

Immune Deviation に関する研究

〔第2篇〕 人工粒子状抗原による遅延型アレルギーの抑制

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第二部（主任：教授 辻 周介）

野 村 繁 雄

1. 緒 言

遅延型アレルギーの本態又はそのメカニズムに関しては、今日のところ殆んど何も分っていないことは第1篇論文の緒言に於て詳述した通りである。

著者は、この遅延型アレルギーのメカニズムの解明の一つの手がかりを、比較的知識の豊富な即時型アレルギーのメカニズム、即ち血中抗体産生機構と対比して考えることに求め、その一つ的手段として、泉¹⁾、Asherson 等²⁾によって報告された遅延型アレルギーの抑制実験に着目し、その解明の一部は既に第1篇に於て報告した。

即ち、著者は結核死菌と Freund の Incomplete Adjuvant をもってウサギを感作した後に、結核死菌を静注 Challenge すると、血中抗体には何等影響を及ぼすことなく、遅延型アレルギー（ツベルクリン・アレルギー）のみが選択的に抑制されること、及びあらかじめ結核死菌を静注により前投与しておいた後、結核死菌と Freund の Incomplete Adjuvant により動物を感作すると、血中抗体は結核死菌感作のみの対照動物と変わることなく産生されるのに対して、ツベルクリン・アレルギーはその産生が著しく抑制遅延される事実を見出し、後者は Asherson 等²⁾がモルモットで見出した Immune Deviation なる現象に相当するものであると考

えた。

而して、かかる現象がもたらされる理由としては、遅延型アレルギーと即時型アレルギーの抗体産生機構が Uhr et al.³⁾ の言う如き一元的なものではなく、Macrophage の介入を考えて2元的な機構の下にあるためであろうと考えた。

更に用いた抗原の物理的性状によって、解離現象がより可能となるのではないかと考えた。即ち、Particulate な抗原が生体内に於て、Macrophage に遭遇し貪食処理される機構が可溶性抗原のそれと異なるために、それぞれに対する抗体産生の様相に差異がもたらされるのではなからうかと考えた。

上述の構想乃至は推測を更に追求検討するためには、抗原としては結核死菌体の如き複雑多岐な抗原成分を含むものよりも、Simple Protein の如き単一抗原である方がより好都合であろうことは言うまでもない。

そこで、著者はカリミョウバンによる沈澱法を用いて、Old Tuberculin (以下 O.T. と略す)、牛血清アルブミン (Bovine Serum Albumin, 以下 BSA と略す)、及び牛血清グロブリン、(Bovine Gamma Globulin, 以下 BGG と略す) の人工抗原を作成し、第1篇の実験における結核死菌体と同様に、脱感作実験並びに抗体産生の抑制実験を試みると共に、可溶性抗原を用いた場合との比較を行ったので、ここに報告する。

2. 実験材料及び実験方法

1. **実験動物**：体重 2~2.5kg の市販白色成熟ウサギ（雌）を使用した。

2. **各種抗原のカリミョウバンによる沈澱法**：浜島⁴⁾らの記載に従い、O.T., BSA, 及び BGG のカリミョウバンによる沈澱を行った。

(a). O.T. のカリミョウバンによる沈澱法：国立予防衛生研究所製旧ツベルクリン原液 1ml に 10% カリミョウバン生理的食塩水溶液 5ml を少しずつ加えて混和した後、1N-NaOH を滴下して pH 6.5 にすると沈澱が生ずる。次に 1,500r.p.m., 15分間遠沈し、上清を捨て、沈澱を生理的食塩水に混和して洗滌する。かかる洗滌を 3 回繰り返す、3 回目の遠沈の後、沈澱を生理的食塩水 1ml に浮遊せしめた。

(b). BSA のカリミョウバンによる沈澱法：化学天秤で正確に計量した BSA (Armour Pharmaceutical Company, Kankakee, Illinois, U.S.A.) 蛋白粉末を生理的食塩水に 10% に溶解させる。次にこの BSA 生理的食塩水溶液に 10% カリミョウバン生理的食塩水溶液等量を混和する。以下、O.T. の場合と同じく沈澱を作り、遠沈を行い、最後に沈澱を BSA 5mg/ml になるように生理的食塩水に浮遊した。

(c). BGG のカリミョウバンによる沈澱法：化学天秤で正確に計量した BGG (本邦製) 蛋白粉末を生理的食塩水に 10% に溶解させ、更にこの BGG 生理的食塩水溶液に 10% カリミョウバン生理的食塩水溶液等量を混和し、O.T. の場合と同じく沈澱を作り、遠沈を繰り返す、最後に沈澱を BGG 5mg/ml になるように生理的食塩水に浮遊した。

