

原 著

BCG 生菌の免疫強化作用の作用様式についての
基礎的研究 (その 2)

原 田 泰 子

九州大学医学部附属胸部疾患研究施設

受付 昭和 52 年 3 月 28 日

STUDIES ON THE MODE OF THE IMMUNOPOTENTIATING
ACTION OF BCG (PART 2)

Yasuko HARADA*

(Received for publication March 28, 1977)

Following the previous report, the immunopotentiating action of BCG was investigated, and results obtained were as follows:

1) Combined use of BCG and cyclophosphamide (CY) which exerts a differential effect on T and B cells augmented and protracted the delayed hypersensitivity, that is to say, the T cell potentiating effect of BCG and CY were additive.

2) The same additive effect was also found in the splenectomized mice without making the treatment of CY. In consequence, it could be concluded that the delayed hypersensitivity was influenced strongly by the feedback inhibition of antibody production system.

3) BCG also exerted its potentiating effect for induction of the delayed hypersensitivity upon the immune response to egg albumin.

4) Delayed hypersensitivity was measured as foot pad reaction. This reaction was shown to be transferred into normal recipient by draining lymph node cells and spleen cells of SRBC sensitized donor.

緒 言

前報告において、BCG 生菌前処置の SRBC に対する免疫強化作用の作用様式について検討した。その結果、SRBC に対する遅延型反応の増強は、BCG 接種後 3 週頃より起こり始め、5~7 週がピークとなるのに対し、血中抗体産生は、遅延型反応の減弱しはじめる後半の時期にピークに達した。すなわち BCG の免疫強化作用は二相性を示すことがわかった。

今回は、適当量を使用すると、選択的に B 細胞を抑制

し、遅延型反応を増強すると報告^{1,2)}されている cyclophosphamide を使用し、BCG との併用効果について検討するとともに、マウスでは、一般に遅延型反応を誘起し難いといわれる水溶性抗原、卵白アルブミンを抗原とし、BCG の免疫強化作用を検討した。また SRBC を抗原とした足蹠反応が遅延型反応であることは、Miller³⁾により証明されているが、この点を再確認する目的で、局所受身細胞移入実験を行なった。

* From the Research Institute for the Diseases of the Chest, Faculty of Medicine, Kyushu University, Maidashi 812 Japan.

材料と方法

動物：前報告と同じく CF₁ 雌マウスを使用した。

BCG：前報告と同じ物を使用した。

抗原

羊赤血球 (SRBC)：前報告と同様の処理を行ない使用した。

卵白アルブミン (EA)：Sigma 社製の2回結晶製品を生理食塩水に溶解して使用した。

免疫方法：BCG 接種，羊赤血球の感作は前報告と同様に行なつた。卵白アルブミンの感作も右足蹠の皮内注射で行なつた。

Cyclophosphamide (CY)：塩野義製薬製の Endoxan を使用した。200 mg/kg の量を生理食塩水に溶解し，常に抗原感作の2日前に腹腔内投与した。

摘脾：マウスをエーテル麻酔後開腹し，脾臓を摘出した後，腹壁を一針縫合した。摘脾2週間後，十分に回復したマウスを実験に使用した。

免疫反応の測定

血清抗体価：SRBC 感作の場合は，前報告と同様に行ない，卵白アルブミン感作の際は Johnson ら⁴⁾による carbodiimide を使用した受身赤血球凝集反応により測定した。

足蹠反応：前報告と同様に行なつた。抗原の test dose は $1 \times 10^8/0.05 \text{ ml}$ の SRBC， $50 \mu\text{g}/0.05 \text{ ml}$ の EA を用いた。

局所受身細胞移入実験 (Local passive transfer)：Metaxas-Buhler ら⁵⁾の方法に準じた。Donor マウスから取られた脾細胞やリンパ節細胞は，Hanks 液にて3回洗浄し，等量の抗原浮遊液と混合し，総量 0.05 ml を recipient マウスの右足蹠に注入し，24時間後，足蹠の腫脹を測定した。

