

原 著

## ツベルクリンアレルギーに関する研究

## 第2編 受身伝達因子 (TF)

大 山 口 渥

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第2部門

受付 昭和 56 年 7 月 2 日

## STUDIES ON THE MECHANISMS OF TUBERCULIN HYPERSENSITIVITY

## II. Non-dialyzable Transfer Factor

Atsushi OYAMAGUCHI\* (Director: Shunsaku OSHIMA)

(Received for publication July 2, 1981)

There have been numerous reports on the transfer factor (TF) of delayed-type hypersensitivity, but there are still unsolved problems about its mechanisms. The experiments reported herein were performed in order to clarify the transfer mechanisms of tuberculin-type hypersensitivity (TTH). Used as a TF was the non-dialyzable fraction of the extract obtained from spleen cells of guinea pigs vaccinated and challenged (VC group) with heat-killed BCG.

1. A fraction which showed TTH-transfer activity was isolated from the spleen extract of the VC group by column chromatography using a Sephadex G-75. Its molecular weight was 15,000-67,000.

2. The low molecular fraction of TF did not contain H37Rv antigen or an antibody to H37Rv.

3. Recipient animals intravenously injected with the TF showed a positive skin reaction to PPD on the 3rd day, but the reaction was negative one week after the injection.

4. TTH was transferred to normal recipients with thymocytes or spleen cells from normal animals incubated with TF in vitro for 24 hours, but not with the lymphnode cells of those animals.

It was demonstrated that TTH could be transferred to normal recipients by thymocytes or spleen cells treated with TF in vitro. This results suggests that normal T cells are sensitized through the same process in recipient animals injected with TF.

## I. 緒 言

ツベルクリン型遅延型皮内反応 (以下 DCH と略す) は感作動物の生細胞によつて受身伝達されることは一般に認められている<sup>1-4)</sup>。しかし生細胞以外に細胞破壊液やその一定分画を用いても受身伝達が可能であるという報告も数多く見られる。Lawrence<sup>5)</sup> は 1954 年にヒトの

末梢血白血球の透析外液を用いて DCH の伝達が可能であることを報告した。また Baram<sup>6)</sup> は DCH の伝達活性物質が  $\gamma$ -globulin を含む高分子分画と polynucleotide を含む低分子分画との双方に存在することを示した。その後 Cummings<sup>7)</sup> は 1956 年に、H<sub>37</sub>Rv 死菌感作動物からの脾細胞超音波破壊抽出液分画を用いて、DCH が正常動物へ伝達可能なことを報告した。

\* From the Chest Disease Research Institute, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

また Kochan<sup>8)</sup> は 1966 年に BCG 死菌感作モルモットの脾細胞と Purified protein derivative (以下 PPD と略す) との培養上清に DCH を伝達する物質が存在し、この伝達物質は免疫成立後のモルモットに Old tuberculin を challenge した 4 時間目の血清中にも存在することを報告した。さらに 1969 年より 1970 年にかけて Dupuy<sup>9)~11)</sup> は感作動物を X 線照射することにより、その血清あるいは血漿中に DCH 伝達活性物質が出現することを示し<sup>9)</sup>、この伝達物質は透析内液に存在し、抗体とは異なる物質であることを証明した<sup>10)</sup>。またこの伝達物質と正常動物の脾細胞とを共に *in vitro* で、37°C、90 分間加温することにより、正常細胞を感作細胞に変えることも可能であると報告した<sup>11)</sup>。

1964 年辻<sup>12)</sup> は BCG 死菌感作ウサギの肺胞滲出細胞の冷凍融解透析内液に、DCH 伝達活性物質が存在することを示し、岡田<sup>13)</sup> はこの物質の分子量が 15,000~60,000 ダルトンであることを報告した。また佐藤<sup>14)</sup> は 1974 年に BCG 死菌感作モルモットの脾細胞の冷凍融解透析内液に DCH 伝達活性物質があることを示し、この物質は分子量 15,000~67,000 の蛋白質であることを報告した。

以上のように DCH に関する細胞間伝達物質について数多く報告されているが、反論もあり、抗原の混入による能動感作である可能性も完全に否定されず、その本質に関して不明の点が多く残されている。今回佐藤<sup>14)</sup> のツベルクリン感受性受身伝達因子 (以下 TF と略す) を用いて、*in vitro* における伝達実験を行ない、その実験成績をととして伝達機構について考察した。