3. **感作前及び感作後における抗原の投与方法**：BSA は生理的食塩水溶液として 1ml を、又、カリミョウバンで沈澱せしめた O.T., BSA 及び BGG は夫々生理的食塩水懸濁液 1ml を耳静脈より投与した。

4. 感作方法：

(a). BCG による感作方法：BCG 死菌 50mg（乾燥重量）を生理的食塩水 0.5ml に浮遊させ、流動パラフィン 1ml, ラノリン 0.5ml と混合攪拌し、これを 2 分して 1ml 宛ウサギの両側太腿部皮下に注射した。

(b). BSA による感作方法：BSA 1mg を BCG 死菌 50mg と共に生理的食塩水 0.5ml に浮遊させ、流動パラフィン 1ml, ラノリン 0.5ml と混合攪拌し、これを 2 分して 1ml 宛ウサギの両側太腿部皮下に注射した。

(c). BGG による感作方法：BGG 1mg を BCG 死菌 50mg と共に生理的食塩水 0.5ml に浮遊させ、流

動パラフィン 1ml, ラノリン 0.5ml と混合攪拌し、これを 2 分して 1ml 宛ウサギの両側太腿部皮下に注射した。

5. 皮内反応：

(a). ツベルクリン皮内反応：国立予防衛生研究所製旧ツベルクリン原液を生理的食塩水により 100 倍に稀釈し、剪毛したウサギの側腹部皮内に 0.1ml 注射し、24 及び 48 時間目の発赤を主とし硬結を伴う皮内反応を観察した。（以下、「ツ」反応と略す。）

(b). BSA 皮内反応：BSA を生理的食塩水にて 10 $\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ の割合に溶解し、剪毛したウサギの側腹部皮内に 0.1ml 注射し、5, 24 及び 48 時間目の発赤を主とし硬結を伴う皮内反応を観察した。

(c). BGG 皮内反応：BGG を生理的食塩水にて 10 $\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ の割合に溶解し、剪毛したウサギの側腹部皮内に 0.1ml 注射し、5, 24 及び 48 時間目の発赤を主とし硬結を伴う皮内反応を観察した。

6. **血清反応**：被検血清としては、心臓穿刺にて採血し、室温放置して凝固後、2,500r.p.m., 15 分で遠沈して血清を分離し、56°C, 30 分非働化したものを用いた。

結核菌系に対する血清反応としては、結核菌抽出液中の多糖体が抗原と考えられている沈降反応、ツベルクリン蛋白 (PPD-S) を抗原とする Boyden 凝集反応、ツベルクリン多糖体が抗原と推定されている Middlebrook-Dubos 凝集反応を行った。

BSA 及び BGG に対する血清反応としてはそれぞれ BSA 及び BGG を抗原とする沈降反応及び Boyden 型の凝集反応を行った。

(1). 沈降反応：第 1 篇に述べたと同じ方法で行った。

(2). Boyden 凝集反応：第 1 篇に述べたと同じ方法で行った。

(3). Middlebrook-Dubos 凝集反応：第 1 篇に述べたと同じ方法で行った。

(4). BSA 沈降反応：0.005% の BSA 水溶液を用い、被検血清は 1.5% アラビアゴム生理的食塩水溶液によって稀釈して用いた。村田の試験管を用い、被検血清に抗原液を重層する重層法⁵⁾により、37°C 2 時間放置後判定した。判定基準は第 1 篇に従った。

(5). BSA 凝集反応：Boyden⁶⁾等の記載した方法に準じ、pH 7.2 で 20,000 倍稀釈タンニン酸生理的食塩水で処理した 2.5% ヒツジ赤血球浮遊液 1ml を BSA 500 μg にて pH 6.4 の条件下で感作し、この血球 0.05 ml を 100 倍稀釈正常ウサギ血清を含む生理的食塩水で

稀釈した被検血清 0.5ml に加え、一夜室温に放置した後、Stavitsky 等⁷⁾の判定基準に従って判定した。

(6). BGG 沈降反応：0.005% BGG 水溶液を1.5%アラビアゴム生理的食塩水溶液によって稀釈した被検血清に重層し、37°C 2時間放置後判定した。判定基準は(4)に従った。

