

原 著

食細胞膜分画におけるホスホリパーゼ活性の修飾と抗菌効果

近藤 瑩子・金井 興美

国立予防衛生研究所結核部・細菌第1部

受付 昭和59年2月29日

PHOSPHOLIPASE ACTIVITY OF THE MEMBRANE FRACTION OF PHAGOCYTES IN RELATION TO ITS ANTIBACTERIAL PROPERTY

Eiko KONDO* and Koomi KANAI

(Received for publication February 29 1984)

The membrane fractions were prepared from the samples of mouse peritoneal exudate cells in which polymorphonuclear leukocytes or macrophages were predominant. Each fraction was incubated at pH 5.6 with tubercle bacilli, staphylococci or *E. coli* in a high density. Time-course enumeration of viable bacteria in the mixture revealed that the decrease of viable count down to 1/100 was attained in more than ten hours for tubercle bacilli and within one hour for staphylococci. This bactericidal activity was enhanced by a membrane-active peptide (melittin) and inhibited by indomethacin, EDTA and heating of the membrane fraction. *E. coli* did not receive any killing effect under the same experimental conditions. The membrane fraction prepared from red blood cells was almost inactive against any species of above bacteria.

Melittin is an activator of phospholipase A₂ but indomethacin and EDTA are the inhibitor. Therefore, phospholipase A₂ activity of the membrane fraction was examined in the presence or absence of these agents and confirmed the expected results. All the above observations added a further support for our idea that hyperactivation of phospholipase A₂ in the phagocyte membrane may act on endogenous phospholipids to release long-chain fatty acids in an enough amount to kill the sensitive bacteria. Discussion was made on the probable conditions which make the above *in vitro* event exists also *in vivo*.

Keywords: Antibacterial activity, Phagocyte membrane, Phospholipase A₂, Long-chain fatty acid, Lysolecithin, Mycobacteria, Staphylococci.

キーワードズ: 抗菌活性, 食細胞膜, ホスホリパーゼ A₂, 長鎖脂肪酸, リゾレシチン抗酸菌, ブドウ球菌

はじめに

感染防御が自然抵抗性を基盤とし、更にリンパ球、マクロファージの提携による獲得免疫機構の発動によって成立することは今更言うまでもない。また、この

一連の機構の最終段階において、感染菌に直接作動する抗菌力が、非特異的な物質に依存していることも確実とみられ、殊に近年においては活性化された酸素の関与が再評価されている。一方、私たちはこうした酸化的反応によらない抗菌力のひとつとして、食細胞の

* From the Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki 2-10-35, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

膜を構成する脂質の分解に由来するゆうり脂肪酸の抗菌性に関心をもち、この可能性が *in vivo* で現実になりうる条件について、生化学的、そして形態学的観察をも含めて検討してきた。

これまでの成績の示唆するところによれば、おそらく食細胞膜と菌との密な接触を前提として、膜のホスホリパーゼが強く活性化されることが現象の中核であると考えられる。今回試みた実験は、食細胞由来の粗膜分画と菌（結核菌、ブドウ球菌、大腸菌）との密度の高い混液における菌数消長において、ホスホリパーゼ活性化物質としてのメリチン¹⁾ (melittin, 蜂毒由来の塩基性ペプチド)、また活性抑制物質としてのインドメサシン²⁾, EDTA³⁾ の影響を観察したものである。その成績は私たちのこれまでの発想を一步すすめたものと考え、以下報告する。

材料と方法

菌株と菌液の調製：人型結核菌 H37Rv 株のカナマイシン (KM) 100 μg 耐性菌を使用した。ソートン培地上 37°C で 7~10 日培養した菌膜を濾紙上でよく水洗し、乾いた滅菌濾紙にはさんで水を切り、この半乾燥量を秤って水晶球入りコルペン中で 10 mg/ml の均等浮遊液とした。これを更に適宜の菌濃度に希釈して用いた。

ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) と大腸菌 (*Escherichia coli*) はいずれも KM 5 μg , アクリフラビン (ACR) 10 μg 耐性菌を用いた。KM 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ACR 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含むトリプトソイブイオン (栄研) 中で 37°C, 一晚発育培養し、生食水で *S. aureus* は 4 倍に、*E. coli* は 10 倍に希釈して、これをテスト菌液とした。

動物：市販 ddY 系マウス雄、体重 30g 前後のものを用いた。モルモットはハートレー雌、体重 450g 前後を用いた。いずれも正常動物である。

腹腔滲出細胞の収獲：Hammersten カゼイン (Merck 製) の 9% 溶液⁴⁾ を 3ml, マウス腹腔内に注射し (モルモットの場合は 15~20ml), 15 時間あるいは 3 日後にマウスは頸動脈切断により、モルモットは空気塞栓により殺したのち、開腹して腹腔内滲出細胞をヘパリン加 (5U/ml) 冷ハックス液で洗い出して収獲した。収獲液は 100 メッシュのふるいで 1 回濾し、1,000 rpm, 5 分の遠心沈澱によって細胞をみつめ、2 回ハックス液で洗浄した。一部をスライドグラス上でギムザ染色して細胞の構成を、また白血球計算板上で細胞数を数えた。得られた細胞は 0.2MKCl で浮遊液 5 $\times 10^7$ ~ 1 $\times 10^8$ cells/ml とし、容器を氷水中に置いて 4°C に保存した。

マウスは 1 回の収獲に 50~100 匹、モルモットは 5~10 匹を用いた。

膜分画の調製：細胞の 5 $\times 10^8$ ~ 1 $\times 10^9$ 個を 0.2MKCl 浮遊液とし、その 10 ml を 60 秒音波処理した。

そして 1,000 rpm, 5 分、更に 3,000 rpm, 20 分の遠沈によって粗大分画、核分画を除いた。上清は 15,000 rpm で 1 時間遠沈し、その沈澱を水で 1 回洗浄、15,000 rpm, 30 分で再び沈澱させた。得られた分画は 1~2 ml の水に浮遊させ、10 秒間音波をかけて均等とし、これを粗膜分画とした。雑菌の汚染防止として KM を 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ペニシリンを 100U/ml の割合に添加した。調製された膜分画浮遊液は 100 μl 当り、りん脂質として 100~200 μg (King 法による)、蛋白量は 200~300 μg (Folin test, 標準は BSA) 前後含まれる。

細胞収獲時に同時にあつめた血液は、ハックス液中 3,000rpm で遠沈して血球をみつめ、水を加え滲透圧によって破壊したのち 10,000 rpm, 20 分で膜分画を得た。水でよく洗浄後、再び水に浮遊させ音波処理で均等な血球膜浮遊液とした。

結核菌に対するマウス腹腔滲出細胞膜分画による殺菌テスト：上記膜分画浮遊液；100 μl , 0.05M 醋酸緩衝液 pH 5.6；100 μl , 100 mM CaCl₂；10 μl , 菌液 1mg/ml；100 μl , 以上の混液を適宜の時間インキュベイトしたのち、0.05 M 醋酸緩衝液 0.7 ml を追加して更に 30 分インキュベイトした。この混液の 10 倍希釈系列をつくり、その 0.1 ml をキルヒナー寒天培地 (5% に血清を含む) に接種し、4 週後に出現するコロニー数を測定した。混液への添加物質としてのインドメサシン (Sigma 製) は 0.5% 溶液⁵⁾ を 20 μl , メリチン (Sigma 製) は 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を 10 μl , EDTA は 60mM を 20 μl をそれぞれ添加量とした。なお、インドメサシンの使用にあたっては、まず膜浮遊液と緩衝液、Ca²⁺ のみの混液に添加し、30 分インキュベイト後に菌液、更にメリチンを加えた。

結核菌に対するモルモット腹腔滲出細胞膜分画による静菌テスト：キルヒナー半流動寒天培地 (寒天 0.1%, 牛血清 3%) を 10 本のスクリュウキャップ付試験管 (1.0 \times 10cm) に 3 ml ずつ分注し、5 本ずつの 2 系列に分けた。うち 1 系列には膜分画浮遊液を 100 μl ずつ加えた。そして、各系列にメリチン溶液の 10 μl を絶対量として 10 μg , 5 μg , 2.5 μg , 1.25 μg となるように添加した。最後に結核菌菌液 0.1mg/ml の 100 μl をすべての試験管に一樣に接種した。37°C にインキュベイトし、2~3 週後の菌の発育の様相を観察した。