## II. 実験材料ならびに方法

### 1. 実験動物および感作方法

実験動物は静岡県実験動物農業協同組合より入手した雌ハートレー系モルモット (体重 300~350 g) を用いた。感作方法は両後肢足蹠へ BCG 死菌の乾燥重量 2mg を Freund の incomplete adjuvant と混合して各 1mg ずつ注射し、感作後 4 週目に BCG 死菌の乾燥重量 1mg を 0.5 ml の生理食塩水に溶かし、左心室内注射により投与 (チャレンジ) した。チャレンジを行なった後 7 日目の群を VC 群と称する。

### 2. 細胞浮遊液の作製方法

VC 群あるいは正常未感作モルモット (N 群と称す) を心臓穿刺法により採血し、虚血死させたのち、胸腺、脾臓および頸部リンパ節をおのおのに採集し、Eagle's minimal essential medium (pH 7.2, 阪大微研, 以下 MEM と略す) 中でメッシュを通してハサミで細かく切りきざみ細胞を集め、綿濾過したのち MEM で 3 回洗って使用した。

### 3. 受身伝達活性分画 (TF) の作製方法

VC 群の脾細胞  $1 \times 10^8$  個の packed cell volume 1 容

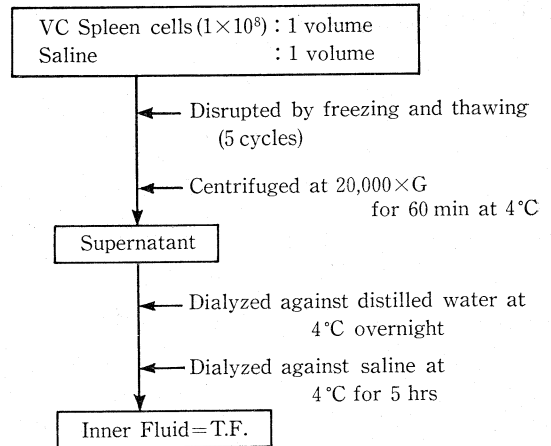


Fig. 1. Preparation of T.F. from VC spleen cells.

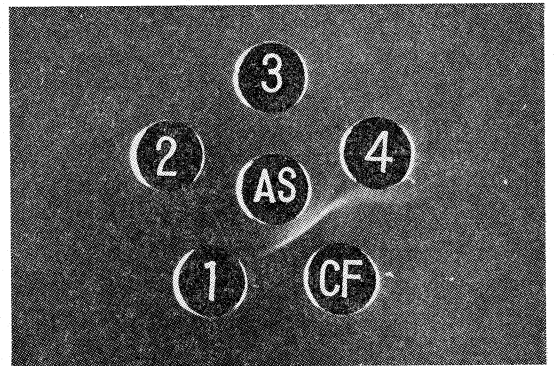


Fig. 2. Experimental results obtained by Ouchterlony's method for detecting tuberculous antigen and antibody in T.F. The results showed that those were not detected in T.F.

AS: Goat antiserum to H<sub>37</sub>Rv (1:1)  
1 and 3: TF (VC spleen cell extract) (1:2)  
2: VC spleen lymphocyte extract (1:2)  
4: VC serum (1:1)  
CF: H<sub>37</sub>Rv culture filtrates (1:1)

に対し生理食塩水 1 容を加えて細胞浮遊液とし、凍結融解操作を 5 回反復して細胞膜を破壊し、20,000G, 4°C, 60 分間遠心して上清を得、上清は蒸留水に対し 4°C で 1 昼夜透析後、生理食塩水で等張として TF として使用した (Fig. 1)。この TF からは Ouchterlony 法で調べた結果、抗原あるいは抗体は検出されなかつた (Fig. 2)。

正常モルモットの脾細胞より同様の方法で細胞抽出液透析内液 (CF と呼ぶ) を作製し対照とした。

### 4. Sephadex G-75 による TF のゲル濾過分画法

Sephadex G-75 (particle size 40-120 $\mu$ , water regain 7.5 $\pm$ 0.5 ml/g, gel bed 12-15 ml/g, Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden) を蒸留水で膨潤し、脱気後 PBS-EDTA (0.01 M の EDTA を含む 0.075 M PBS, pH 7.4) で充分洗浄し、直径 7 cm, 高さ 50 cm のカラムを作製した。20 ml の TF をカラムに重層し、

