

腹腔内単核細胞によるツベルクリン過敏性の他動的移行について

原 沢 道 美・三 浦 馨・小 山 寛 二 郎

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

受付 昭和 32 年 5 月 9 日

I 緒 言

近時、結核症の免疫学的研究の焦点が、専ら菌と単核細胞との相互関係にむけられ、免疫動物の単核細胞中では菌の増殖が阻止されることが、結核免疫の本態であるとされている¹⁾²⁾。著者ら³⁾も、正常およびBCG免疫モルモットの腹腔内に、人型結核菌を接種し、その後の菌の消長を腹腔内滲出細胞を中心として詳細に追求することにより、結核免疫モルモットの腹腔内単核細胞中には、結核菌の発育を阻止するものがあると思われる知見をえ、これをすでに前報に報告した。

また、試験管内では抗菌力がほとんど認められないが、生体内では結核症に対して顕著な作用を示す抗結核性表面活性剤 Triton WR-1339について、同様な実験を試み⁴⁾、ある時期の Triton 処置モルモットの腹腔内単核細胞中には、BCG免疫モルモットのそれと同じような、結核菌発育阻止作用のあることが認められた。

そこで、これらの現象の意味づけをさらに明らかにするために、これらの動物の腹腔内単核細胞によるツベルクリン過敏性の他動的移行が、果して可能かどうかを観察したところ、2、3の知見を得たのでその結果を報告し、いささか考察を加えてみたい。

II 実験材料および実験方法

donor として、体重310~490gの健康モルモット90匹を使用し、これをその実験目的より30匹ずつの3群に分類した。いずれも実験前の100倍稀釈OTによるツベルクリン反応は陰性である。

第1群：正常モルモット群。

第2群：Triton WR-1339の100mgを腋窩部皮下に左右交互に週2回、2週間注射し、1週間放置した群。

第3群：BCGの1mg (68×10^6 生菌単位)を左腹壁皮下に注射してから7週目の群で、いずれも100倍稀釈OTによるツベルクリン反応は接種後2週目より陽性となり、7週目の硬結平均値は $19 \times 19mm$ であった。

これらのモルモットに、0.01mg/mlの割にグリコゲン含有する生理的食塩水の10mlを、それぞれ腹腔内に注入し、第1群では注入後4日目、第2群では注入後3日目、第3群では注入後2日目に、各群の動物を全部殺し、腹腔内滲出細胞を洗出した。その方法は、Heparin

加 Tyrode 溶液 30ml を腹腔内に注入し、無菌的にピペットにて腹腔滲出液を採取した。各群とも約500mlの滲出液が採取できた。

各群の細胞数および細胞種類は、

第1群：1900/mm³、好中球0.5%、好酸球3.5%、単核細胞96.0%

第2群：1900/mm³、好酸球10.5%、単核細胞89.5%

第3群：1800/mm³、好酸球8.5%、単核細胞91.5%

の如くで、ほぼ等しかつた。

その滲出液を1,000回転5分間遠心沈澱すれば細胞は管底に沈んで層を作る。上清を静かに捨てて細胞を再びHeparin加Tyrode溶液に浮遊し、同じ操作を数回繰り返して良く洗い、最後に washed cellを得た。これをHeparin加Tyrode溶液に浮遊せしめたものを、移入に用いた。

recipientとして用いた動物は、同じく健康モルモット24匹で、予め100倍稀釈OTによるツベルクリン反応が陰性なることを確かめた後これを4~5匹ずつの6群に分ち、それぞれ一定量の細胞を移入した。移入細胞量は、(A)では上述の如くして得た各群の washed cell を Heparin 加 Tyrode 溶液で倍量にうすめ、その 1ml ずつを、(B)では、それをさらに Heparin 加 Tyrode 溶液で10倍にうすめ、その 1ml ずつを、それぞれ腹腔内に移入した。

細胞移入後72時間目に、ツベルクリン反応を検した。用いたツベルクリンの濃度は、OTの10倍、100倍および1,000倍稀釈液で、対照として、Sauton 培地を $\frac{1}{10}$ に濃縮したもの、10倍、100倍および1,000倍稀釈液を同時に用いた。これら各稀釈液の0.1ccずつを、それぞれ各モルモットの6箇所皮内注射し、24時間、48時間、72時間後、各反応の硬結を計測した。

III 実験成績

表1に、各群における、各稀釈液による皮内反応の平均値を示し、表2には、10倍稀釈液による皮内反応の個々の例を示した。

まず10倍稀釈液による皮内反応では、第1群および第2群では、いずれもその反応は10mm以下であるが、第3群ではこれらと趣を異にしている。すなわち、10倍 Sauton 対照液による皮内反応は全例 10mm 以下である