(7). BGG 凝集反応：BSA 凝集反応と類似の方法で行った。

3. 実験成績

1. O.T. を用いた実験

A. 結核死菌感作ウサギに対するカリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 静注 Challenge の及ぼす影響：

(1) カリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 1ml 投与後のツベルクリン反応：

表 1 に示す如く、BCG 死菌感作 5 週目のウサギを用い、カリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 1ml 静注投与後のツベルクリン感受性を 100 倍稀釈 O.T. で逐日的に観察した。

感作 5 週目では全例に陽性であった「ツ」反応が、Challenge 後 2 日目では 3 例中 2 例が陰性化し、1 例が著明に減弱されたが、7 日目では「ツ」反応が再び陽性となり、このツベルクリン・アレルギーの脱感作は極めて一過性であることが示された。

(2) カリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 1ml 投与の結核血中抗体に及ぼす影響：

(1)における感作 5 週目のウサギに、カリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 1ml を静注 Challenge した後 2 日目、7 日目の血清について、沈降反応、Middlebrook-Dubos 凝集反応を行った。その結果は表 2 に示す如く、血清の各抗体価に Challenge 後の変動は認められなかった。

従って、これらの血中抗体は「ツ」反応にみられたような Challenge の影響を受けていないことを知った。

即ち、ツベルクリン・アレルギーと血中抗体に対し、Challenge の及ぼす効果に差異のあることを示すものである。

B. O.T. 生理的食塩水溶液及びカリミョウバンで沈澱せしめた O.T. の感作前投与が感作に及ぼす影響：

BCG 死菌と Freund の Incomplete Adjuvant を用いてウサギを感作する 3 日前に、O.T. 1ml 又はカリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 1ml の静注投与を行った。

対照実験としては、BCG 死菌感作のみを行った。

(1) ツベルクリン反応に及ぼす影響：

表 3 に示す如く、感作群ではすべて「ツ」反応陽性を示したのに対して、O.T. 静注後感作した群では 1 例を除き殆んど「ツ」反応は陰性又は減弱し、カリミョウバンで沈澱せしめた O.T. 静注後感作した群では、「ツ」反応は全例が陰性又

表 1 BCG 死菌感作ウサギのツベルクリン反応に Particulate O.T. 静注 Challenge の及ぼす影響

ウサギ番号	判定時間	感作 5 週目	Challenge	
			2 日目	7 日目
3 1 6 5	2 4	2 5×2 3(++)	1 8×1 6(++)	2 1×2 1(++)
	4 8	2 3×2 0(++)	1 3×1 2(±)	2 4×1 7(++)
3 1 6 6	2 4	2 3×2 0(++)	0×0	2 0×1 6(++)
	4 8	2 6×2 0(++)	0×0	2 2×1 7(++)
3 1 6 8	2 4	2 1×2 1(++)	0×0	2 5×2 0(++)
	4 8	3 5×3 2(++)	0×0	2 0×2 0(++)

ツベルクリン反応 1:100 O.T. 0.1ml 皮内注射

数値は反応の縦径×横径 mm

± 著明でない発赤, + 著明な発赤, ++ 著明な発赤及び硬結

表 2 BCG 死菌感作ウサギの血中抗体に Particulate O.T. 静注 Challenge の及ぼす影響

ウサギ 番 号	血清採取日	ツベルクリン反応	沈 降 反 応	Middlebrook-Dubos凝集反応
		1:100 O.T. 10 20 30mm	2 ⁺ 0 1 5	10×2 ⁺ 0 1 5 10
3165	感作5週目			
	Challenge 2日目			
	7日目			
3166	感作5週目			
	Challenge 2日目			
	7日目			
3168	感作5週目			
	Challenge 2日目			
	7日目			

(48時間目の反応径 結核菌水抽出液 O.T.)

