1.0 ml	13.2 mg	3	0/3	0/3	0/3	0/3
リンパ節細胞	SephadexG-25 分画	P ₁	1.0 ml	19.2 mg	3	1/3	0/3	0/3	0/3
		P ₂	1.0 ml	1.68 mg	3	0/3	0/3	0/3	0/3
		P ₃	1.0 ml	11.1 mg	3	0/3	0/3	0/3	0/3
脾 臓 細 胞	透 析 内 液		1.5 ml	41.2 mg	9	7/9	2/9	0/9	0/9

註 BCG 死菌感作後10週目より DNFB 感作開始し、最終感作後10日目に Challenge を行なった成績は48時間判定に依る。

表 7 BCG 死菌感作と DNFB 感作とを同時に行なったモルモットの伝達材料による受身伝達実験

伝達材料の分画法	細胞の種類	投 与 量		実 験 動物数	伝 達 成 功 率			
		Packed Cell 相当量	総蛋白質量		DNFB	NDMA	PC	OT
透 析 内 液	腹腔滲出細胞	1.0 ml	17.6 mg	5	1/5	0/5	0/5	0/5
	リンパ節細胞	1.0 ml	21 mg	4	0/4	0/4	0/4	0/4
	脾 臓 細 胞	1.5 ml	44.5 mg	13	10/13	4/13	0/13	0/13

註 BCG 死菌感作と同時に DNFB 塗布感作を開始し、最終感作後10日目に Challenge を行なった成績は48時間判定に依る。

いた DNFB 感受性の受身伝達実験成績においては、DNFB 単独感作の場合と異なって、Recipient は DNFB ばかりでなく NDMA に対する感受性をも獲得することが証明された。従って、Freund's Complete Adjuvant を用いるという実験条件下で DNFB 接触過敏症の受身伝達実験を試みることは、Recipient に非特異的な感受性亢進を来たす可能性が示され、之が Turk and Asherson の実験結果をもたらした原因であることが明らかとなった。

4 考 按

DNFB 接触過敏症が感作動物の腹腔渗出細胞抽出液、脾臓細胞抽出液及び血清を用いて可能であることは既に報告⁹⁾したが、本篇においては、その伝達因子の免疫学的特異性に関する実験成績について記述した。即ち、DNFB 或は NDMA による単独能動感作の場合、感作動物の皮膚反応には明らかな特異性が認められる。更にこれらの感作動物の細胞抽出液を用いた受身伝達実験においても Recipient は感作に使用した薬剤に対してのみ比較的特異的に陽性であり、他の薬剤に対しては無反応性であった。しかし Turk²⁾等は Landsteiner and Chase⁵⁾の方法で Picryl Chloride と赤血球 Stromata の複合抗原に、結核死菌を含む Adjuvant を加えてモルモットを感作し、脾臓細胞、リンパ節細胞の抽出液を用いて伝達実験を行なった所、Picryl Stromata 注射群のみならず対照である Oxazolone Stromata 注射群或は Freund's Complete Adjuvant 単独注射群からの細胞破碎液を注射された動物もすべて同じ程度に Picryl Chloride に対して感受性を示したので、彼等は細胞破碎液をもってする感受性の受身伝達は、単なる非特異的な皮膚反応の増強に過ぎないと結論している。

しかるに著者の実験に於ては、Donor を DNFB 単独感作した場合は、先に述べた様に Recipient の皮膚反応は DNFB に特異的であって、NDMA や Picryl Chloride に対しては反応は総て陰性であったにも拘らず、Donor を

DNFB 及び Freund's Complete Adjuvant で二重感作した場合は、この細胞抽出液を注射された Recipient では DNFB 反応陽性となったと同時に、少数ではあるが NDMA に対しても陽性反応を示した著者の実験では Picryl Chloride に対して陽性の反応を示した動物は 1 例もなかったけれども、感作に用いた薬剤と異なる薬剤に対して皮膚反応を起したという点で Turk の成績と類似していた。