表1 各腹腔内単核細胞を移入後72時間目のTuberculin および Sauton 対照液による皮内反応平均値

群別	移入細胞量	皮内反応 (mm)					
		Tuberculin 反応			Sauton 対照液による反応		
		24時間	48時間	72時間	24時間	48時間	72時間
I ×10稀釈液による反応							
第1群	A	9.5	5.8	0.8	3.0	1.8	0
	B	10.5	7.8	5.3	7.0	4.5	4.0
第2群	A	9.5	5.5	4.0	4.0	2.0	0.8
	B	10.3	8.5	7.8	4.0	3.8	3.5
第3群	A	15.2	12.0	10.8	4.0	3.2	0
	B	15.0	12.0	9.3	5.0	3.8	1.0
II ×100稀釈液による反応							
第1群	A	2.8	0	0.8	0.8	0	0
	B	3.2	0.8	0	2.8	0	0
第2群	A	3.8	1.8	0.5	2.3	1.5	0
	B	6.8	2.8	0	2.0	0	0
第3群	A	9.4	6.6	1.2	3.0	0.6	0
	B	9.5	3.5	1.0	3.3	2.0	0
III ×1000稀釈液による反応							
第1群	A	1.5	0	0	0	0	0
	B	2.8	0	0	2.8	0	0
第2群	A	3.0	0	0	2.0	0	0
	B	2.0	0	0	0	0	0
第3群	A	4.8	3.3	0	3.0	0	0
	B	4.8	3.3	0.8	3.0	2.0	0

注 第1群: 正常モルモット
 第2群: Triton 注射モルモット
 第3群: BCG 免疫モルモット
 (A)は移入細胞量が(B)の10倍

が、10倍稀釈OT液に対しては全例遅発型の反応を呈し、その平均値は、A群では24時間 15.2mm, 48時間 12.0mm, 72時間10.8mm, B群では24時間15.0mm, 48時間 12.0mm, 72時間9.3mmの値を示している。

以上の関係は図をみればさらに明らかで、Chase⁵⁾ららがすでに報告せる如く、BCG免疫モルモットの単核細胞による、ツベルクリン過敏性の他動的移行の可能なことが、本実験においても明らかに認められた。

なお、100倍稀釈液、1,000倍稀釈液による皮内反応では、いずれの群も10mm以下であった。

IV 総括ならびに考察

以上の如く、BCG免疫後7週目のモルモットから得た腹腔内単核細胞を移入せしめることにより、健康モルモットに他動的にツベルクリン反応を惹起せしめることができた。しかし、Triton処置動物の単核細胞の移入によつては、ツベルクリン感受性の他動的移行は不可能で

表2 10倍稀釈 Tuberculin および Sauton 対照液による皮内反応の推移

群別	移入細胞番号	皮内反応 (mm)						
		Tuberculin 反応			Sauton 対照液による反応			
		24時間	48時間	72時間	24時間	48時間	72時間	
第1群 正常モルモットから腹腔内滲出細胞を移入した群	A	1	7	3	0	3	3	0
		2	14	8	3	6	4	0
		3	10	0	0	3	0	0
		4	7	4	0	0	0	0
	B	5	13	10	8	7	5	4
		6	8	6	2	6	5	5
		7	11	9	6	7	4	3
		8	10	6	5	5	4	4
第2群 Triton 処置動物から腹腔内滲出細胞を移入した群	A	9	6	6	4	6	4	3
		10	14	11	8	6	4	0
		11	10	5	4	3	0	0
		12	8	0	0	5	0	0
	B	13	11	8	9	3	3	3
		14	10	10	8	5	4	4
		15	10	8	6	4	4	4
		16	10	8	8	4	4	3
第3群 BCG 免疫7週目のモルモットより腹腔内滲出細胞を移入した群	A	17	14	10	9	3	2	0
		18	16	14	12	4	4	0
		19	16	12	12	5	4	0
		20	16	12	10	5	3	0
	B	21	14	12	11	3	3	0
		22	10	10	10	7	6	4
		23	15	14	11	5	3	0
		24	15	10	8	5	3	0
B	25	14	12	10	3	3	0	
	26	16	12	8				

注 (A)は移入細胞量が(B)の10倍

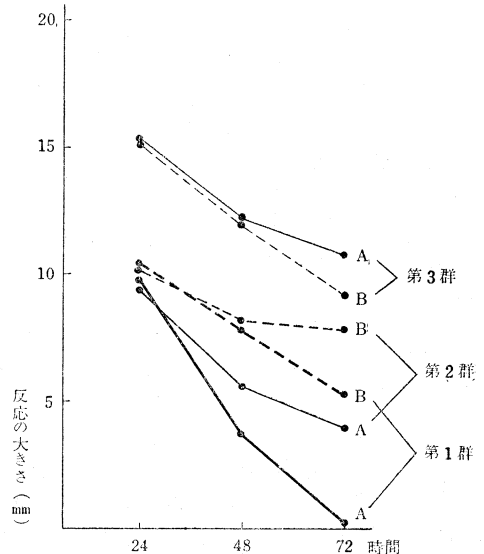


図 腹腔内単核細胞を移入後72時間目の各群における10倍OTによる Tuberculin 反応の推移

あつた。

さて、前報³⁴⁾において、BCG免疫モルモットおよびある時期の Triton 処置モルモット（本実験に用いた実験条件の如き）の腹腔内単核細胞中には、同程度に結核菌の発育を阻止するものがあると思われる知見をえ、これをすでに報告したが、本実験成績は、それがそれぞれ異なる機作により起ることを示していると思われる。すなわち、BCG免疫モルモットの単核細胞にみられる結核菌発育阻止作用には、ツベルクリン抗体がなんらかの意味で大きな役割を演じていると思われるのに対し、Triton処置動物の単核細胞にみられる結核菌発育阻止作用には、その関与が全く認められない点である。

