

## 総 説

## ツベルクリン反応発現の機序

橋 本 達 一 郎

国立予防衛生研究所結核部

受付 昭和 47 年 11 月 30 日

## MECHANISM OF TUBERCULIN REACTION\*

Tatsuichiro HASHIMOTO

(Received for publication November 30, 1972)

The tuberculin reaction, classical form of delayed type hypersensitivity, is defined as an immunologically determined inflammatory response characterized mainly by delayed onset of the reaction and by a mononuclear cell infiltration at the reaction site. These two characteristics are analysed in this review in relation to the mechanism of manifestation of the tuberculin skin reaction.

Many evidences in the passive transfer of tuberculin sensitivity showed that the passive sensitization could be established without lag by injecting intravenously the mononuclear cells from sensitized animals to normal in the absence of demonstrable serum antibody and that the immunologically competent cells would be sensitized lymphocytes transformed from thymus-dependent lymphocytes. After leaving the regional lymph nodes where they were produced, the sensitized cells start to circulate through the whole body to establish the over-all sensitization to tuberculin.

Further experiments in which passive transfer was combined with desensitization or with labelling of donor or recipient demonstrated that the circulating sensitized cells interacted directly with the tuberculin injected intradermally and remained there at the contact site, reaching in several hours (within 6 hours) the necessary numbers for elicitation of the skin reaction. This immunologically specific process hardly manifests a visible reaction. The majority of the infiltrating cells at the reaction site consists of non-specific mononuclear cells, with a small portion of specifically sensitized cells, even when the reaction reaches the maximal intensity. The non-specific cells play a major role for the visible expression of the reaction, coming almost entirely from an actively dividing cell population through the blood stream. Thus the tuberculin reaction consists of 2 steps, specific and non-specific.

During the first, specific step of the reaction, the sensitized cells synthesize in several hours (about 6 hours) a chemical mediator of the skin reaction after the direct contact with tuberculin and released it extracellularly. This mediator, a proteinous substance with molecular weight of 35,000 to 55,000 which is able to inhibit the macrophage migration in vitro as MIF (migration inhibitory factor), may cause the second, non-specific step of the reaction. When MIF is injected intradermally to the normal animal, the skin reaction similar to the tuberculin reaction grossly and histologically appears in 3 hours reaching a

\* From the Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

peak 6 to 9 hours later. MIF acts independently from the antigen, causing the skin reaction beyond the animal species that shows predominant mononuclear cells in the cellular infiltrate of the upper and middle areas of the dermis.

The most non-specific mononuclear cells in the second step appear to be macrophages and the experiments in which whole-body irradiated animals restored with the normal bone marrow were examined with various techniques of cell labeling have established that the non-specific macrophages come directly to the skin reaction site from the rapidly proliferating precursors in the bone marrow by way of the bloodstream. Thus the tuberculin reaction is initiated by thymus-dependent sensitized lymphocytes, taking a prolonged time course due to the overlapping of each reaction step of several hours, and visibly expressed by bone marrow dependent non-specific macrophages.

結核菌の感染を過去に経験した人の大部分は皮内にツベルクリンを注射されると遅延型の皮膚反応、ツベルクリン反応を起す。すなわちこの反応は数時間後まで肉眼的になにも見えないが、その後次第に増強して24~48時間で最大に達するという遅延型の経過を特徴とし、肉眼的には発赤、硬結を主とする炎症で単核細胞の優勢な参加を特色とする細胞浸潤によつて組織学的に表現されている<sup>1)</sup>。なぜツベルクリン反応がこのような特徴を示すかはツベルクリンの発見以来、少なくとも半世紀以上の長い間不明であつたが、この反応が免疫学的反応に属し、強い特異性をもつものであるという確信は長い間その診断的価値を支えてきた。しかし実はツベルクリン反応の惹起に関与する抗体が検出できないことはかなり早くから、血清による受身感作の不成功として報告され<sup>2)</sup>、古典的免疫学によつてこの反応の発現を説明することは不可能であつた。

ツベルクリン反応の本態が免疫学的にはじめて解明の出発点にたつたのは、1945年、ツベルクリン・アレルギーが結核免疫動物から得たリンパ球様細胞によつて正常動物に伝達されることがChaseによつて報告されたときである<sup>3)</sup>。この発見によつてようやくわれわれは長い間謎につつまれていたツベルクリン反応発現の機序を明らかにする鍵を手にすることができた。血清抗体に代る免疫学的反応体として登場したリンパ球様細胞（腹腔滲出細胞、脾およびリンパ節細胞など）はその後実験対象として受身伝達、アイソトープ標識、細胞培養など種々の角度から分析が進められ、その結果ツベルクリン・アレルギーは胸腺に依存するリンパ球（T-細胞）から変化した感作リンパ球が免疫学的反応を開始する点において接触皮膚炎アレルギー、同種移植免疫反応、自己免疫疾患、癌免疫の諸免疫反応と免疫学的には同類であり、遅延型アレルギーの代表として「細胞性免疫」という概念に包括され、抗体産生を行う骨髄由来のリンパ球（B-細胞）が主役を演ずる液性免疫とは別個の免疫現象

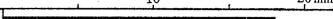
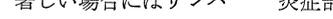
として理解されるようになってきた。したがつてツベルクリン反応発現の機序は結核感染における感染アレルギーという狭い範囲から脱して、いまや「細胞性免疫<sup>4)</sup>」という広い角度から得られる多くの実験データにより急速にその解明が進められる段階に到達している。