ブドウ球菌または大腸菌に対するマウス腹腔滲出細胞膜分画による殺菌テスト：これら菌株に対するテスト用膜分画浮遊液は雑菌汚染防止として KM を 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に添加したが、結核菌の場合と異なり、ペニシリンは含まれていない。膜分画；100 μl , 0.01M トリス buffered saline pH 7.0；100 μl , 菌液；100 μl , 100mM CaCl₂；10 μl , 以上の混液を適宜の時間インキュベイト後、0.005M 醋酸 buffered saline pH 5.6 を 0.7ml 加え更に 15 分インキュベイトした。混液の saline 10 倍希釈系列をつくり、その 0.3 ml をトリプトソイ寒天 (栄

研) 培地 (KM 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ACR 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む) に接種し, 2日目のコロニー数をカウントした。

ホスホリパーゼ A₂ assay: L- α -Phosphatidylcholine, β -[1-¹⁴C] arachidonyl, α' -stearoyl (The Radio-chemical Centre Amersham, England) の 0.2 μCi を 10ml の試験管にとり, よく溶媒をとばして乾燥し, 0.05M 醋酸緩衝液 pH 5.6; 100 μl , 100 mM CaCl₂; 100 μl , 膜浮遊液; 100 μl を加えてミキサーで振盪, 攪拌し, 更に BCG 菌液 (1 mg/ml); 100 μl を加えてインキュベイトした。適宜の時間にクロロホルム・メタノール (CM) 2 : 1 の 1.2 ml を加えて反応を止め, 一晚放置後抽出された下層の脂質を別の試験管にとって乾燥し, 新たに CM (2 : 1) で脂質をとかした。その一部を 110°C, 60分 で活性化した薄層プレート (シリカゲル G60, E. Merck, Darmstadt, Germany) にスポットしてクロロホルム・メタノール・水 (65 : 25 : 4), あるいは n-ヘプタン・エーテル・醋酸 (90 : 10 : 1) で展開し, スキャナーで標識脂質量を確認した。インドメサシン, メリチン, EDTA の添加については殺菌テストの場合と同様, 同量の操作法である。

実験成績

結核菌に対するマウス腹腔滲出細胞膜分画の抗菌活性—メリチンまたはインドメサシン添加の影響: Fig. 1-A はカゼイン誘出 3 日後の腹腔滲出細胞 (単核白血球 78%, 多形核白血球 22%), Fig. 1-B はカゼイン誘出 15 時間 (単核白血球 10%, 多形核白血球 90%), Fig. 1-C は赤血球を原材料として得られた膜分画を使用した抗菌テストの結果である。各膜分画はそれぞれ 100 μl 当り,

りん脂質 60 μg , 蛋白量 232 μg (Fig. 1-A, Fig. 2-A), りん脂質 95 μg , 蛋白量 300 μg (Fig. 1-B, Fig. 2-B), りん脂質 260 μg , 蛋白量 360 μg (Fig. 1-C, Fig. 2-C) を含んでいる。成績はいずれもインキュベーション混液 0.1 ml 当りの生菌数で表現している。方法に示した条件において, 結核菌は 16 時間インキュベーションしても生菌数に変化はないが, ここにマクロファージを主体とする細胞標本由来の膜が添加されると, 8 時間で 1/10, 16 時間で 1/10,000 以下まで生菌数は減少した。混液に更にメリチンが添加されると抗菌活性は促進増強され, 8 時間で 1/1,000 以下となった。これらの殺菌作用は混液へのインドメサシンの添加によっていずれも抑制をうけた (Fig. 1-A)。多形核白血球の多い細胞標本より得た膜分画によっても抗菌活性が認められ, 8 時間で 1/10, 16 時間で 1/100 まで菌数は減少した。そしてまた, メリチン添加によって 8 時間で 1/100, 16 時間で 1/10,000 以下にまで殺菌効果が強められた。これらの活性もインドメサシンによっていずれも抑制をうけた (Fig. 1-B)。しかし, 赤血球由来の膜の使用では膜自体の抗菌活性は僅かなものであって, ここにメリチンを加えても前 2 者の食細胞膜の抗菌力と比べて活性化率は低く, 16 時間を経ても 1/100 までの菌数減少にとどまった。この減少に対してもインドメサシンによる抑制はみられた (Fig. 1-C)。なお, メリチン自体は本テスト条件において 16 時間インキュベーションしても結核菌に対する殺菌効果はない。