しかしながら、BCG免疫群にみられる抗菌作用が、果してツベルクリン抗体そのものの作用かどうかを、本実験成績のみから決定することは、もちろんできない。むしろ著者らは、ツベルクリン抗体と全く関係のない Triton処置動物の単核細胞中にも、BCG免疫動物の単核細胞と、同様な抗菌作用のみられることを重視し、BCG免疫動物の単核細胞にみられる抗菌作用も、結核菌と単核細胞内の抗体とによつて惹起される反応過程が、そこに物理化学的变化を招来し、それが菌の増殖に対して、直接阻止的に働くからではないかと考えた方が、より妥当性があると思われる。

しかし、その物理化学的变化の本態がいかなるものであるか、またそれが、果して Triton 処置によつて起る物理化学的变化と同じようなものであるかどうか等については、なお、明らかではない。最近、物質代謝と結核感染に対する抵抗性ととの関係について、Dubos¹⁴⁾¹⁵⁾らの広範な研究があるが、結核免疫を解明するには、今後このような観点から大いに観察する必要があると思われる。

なお、第3群（BCG免疫モルモットの腹腔内滲出細胞を移入した群）について、細胞移入後1週目、2週目にも、それぞれ同様な方法で皮内反応を検索したが、いずれも10倍稀釈ツベルクリン液に対しては10mm以上の反応を示した。しかし、2週目にはやや減弱する傾向が認められた。

V 結 語

BCG免疫(68×10^6 生菌単位)後7週目のモルモットから得た、腹腔内単核細胞を移入せしめることにより、健康モルモットに他動的にツベルクリン反応を惹起せしめることができた。このツベルクリン反応は、細胞移入後2週目においても、なお認められた。しかし、BCG免疫モルモットの単核細胞と同様な抗結核菌作用のみられる Triton 処置動物の単核細胞の移入によつては、ツベルクリン感受性の他動的移行は不可能であつた。

文 献

- 1) Lurie, M.B. : Studies on the mechanism of immunity in tuberculosis. *J. Exper. Med.*, 75: 247~268, 1942.
- 2) Suter, E. : Multiplication of tubercle bacilli within mononuclear phagocytes in tissue culture derived from normal animals vaccinated with BCG. *J. Exper. Med.*, 97: 235~245, 1953.
- 3) 原沢道美他 : 単核細胞中の結核菌の消長を指標としての抗結核免疫の観察, *結核*, 32: 406, 昭32.
- 4) 原沢道美他 : 腹腔内単核細胞の免疫学的研究, 第9報, 抗結核性表面活性剤 Triton WR-1339の単核細胞機能に及ぼす影響, *医学と生物学*, 43: 1~5, 昭32.
- 5) Chase, M.W. : The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 59: 134~135, 1945.
- 6) Kirchheimer, W.F. et al. : Tuberculin reaction. 3. Transfer of systematic tuberculin sensitivity with cells of tuberculous guinea pigs. *Proc. Soc. Biol. & Med.*, 70: 99~102, 1949.
- 7) Lawrence, H.S. : The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man. *Proc. Soc. Exper. & Med.*, 71: 516~522, 1949.
- 8) Hensel, V.G. : Experimenteller Beitrag zur Frage der transitorischen Tuberculinallergie. *Der Tuberkulosearzt*, 6: 717, 1952.
- 9) Kourilsky, R. et al. : Etude sur le transfert de l'allergie tuberculinique. *Rev. de la Tub.*, 18: 74~77, 1954.
- 10) Cummings, M.M. et al. : Passive transfer of tuberculin sensitivity in guinea pigs. *Pub. Health. Rep.*, 62: 994, 1947.
- 11) 深瀬政市他 : 家兎に於けるツベルクリンアレルギーの受身伝達に関する研究, *日本内科学会雑誌*, 42: 61~66, 昭28.
- 12) 宇佐美正鴨 : ツベルクリン過敏性の他動的移行に関する研究, *アレルギー*, 4: 370~375, 昭31.
- 13) 荻田友雄 : ツベルクリン反応の Passive Transfer に関する研究, *アレルギー*, 5: 30~37, 昭31.
- 14) Hirsch, J.G. : Biochemical factors which

may influence the fate of tubercle bacilli in tissues. Ciba foundation symposium of experimental tuberculosis. Churchill. 115~127, 1955.

- 15) Dubos, R.J. : Effect of metabolic factors on the susceptibility of albino mice to experimental tuberculosis. J. Exper. Med., 101 : 59~84, 1955.