「細胞性免疫」は現代免疫学の最も活発に研究を進められている研究分野で、新しい知見が応接にいとまがないほど、報ぜられているところであり、ツベルクリン・アレルギー発現の機序もまだ完全にその全貌が明らかにされたとはいえない。われわれの研究室では1962年以来、Chaseの報告の追試を出発点としてツベルクリン・アレルギーの本態の研究を始め、結核免疫との関連を明らかにすることを目標にツベルクリン反応発現の機序についてまずその全貌を把握することに努力してきた。その間、1966年からは日米医学協力計画結核部会の研究主題の一つである「結核におけるアレルギーの機序」の研究グループに参加し、7年にわたる研究の結果を総括すべきときに達した。ここにこれまでにわれわれが得た実験結果を軸として、結核感作生体に発現するツベルクリン反応の機序について展望を試みてみることにしたい。

## I. ツベルクリン・アレルギー感作状態

ツベルクリン・アレルギーに感作するには結核生菌の感染による方法が最も容易であるが、結核死菌にアジュバントとして油類を添加しても強力なアレルゲンとなる<sup>5)</sup>。特異抗原はツベルクリン蛋白とみなされるが<sup>6)7)</sup>、精製蛋白の形では抗体との複合体をアジュバントとともに注射するか<sup>8)</sup>、またはツベルクリン蛋白を繰返し皮内に注射することによつて<sup>9)</sup>正常動物にツベルクリン・アレルギーを付与することができる。これらの場合、生体側で、まず免疫体、すなわち感作細胞の産生を行うところは注射部位の所属リンパ節とみなされる。なぜならば最初に所属リンパ節内に独特な形態学的変化が起り、大

Table 1. Passive Transfer of Tuberculin Sensitivity from Sensitized to Normal Guinea Pigs

Cells from sensitized animals	No. of cells injected ( $\times 10^7$ )	Size of passive tuberculin skin reaction in normal animals
		10                      20mm
Peritoneal exudate cells	4.6	
mononuclears	1.3	
polymorphonuclears	4.2	
Granulomatous spleen cells	4.7	
	1.7	
Spleen cells	5.4	
Thoracic duct lymph cells	1.7	
Lymph node cells	5.7	
Inflammatory lymph node cells	5.8	
Serum	10 ml	
None	0	

型のリンパ球様細胞が増殖して、著しい場合にはリンパ節の腫大をひき起す。この変化は最初同種移植片の移植部位所属リンパ節で注目され<sup>10)</sup>、接触皮膚炎の感作においても確認されたが<sup>11)</sup>、ピロニン染色で染まる大型のリンパ球様細胞はリンパ節の傍皮質領域 (paracortical areas) に分布する胸腺依存性のリンパ球<sup>12)</sup> の変化したものと考えられている。われわれは結核生菌 (BCG) でモルモットを感作後、早い場合は4日までに同様な形態学的変化が所属リンパ節に起り、7日ではツベルクリン・アレルギーを伝達しうる細胞が所属リンパ節から得られるとともに、濃厚なツベルクリンを用いて全身感作が成立していることを証明することができた<sup>13)14)</sup>。全身感作の成立には所属リンパ節で大型のリンパ球様細胞がさらに小リンパ球様の感作リンパ球に変化して血流中に入り全身を循環するとみなされている。このようにして個体はツベルクリン反応陽性になると考えられるが、前述の型式の抗原刺激がいかにして小リンパ球中の T-細胞を選び、一連の変化をひき起して感作細胞の産生にいたるかはまだ十分明らかにされていない。さらに胸腺依存性リンパ球から、ツベルクリン反応の場で抗原と結合する感作リンパ球まで、直接に細胞を追跡することにはまだ成功していない。ツベルクリン・アレルギーの誘導にはまだ多くの未解決の問題が残されている。

ツベルクリン感作が成立した個体では感作細胞は血中のみならず、全身を循環しているので、角膜をはじめ全身の皮膚、粘膜のどこに注射してもツベルクリン反応をひき起すことができる。しかしツベルクリン感作動物の組織から感作細胞を正常動物にアレルギーを伝達しうるほどにすることは容易ではない。多かれ少なかれツベルクリン反応陽性の個体に非特異的または特異的炎症を起す方法である<sup>14)</sup>。Chase<sup>3)</sup>は結核感作モルモットの腹腔に流動パラフィンを注入して非特異的炎症を起し、滲出細胞が感作細胞を含むことをアレルギーの受身伝達法によつて証明したが、われわれは結核感作モルモットに

BCG を静注して脾にアレルギー性炎症を起して腫大せしめ、この結核性肉芽腫脾が腹腔滲出細胞と同程度にツベルクリン・アレルギー受身伝達能をもつのみならず、重感作の接触皮膚炎アレルギーをも正常動物に伝達しうることを見出した<sup>15)~17)</sup>。表1はツベルクリン反応陽性のモルモットから分離できる受身感作能をもつ細胞群を示すとともに大量の血清、非炎症性のリンパ系組織細胞は受身感作能のないことを示している。無論、感作動物の肺、肝、腎はそのままではツベルクリン・アレルギーを伝達するにたるほどの感作細胞を含んでいない<sup>18)</sup>。感作細胞は全身の臓器組織に広く分布し、循環していると思われるが、

炎症部位に特に多く集められるということはツベルクリン反応が最初いかにして開始されるかということを示唆しているように思われる。また結核病巣の進展にも大きな関連をもつようにみえる。