表 3 O.T. 静注投与が BCG 死菌感作ウサギのツベルクリン反応に及ぼす影響

	ウサギ番号	5 週 目		10 週 目	
		24 時 間 目	48 時 間 目	24 時 間 目	48 時 間 目
Soluble O.T. + 感 作	3 0 7 7	28×21(+)	34×31(++)	死 亡	
	3 0 7 8	0×0	0×0	11×11(+)	12×12(+)
	3 1 2 2	9×9(±)	11×11(±)	13×13(+)	15×13(+)
	3 1 2 3	0×0	13×12(±)	14×16(±)	17×17(+)
Particulate O.T. + 感 作	3 0 8 0	13×12(±)	16×11(±)	23×23(+)	19×10(+)
	3 0 8 1	9×9(±)	10×10(±)	18×12(+)	13×13(±)
	3 1 2 5	0×0	0×0	20×17(±)	19×16(±)
	3 1 2 6	0×0	0×0	0×0	23×22(±)
感 作	3 0 8 4	26×26(++)	26×25(++)	21×23(++)	27×27(++)
	3 0 8 5	18×19(++)	20×20(++)	21×22(++)	45×33(++)
	3 1 2 7	8×9(+)	8×9(+)	23×20(++)	22×20(++)
	3 1 2 8	19×19(+)	38×34(++)	20×15(++)	21×20(++)
	3 1 2 9	19×20(+)	19×19(++)	20×18(++)	23×20(++)

ツベルクリン反応 1:100 O.T. 数値は反応の縦径×横径 mm

± 著明でない発赤, + 著明な発赤, ++ 著明な発赤及び硬結

は著明に弱い反応であった。

しかも、感作後10週目でも感作群に比して他の2群は尚「ツ」反応の減弱を示していた。

即ち、O.T. 静注投与の前処置によって、ツベルクリン・アレルギーの発症が明らかに抑制されており、且つこの抑制は10週までも続いていることが示された。

(2) 結核血中抗体に及ぼす影響：

感作5週目に採血した血清について、結核血

中抗体に検討を加えた結果、表4に示す如く、沈降反応、Middlebrook-Dubos凝集反応は対照の感作のみの群と変わらない陽性成績が得られた。

即ち、O.T. の前処理によって、ツベルクリン・アレルギーの発現は抑制されるが、血中抗体の産生は抑制されなかった。尚前処置の O.T. が溶液として用いられてもカリミョウバン処置 (Particulate) の形で用いられても「ツ」反応及

表 4 O.T. 静注投与が BCG 死菌感作ウサギの血中抗体に及ぼす影響
(感作 5 週目)

	ウサギ 番 号	ツベルクリン反応 1:100 O.T. 10 20 30mm	沈 降 反 応 2 ⁺ 0 1 5	Middlebrook-Dubos凝集反応 10×2 ⁺ 0 1 5 10
Soluble O.T. 感 作	3077	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3078	■	■■■	■■■■■
	3122	■■■	■■■■■	■■■■■
	3123	■■■	■■■■■	■■■■■
Particulate O.T. 感 作	3080	■■■	■■■■■	■■■■■
	3081	■■■	■■■■■	■■■■■
	3125	■	■■■■■	■■■■■
	3126	■	■■■■■	■■■■■
感 作	3084	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3085	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3127	■■■	■■■■■	■■■■■
	3128	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3129	■■■■■	■■■■■	■■■■■

(24時間目の反応径 結核菌水抽出液 O.T.)

び抗体産生機構に大差がなかった。この点著者の実験前の予想と異なるが、これについては考按の項で述べよう。

2. BSA を用いた実験：

A. BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えて感作したウサギに対するカリミョウバンで沈澱せしめた BSA 静注投与の及ぼす影響：

(1) カリミョウバンで沈澱せしめた BSA 5 mg の静注投与後の皮内反応：

表 5 に示す如く、BSA 及び結核死菌感作 5 週目のウサギを用い、BSA 5mg をカリミョウバンで沈澱せしめて静注投与後、BSA に対する皮内反応を BSA 10 μ g で逐日的に観察した。

感作 5 週目では全例が 5 及び 48 時間目で陽性であった BSA 皮内反応が静注投与後 2 日目では、5 時間目の皮内反応は 6 例中 5 例陽性であったが、48 時間目の皮内反応では全例が陰性化した。

一方、「ツ」反応は感作 5 週目では全例が陽性であり、静注投与後 2 日目では 6 例中 5 例、静注投与後 7 日目では全例が陽性を示し、BSA の静注投与によって「ツ」反応は余り影響を受けなかった。

即ち、BSA 感作ウサギの脱感作は極めて一過性であり、且つ BSA に対して特異性を示した。

(2) カリミョウバンで沈澱せしめた BSA 5 mg の静注投与後の血中抗体に及ぼす影響：

BSA 及び結核死菌感作 5 週目のウサギにカリミョウバンで沈澱せしめた BSA 5mg 静注投与後 2 日目、7 日目の血清について、BSA に対する沈降反応、凝集反応並びに結核菌に対する沈降反応、Boyden 凝集反応を行った。その結果は表 6 に示す如く、血清の各抗体価には静注投与後の変動は認められなかった。