従って Recipient に非特異反応が現われる原因は実験条件の差にあるものと考えられる。特に Turk 等は Picryl Chloride を Freund's Complete Adjuvant と共に注射している点に注意したい。目的は接触過敏症であるから、薬剤を皮膚に接触せしめて感作する方が明らかにその目的に直結しているわけで、Turk 等の方法によれば接触過敏症以外のアレルギーが同時に賦与されることになろう。遅延型過敏症のメカニズムの全く不明である現在、かかる複雑な感作方法はなるべく避けて実験を行うべきであろう。その為に彼等は動物に非特異的な感受性の増強をもたらす、実験結果をあいまいにしたと推測することが出来る。更に Turk 等の用いた伝達材料は microsome 程度の小粒子を含有するのに対し、著者のそれは殆ど粒子を含んでいない点にも注意を払いたい。Dressor⁶⁾も云う如く、粒子抗原は強い免疫性或は Adjuvant 性を有しているため上述の Freund's Adjuvant を併用したことと相俟って、特に非特異的な感受性の増強を来したものとも考えられる。

更に、Turk 等との実験方法の相違の一つとして Carrier Protein の問題がある。即ち、Turk 等は感作に Picryl Chloride と赤血球 Stromata の複合抗原を使用したことに注目したい。元来 DNFB 等の Simple Chemicals による感作は、之等低分子の化学物質が蛋白と結合することによって抗原性を発揮するといわれており^{7,8)}、しかも此の蛋白 (Carrier Protein) によって遅延型アレルギーの特異性が方向づけられるものと考えられている (Salvin 等⁹⁾)。従って Turk 等の方法による場合と著者の皮膚塗抹による方法とでは、Carrier Protein

の質的差異があり得るとも考えられ、この様な Carrier Protein の差も実験成績の相違をもたらした要因の一つではないかと想像され得る。

最近 Chase 等¹⁰⁾はモルモットを用いてDNFB及び Picryl Chloride に対する感受性を、破壊した細胞材料を用いて受身伝達しようと試みたが、生細胞以外の材料による伝達は不可能であったと報告している。彼は、細胞を破壊して作製した材料を用いた伝達実験が成功した様に誤解される原因は Recipient である正常動物に非特異的な刺激（例えば化学的脱毛剤）が加えられる為ではないかと疑っている。しかし著者は、モルモットの皮膚反応を試験する際、毛をむしり取る方法で脱毛し、残った毛を電気バリカンを使用して剪毛しており、動物に化学的刺戟を与えたことはない。又無処置動物に DNFB 試験を行った時の非特異反応の出現率（Toxicity Control）は **図1** に示す如く、3.1% 以下である。このことは、著者の脱毛方法によって皮膚が非特異的に刺戟されることはないことを示すものである。従って著者の実験成績と Chase の実験成績と異なる理由は、その他の実験方法の相異によるのであろう。即ち、感作動物より細胞を採集する時期の相違による為か、あるいは著者の実験に於て Donor から細胞を採集する6日前に行った Challenge を Chase 等は行なっていないことにあるのか、或はこれらの相違のすべてが原因となっているのか、この解明は将来の研究に待たねばならない。

最後に DNFB と Freund's Complete Adjuvant による二重感作を受けた動物の皮膚反応について考察を加える。この二重感作を受けた動物では、DNFB 及びツベルクリンの何れについても感受性の減弱が認められた。これと同様の傾向は NDMA と Freund's Complete Adjuvant の二重感作の際にも認められた。又この様に反応性の低下した Donor より得た腹腔滲出細胞及びリンパ節細胞の抽出液から得た伝達材料をもってする DNFB 感受性の受身伝達実験はすべて陰性の成績であったのに反して、同じ動物の脾臓より作成した伝達材料によっては、著明な陽性率の向上を認めたことは、甚だ

意味深い知見である。DNFB 単独感作動物では、腹腔滲出細胞からの材料が強力であるに反し、脾臓よりのそれは極めて微力であったことに想到したい。之等の現象は甚だ複雑なメカニズムの組合せによってもたらされるものと想像され、今日著者が明快な解釈を下し得るものではない。但し、Freund's Adjuvant が、常に免疫現象の増強に役立つものではなく、例えば Antigen Competition あるいは Asherson and Stone¹¹⁾ の提唱する Immune Deviation の如きメカニズムを介して、遅延型過敏症の低下をもたらし得ることと関連があらうと考えられる。又 Adjuvant の作用によって、感作に対して反応する（感作細胞を形成する）臓器に差異を生じ、之が伝達実験の成績を益々複雑にしていることが考えられる。之は要するに、皮膚感受性の伝達を目的とする実験においては、Turk 等の行った様な Adjuvant との併用は決して得策とは考えられない。著者の行った如き、単純な感作方法によって、非特異的な反応促進をもたらすことなく、抗原特異性のある感受性の伝達が可能であったと結論したい。