受身伝達能を指標にして得ることのできる感作細胞群はしかし当然雑多の細胞からなる混合細胞群であるが、多形核白血球は感作細胞でないと除外され<sup>17)19)</sup>、したがってリンパ球、マクロファージを含む単核細胞がツベルクリン反応を起す感作細胞として免疫学的対象とされた。いずれの細胞が感作細胞であるかは結局、細胞純化の方法の進歩と *in vitro* の遅延型アレルギー検出法の出現を待たねばならなかつた<sup>20)</sup>。受身伝達法によると大量の細胞数が必要なために細胞種類の決定ははなはだ困難であつたが、われわれの感作細胞の同定では全身的なツベルクリン・アレルギーの受身伝達を指標とする限り、感作動物から分離される炎症性マクロファージ<sup>21)</sup>、非炎症性部位のリンパ球の大部分は<sup>17)</sup> ツベルクリン感作細胞ではないということが結論された。1966年、Bloom<sup>20)</sup>が腹腔滲出細胞をかなり純度の高いリンパ球とマクロファージに分画して *in vitro* の遅延型アレルギーを検討するまでは感作リンパ球がツベルクリン・アレルギーの免疫学的担当細胞であるという結論は保留されていたといえる。抗リンパ球血清によるツベルクリン反応の発現抑制<sup>22)</sup>もこれに対する間接的な証拠の一つとなるであろう。このようにして現段階ではツベルクリン・アレルギーの感作状態の成立と持続は胸腺を経過してきた寿命の長い感作リンパ球の全身的分布と循環によるものと思われる。

## II. 感作細胞とツベルクリンの相互作用

ツベルクリン反応陽性の個体に皮内注射されたツベルクリンはどのように全身を循環する感作細胞と作用してツベルクリン反応の発現へ導くのであろうか。これはツベルクリン反応の全経過における特異的な免疫学的過程

である。この過程の分析にアレルギー受身伝達法とこれと組合せた細胞核をトリチウムでラベルする実験方法は大きな収穫をあげることができた。

Chase によるツベルクリン・アレルギーの受身伝達<sup>2)</sup>はその後多くの追試<sup>23)~26)</sup>によつて支持されたが、方法的に確固とした基礎を与えたのは Metaxas らの実験<sup>27)</sup>であつた。すなわち彼らは感作細胞を正常動物に静脈内注射すると直ちに受身感作が成立し、ほぼ同時にツベルクリンを皮内に注射することによつてツベルクリン反応を起すことができた。われわれはツベルクリン感作細胞材料として豊富に得られる肉芽腫脾細胞を駆使して、Metaxas らの方法によつて正常動物に静注された感作細胞が皮内に注射されたツベルクリン抗原と直接に作用し、反応の発現にいたる多くの証拠を示すことができた<sup>17)</sup>。

まず細胞による受身感作実験は大い相互の皮膚移植片を拒絶する同種動物について行われたが、正常動物に伝達されたアレルギーは通常、次第に減弱して1週間以内に全く消失した<sup>13)</sup>。しかし移植片の拒絶を示さない同系動物では、移入細胞の破壊が起らないために受身伝達されたツベルクリン・アレルギーは少なくとも2週間またはそれ以上持続することが確認された<sup>28)</sup>。一方、感作細胞はきわめて緩やかな物理的破壊作用により受身伝達能を失うので<sup>15)</sup>、細胞破壊産物、細胞からの抽出物による受身感作は実験的に成功していない<sup>29)30)</sup>。さらに感作細胞をマイトマイシンCで処理すると受身感作力を失<sup>31)</sup>、生きている細胞によつてのみツベルクリン・アレルギーを正常動物に伝達することが確認された。もつとも生細胞以外の感作体物質によつて、正常個体へツベルクリン・アレルギーが伝達されることが報告されているが<sup>32)~35)</sup> (いわゆる「伝達因子」の仮定の下に)ほとんど追試が成功していない。おそらく一種の修飾抗原 (Super antigen) による能動感作の可能性も考えうる。

上述のように生きている感作細胞を正常動物に静注すると潜伏期なしに直ちにツベルクリン感作が成立し、ツベルクリンの皮内注射によつて正常の経過をとるツベルクリン反応が直ちに発現するのであるが細胞を腹腔内に移入すると同種動物間では直ちに受身感作が成立せず1~2日の潜伏期を必要とし静注の場合より反応の発現が弱く同様な消滅過程をたどる<sup>16)</sup>。これに対し同系動物では腹腔内に細胞を移入しても受身感作は静注の場合に劣らず強く長く持続する<sup>33)</sup>。同系動物間の受身感作において少数の移入感作細胞の分裂増殖によつて、移入後数日してはじめてツベルクリン注射により反応が認められることが報告されているが<sup>36)</sup>、感作細胞の増殖は疑問とされ<sup>37)</sup>、われわれも同系モルモット (JY-1 株) を用いた同様な実験において増殖を肯定する結果を得ることができなかつた<sup>38)</sup>。すなわち全身をめぐる感作リンパ球はも

はや著明な分裂をせずに生存を続け抗原に遭遇する機会を待つと考えられる。われわれの経験では受身感作の成立のためには同種同系動物を問わず一定数以上の感作細胞が必要であるが<sup>16)</sup>体内をめぐる感作細胞の数が限定され新たな補給のない限り、しだいに減つてゆくものとするればツベルクリン受身感作動物においてツベルクリンの注射箇所を増せば個々の反応の減弱を招くことになる。この事実は Metaxas ら<sup>27)</sup>およびわれわれ<sup>17)</sup>によつて確認されている。

感作細胞を *in vitro* でツベルクリン抗原 (OT, PPD または結核菌体) と接触させると低温でもきわめて短時間で特異的にツベルクリン・アレルギー受身伝達能を失うことが認められたが<sup>17)39~41)</sup>、この事実もまた感作細胞と抗原が直接結合することを示唆している。かかる意味の脱感作は感作細胞を正常動物に静注後同時に皮内にツベルクリンを注射したあといくつかの群に分け、各群にさらにツベルクリン抗原の静注を経時的に実施してゆくと4時間後までに静注した群ではいずれもツベルクリン皮膚反応の発現が抑制されることから *in vivo* でも惹起が可能である<sup>42)</sup>。しかしこの実験では6時間以後抗原を静注した群では脱感作処置は無効となり、皮膚反応が出現した。このことはツベルクリン注射部位に一定数の感作細胞がひきとめられる前に (6時間以前)、感作細胞が静注抗原によつて途中で脱感作され皮内注射抗原と免疫学的反応を行う機会を失つたものと解釈される。この脱感作の時間的経過はアイソトープによつて標識した感作細胞を用いて反応部位の特異性を検討した実験結果と非常によく一致した<sup>43)48)</sup>。