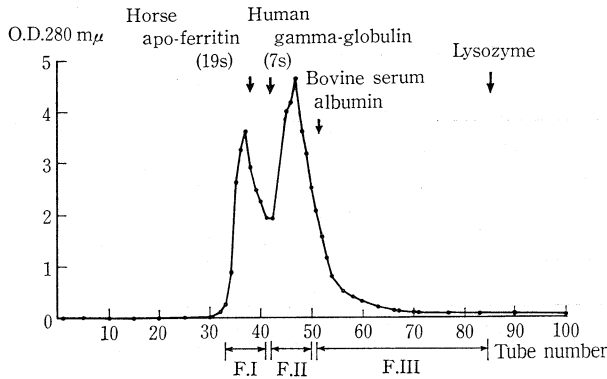


Fig. 3. Fractionation pattern of T.F. by Sephadex G-75.

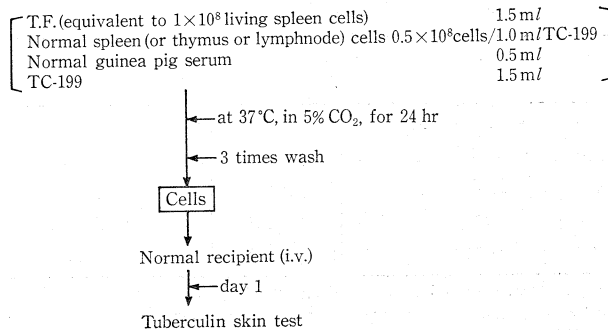


Fig. 4. Method of target cell treatment with T.F. in vitro.

PBS-EDTA で溶出を (溶出速度 125 ml/時) 行ない、12.5 ml ずつフラクションコレクターで試験管に分画した。この操作はすべて 4°C の低温室内で行ない、溶出液の紫外線吸光度は分光光度計 (Shimadzu Double-Beam Spectrophotometer UV-210A) により測定した。その結果は Fig. 3 に示すごとくフラクション I (F. I), II (F. II) および III (F. III) の 3 分画を得た。F. I は 19S 蛋白を含む分画, F. II は 7S 蛋白を含む分画, F. III は BSA 以下 lysozyme までの低分子の蛋白を含む分画である。各分画はそれぞれ凍結乾燥法により、原液と同容の 20 ml になるよう濃縮し、EDTA および塩を除去するため蒸留水に対して充分透析し、生理食塩水で等張として使用した。

5. TF による in vivo における伝達方法

TF による in vivo における伝達は、TF あるいは CF を正常同系モルモットの心室内へ直接注入する受身伝達法を用いた。

6. TF による in vitro における伝達方法

VC 群の生脾細胞  $1 \times 10^8$  個相当にあたる TF 1.5 ml と、56°C で 30 分間非働化した正常モルモット血清 0.5 ml と、TC 199 medium (buffered with 20 mM HEPES, pH 7.4) の 1.5 ml を混和溶解し、正常モルモットの

胸腺細胞あるいは脾細胞あるいは頸部リンパ節細胞の  $0.5 \times 10^8$  個をおのおの 1.0 ml の TC 199 medium に浮遊した細胞浮遊液を加え、プラスチック培養シャーレ中で混和し、5% CO<sub>2</sub> in air, 37°C の条件で 24 時間培養した。培養後 MEM で 3 回洗って培養細胞とした (Fig. 4)。対照として TF の代わりに CF を用い同様の方法により培養細胞を得た。培養細胞は  $1 \times 10^8$ /ml,  $5 \times 10^7$ /ml および  $1 \times 10^7$ /ml となるよう細胞数を調整し、その 1 ml を正常同系モルモットの心室内へ直接注入する受身伝達法を用いた。

7. ツベルクリン皮内反応

In vivo の伝達実験においては、TF あるいは CF 移入後、1 日目、3 日目あるいは 7 日目に、0.1 ml の生理食塩水に溶かした purified protein derivative (以下 PPD と略す) の 10 μg で皮内反応を行ない、24 時間目の皮内反応の硬結の直径を測定した。PPD による能動感作の影響を避けるため、1 匹の recipient についてただ 1 回の皮内反応を行なつたのみで、2 回以上は施行しなかつた。

In vitro の培養細胞を移入された recipient においては、移入後 1 日目に 0.1 ml の生理食塩水に溶かした PPD の 10 μg を用いて皮内反応を行ない、24 時間目の

Table 1. Results Obtained from Transfer Experiments of Tuberculin Sensitivity to Normal Recipients with T.F.