従って、これらの血中抗体は皮内反応にみられたような静注投与による影響を受けていないことを知った。

B. BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えて感作する前にカリミョウバンで沈澱せしめた BSA を、静注投与することの感作ウサギに及ぼす影響：

BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えてウサギを感作する 3 日前に、カリミョウバンで沈澱せしめた BSA 5mg の静注投与を行った (C 群)。対照実験として BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えて感作する前にカ

表5 BSA+Freund's Complete Adjuvant 感作ウサギの
皮内反応に Particulate BSA 静注 Challenge の及
ぼす影響

ウサギ 番 号	血清採取日	BSA 皮 内 反 応						ツベルクリン反応		
		5 時 間 目			48 時 間 目			48 時 間 目		
		10	20	30mm	10	20	30mm	10	20	30mm
2900	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2901	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2905	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2943	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2947	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2948	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■

(抗原 : BSA 10 μ g 1 : 100 O.T.)

リミョウバン 50mg のみの静注投与(B群), 感作のみ(A群)及びカリミョウバンで沈澱せしめた BSA 5mg のみの静注投与(D群)をそれぞれ行った。

(1) 皮内反応に及ぼす影響 :

表7に示す如く, 感作後5週目において BSA に対する皮内反応は, 5時間目では, カリミョウバンで沈澱せしめた BSA 静注投与のみのD群の1例を除いた全例が陽性を示したが, 48時間目では, A, B の対照群はすべて陽性を示したのに対して, 静注投与后感作したC群では6例中2例が陰性で, 2例が著明に弱い反応であった。一方, 「ツ」反応は非感作のD群以外は同じように反応した。

即ち, カリミョウバンで沈澱せしめた BSA 静注投与の前処置によって, BSA に対する即時型アレルギーは何等影響を受けないのに対して,

遅延型アレルギーは明らかに抑制されることが示された。

(2) 血中抗体に及ぼす影響 :

感作5週目に採血した血清について, BSA 及び結核菌系に対する血中抗体について検討を加えた結果, 表8に示す如く, BSA に対する沈降反応と凝集反応並びに結核菌に対する沈降反応と Boyden 凝集反応は, いずれも対照群と変わらない抗体価が得られた。

即ち, BSA を粒子抗原として前処置することによって, 遅延型アレルギーの産生は著明に抑制されたが, 即時型アレルギー及び血中抗体の産生は抑制されないことを知った。

C. BSAにFreundの Complete Adjuvant を加えて感作する前に BSA 生理的食塩水溶液を静注投与することの感作ウサギの皮内反応に及ぼす影響 :

BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えてウサギを感作する3日前に, BSA 5mg の生理的食塩水溶液の静注投与を行った。対照実験としては BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えて感作のみを行った。

感作5週目において, 表9に示す如く, 感作前処置群では5例中3例が遅延型皮内反応は陰性であったが, 対照群ではいずれも陽性を示した。即ち, この場合においても, OT の場合と同じく可溶性抗原と Particulate 抗原との差は認められなかった。

3. 抗原特異性に関する検討

(1) 脱感作実験における特異性 :

BSA に Freund の Complete Adjuvant を加えて感作後, 5週目に於て, カリミョウバンで沈澱せしめた BSA 及び BCG 死菌のそれぞれ静注 Challenge を行った結果, 表10に示す様

表 6 BSA + Freund's Complete Adjuvant 感作ウサギの血中抗体に Particulate BSA 静注 Challenge の及ぼす影響

ウサギ 番 号	血清採取日	B		S		A		結		核		菌	
		沈降抗体価 (2 ^x)		凝 集 抗 体 価 (10×2 ^x)		沈降抗体価 (2 ^x)		沈降抗体価 (2 ^x)		Boyden 抗 体 価 (10×2 ^x)		沈降抗体価 (2 ^x)	
		1	5	0	1	5	10	1	5	0	1	5	10
2900	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2901	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2905	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2943	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2947	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2948	感作5週目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Challenge 2日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	7日目	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

に、BSA を粒子状として静注投与することによって BSA に対する遅延型アレルギーの抑制がみられたが、「ツ」反応に対しては何等影響を与えなかった。血中抗体には静注 Challenge による抗体価の変動はみられなかった。

一方、BCG 死菌静注投与によって、「ツ」反応の抑制がみられたが、BSA に対する遅延型アレルギーの影響はみられず、血中抗体価においては静注 Challenge の効果はみられなかった。