有意差の検定：前報告と同様に行なつた。

結 果

I. BCG と cyclophosphamide の併用効果

1) CY投与量の変化の遅延型反応(DTH)に及ぼす効果

CY の量をマウス1匹当たり 0.5 mg から 8 mg まで変化させ，抗原量は SRBC 10^8 を右足蹠感作して DTH と血清抗体価を観察した。CY は抗原感作の2日前に腹腔内投与を行なつた (表1)。その結果，CY は 4 mg (200 mg/kg) を投与した際，DTH が最も増強され，抗体産生は完全に抑制された。

2) CY の投与時期の決定

CY を抗原感作の7日前から2日後までの種々の時期に 4 mg を腹腔内投与し，SRBC に対する DTH と血清抗体価を観察した。SRBC は 10^8 を右足蹠感作した (表2)。その結果，CY は感作の2日前に投与した場合に

表1 Cyclophosphamide 投与量の SRBC に対する足蹠反応と血清抗体価に及ぼす効果

CY投与量 (mg)	足蹠反応 (0.1 mm)	t 検 定	血清抗体価 (\log_2)
0	6.2 ± 1.2		3
0.5	4.8 ± 1.0	N. S.	2
1	3.4 ± 1.0	N. S.	1
2	8.2 ± 1.0	$p < 0.05$	1
4	10.2 ± 0.7	$p < 0.001$	0
6	4.0 ± 2.7	N. S.	0
8	2.4 ± 1.9	N. S.	0

Cyclophosphamide は SRBC 10^8 右足蹠感作の2日前に腹腔内に投与した。t 検定は CY 未投与群に対して行なつた。

表2 Cyclophosphamide 投与と抗原感作との間隔の SRBC に対する足蹠反応と血清抗体価に及ぼす効果

CY投与と抗原感作との間隔(日)	足蹠反応 (0.1 mm)	t 検 定	血清抗体価 (\log_2)
-7	3.8 ± 1.1	N. S.	2
-4	8.6 ± 1.5	N. S.	4
-3	7.8 ± 2.7	N. S.	0
-2	10.0 ± 1.8	$p < 0.05$	0
-1	6.0 ± 1.7	N. S.	0
0	1.2 ± 0.7	N. S.	0
+1	0	N. S.	0
+2	6.8 ± 1.9	N. S.	2
対 照 群*	5.8 ± 2.3		4