すなわち表2に示すようにツベルクリン感作モルモットの肉芽腫脾細胞を<sup>3</sup>H-サイミジンの投与によつて標識したのち dinitro chlorobenzene (DNCB) によつて同じ遅延型アレルギーに属する接触皮膚炎アレルギーに能動感作したモルモットに静注し、標識した感作細胞によるツベルクリン・アレルギーの受身伝達を行つた。同時にそれぞれの抗原を皮内に注射し、7および24時間後に注射部位の皮膚を摘出して放射能活性およびオートラジオグラフィによる標識細胞の検出を行つた。上述の脱感作実験からすでに感作細胞の必要数が集まっているとみられるツベルクリン注射後7時間目の皮内注射部位では肉眼的にいずれの反応も認められないのかかわらず標識単核細胞数ならびに放射能活性が他の対照部位に比べて圧倒的に多いことが示された。肉眼的に反応はつきりみられる24時間目では反応の特異性はかえつて弱まっていたが、これは感作細胞と抗原の作用しあう第1段階の特異的反応に続いて非特異的細胞の浸潤による第2段階の反応が起るためと考えられる。この方向の研究は Najarian ら<sup>44)</sup>によつて1961年をはじめ報告され、ツベルクリン反応部位に標識感作細胞が特異的に集合するこ

Table 2. Radioactivity and Percentage of Labeled Cells at the Site of Passive Tuberculin Skin Reaction 7 and 24 Hours after Intravenous Injection with Tritiated-thymidine Labeled Cells of Tuberculin Sensitive Donors to DNCB-sensitized Recipient Guinea Pigs

Time after cell transfer	Antigen used for intradermal injection	Changes at the site of skin reaction			
		Radioactivity CPM/40 mg skin	Autoradiographic examination		Gross findings
			Labeled cells per total cells	Percentage of labeling	
7 hours	None	60	3/1, 018	0.3%	—
	DNCB	70	6/1, 001	0.6%	—
	PPD	1, 630	28/1, 018	2.8%	—
24 hours	None	70	1/1, 019	0.1%	—
	DNCB	120	11/1, 032	1.1%	+(Redness)
	PPD	260	14/1, 003	1.4%	+(Redness+induration)

Note. DNCB: Dinitrochlorobenzene PPD: Purified protein derivative (Tuberculin)

とが指摘されたが<sup>44)</sup>、他の研究者による追試<sup>46)~48)</sup>は必ずしもこれを確認できず、しかも反応の4および6時間の早期におけるツベルクリン注射部位の標識感作細胞の特異的増加を観察している人はいない<sup>49)50)</sup>。この相違は感作細胞の標識法、受身感作の効率、さらに表2にも示されるように本来、反応に関与する感作細胞の数がきわめて少ないために起ると考えられる。事実、反応部位の標識感作細胞の比率があまりにも小さい場合には対照の反応との間に有意の差をもつて特異性を検出することが困難になるであろう<sup>51)</sup>。

受身感作と、細胞供与者または受容者をアイソトープで標識する方法の組合せは、さらに反応の細胞浸潤の本質についても興味ある分析のメスを提供した。すなわち感作細胞の移入を受ける正常動物の細胞をアイソトープで標識してみると受身感作個体のツベルクリン反応は主として標識された正常動物の非感作細胞が大部分(87~92%)を占めることが見出された<sup>48)</sup>。ツベルクリン反応の反応部位では、感作細胞は終始全細胞のわずか一部分を形成しているにすぎないことが明瞭になった。すなわち少数の感作細胞が抗原と作用して、肉眼的に著明な皮膚反応として現れない免疫学的に特異的な第1段階に引き続いて、多数の非感作細胞が浸潤する非特異的な第2段階が起り、これによつて皮膚反応が肉眼的にも著明に表現される。このようにしてツベルクリン反応は、特異的、非特異的な2段階の本質をもつ細胞反応であることが明らかになった。

### III. ツベルクリン反応の化学的メジエーター

ツベルクリン感作細胞がツベルクリンと作用すると、皮膚反応を起す化学物質を放出するのではないかということは、すでにこのアレルギーの局所的受身伝達によつて示唆されていた<sup>52)53)</sup>。すなわち感作細胞をツベルクリンと混合して正常動物の皮内に注射するかまたは、まず

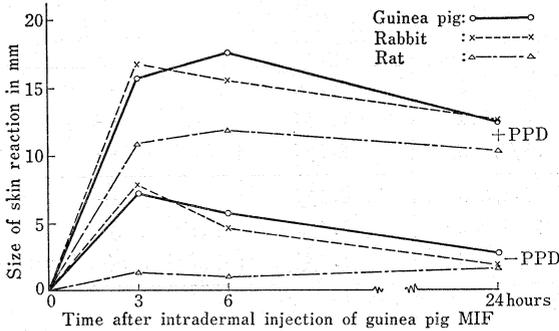
感作細胞を正常動物の皮内に注射したあと、ツベルクリンを静注すると細胞を注射した部位に皮膚反応が発現することが観察された。