Material transferred	(Equivalent of living spleen cells)	Days after transfer	Tuberculin reaction with PPD (10 $\mu$ g)*	p-value
T.F.**	(4 $\times$ 10 <sup>8</sup> )	day 1	6.6 $\pm$ 1.2	N.S.***
T.F.	(4 $\times$ 10 <sup>8</sup> )	day 3	9.3 $\pm$ 0.3	p<0.005
T.F.	(4 $\times$ 10 <sup>8</sup> )	day 7	5.2 $\pm$ 0.4	N.S.
C.F.****	(4 $\times$ 10 <sup>8</sup> )	day 3	4.5 $\pm$ 0.5	
None treated animal			4.3 $\pm$ 0.8	

\* Mean diameter of 24hr. induration (mm) of six guinea pigs  $\pm$ S.E.

\*\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\*\* N.S. : Not significant

\*\*\*\* C.F. : Control fraction from spleen of normal guinea pig

Table 2. Tuberculin Reactions in Recipients Transferred with Various Kinds of Cells Treated with T.F. or C.F. in vitro

Cells transferred	No. of cells	Tuberculin reaction with PPD (10 $\mu$ g)*	p-value
N-Thymocytes incubated with T.F.**	1 $\times$ 10 <sup>8</sup>	8.1 $\pm$ 0.7	p<0.01
N-Spleen cells incubated with T.F.	1 $\times$ 10 <sup>8</sup>	9.6 $\pm$ 0.4	p<0.005
N-LN cells incubated with T.F.	1 $\times$ 10 <sup>8</sup>	4.6 $\pm$ 0.5	N.S.***
N-Thymocytes incubated with C.F.****	1 $\times$ 10 <sup>8</sup>	4.0 $\pm$ 0.9	
N-Spleen cells incubated with C.F.	1 $\times$ 10 <sup>8</sup>	5.1 $\pm$ 0.5	

\* Mean diameter of 24hr. induration (mm) of six guinea pigs  $\pm$ S.E.

\*\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\*\* N.S. : Not significant

\*\*\*\* C.F. : Control fraction from spleen of normal guinea pig

反応の硬結の直径を測定した。TF の各分画を移入された recipient においては、移入後3日目に同様に PPD の 10  $\mu$ g で皮内反応を行ない、24時間目の皮内反応の硬結の直径を測定した。

8. Bovine serum albumin(BSA), Ovalbumin(OA) および keyhole limpet hemocyanin (KLH)による皮内反応

0.1 ml の生理食塩水に溶かした BSA, OA あるいは KLH のおのおの 10  $\mu$ g で皮内反応を行ない、24時間目の皮内反応の硬結の直径を測定した。

9. 有意差の検定

Student t-test により行なつた。

### III. 実験成績

1. TF による in vivo におけるツベルクリン感受性伝達実験 (Table 1)

TF による in vivo におけるツベルクリン感受性伝達の投与時期と皮内反応発現との関係を調べるため、VC 群の生脾細胞 4 $\times$ 10<sup>8</sup> 個相当の TF を正常同系モルモットへ移入して、1日目、3日目あるいは7日目に PPD により皮内反応を行なつた。TF 移入後1日目ではまだツベルクリン感受性は発現せず (皮内反応 24 時間値: 6.6

$\pm$ 1.2 mm), 移入後3日目に初めてツベルクリン反応が陽性となつた (皮内反応 24 時間値: 9.3 $\pm$ 0.3 mm)。この成績は CF を投与された対照群の反応 (皮内反応 24 時間値: 4.5 $\pm$ 0.5 mm) と比較した場合、p<0.005 で有意差であつた。このツベルクリン感受性は TF 移入後7日目には消失した (皮内反応 24 時間値: 5.2 $\pm$ 0.4 mm)。