* 対照群は SRBC 10^8 右足蹠感作のみ行なつた。

Cyclophosphamide は SRBC 10^8 右足蹠感作と上記間隔を置いて 4 mg を腹腔内に投与した。t 検定は対照群に対して行なつた。

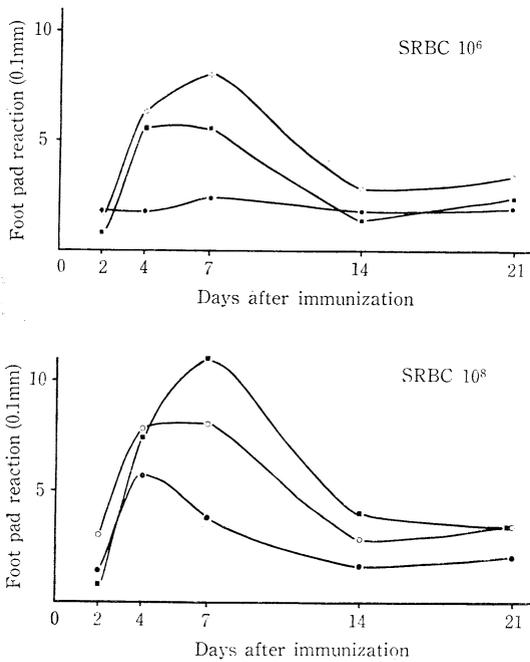
DTH が最も増強され，抗体産生は完全に抑制された。

したがって以後の実験では，CY は抗原感作の2日前に 4 mg を腹腔内投与で使用することにした。

3) BCG, CY おのおの単独投与の遅延型反応に及ぼす効果の比較

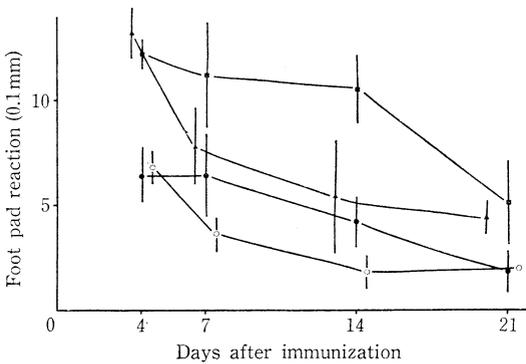
上記の実験は，いずれも抗原量が 10^8 という右足蹠感作においては，DTH も抗体産生もよく誘起される量を使用した，この実験では DTH，抗体産生ともに低い低抗原量 10^6 も使用し， 10^6 と 10^8 の各抗原量使用した場合，BCG と CY の DTH に及ぼす作用を経時的に観察した。BCG は抗原感作の4週前に右足蹠に接種し，DTH は感作後2日より21日まで観察した (図1)。まず低抗原量の SRBC 10^6 で感作した場合，BCG 群，CY 群ともに SRBC 10^6 感作のみの対照群に比し DTH がよく誘起されたが，特に BCG による DTH 増強効果が強く，CY では高められた DTH の持続という点は，あまり顕著ではなかつた。ただし高抗原量の SRBC 10^8 で感作した場合には，CY 群が際だつて高い DTH を示し，その増強効果は21日まで持続した。その結果低

図1 BCG, cyclophosphamide おのおの単独投与のSRBCに対する足蹠反応に及ぼす効果とその経時的变化



SRBC $10^6, 10^8$ はともに右足蹠感作で行なった。
 ○—○: SRBC 感作の4週前に BCG 接種を行なった群
 ■—■: SRBC 感作の2日前に CY 4mg 腹腔内投与を行なった群
 ●—●: SRBC $10^6, 10^8$ 感作のみの群(対照群)

図2 BCG, cyclophosphamide 併用後のSRBCに対する足蹠反応の経時的变化



SRBC は 10^8 を右足蹠感作で行なった。
 ●—●: SRBC 感作の3週前に BCG 接種を行なった群
 ▲—▲: SRBC 感作の2日前に CY 4mg 腹腔内投与を行なった群
 ■—■: SRBC 感作の3週前に BCG, 2日前に CY 投与を行なった群
 ○—○: SRBC 10^8 感作のみの群
 縦棒は標準偏差を示す。

抗原量では BCG の DTH 増強効果は著明で、抗原量が多くなると CY による抗体産生抑制に伴う DTH 増強効果が強く出ることがわかった。

4) BCG と CY 併用の遅延型反応に及ぼす効果

次に BCG と CY の併用により、DTH の増強と持続を経時的に検討した。BCG・CY 併用群、BCG 単独群、CY 単独群、対照群の4群に分け、BCG・CY 併用群では BCG を感作の3週前に右足蹠接種し、次いで感作の2日前に CY を腹腔内投与した。SRBC は 10^8 を右足蹠感作した(図2)。その結果、BCG・CY 併用群は、BCG, CY おのおの単独群に比し、際だつて高い DTH を誘起させ、かつ持続した。

5) CY 併用による、BCG 接種後のSRBCに対する遅延型反応の経時的变化

前報告に示されたごとく、BCG のSRBC に対する免疫強化作用は、接種後3~7週の初期には DTH の増強を示し、9週以後は抗体産生の増強を示す二相性の変化がみられた。よつて CY を併用することにより、抗体産生の増強する後期も DTH の増強が得られるかについて検討した。

BCG 右足蹠接種後11週までの各時期において、感作の2日前に CY を腹腔内投与し、DTH の増強と持続を観察した。SRBC は 10^7 を右足蹠感作した(表3)。その結果、DTH の増強は全時期にわたつてみられたが、特に BCG 単独使用の際の DTH のピークを示す7週において最も増強され、その効果は DTH の減弱しかかっている11週においてもほとんど高値のままで持続された。抗体価においては、やはり BCG 単独使用の際の抗体の推移と同じく後半に高まるのがみられた。