そこで感作細胞を *in vitro* で組織培養することによつて細胞の産生する化学的メジエーターについて研究が進められ、ツベルクリン・アレルギーと他の型の細胞免疫反応との関連がさらに明らかにされた。ツベルクリン感作動物から得た感作リンパ球をツベルクリンを加えて培養すると、培養上清中に種々の生物学的活性をもつ因子が放出されるが<sup>54)55)</sup>、これらの因子の中で、ツベルクリン・アレルギーを *in vitro* で表現する反応としては、マクロファージの遊走を阻止する因子(MIF, migration inhibitory factor)による反応が最も信頼すべきものとされている。その理由はこの反応が感作個体の遅延型アレルギー感作状態に最もよく相関し血中抗体の存在とは関連しないことが確かめられているからである<sup>20)56)57)</sup>。

ツベルクリン反応陽性個体から得たマクロファージがツベルクリンによつて遊走を阻止される事実はかなり以前から見出されていた<sup>58)59)</sup>が、これは混入している感作リンパ球がツベルクリンと作用してMIFを放出し、これがマクロファージに作用するためであることが明らかにされた<sup>20)60)61)</sup>。したがつてマクロファージは特異的に感作されている必要はなく、MIFは正常動物のマクロファージにも同様に作用して遊走を阻止するのである。この場合、わずか1%の感作リンパ球の混入があると正常マクロファージ全体の遊走が抗原により阻止されることが観察されている<sup>62)~64)</sup>。

ツベルクリン感作細胞が産生するMIFはさらに正常動物の皮内に注射されると、肉眼的および組織学的にツベルクリン反応に似た皮膚反応を起すことができる<sup>21)65)~67)</sup>。MIFはツベルクリン感作細胞にツベルクリンを加えて約20時間培養した培養上清から部分的に精製されているが、蛋白合成阻害剤によつて産生を抑制さ

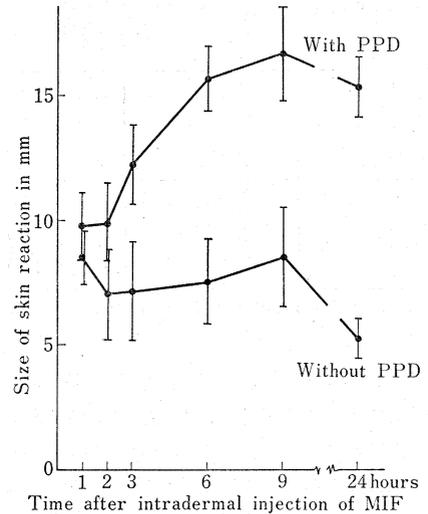
Fig. 1. Skin Reaction of Various Normal Animals 3, 6 and 24 Hours after Intradermal Injection with MIF Purified from Sensitized Guinea Pig Cell Cultures Incubated with or without PPD



れること<sup>68)</sup>から蛋白質と推定され、アルブミンより小さい分子量 (分子量 35,000~55,000) をもつが<sup>69)~71)</sup>、化学的にまだ完全に純化されていない。この大きさの分画には、またマクロファージ遊走阻止作用のほかにマクロファージの遊走を誘引する因子も含まれている<sup>72)</sup>が、MIFと皮膚反応因子(SRF, skin reactive factor)は現在、最も純化された分画においても分かれていない<sup>70)73)</sup>。この分画の化学的本態は今後、明らかにされねばならぬ問題であるが、われわれがツベルクリン感作細胞(肉芽腫脾細胞)の培養から純化した分画は5 mcg/mlでマクロファージの遊走を阻止し、正常モルモットの皮内に注射すると蛋白量10 mcgで径15 mm前後の皮膚反応を惹起することができた<sup>71)</sup>。

MIF(SRF)がツベルクリン反応の化学的メジエーターである可能性は次にあげる諸点からかなり強いと思われる。(1)その産生は特異的である。すなわちツベルクリン感作動物の細胞とツベルクリンの組合せでのみ産生され、ツベルクリン以外の抗原では産生されず、感作細胞のみの培養では産生されない。また正常動物細胞にツベルクリンを添加しても産生されない。(2)その作用は非特異的である。すなわち *in vitro* で正常マクロファージに働き、その遊走を阻止する場合に抗原の存在を必要とせずそれ自体で作用する<sup>74)</sup>。感作モルモットから得た SRF は動物種属をこえて作用する<sup>75)76)</sup>。すなわち図1に示すようにモルモットからの MIF は正常のウサギ、ラットにモルモットに対すると同様に組織学的に類似した皮膚反応を起す。マウスは少なくとも9株について検討したが皮膚反応を起しにくい。(3)SRFによる皮膚反応の時間的経過はツベルクリン反応の化学的メジエーターとして首肯しうるものである。すなわち SRF による反応は皮内注射後3時間ですでにはつきりと発現し、少なくとも6~9時間までにピークに達するが、24時間後には減弱する<sup>65)67)77)</sup>。図2はわれわれが正常モル

Fig. 2. Time Course of the Skin Reaction in Normal Guinea Pigs after Intradermal Injection with MIF from Sensitized Cell Cultures Incubated with or without PPD



モットに皮内注射した SRF による皮膚反応の時間的経過である<sup>77)</sup>。この経過はツベルクリン反応陽性動物における本来のツベルクリン反応の経過に比して早い。しかし、SRF(MIF)は感作細胞によつて抗原刺激に引き続き合成されるメジエーターであり、その放出までには少なくとも数時間を要することが知られている。しかも前述のようにこの感作細胞の有効量が抗原注射部位に集まるのに6時間近くを必要としている。さらにメジエーターが細胞外に放出されてから反応の惹起までに3時間を要している。これらの時間的経過が組合わさつてツベルクリン反応がツベルクリンの注射から反応発現のピークまで20時間近くかかる遅延型をとるものと解釈される。これらの反応の連鎖の終末に位置する化学的メジエーターによる反応の時間的経過はかくして合理的なものとみなされる。(4)SRFによる皮膚反応の組織像はツベルクリン反応のそれに類似している<sup>65)67)</sup>。種々の感作細胞源から得られた SRF による皮膚反応は単核細胞と多形核白血球の混合を基本とする細胞浸潤を特徴としているが、SRFの量的差異によつて細胞構成の時間的比率が種々の程度に変わるであろうことはツベルクリン反応のそれが抗原と感作の程度によつて種々に変わるのと同じである。Bennettら<sup>65)</sup>のリンパ節細胞性 SRF による弱い皮膚反応は4時間ではほぼ単核細胞からなり、多形核白血球が時間とともに増して14~16時間までに両者ほぼ同じ比率になるという。Pickら<sup>67)</sup>の腹腔渗出細胞性 SRF は真皮の、ことに深部における多形核白血球-単核細胞の混合性細胞浸潤をつくっている。われわれの肉芽腫脾細胞性 SRF<sup>77)</sup>は真皮の上、中層に24時間にわた