2. TF による in vitro におけるツベルクリン感受性伝達実験

TF による target cell が recipient のどの細胞であるかを調べるため、正常モルモットの胸腺細胞、脾細胞あるいは頸部リンパ節細胞を用い、in vitro で TF と培養し、培養細胞を正常同系モルモットへ移入して、ツベルクリン感受性の伝達を検討した。正常胸腺細胞および脾細胞は、TF により in vitro においてツベルクリン感受性を獲得し、正常モルモットへツベルクリン感受性を伝達できた (皮内反応 24 時間値: 胸腺細胞 8.1 $\pm$ 0.7 mm, p<0.01, 脾細胞 9.6 $\pm$ 0.4 mm, p<0.005)。しかし頸部リンパ節細胞では陰性の成績であつた (皮内反応 24 時間値 4.6 $\pm$ 0.5 mm)。対照として CF と正常胸腺細胞あるいは CF と正常脾細胞との組み合わせを行なつたが双方とも陰性の成績であつた (皮内反応 24 時間値: 胸腺細胞 4.0 $\pm$ 0.9 mm, 脾細胞 5.1 $\pm$ 0.5 mm) (Table 2)。

Table 3. Tuberculin Reactions in Recipients Transferred with T.F.- or C.F.-treated Thymocytes in vitro

Cells transferred	No. of cells	Tuberculin reaction with PPD (10 $\mu$ g)*	p-value
N-Thymocytes incubated with T.F.**	$1 \times 10^8$	$8.1 \pm 0.7$	$p < 0.01$
	$5 \times 10^7$	$6.3 \pm 0.9$	N.S.***
	$1 \times 10^7$	$4.5 \pm 1.1$	N.S.
N-Thymocytes incubated with C.F.****	$1 \times 10^8$	$4.0 \pm 0.9$	

\* Mean diameter of 24hr. induration (mm) of six guinea pigs  $\pm$ S.E.

\*\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\*\* N.S. : Not significant

\*\*\*\* C.F. : Control factor from spleen of normal guinea pig

Table 4. Tuberculin Reactions in Recipients Transferred with T.F.- or C.F.-treated Spleen Cells in vitro

Cells transferred	No. of cells	Tuberculin reaction with PPD (10 $\mu$ g)*	p-value
N-Spleen cells incubated with T.F.**	$1 \times 10^8$	$9.6 \pm 0.4$	$p < 0.005$
	$5 \times 10^7$	$7.4 \pm 0.8$	$0.05 < p < 0.1$
	$1 \times 10^7$	$6.8 \pm 0.8$	N.S.***
N-Spleen cells incubated with C.F.****	$1 \times 10^8$	$5.1 \pm 0.5$	

\* Mean diameter of 24hr. induration (mm) of six guinea pigs  $\pm$ S.E.

\*\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\*\* N.S. : Not significant

\*\*\*\* C.F. : Control fraction from spleen of normal guinea pig

Table 5. Antigen Specificity in Day 3 Skin Tests in Animals Transferred with T.F.\*

Skin test antigen (i.d.)	Mean diameter of 24 hr. induration (mm) of five guinea pigs $\pm$ S.E.
PPD** (10 $\mu$ g)	$9.8 \pm 0.6$
BSA*** (10 $\mu$ g)	$1.7 \pm 0.5$
OA**** (10 $\mu$ g)	$2.2 \pm 0.2$
KLH***** (10 $\mu$ g)	$2.8 \pm 0.2$

\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\* PPD : Purified protein derivative

\*\*\* BSA : Bovine serum albumin

\*\*\*\* OA : Ovalbumin

\*\*\*\*\* KLH : Keyhole limpet hemocyanin

ツベルクリン感受性を獲得した胸腺細胞と脾細胞について、活性を比較するため dose response 実験を行なったところ、脾細胞の方が胸腺細胞に比べ、著明にツベルクリン感受性を獲得することが示された (Table 3 および Table 4)。