即ち、感作後静注 Challenge による遅延型アレルギーの脱感作には抗原特異性のあることを知った。

(2) 抑制実験における特異性：

BSA 及び BGG それぞれに Freund の Complete Adjuvant を加えて感作する3日前に、BSA 及び BGG それぞれ 5mg をカリミョウバンで沈澱せしめて静注投与を行った。

感作5週目に於ては、表11に示す如く、遅延型アレルギーに対しては、BSA 及び BGG はそ

れぞれ特異的に抑制を示したが、血中抗体価には差異は認められなかった。即ち、Asherson 型の抑制実験にも、抗原特異性があることを確認した。

4. 考 按

著者は第1篇に於て、ウサギの結核死菌による感作前及び感作後に、結核死菌という粒子状抗原を静注 Challenge することにより、遅延型アレルギーを示す「ツ」反応のみが選択的に抑制され、血中抗体の産生には何等影響を与えないことを観察した。かかる実験結果がもたらされた理由として、Macrophage による貪食処理過程の差異を取上げた。即ち、投与された抗原は先ず Macrophage によって貪食され、これが同時に細胞に対する特異的なブロッキングとして作用するのであろうが、このブロッキングが即時型アレルギーに対してより遅延型アレルギーに対してより容易であるため、抗体産生の解

表7 Particulate BSA 静注投与が BSA+Freund's Complete Adjuvant 感作ウサギの皮内反応に及ぼす影響 (感作5週目)

実験群	ウサギ 番 号	B S A 皮 内 反 応						ツベルクリン反応		
		5 時 間 目			48 時 間 目			48 時 間 目		
		10	20	30mm	10	20	30mm	10	20	30mm
A	3018	■			■			■		
	3019	■	■		■			■		
	2783	■	■		■			■		
	2785	■	■		■			■		
	2786	■			■			■		
	2787	■			■			■		
B	3027	■			■			■		
	3028	■			■			■		
	3029	■	■		■			■		
C	3013	■						■		
	3015	■	■		■			■		
	3016	■			■			■		
	3017	■			■			■		
	3020	■	■		■			■		
	3022	■			■			■		
D	3010									
	3011		■							
	3012		■							

(抗原: BSA 10 μ g 1:100 O.T.)

離が起るものと考えた。

即ち、この結果は両アレルギーの二元説を示すものであろうとした。更に粒子抗原はかかる抗体産生の解離をもたらす上に、可溶性抗原よりも活性が高いことを推定したのである。

しかし乍ら、用いた抗原が結核死菌という複雑多岐な抗原であるために、現象の解明に複雑さを加えるものと考えた。

従って、今回はそれに代わるものとして、牛血清アルブミン (BSA) 及び牛血清グロブリン (BGG) という比較的純化された単一抗原をカリミョウバンで沈澱せしめて粒子状抗原として用い、この静注投与によっても第1篇の実験におけると同じく遅延型アレルギーのみを選択的に脱感作並びに抑制することが出来ることを証明した。

かくて、著者は結核死菌という複雑多岐な抗

原に加えて、純化された単一な人工粒子抗原によっても、遅延型アレルギーのみを選択的に、且つ特異的に抑制し得ることを確め、ここに於ても遅延型アレルギーと即時型アレルギーの解離が存することを確認し得た。

しかるに、今回 O.T. 及び BSA を可溶性抗原の形(水溶液)で用いた実験において、それらが粒子抗原と殆んど差異を示さず、同様に抗体産生の解離現象を示し得ることを知った。これは著者の予想と必ずしも一致しない結果である。即ち、Macrophage が抗原を貪食処理する過程に於て抗原の物理的性状は重大な意義を持たないかの如くである。

但し、かかる結論を引き出す前になお一応の吟味を必要としよう。即ち、Dresser⁸⁾ によれば可溶性蛋白抗原といえども、高速遠沈によって沈降し得る様な微細粒子抗原を含有し、かかる微細な粒子抗原といえども、その抗体産生機構に対する態度は真の可溶性抗原と異なることが認められている。著

者の実験に於ても、明らかに表示し得ないけれども、可溶性抗原を用いた場合の遅延型アレルギーの抑制のされ方は、粒子状抗原の場合よりもやや不確かな様にも感ぜられた。従って、著者の用いた抗原には時として微細粒子を混入した場合と然らざる場合のあったことを否定出来ない。この点は更に吟味を要するものと考える。