ブドウ球菌に対するマウス腹腔滲出細胞膜分画の抗菌活性: Fig. 2 は *S. aureus* に対する抗菌テストを上記結核菌に対して使用した同一膜分画 (KM 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$,

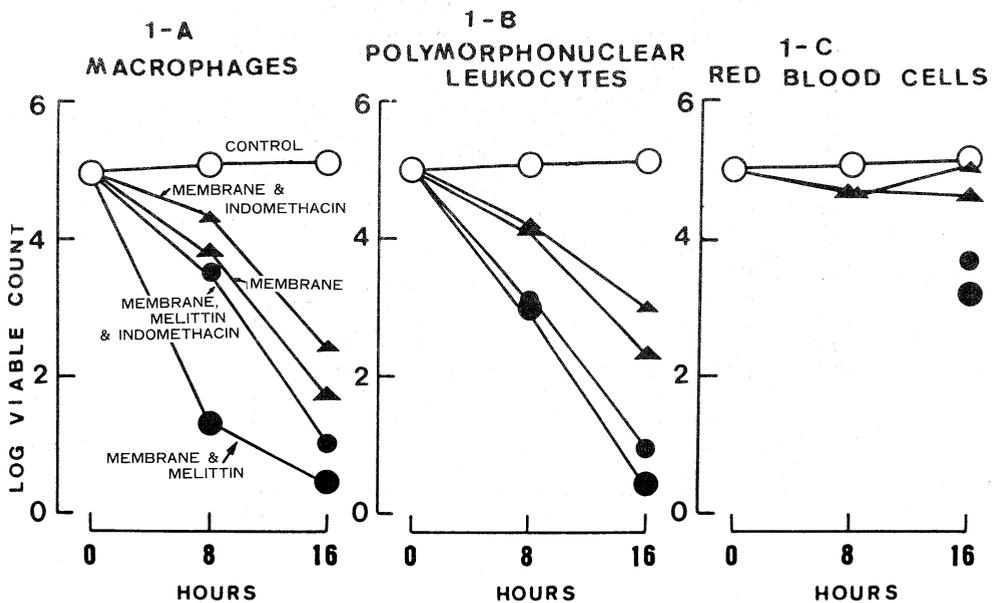


Fig. 1. Mycobactericidal effect of the membrane fractions of various cell origin as activated by melittin and inhibited by indomethacin.

ペニシリンは含まない)で行なった成績である。いずれもインキュベーション混液 0.3 ml 中の菌数で表現している。この菌に対してはマクロファージあるいは多形核白血球の多い細胞標本に由来する膜は強い抗菌活性を示し、1時間で1/100以下に、2時間で1/10,000以下に生菌数は減少した。そしてこの殺菌作用は、インドメサシンの添加によって抑制をうけた(Fig. 2-A, B)。

しかし、赤血球由来の膜分画では全くこの殺菌効果は示されなかった(Fig. 2-C)。また後述のように上記食細胞膜分画の *S. aureus* に対する抗菌活性は 100°C, 5分の加熱によって減弱した(Fig. 4-A)。なお, *S. aureus* は本テスト濃度のメリチンに対し感受性であるため、メリチンによる活性化テストは行なわなかった。