6) 摘脾マウスと正常マウスにおける BCG 接種後の各時期のSRBC に対する遅延型反応の比較

以上より、CY が BCG 接種により増強された DTH を更に増強かつ持続させることがわかつたが、これは CY により抗体産生を抑制することによつて、抗体の

表3 BCG, cyclophosphamide 併用のSRBCに対する足蹠反応と血清抗体価に及ぼす効果

BCG 接種と抗原感作との間隔(週)	足蹠反応 (0.1 mm)	t 検定	血清抗体価 (log ₂)
1	10.7 ± 1.3	p < 0.001	2
3	11.4 ± 2.1	p < 0.01	3
5	11.7 ± 0.9	p < 0.001	3
7	13.1 ± 2.3	p < 0.001	4
9	11.1 ± 1.3	p < 0.001	5
11	11.8 ± 1.1	p < 0.001	4
CY, SRBC*	9.1 ± 0.8	N. S.	2
対照群**	6.2 ± 1.1		4

* BCG 前処置(足蹠皮内接種)をせず CY のみ SRBC 10^7 右足蹠感作の2日前に 4mg を腹腔内投与した。

** 対照群は SRBC 10^7 右足蹠感作のみ行なった。マウスは BCG 前処置後上記間隔を置き SRBC 10^7 右足蹠感作したが、その SRBC 感作の2日前に CY を 4mg 腹腔内投与した。t 検定は対照群に対して行なった。

表 4 正常マウスと摘脾マウスにおける BCG 前処置(足趾皮内接種)の SRBC に対する足趾反応と血清抗体価に及ぼす効果

BCG 接種と抗原感作との間隔(週)	足趾反応 (0.1 mm)		t 検定	血清抗体価 (log ₂)	
	正常マウス	摘脾マウス		正常マウス	摘脾マウス
3	9.8±1.3	9.9±2.1	N. S.	8	4
6	8.5±0.5	9.7±0.6	p<0.02	7	5
9	8.7±1.0	10.7±2.1	N. S.	7	5
対照群*	4.7±0.9			2	

* 対照群は正常マウスであり、SRBC 10⁷ 右足趾感作のみ行なつた。摘脾は BCG 前処置の 2 週前に行なつた。t-検定は正常マウスと摘脾マウスの足趾反応の有意差で行なつた。

DTH に対する negative feed back を除去するためと考えられる。そこで、抗体産生の主要臓器である脾臓を摘出した摘脾マウスを使用して同様の実験を行なつた。

摘脾マウスと正常マウスにおいて、それぞれ BCG 接種後、3 週、6 週、9 週の各時期に SRBC 10⁷ を右足趾感作し、DTH と血清抗体価を観察した。摘脾処置は BCG 接種の約 2 週前に行なつた(表 4)。その結果、摘脾マウスにおいては、9 週になつても DTH は低下せず維持され、抗体産生はすべて抑制される結果を得た。

II. 水溶性抗原卵白アルブミンに対する免疫反応と BCG の影響

1) EA に対する免疫反応

a) EA 単独による DTH の誘起

EA を 10 μg から 1,000 μg まで量を変え、SRBC と同じく右足趾に感作し、4 日後 test dose 20 μg で足趾反応を行ない、DTH を観察した。その結果、DTH はほとんど誘起されず、EA 単独では、やはり DTH が誘起され難いことを確かめた(データは省略)。

b) BCG 接種後の EA に対する DTH

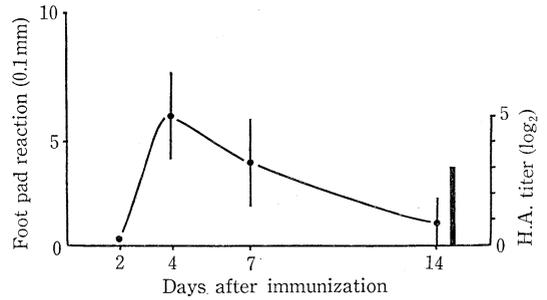
BCG を 6 週前に右足趾に接種し、EA の感作量を 100 μg から 2,000 μg まで変化させて右足趾に感作し、感

表 5 BCG 前処置(足趾皮内接種)マウスにおける卵白アルブミン感作量の変化の足趾反応に及ぼす効果

卵白アルブミン感作量 (μg)	足趾反応 (0.1 mm)	t 検定
0	0.8±0.4	
100	1.8±1.0	N. S.
200	3.2±2.3	N. S.
500	4.0±1.6	p<0.01
750	4.2±1.9	p<0.01
1,000	5.0±1.8	p<0.01
2,000	4.5±0.5	p<0.001