5 総 括

1) DNFB 或は NDMA による単独能動感作を行ったモルモットは、感作に使用した薬剤に対して特異的に接触性過敏症を示す。

2) DNFB 又は NDMA と Freund's Complete Adjuvant による二重感作を受けた動物は、接触性過敏症の感受性の低下を認めた。

3) DNFB 単独感作動物の腹腔滲出細胞抽出液及び脾臓細胞抽出液より得た伝達材料を投与されたモルモットの感受性テストは、DNFB に対してのみ特異的で、NDMA 及び Picryl Chloride に対しては反応は全く陰性であった。又 Freund's Complete Adjuvant 単独感作動物の細胞抽出液より得た伝達材料を投与したモルモットには、非特異的感受性の亢進が認められ、DNFB に対して弱いながら反応を示した、しかし NDMA, Picryl Chloride 共に皮膚反応は陰性であった。

4) DNFB と Freund's Complete Adjuvant による二重感作を受けた動物の腹腔滲出細胞及びリンパ節細胞より得た伝達材料を投与したモルモットでは、感受性の伝達成功率はきわめて悪かったが、脾臓細胞透析内液をもってする受身伝達ではかなり高率に成功した、又この時皮膚反応は DNFB のみに陽性でなく NDMA に対しても少ないながら、陽性反応を示し、非特異的な反応亢進の傾向を示した。

以上、DNFB 単独感作を行なった動物より得た伝達材料をもってする受身伝達においては或る程度の抗原特異性がある事を確認した。又、感作に Freund's Adjuvant を併用する方法が、この実験目的に対しては得策でないことについて論及した。

謝辞：稿を終るに臨み、本研究の指導及び論文の校閲を賜った辻 周介 教授に深謝します。尚実験遂行にあたり御助力頂いた大島 駿作助教授、藤田、豊博士、泉 孝英博士、森岡茂治助手に深く感謝致します。又御協力いただいた木津 啓氏、和田ひな氏、今村 祐子氏に感謝致します。

文 献

- 1) 福間謙助：接触過能症の伝達因子に関する研究、第1篇、細胞成分による 2,4-Dinitrofluorobenzen 感受性の受身伝達、京結紀要、15：124～134, 1967.
- 2) Turk, J.L. and Asherson, G.L.: Attempts to Transfer Contact Sensitivity passively with Subcellular Fractions in the Guinea pig, *Int. Arch. Allergy*, 21: 321~325, 1962.
- 3) Turk, T.L.: Passive Transfer of Contact Sensitivity to Picryl Chloride in Guinea pigs with Subcellular Material, *Nature*, 191: 915~916, 1961.
- 4) 勝田甫編：組織培養法, pp. 31, 納谷書店, 東京, 30.
- 5) Landsteiner, K. and Chase, M.W.: Studies on the Sensitization of Animals with Simple Chemical Compounds. IX. Skin Sensitization induced by Injection of Conjugates, *J. eup. Med.*, 73: 431-438, 1941.
- 6) Dressor, D.W.: Effectiveness of lipid and lipidophilic Substances as Adjuvant, *Nature*, 191: 1169-1171, 1961.
- 7) 山村雄一, 石坂公成編：免疫化学, pp. 716, 朝倉書店, 東京, 昭41.
- 8) Turk, J.L.: Delayed Hypersensitivity, pp. 173, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1963.
- 9) Salvin, S.B. and Smith, R.F.: The Specificity of Allergic Reactions. I. Delayed versus Asthus Hyper-Sensitivity, *J. Exp. Med.*, 11: 465~483, 1960.
- 10) Bloom B.R. and Chase, M.W.: Transfer of Delayed-Type Hyper-Sensitivity, *Progr. Allergy*, 10: 151~225, 1967.
- 11) Asherson, G.L., and Stone, S.H.: Selective and Specific Inhibition of 24 Hour Skin Reactions in the Guinea Pig. I. Immune Deviation: Description of the Phenomenon and the Effect of Splenectomy, *Immunology*, 9: 205~217, 1965.