### 3. TF による反応の抗原特異性

抗原の特異性を検討するため、TF を移入されたモルモットを用いて、種々の抗原で皮内反応を行なったところ、PPD 以外の抗原すなわち BSA (皮内反応 24 時間値:  $1.7 \pm 0.5$  mm), OA (同:  $2.2 \pm 0.2$  mm) および KLH (同:  $2.8 \pm 0.2$  mm) では陰性の成績であった (Table 5)。

### 4. TF の各分画によるツベルクリン感受性伝達実験

TF を Sephadex G-75 を用いて、F.I, F.II および F.III の 3 つの分画に分け (Fig. 3), 各分画のツベルクリン感受性伝達活性について検討した。

i) TF の各分画による in vivo におけるツベルクリン感受性伝達実験 (Table 6)

TF の各分画による in vivo におけるツベルクリン感受性伝達活性は、各分画移入後 3 日目にツベルクリン反応を行なったところ、F.III のみに伝達活性が認められた (皮内反応 24 時間値:  $9.1 \pm 0.6$  mm,  $p < 0.005$ )。F.I (同:  $6.0 \pm 0.7$  mm) および F.II (同:  $5.4 \pm 1.1$  mm) では陰性の成績であった。

ii) TF の各分画による in vitro におけるツベルクリン感受性伝達実験 (Table 7)

Table 6. Results Obtained from Transfer Experiments of Tuberculin Sensitivity to Normal Recipients with Fraction I, II or III of T.F. or C.F.

Material transferred	(Equivalent to living spleen cells)	Protein concentration	Days after transfer	Tuberculin reaction with PPD (10 µg)*	p-value
F.I of T.F.**	(2 × 10 <sup>8</sup> )	12.0 mg/ml	day 3	6.0 ± 0.7	N.S.***
F.II of T.F.	(2 × 10 <sup>8</sup> )	11.8 mg/ml	day 3	5.4 ± 1.1	N.S.
F.III of T.F.	(2 × 10 <sup>8</sup> )	8.2 mg/ml	day 3	9.1 ± 0.6	p < 0.005
C.F.****	(4 × 10 <sup>8</sup> )	60.6 mg/ml	day 3	4.6 ± 0.5	

\* Mean diameter of 24hr. induration (mm) of six guinea pigs ± S.E.

\*\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\*\* N.S. : Not significant

\*\*\*\* C.F. : Control fraction from spleen of normal guinea pig

Table 7. Tuberculin Reactions in Recipients Transferred with the Fractions of T.F.-treated Spleen Cells in vitro

Cells transferred	No. of cells	Tuberculin reaction with PPD (10 µg)*	p-value
N-Spleen cells incubated with F.I of T.F.**	1 × 10 <sup>8</sup>	4.3 ± 0.3	N.S.***
N-Spleen cells incubated with F.II of T.F.	1 × 10 <sup>8</sup>	8.5 ± 0.6	p < 0.01
N-Spleen cells incubated with F.III of T.F.	1 × 10 <sup>8</sup>	10.6 ± 0.5	p < 0.005
N-Spleen cells incubated with C.F.****	1 × 10 <sup>8</sup>	5.1 ± 0.5	

\* Mean diameter of 24hr. induration (mm) of six guinea pigs ± S.E.

\*\* T.F. : A fraction of transfer factor from spleen of VC guinea pig

\*\*\* N.S. : Not significant

\*\*\*\* C.F. : Control factor from spleen of normal guinea pig

TF によるツベルクリン感受性の target cell を含む正常脾細胞 (Table 2) を用いて, TF の各分画による in vitro における伝達実験をした。in vivo における成績と同様に in vitro においても F.III に強い伝達活性が認められ (皮内反応24時間値: 10.6 ± 0.5 mm, p < 0.005), F.I では陰性の成績であった (同: 4.3 ± 0.3 mm)。In vivo の伝達実験においては伝達活性の認められなかつた F.II から, in vitro では伝達活性が認められた (同: 8.5 ± 0.6 mm, p < 0.01)。

#### IV. 考 察

いわゆるトランスファーファクターと言われる因子については, Lawrence<sup>9)</sup> 以後, 数多くの報告が知られる<sup>7-10)</sup>。しかし低分子の因子にせよ高分子の因子にせよ, その中に抗原部分が含まれている可能性については否定できていない。また作用機序に関しても解明されていない。