BCG は卵白アルブミン右足趾感作の 6 週前に右足趾に接種した。t-検定は卵白アルブミン未感作群に対して行なつた。

図 3 BCG, cyclophosphamide 併用後の卵白アルブミンに対する足趾反応の経時的変化



マウスは卵白アルブミン(500μg)右足趾感作の 3 週前に BCG を接種し 2 日前に CY 4 mg を腹腔内投与した。

●—●: 足趾反応(縦棒は標準偏差を示す) 棒グラフ: 血清抗体価

作 4 日後に test dose 50 μg で足趾反応を行なつた(表 5)。その結果、DTH は全体に EA 単独に比べてよく誘起された。EA 感作量の増加につれて、DTH は上昇し、1,000 μg で最大となつたが、2,000 μg では、かえつて減弱し、至適量のあることがわかつた。

c) EA test dose の決定

BCG を右足趾に 4 週前に接種し、EA 1,000 μg を右足趾感作し、test dose を 10 μg から 50 μg まで変化させ、足趾反応を行なつた。その結果、test dose 50 μg で最も強く DTH が誘起された。したがつて以後、EA は test dose 50 μg を使用することとした(データは省略)。

2) BCG, CY 併用の EA に対する遅延型反応に及ぼす効果

次に SRBC のときと同じく EA においても BCG と CY の併用による DTH の増強効果について検討した。BCG を 3 週前に右足趾接種し、CY を EA 感作の 2 日前に 4mg を腹腔内投与し、EA 500 μg 右足趾感作後 2~14 日の各時期における DTH を観察した(図 3)。その結果、DTH は 4 日をピークとし、CY 併用による増強効果がみられたが、抗体は CY の影響により 14 日に

表 6 正常マウスと摘脾マウスにおける BCG, cyclophosphamide 併用の卵白アルブミンに対する足趾反応に及ぼす効果

前処置	正常マウス	摘脾マウス	t 検定
	足趾反応 (0.1 mm)	足趾反応 (0.1 mm)	
1. (-)	1.8±0.7	2.4±0.8	N. S.
2. BCG	3.8±1.0	6.8±1.5	p<0.02
3. BCG-CY	6.2±1.3	10.8±2.5	p<0.02
4. CY	3.0±1.3	3.0±0.9	N. S.

前処置: 1. 卵白アルブミン 500 μg 右足趾感作のみの群, 2. 卵白アルブミン感作の 2 週前に BCG 接種を行なつた群, 3. 卵白アルブミン感作の 2 週前に BCG 接種, 2 日前に CY 4 mg 腹腔内投与を行なつた群, 4. 卵白アルブミン感作の 2 日前に CY 投与を行なつた群。t 検定は正常マウスと摘脾マウスの足趾反応の有意差で行なつた。

表7 Local passive transfer: SRBC 右足蹠感作マウスの感作側リンパ節および脾臓の細胞移入実験

移入細胞	移入細胞数	足蹠反応(0.1mm)	
		Recipient	Donor
右膝窩リンパ節細胞	5×10^5	3.3 ± 0.8	
脾細胞	5×10^5	2.4 ± 0.7	
対照群*	0	1.3 ± 0.2	9.2 ± 1.5

* 対照群は SRBC 10^8 のみ右足蹠に移入された。Donor は、5匹は SRBC 10^8 右足蹠感作4日後に上記細胞を採取し、5匹は足蹠反応を行なつた。Recipient は各細胞を上記 SRBC 10^8 と混ぜて、または SRBC 10^8 のみを右足蹠に移入し、24時間後腫脹を測定した。

のみ出現した。

3) 摘脾マウスと正常マウスにおける BCG, CY 併用の EA に対する遅延型反応に及ぼす効果

摘脾マウスと正常マウスにおいて、おのおのを EA 単独群, BCG・EA 群, BCG・CY・EA 群, CY・EA 群の4群に分け、各群における EA 500 μ g 右足蹠感作4日後の DTH を観察した。BCG は感作の2週前に右足蹠接種した(表6)。その結果、BCG・EA 群, BCG・CY・EA 群は摘脾および正常マウスとも、EA に対する DTH 増強効果が SRBC に対する反応の場合と同様にみられ、かつほとんどの群において、明らかに摘脾マウスの方に DTH の増強が強くみられた。