つて続く単核細胞の圧倒的に多い浸潤をつくっており PPD によるツベルクリン反応とよく似ている。真皮下層、皮下組織ではしかし、その反応は多形核白血球のほうが多い組織像を示した。

ツベルクリン反応自体は一般の非特異的炎症と似た組織像をもつ特徴のない炎症であるためにツベルクリン反応の化学的メジエーターの同定はそう容易なことではない。しかし以上述べた諸点から、MIF (SRF) がツベルクリン反応を惹起するメジエーターとみなされる可能性は大きく、この分画のマクロファージに対する生物学的活性はツベルクリン反応の細胞浸潤に単核細胞としてマクロファージが大部分を占めること<sup>78)79)</sup>と強い関連があると思われる。

#### IV. 非特異的細胞による反応の表現

ツベルクリン感作細胞の移入を受けた正常動物に惹起されるツベルクリン反応が大部分正常動物の細胞からなる細胞浸潤を示すことは<sup>3</sup>H-サイミジンによる細胞核の標識法で見事に証明された<sup>48)</sup>が細胞受容動物をあらかじめ Cyclophosphamide の投与または放射線照射で処置しておく<sup>81)82)</sup>とその反応に正常受容動物の細胞の参加がないためである。反応が肉眼的に表現されるには第1段階の免疫学的に特異的な過程の進行中に比較的少数の感作細胞から放出された強力な生物学的活性をもつメジエーターが次の第2段階の非特異的細胞反応の過程を開始する必要がある。上述の受身感作ツベルクリン反応の消失は第2の非特異的段階の細胞動員の抑制と考えられる。このような非特異的細胞は反応域外の活発に分裂しつつある細胞群から血流を経てツベルクリン反応部位に到来することが示された<sup>83)</sup>が、その単核細胞の大部分を占めるマクロファージはどこからくるのであろうか。

ツベルクリン反応の研究と無関係に非特異的な炎症(たとえば皮膚にガラス片を挿入することによつて起る機械的炎症や流動パラフィン、グリコーゲンなどの注射によつて起る炎症など)の細胞浸潤における炎症性マクロファージの由来を研究していた研究者は体のほぼすべての場所においてマクロファージが骨髄中の分裂しつつある前駆細胞群から血流を経て炎症部位に浸出してくることを見出した<sup>84)~86)</sup>。

これらの知見はツベルクリン反応過程の最終段階として化学的メジエーターの放出により血流を経て反応部位に到来し、細胞浸潤の主役を演じるマクロファージを主とする非特異的単核細胞群の由来について大きな示唆を与え、Lubaroff および Waksman<sup>87)</sup> ははじめてツベルクリン反応の発現に骨髄の関与が必要であることを X 線全身照射したラットを用いて明らかにした。われわれは Cyclophosphamide 投与またはガンマ線全身照射によ

り、リンパ系および骨髄の破壊を受けたモルモットを用いて受身ツベルクリン反応の抑制が正常動物の骨髄移植によつて回復されることを認めた<sup>82)</sup>。さらに SRF による皮膚反応もガンマ線全身照射により抑制されたのち、正常骨髄移植により回復され、メジエーターによる皮膚反応が正常動物に発現することが確かめられた<sup>88)</sup>。骨髄細胞を標識した実験では、骨髄由来細胞が直接ツベルクリン反応の場、または接種皮膚炎の炎症部位に到来し、浸潤細胞の大部分を占めることが明瞭に示された<sup>89)90)</sup>。骨髄中のマクロファージ前駆細胞から血液中の単球として循環し、ツベルクリン反応部位に遊出して、マクロファージに成熟すると推定される。この過程は速やかに回転している生体のマクロファージ動員の一環をなしているものと思われ、ツベルクリン蛋白の代りに同じ抗原性をもつ結核菌体が置かれた場合、動員マクロファージは菌を中心として結核結節の形で反応し抗菌免疫に関連してくるのではなからうか。結核感作モルモットにツベルクリンを反復注射すると注射部位に類上皮細胞結節様の構造が発現する所見<sup>91)</sup>は結節形式の抗菌免疫の発現機序を示唆しているようにみえる。

おわりに、以上述べた実験結果に基づきツベルクリン反応の発現の全経過を簡単に要約してみると次のようになる。

結核感作によつて所属リンパ節のなかで産生された感作リンパ球は、速やかにリンパ節を去つて比較的長い寿命を保ちつつ全身を循環する。感作個体のツベルクリン注射部位に異物注入による炎症によつて、または偶然に到達した感作細胞はツベルクリンと直接作用し、その場にとどまつてメジエーターの合成を開始する。メジエーターは数時間後、感作細胞外に放出され、骨髄中で活発に分裂中の細胞群から血流を経てマクロファージを反応部位に浸潤せしめ、皮膚反応を肉眼的に発現させる。