即時型アレルギーと遅延型アレルギーの免疫学的解離現象、即ち Immune Deviation に関しては、既に Boyden⁹⁾, Dvorak¹⁰⁾, Asherson²⁾ 及び Borel 等¹¹⁾ がモルモットに於て、新生時並びに成熟時のいずれに於ても、遅延型アレルギーのみが選択的に抑制され、血中抗体の産生には影響を与えなかったと報告している。但し、彼等は血中抗体のうち、 γ_2 -抗体のみが特異的に抑制され、 γ_1 -抗体は影響を受けなかった

表 8 Particulate BSA 静注投与が BSA+Freund's Complete Adjuvant 感作ウサギの血中抗体に及ぼす影響 感作5週目

実験群	ウサギ 番 号	B		S		A		結		核		菌	
		沈降抗体価 (2 ^x)		凝 集		抗 体 価		沈降抗体価 (2 ^x)		Boyden 抗		体 価	
		1	5	0	1	5	10	1	5	0	1	5	10
A	3018	■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3019	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	2783	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	2785	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	2786	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	2787	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
B	3027	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3028	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3029	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
C	3013	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3015	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3016	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3017	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3020	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3022	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
D	3010	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3011	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■
	3012	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■	■■■■■

表 9 Soluble BSA 静注投与の BSA+Freund's Complete Adjuvant 感作ウサギに及ぼす影響

静 注 量 (mg)	ウサギ番号	BSA 皮 内 反 応	
		5 時 間 目	48 時 間 目
5	2 9 2 3	22×22(+)	0×0
	2 9 2 4	17×18(+)	0×0
	2 9 2 5	15×17(+)	0×0
	2 9 4 1	0×0	35×21(++)
	3 1 0 5	23×23(+)	23×20(++)
対 照	3 1 1 4	16×20(+)	20×20(++)
	3 1 1 5	23×21(+)	18×11(+)
	3 1 1 6	24×28(+)	24×17(++)
	3 1 1 7	20×18(+)	21×19(++)

点から、これを遅延型アレルギーと即時型アレルギーの真の解離現象とはせずに、Immune Deviation と呼んだのである。

著者の実験においても、今後血中抗体の質的

検討がこの問題の解明のために要請されると考えられる。

5. 総 括

ウサギを結核死菌で感作する前後に、O.T. 溶液及びカリミョウバンで沈澱せしめて粒子状としたものを静注投与することの、ツベルクリン・アレルギー及び結核血中抗体に及ぼす影響について検討を加えた。

更に、単一抗原として BSA 及び BGG を用い、それぞれによる感作前後に、BSA 生理的食塩水溶液、BSA 及び BGG のそれぞれをカリミョウバンで沈澱せしめて粒子状としたものを静注投与することの、遅延型アレルギー及び血中抗体に及ぼす影響並びにその抗原特異性について検討を加えた。

1. A. (1)結核死菌感作ウサギに、カリミョウバンで沈澱せしめた粒子状 O.T. を静注 Chal-

表 10 脱感作実験における特異性

感 作	脱 感 作	ウサギ番号	B S A			
			BCG 死 菌	遅 延 型 皮膚反応	血中抗体	
B S A + B C G 死菌	B C G 死 菌	2 9 0 4	—	+	+	+
		2 9 0 7	—	+	+	+
		2 9 0 8	—	+	+	+
		2 9 4 2	—	+	+	+
	Paiticulate B S A	2 9 0 0	+	+	—	+
		2 9 0 1	—	+	—	+
		2 9 0 5	+	+	—	+
		2 9 4 3	+	+	—	+
		2 9 4 7	+	+	—	+
		2 9 4 8	+	+	—	+

表 11 抑 制 実 験 に お け る 特 異 性

前投与抗原	感 作 抗 原	ウサギ番号	B S A		B C G		B G G	
			遅 延 型 皮膚反応	血中抗体	遅 延 型 皮膚反応	血中抗体	遅 延 型 皮膚反応	血中抗体
B S A	B S A + B C G	3 0 1 3	—	+	+	+		
		3 0 1 5	+	+	+	+		
		3 0 1 6	—	+	+	+		
		3 0 1 7	—	+	+	+		
		3 0 2 0	—	+	+	+		
		3 0 2 2	+	+	+	+		
	B G G + B C G	3 1 4 3	±	+	+	+	+	+
		3 1 4 6	±	+	+	+	+	+
		3 1 4 7	±	+	+	+	+	+
B G G	B S A + B C G	3 1 3 0	+	+	+	+	±	+
		3 1 3 2	+	+	+	+	±	—
		3 1 3 4	+	+	+	+	±	+
	B G G + B C G	3 1 3 5	—	—	—	+	—	+
		3 1 4 1	—	—	+	+	—	+
		3 1 4 2	—	—	+	+	±	+
無 処 置	B G G + B C G	3 1 4 8	—	—	+	+	+	+
		3 1 5 0	—	—	+	+	+	+
		3 1 5 1	—	—	+	+	+	+