Ⅲ. BCG による免疫強化の細胞移入実験系 (cell transfer system) による検討

1) SRBC 感作マウスの感作局所リンパ節細胞と脾細胞の移入実験

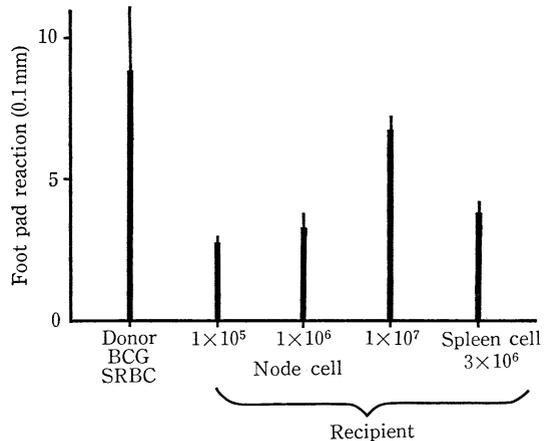
SRBC 10^8 を右足蹠に感作した donor マウスの感作局所リンパ節細胞(すなわち右膝窩リンパ節細胞)と脾細胞を感作4日後に採取し、おのおの 5×10^5 と SRBC 10^8 を等量に混合し、recipient の右足蹠に移入し、その24時間後の右足蹠の腫脹を測定した(表7)。その結果、足蹠反応で観察される DTH は細胞により伝達され、かつ抗原感作局所リンパ節細胞の方が脾細胞に比べ、recipient における DTH をよく誘起することが観察された。

2) BCG 接種マウスの感作局所リンパ節細胞と脾細胞の移入実験

BCG を3週前に右足蹠に接種し、SRBC 10^7 を右足蹠に感作した donor マウスの感作局所リンパ節細胞を 10^5 から 10^7 まで変化させ、等量の SRBC 10^8 と混ぜて recipient の右足蹠に移入した。脾細胞は 3×10^6 を移入した(図4)。その結果、recipient マウスで誘起される DTH は、移入される細胞の量の増加に比例して強く誘起され、dose response の関係がみられた。

3) BCG, CY 併用マウスの感作局所リンパ節細胞の移入実験

図4 Local passive transfer: BCG 足蹠皮内接種マウスの感作側膝窩リンパ節、および脾臓の細胞移入実験



Donor マウスは、BCG 接種3週後 SRBC 10^7 右足蹠感作を行ない4日目に上記細胞を採取した。Recipient マウスは各細胞の上記量を SRBC 10^8 と混ぜて右足蹠に移入し、24時間後足蹠の腫脹を測定した。

表8 Local passive transfer: BCG, cyclophosphamide 併用マウスの感作側膝窩リンパ節細胞移入実験

Donor 前処置	足蹠反応(0.1mm)	
	Recipient	Donor
1. (-)	1.7 ± 0.4	
2. SRBC	2.9 ± 0.6	4.4 ± 1.2
3. BCG・SRBC	3.3 ± 0.6	8.8 ± 2.3
4. BCG・CY・SRBC	4.6 ± 1.3	13.8 ± 0.9
5. CY・SRBC	4.1 ± 0.6	11.4 ± 2.4

Donor 前処置: 1. 正常未処置マウス群(この群は足蹠反応を行なわず正常のリンパ節細胞を移入した)、2. SRBC 10^7 右足蹠感作のみの群、3. SRBC 感作の3週前に BCG 接種を行なつた群、4. SRBC 感作の3週前に BCG, 2日前に CY 4mg 腹腔内投与を行なつた群、5. SRBC 感作の2日前に CY 投与を行なつた群。以上1を除く他の4群の Donor は SRBC 感作4日後に右膝窩リンパ節細胞を採取した。Recipient マウスは右膝窩リンパ節細胞 1×10^7 個を SRBC 10^8 と混ぜて右足蹠に移入し、24時間後腫脹を測定した。

次に BCG, CY を併用した donor マウスの細胞を移入することにより、CY の DTH に及ぼす増強効果が recipient マウスにおいても観察されるかについて検討した。