この要約はツベルクリン皮膚反応発現までの複雑な反応連鎖からみれば簡単にすぎるのであろう。到底反応発現の全貌をあますところなく描き出したものとはいえないが、今後の細胞免疫学の急速な進歩が、他の細胞免疫反応の領域からも多くのデータを提供して、全貌の解明を進めることになるであろう。

#### 文 献

- 1) 岩崎瑠璃子：慶応医学，47：39，1970。
- 2) Zinsser, H. and Mueller, J. H.: J. exp. Med., 41: 159, 1925.
- 3) Chase, M. W.: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 59: 134, 1945.
- 4) Mackaness, G. B. and Blanden, R. V.: Progr. Allergy, 11: 89, 1967.
- 5) Freund, J.: Ann. Rev. Microbiol., 1: 291, 1947.
- 6) 山村雄一：結核，39: 309, 1964.
- 7) Yamazaki, S., Koyama, K., Someya, S., Azu-

- ma, I. and Yamamura, Y.: *Am. Rev. Resp. Dis.*, 100 : 691, 1969.
- 8) Uhr, J. W., Salvin, S. B. and Pappenheimer, A. M., Jr.: *J. exp. Med.*, 105 : 11, 1957.
  - 9) 吉田彪・橋本達一郎: *アレルギー*, 15 : 117, 1966.
  - 10) Scothorne, R. J. and McGregor, I. A.: *J. Anat.*, 89 : 282, 1955.
  - 11) Oort, J. and Turk, J. L.: *Brit. J. exp. Path.*, 46 : 147, 1965.
  - 12) Parrot, D. M. V. and East, J.: *J. exp. Med.*, 123 : 191, 1966.
  - 13) 三浦馨・橋本達一郎: *アレルギー*, 15 : 780, 1966.
  - 14) 橋本達一郎・三浦馨・吉田彪・永井隆吉: *日網会誌*, 7 : 33, 1967.
  - 15) 橋本達一郎・三浦馨: *医学と生物学*, 69 : 247, 1964.
  - 16) 橋本達一郎・三浦馨: *医学と生物学*, 69 : 291, 1964.
  - 17) 橋本達一郎: *日網会誌*, 5 : 108, 1965.
  - 18) 橋本達一郎・室橋豊穂: *医学と生物学*, 第2集, 79頁, 1964.
  - 19) Kirchheimer, W. F., Hess, A. R. and Spears, R. G.: *Am. Rev. Tuberc.*, 64 : 516, 1951.
  - 20) Bloom, B. R. and Bennett, B.: *Science*, 153 : 80, 1966.
  - 21) 橋本達一郎・綿貫まつ子・吉田彪: *免疫生物学研究会シンポジウム*, 3 : 69, 1969.
  - 22) Waksman, B. H., Arbouys, S. and Arnason, B. G.: *J. exp. Med.*, 114 : 997, 1961.
  - 23) Cummings, M. M. and Gottshall, R. S.: *Pub. Health Rep.*, 62 : 994, 1947.
  - 24) Kirchheimer, W. F. and Weiser, R. S.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 66 : 166, 1947.
  - 25) Stavitsky, A. B.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 67 : 225, 1948.
  - 26) Schmid, F.: *Beitr. Klin. Tuberk.*, 105 : 397, 1951.
  - 27) Metaxas, M. N. and Metaxas-Buehler, M.: *J. Immun.*, 75 : 333, 1955.
  - 28) 橋本達一郎・三浦馨・中野健司: *医学と生物学*, 78 : 215, 1969.
  - 29) 橋本達一郎: *実験感染学*, 176頁, 1967. 朝倉書店, 東京.
  - 30) Bloom, B. R. and Chase, M. W.: *Progr. Allergy*, 10 : 151, 1967.
  - 31) Bloom, B. R., Hamilton, L. D. and Chase, M. W.: *Nature*, 201 : 689, 1964.
  - 32) Lawrence, H. S.: *J. Clin. Invest.*, 34 : 219, 1955.
  - 33) Tsuji, S., Oshima, S., Oshiro, M. and Izumi, T.: *J. Immun.*, 93 : 838, 1964.
  - 34) Kochan, I. and Bendel, W. L.: *Allergy*, 37 : 284, 1966.
  - 35) Dunn, D. J. and Patnode, R. A.: *J. Immun.*, 99 : 467, 1967.
  - 36) Bauer, J. A., Jr. and Stone, S. H.: *J. Immun.*, 86 : 177, 1961.
  - 37) Feldman, J. D.: *J. Immun.*, 101 : 563, 1968.
  - 38) Hashimoto, T.: Duration of passively transferred tuberculin hypersensitivity in an inbred strain of guinea pigs. Fourth Annual Tuberculosis Research Conference, US-Japan Cooperative Medical Science Program, Sept. 1969, Washington, D. C.
  - 39) Hashimoto, T., Miura, K. and Yoshida, T.: Desensitization of granulomatous spleen cells capable of transferring passively tuberculin hypersensitivity. Conference on the Biology of the Mycobacterioses, US-Japan Cooperative Medical Science Program, October 1967, New York.
  - 40) Asherson, G. L. and Stone, S. H.: *Immunology*, 13 : 469, 1967.
  - 41) Lipsmeyer, E. A. and Kantor, F. S.: *Proc.*, 28 : 630, 1969.
  - 42) Hashimoto, T.: Passive transfer of delayed hypersensitivity in guinea pigs by using granulomatous spleen cells. Leprosy and Tuberculosis Conference, US-Japan Cooperative Medical Science Program, May 1966, Tokyo.
  - 43) 橋本達一郎: *細胞性免疫*, 90頁, 1972. 医学書院, 東京.
  - 44) Najarian, J. S. and Feldman, J. F.: *J. exp. Med.*, 114 : 779, 1961.
  - 45) Najarian, J. S. and Feldman, J. F.: *J. exp. Med.*, 118 : 341, 1963.
  - 46) Turk, J. L.: *Immunology*, 5 : 478, 1962.
  - 47) Kay, K. and Rieke, W. O.: *Science*, 139 : 487, 1963.
  - 48) McCluskey, R. T., Benacerraf, B. and McCluskey, J. W.: *J. Immun.*, 90 : 466, 1963.
  - 49) Feldman, J. D. and Najarian, J. S.: *J. Immun.*, 91 : 306, 1963.
  - 50) Turk, J. L. and Oort, J.: *Immunology*, 6 : 140, 1963.
  - 51) Cohen, S., McCluskey, R. T. and Benacerraf, B.: *J. Immun.*, 98 : 269, 1967.
  - 52) Metaxas, M. N. and Metaxas-Buehler, M.: *Immunopathology, First Intern. Symp.*, 286, 1959.
  - 53) Waksman, B. H. and Matoltsy, M.: *J. Immun.*, 81 : 235, 1958.
  - 54) Dumonde, D. C., Wolstencroft, R. A., Panayi, G. S., Matthew, M., Morley, J. and Howson, W. T.: "Lymphokines": *Nature*, 224 : 38, 1969.
  - 55) Lawrence, H. S. and Landy, M.: *Academic Press, New York*, 1969.
  - 56) David, J. R., Al-Askari, S., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: *J. Immun.*, 93 : 264, 1964.
  - 57) 吉田彪: *医学と生物学*, 77 : 123, 1968.
  - 58) Svejcar, J. and Johanovský, J.: *Zschr. f. Immun. u. exp. Therap.*, 122 : 420, 1961.
  - 59) George, M. and Vaughan, J. H.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 111 : 514, 1962.