lenge すると、「ツ」反応の一過性の陰性化がみられた。

(2) (1) のウサギに於ける結核血中抗体には変動はみられなかった。

B. (1) O.T. 溶液及びカリミョウバンで沈澱せしめた粒子状 O.T. を前投与した後に、結核死菌で感作すると、「ツ」反応の発現の抑制がみられたが、粒子状抗原の前投与による抑制の方

がより著明の如くであった。

(2) (1) のウサギの結核血中抗体の産生には全く抑制はみられなかった。

2. A. (1) BSA を Freund の Complete Adjuvant を用いて感作したウサギに、カリミョウバンで沈澱せしめて粒子状とした BSA を静注 Challenge すると、BSA に対する遅延型アレルギーの一過性の抑制がみられた。

(2) (1) のウサギにおける血中抗体には変動はみられなかった。

B. (1) BSA を Freund の Complete Adjuvant を用いて感作する3日前に、カリミョウバンで沈澱せしめて粒子状とした BSA を静注投与すると、BSA に対する遅延型アレルギーの抑制がみられ、10週目にも及ぶことを知った。

(2) (1) のウサギの BSA に対する血中抗体には変動はみられなかった。

C. BSA の生理的食塩水溶液を、BSA にて感作する前に静注投与すると、同じく BSA に対する遅延型アレルギーの抑制がみられた。

3. 以上の実験における遅延型アレルギーの抑制には、それぞれ抗原特異性のあることを確認した。

(本論文の要旨は、第16回日本アレルギー学会総会に於て発表した。)

謝辞：本稿を終るに臨み、御指導並びに校閲を賜った辻周介教授に篤く御礼申し上げます。

又、研究面での御協力を頂いた大島助教授並びに泉孝英博士に深く感謝致します。

なお、実験遂行の上に御協力を頂いた木津啓氏、和田ひな氏に感謝致します。

文 献

- 1) 泉孝英：シンポジウム，Ⅲ．即時反及び遅延反応にて予定発言として発表，第15回日本アレルギー学会総会，東京，昭和40年10月。
- 2) 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.
- 3) Uhr, J.W., Salvin, S.B. and Pappenheimer, A.M.: Delayed Hypersensitivity. II. Induction of Hypersensitivity in Guinea-Pigs by Means of Antigen-Antibody Complexes, *J. Exp. Med.*, 105, 11~24, 1957.
- 4) 浜島義博，京極方久共著：免疫組織学，4~6，東京，医学書院，昭和40。
- 5) 伝研学友会篇：細菌学実習提要，346，東京，丸善，昭和35。
- 6) Boyden, S.V.: The Absorption of Proteins of Erythrocytes Treated with Tannic Acid and Subsequent Hemagglutination by Antisera, *J. Exp. Med.*, 93, 107~120, 1951.
- 7) Stavitsky, A.A.: Micromethods for the Study of Proteins and Antibodies. I. Procedure and General Applications of Hemagglutination-Inhibition Reactions with Tannic Acid and Protein-Treated Red Blood Cells, *J. Immunology*, 72, 360~367, 1957.
- 8) Dresser, D.W.: Specific Inhibition of Antibody Production. II. Paralysis Induced in Adult Mice by Small Quantities of Protein Antigen, *Immunology*, 5, 378~388, 1962.
- 9) Boyden, S.V.: The Effect of Previous Injections of Tuberculin of the Development of Tuberculin Sensitivity Following BCG Vaccination in Guinea-Pigs, *Brit. J. Exp. Path.*, 38, 611~617, 1957.
- 10) Dvorak, H.F., Billote, J.B., MacCarthy, J.S., and Flax, M.H.: Immunologic Unresponsiveness in the Adult Guinea Pig. I. Suppression of Delayed Hypersensitivity and Formation to Protein Antigens, *J. Immunology*, 99, 245~263, 1966.
- 11) Borel, Y., Fauconnet, M. and Miescher, P.A.: Selective Suppression of Delayed Hypersensitivity by the Induction of Immunologic Tolerance, *J. Exp. Med.*, 123, 585~598, 1966.