Donor マウスは BCG を3週前に接種し、SRBC 10^7 を右足蹠に感作した群、BCG 接種後抗原感作の2日前に CY 4mg を腹腔内投与した群、CY 投与と抗原感作群、抗原感作のみの群、未処置正常マウス群(抗原感作を行なわず)の5群に分け、各群の感作局所リンパ節(右膝窩リンパ節)細胞 10^6 を SRBC 10^8 と混ぜて recipient に移入した(表8)。その結果 recipient における DTH は、未処置正常マウスの膝窩リンパ節細胞を移入された群では、ほとんど誘起されなかつたのに対

し、BCG, CY 併用等の SRBC 感作した群においてはほとんど donor 群にみられる DTH 増強効果が、細胞移入により、recipient においても発現することが確認された。

考 察

CY 使用の目的は、CY の持つ選択的に B 細胞を抑制する作用を使うことにより、抗体産生系の T 細胞に対する抑制を取り除き、遅延型反応の増強および持続をはかることである¹²⁾。CY が選択的に B 細胞を抑制することは、Stockmann⁶⁾, Turk⁷⁾, Poulter⁸⁾ らにより、CY を使用したマウスの脾臓、リンパ節の胸腺非依存領域 (thymus independent area) における B 細胞系の破壊を組織学的に観察することにより証明されている。CY は DNA 合成阻害剤であるため抗原感作後活発に細胞分裂を行なう感作リンパ球は、T 細胞、B 細胞を問わず CY による障害を受けるので、抗体産生系の遅延型反応に対する抑制を取り除くために、CY を使用するねらいにとつて、CY の投与と抗原感作の時期は重要な意味を持つてくると思われる。われわれの実験結果からも (表2) 抗原感作の2日前に CY を投与した群では、最も強い遅延型反応が誘起されたのに対し、抗原感作1日後に CY を投与した群では、遅延型反応、抗体産生ともに誘起されなかつた。このような結果に対し、それは T 細胞、B 細胞の生理学的状態の違いにより、すなわち T 細胞は感作されるまでは CY に感受性の低い静止細胞であるのに対し、B 細胞は常に CY に感受性の高い rapidly replicating precursor pool から由来する細胞であると指摘している⁹⁾。また Kerckhaert ら¹⁰⁾ は細胞の分裂周期に注目し、T 細胞を更に short-lived T cell と long-lived T cell に分け、分裂周期の短い B 細胞と short-lived T cell が CY による障害を受けると述べている。

このような作用様式を持つ CY では、SRBC の高抗原量とともに使用した場合 (図1)、高抗原量では抗体産生が著明なだけに、CY の効果が顕著に現れ、遅延型反応がよく増強されている。更に T 細胞活性化を増強する BCG との併用により、遅延型反応の増強という点で、2者の相加効果は実験結果より明らかであり、BCG 接種後経時的に遅延型反応をみる各時点において、CY を併用した実験 (表3) においても同様の結果が得られている。すなわち BCG 単独の場合には、遅延型反応が減弱してくる時期でも CY の併用により、依然強い遅延型反応の持続が観察される。

一般に、マウスにおいて、水溶性抗原である卵白アルブミンは、遅延型反応を誘起し難いと報告されている。われわれは BCG を前処置することにより、卵白アルブミンにおいても遅延型反応が誘起され、更に CY を

使用することにより、増強されることを認めた。すなわち BCG の免疫強化作用は、卵白アルブミンを抗原として用いたときにも認められた。

また感作の2週前に摘脾を行なつたマウスでも、遅延型反応の増強、持続において、CY とほとんど変わらない効果を得た。このことは脾臓が生体における最大の抗体産生臓器であることを考え合わせれば、理解できることであり、マウスにおいては遅延型反応に対して、抗体産生系による negative feed back が強く働くことを示唆させる。また CY との関係において言いかえれば、CY は化学的に摘脾を行なうような作用を持つと言つても差し支えないであろう。以上のように、CY の作用機序を主に、抗体産生系からの遅延型反応に対する negative feed back を取り除くことに求めたが、最近では、CY によつて遅延型反応に対する非特異的な suppressor T cell が抑制される結果、遅延型反応が高められるとの報告¹¹⁾もある。しかし、当教室の原田¹²⁾は、SRBC を抗原として、CY により非特異的な suppressor T cell が抑制されるか否かについて、本稿と同じ実験系で行なつたが、その一連の実験では、そのような事実は認められなかつた。