- 60) David, J.R.: Proc. N. A. S., 56 : 72, 1966.
- 61) 綿貫まつ子・吉田彪・橋本達一郎 : 医学と生物学, 79 : 67, 1969.
- 62) David, J.R., Lawrence, H.S. and Thomas, L.: J. Immun., 93 : 274, 1964.
- 63) 吉田彪・綿貫まつ子 : 医学と生物学, 77 : 131, 1968.
- 64) 綿貫まつ子・吉田彪・橋本達一郎 : 医学と生物学, 78 : 129, 1969.
- 65) Bennett, B. and Bloom, B.R.: Proc. N. A. S., 59 : 756, 1968.
- 66) Dumonde, D.C., Howson, W.T. and Wolstencroft, R.A.: Intern. Sympo. 5th., 263, 1968.
- 67) Pick, E., Krejci, J., Cech, K. and Turk, J.L.: Immunology, 17 : 741, 1969.
- 68) David, J.R.: J. exp. Med., 122 : 1125, 1965.
- 69) Remold, H.G., Katz, A.B., Haber, E. and David, J.R.: Cell. Immun., 1 : 133, 1970.
- 70) Bloom, B.R. and Bennett, B.: Ann. New York Acad. Sci., 169 : 258, 1970.
- 71) 綿貫まつ子・芳賀伸治・橋本達一郎 : 医学と生物学, 印刷中.
- 72) Ward, P.A., Remold, H.G. and David, J.R.: Science, 163 : 1079, 1969.
- 73) 綿貫まつ子・芳賀伸治・橋本達一郎 : 医学と生物学, 印刷中.
- 74) Yoshida, T., Janeway, C.A., Jr. and Paul, W.E.: J. Immun., 109 : 201, 1972.
- 75) Yoshida, T., Watanuki, M. and Hashimoto, T.: Skin reactive factor and macrophage migration inhibiting factor in several mammalian species. Fifth Joint Meeting Tuberculosis Panel, US-Japan Co-operative Medical Science Program, Tokyo, p. 279, 1970.
- 76) Yoshida, T., Nagai, R. and Hashimoto, T.: Lack of species-specificity of a skin reactive factor released from sensitized guinea pig spleen cells. Lab. Invest., in press.
- 77) 橋本達一郎・綿貫まつ子・永井隆吉 : 医学と生物学, 印刷中.
- 78) Wiener, I., Lattes, R.G. and Spiro, D.: An electron microscopy.
- 79) Turk, J.L., Heather, C.R.J. and Diengdoh, J.V.: Int. Arch. Allergy, 29 : 278, 1966.
- 80) Wiener, I., Lattes, R.G. and Spiro, D.: Amer. J. Path., 50 : 485, 1967.
- 81) Lubaroff, D.M. and Waksman, B.H.: Science, 157 : 322, 1967.
- 82) 橋本達一郎・木ノ本雅通 : 医学と生物学, 印刷中.
- 83) Kosunen, T.U., Waksman, B.H., Flax, M.H. and Tihen, W.S.: Immunology, 6 : 276, 1963.
- 84) Volkman, A. and Gowans, J.L.: Brit. J. exp. Path., 46 : 50, 1965.
- 85) Volkman, A. and Gowans, J.L.: Brit. J. exp. Path., 46 : 62, 1965.
- 86) Volkman, A.: J. exp. Med., 124 : 241, 1966.
- 87) Lubaroff, D.M. and Waksman, B.H.: J. exp. Med., 128 : 1425, 1968.
- 88) Hashimoto, T.: The role of bone marrow for the expression of tuberculin reaction in guinea pigs. Seventh Joint Meeting Tuberculosis Panel, US-Japan Co-operative Medical Science Program, Tokyo, p. 365, 1972.
- 89) Lidén, S.: Acta path. et microbiol. Scandinav., 70 : 58, 1967.
- 90) Lubaroff, D.M. and Waksman, B.H.: J. exp. Med., 128 : 1437, 1968.
- 91) 小河秀正・江頭靖之 : 日病会誌, 50 : 134, 1961.