今回ツベルクリン感受性受身伝達因子 (TF) による in vivo の受身伝達実験の時間的経過より, TF 投与後のツベルクリン感受性は1日目および7日目では認められず, 3日目に認められた結果より, 抗原による能動感作ではないことが示された。もし TF に抗原部分が含まれて能動感作が成立したとすれば, 移入後7日目のツベルクリン感受性は3日目よりも増大するはずである。なぜならば, BCG 菌による能動感作の場合, 感作後7

日目ごろよりツベルクリン感受性が著明になるのは周知の事実である。Ouchterlony 法による結果より, 著者の用いた TF より抗原あるいは抗体は検出されなかつた (Fig. 2)。以上のように in vivo の伝達実験より確認できたことは TF により正常動物がツベルクリン感受性を獲得するには3日ほどの日程を必要とすること, および抗原による感作とは時間的に異なる経過をとるということである。

TF による in vitro における正常細胞への伝達実験より, 培養時間が2時間あるいは5時間の場合, 伝達は不可能であつた (未発表データ), 今回示されたごとく24時間の培養時間が必要であつた。また培養時間が48時間を超えた場合, 細胞の生存率が悪く, 多数の生細胞を回収することは不可能であつたため, データとして表示することができなかった。TF の target cell は正常動物の胸腺あるいは脾臓に存在し, リンパ節には存在しない細胞であることが in vitro における実験より明らかにされた。胸腺と脾臓に共通に存在する細胞として T-cell があり, その subset としては, リンパ節には少数で, 脾臓に多い未熟な T<sub>1</sub>-cell<sup>15)-17)</sup> が TF の target cell として最も考えられた。能動感作の場合ツベルクリン感受性は T-cell によつて発現されることは一般に認められている<sup>18)-20)</sup>。さらに T-cell のなかでも T<sub>1</sub>-cell および T<sub>2</sub>-cell の2種類, あるいはそれ以上の subset の T-cell がツベルクリン感受性の発現には必要であろうと報告さ

れている<sup>21)22)</sup>。

今回の実験より得た結果より、ツベルクリン感受性の伝達機構を考察すれば、TFによるツベルクリン感受性の獲得にはT<sub>1</sub>-cellがtarget cellとしてまず必要であり、このT<sub>1</sub>-cellがツベルクリン感受性を獲得するためには約24時間の接触が必要であり、この間にT<sub>1</sub>-cellの一部がT<sub>2</sub>-cellに成熟し、後者あるいは両者の協同によつてツベルクリン感受性が発現されると推察された。一方 recirculating T<sub>2</sub>-cellのpoolとされているリンパ節細胞では、TFによりツベルクリン感受性を伝達できなかったことより、成熟したT<sub>2</sub>-cellはもはや新たな感受性を獲得することはできない細胞であることが示された。

透析内液である著者のTFの活性分画について、Sephadex G-75を用いて、3つの部分に分け、ツベルクリン感受性の伝達活性を調べた結果、佐藤のTF<sup>14)</sup>の結果と同様に、BSA以下の分画から強い活性が認められた。また7S分画からも弱いながら活性が認められたが、19S分画からは伝達活性は認められなかった。

以上のごとく、今回TF中に抗原あるいは抗体部分が含まれている可能性を否定できる結果を得ることができ、またTFはvirgin T<sub>1</sub>-cellを介してツベルクリン感受性を伝達することが示唆されたが、これで充分とは言いがたく、今後in vitroの伝達実験をとおして遅延型反応の解析を行なう予定である。

## V. 結 語

1. TF (ツベルクリン感受性受身伝達因子)による、in vivoにおける伝達実験より、TFによる伝達は一過性で、移入後3日目にツベルクリン感受性が認められた。しかし7日目にはすでに消失し、移入後1日目ではまだ伝達は認められなかった。

2. TFによるin vitroにおける伝達実験より、TFとtarget cellとの培養は24時間必要であり、TFのtarget cellとしては正常動物の胸腺および脾臓に存在し、リンパ節には存在しない細胞であつた。以上の条件を満たす細胞としてはT-cellのうちでもより幼若なT<sub>1</sub>-cellが考えられた。