足蹠反応が遅延型反応を観察していることの条件の一つに、細胞移入実験の成立が挙げられる。Miller ら³⁾ は SRBC を抗原とした足蹠反応が遅延型反応をみていることを、SRBC 感作マウスの脾細胞の細胞移入実験で証明している。われわれも local passive transfer を使用することにより検討した。その結果、表8のごとく、BCG, BCG・CY 併用による遅延型反応の増強効果が local passive transfer においても認められ、足蹠反応が遅延型反応をみていることを確認した。

以上、前報告も併せてマウスにおいて、SRBC と EA を抗原として使用した際の BCG の免疫強化作用の作用様式について主に述べてきた。一般に抗腫瘍免疫においては、細胞性免疫は生体に有益に、抗体は遮断抗体 (blocking antibody) のごとく不利益に働くと考えられている。腫瘍の免疫療法としての BCG の臨床的応用は、BCG 接種後、前半に遅延型反応の増強、後半に抗体産生の増強を惹起する BCG の免疫強化作用の二相性を考えると、その使用の時期、また同時に免疫抑制的に働く抗癌剤との併用の時期についても一考を要すると思われる。BCG が T 細胞を活性化し、BCG 自身に対する特異的免疫が成立してくるにつれて、どのようにして、他の抗原刺激に対する遅延型反応も強く誘起されるようになるのかについての解明は、BCG の免疫強化作用の作用機作の問題となり、今なお不明であり、今後の研究が必要と思われる。本実験で明らかにされた作用様式は、現在盛んに行なわれつつある、BCG の癌免疫その他の臨床応用の場に投与方法に関する検討材料を与えるものと思われ

る。

結 語

①ある量では、選択的にB細胞を抑制し、遅延型反応を増強するといわれるCYを使用し、BCGとの併用効果を検討した。その結果、遅延型反応の更なる増強と維持が得られ、2者の相加効果が観察された。

②生体における主要な抗体産生臓器である脾臓を摘出したマウスにおいても、CYと同様の効果が得られ、マウスにおいて遅延型反応は、抗体産生系によるnegative feed back機構を強く受けることが確認された。

③卵白アルブミンを抗原とした場合も、SRBCの場合と同様に、BCGの免疫強化作用が認められた。

④マウスにおいて、足蹠反応の24時間値は遅延型反応をよく反映していることがcell transferによつて示された。

(稿を終るにあたり、ご指導とご校閲を賜つた、恩師杉山浩太郎教授、石橋凡雄講師に衷心より感謝いたします。なお、本研究の要旨は第50回、第51回日本結核病学会総会において発表しました。)

文 献

- 1) Kerckhaert, J. A. M.: Ann. Immunol., 125c : 559, 1974.
- 2) Turk, J.L. and Parker, D.: Immunology., 24 : 751, 1973.
- 3) Miller, T.E., Mackaness, G. B. and Lagrange, P.H.: J.Natl. Cancer. Inst., 51 : 1669, 1973.
- 4) Johnson, H. M., Brenner, K. and Hall, H. E.: J. Immunol., 97 : 791, 1966.
- 5) Metaxas, M. N. and Metaxas-Buhler, M.: J. Immunol., 75 : 333, 1955.
- 6) Stockmann, G. D., Heim, L. R., South, M. A. and Trentin, J. J.: J. Immunol., 110 : 277, 1973.
- 7) Turk, J. L., Parker, D. and Poulter, L. W.: Immunology., 23 : 493, 1972.
- 8) Poulter, L. W. and Turk, J. L.: Nat. New. Biol., 238 : 17, 1972.
- 9) Lagrange, P.H., Mackaness, G. B. and Miller, T. E.: J. Exp. Med., 139 : 1529, 1974.
- 10) Kerckhaert, J. A. M., van den Berg, G. J. and Willers, J. M. N.: Ann. Immunol., 125c : 415, 1974.
- 11) Mitsuoka, A., Baba, M. and Morikawa, S.: Nature, 262 : 77, 1976.
- 12) 原田進: 結核, 投稿中.