3. 透析内液であるTFのツベルクリン感受性伝達活性は分子量15,000~67,000の分画において認められ、抗原あるいは抗体部分は検出されなかった。

## 謝 辞

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました大島駿作教授に厚くお礼申し上げます。また研究面で、終始、御協力をいただいた木野稔也講師に深く感謝いたします。実験遂行のうへで御協力をいただいた今井保代氏、谷岡文子氏、阪口三重子氏に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Bail, O.: Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit, Zeitschr f Immunitatsforschung Orig, 4: 470, 1910.
- 2) Chase, M.W.: The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin, Proc Soc Exp Biol Med, 59:134, 1945.
- 3) Stavitsky, A.B.: Passive cellular transfer of the tuberculin type of hypersensitivity, Proc Soc Exp Biol Med, 67: 225, 1948.
- 4) Wesslen, T.: Passive transfer of tuberculin hypersensitivity by viable lymphocytes from the thoracic duct, Acta Tuberc Scand, 26: 38, 1952.
- 5) Lawrence, H.S.: The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes, J Clin Invest, 33: 219, 1954.
- 6) Baram, P. and Mosko, M.M.: Chromatography of the human tuberculin delayed-type hypersensitivity transfer factor, J Allergy, 33: 498, 1962.
- 7) Cummings, M.M. et al.: Passive transfer of tuberculin hypersensitivity in guinea pigs using cells disrupted by sonic vibration, Am Rev Tuberc, 73: 246, 1956.
- 8) Kochan, I. and Bendel, W.L.: Passive transfer of tuberculin hypersensitivity in guinea pigs, J. Allergy, 37: 284, 1966.
- 9) Dupuy, J.M. et al.: Passive transfer, with plasma, of delayed allergy in guinea pigs, Lancet, 15: 551, 1969.
- 10) Dupuy, J.M. et al.: Transfer with a plasma fraction of delayed hypersensitivity to PPD in guinea pigs, J Immunol, 104: 1384, 1970.
- 11) Dupuy, J.M. and Good, R.A.: Role of lymphoid cells in passive transfer with plasma of delayed hypersensitivity in guinea pigs, J Immunol, 105: 1111, 1970.
- 12) Tsuji, S. et al.: Studies on the "Transfer factor" of tuberculin hypersensitivity in animals I. Observation of successful passive transfer of tuberculin hypersensitivity with fractions of either disrupted alveolar macrophages or serum of sensitized and challenged rabbits, J Immunol, 93: 838, 1964.
- 13) 岡田長保: ツベルクリン感受性伝達因子の化学的性状に関する研究 (第1篇) ウサギの Alveolar Macrophage 抽出液中に存在する伝達因子の精製, 京大結研紀要, 14: 130, 1966.
- 14) 佐藤篤彦: モルモットにおけるツベルクリン過敏症の受身伝達因子に関する研究, 京大胸部研紀要, 7: 135, 1974.
- 15) Raff, M.C. and Cantor, H.: Subpopulations of thymus cells and thymus-derived lymphocytes. Progress in Immunology. Academic Press, New York, First International Congress of Immunology p. 83, 1971.
- 16) Cohen, S. et al.: Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production, Cell Immunol, 12: 150, 1974.

- 17) Livnat, S. and Cohen, I.R.: Recruitment of effector lymphocytes by initiator lymphocytes: circulating lymphocytes are trapped in the reacting lymph node, *J Immunol*, 117: 608, 1976.
- 18) Roitt, I.M. et al.: The cellular basis of immunological response: A synthesis of some current views, *Lancet*, 2: 367, 1969.
- 19) Cooper, M.G.: Delayed-type hypersensitivity in the mouse II. Transfer by thymus-derived (T) cells, *Scand J Immunol*, 1: 237, 1972.
- 20) Oshima, S. et al.: A role of thymus dependent lymphocyte in passive transfer of tuberculin hypersensitivity, *Jap J Tuberc Chest Dis*, 21: 5, 1978.
- 21) Araneo, B.A. et al.: Functional heterogeneity among the T-derived lymphocytes of the mouse II. Sensitivity of subpopulations to anti-thymocyte serum, *J Immunol*, 114: 747, 1975.
- 22) Lagrange, P.H. and Mackaness, G.B.: A stable form of delayed-type hypersensitivity, *J Exp Med*, 141: 82, 1975.