マウス腹腔滲出細胞膜分画の抗結核菌活性に対する

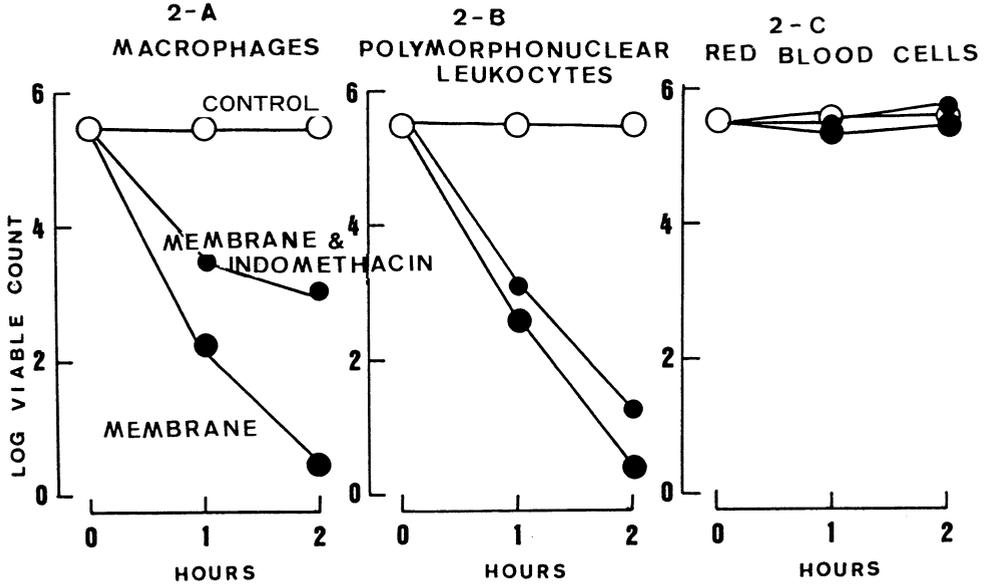


Fig. 2. Bactericidal effect on *staphylococcus aureus* of the membrane fractions of various cell origin as activated by melittin and inhibited by indomethacin.

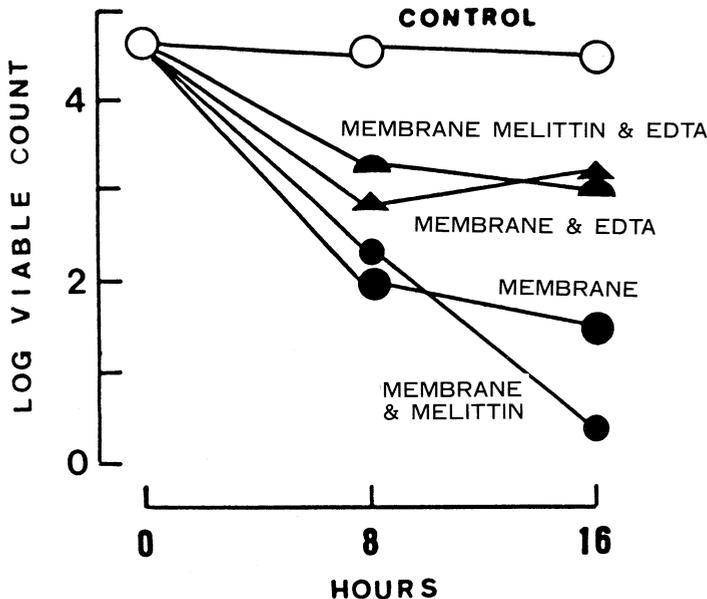


Fig. 3. Inhibitory effect of EDTA on the mycobactericidal activity of the membrane fraction.

EDTA 添加の影響：インキュベーション混液に EDTA を添加すると、膜自体の抗菌活性も、メリチンによつた活性化された効果もともに部分的阻害をうけた (Fig. 3)。また、膜の 100°C、5 分の加熱により、抗菌活性は著しく減弱し、対照としての菌の 16 時間インキュベーション後の残存生菌数が対数で 4.39、膜分画の添加で 1.59 であるのと比べ、加熱膜分画添加では 3.78 の減少にとどまった。加熱膜とメリチンの共存ではわずかながら活性化が認められ、2.90 であった。このテストに使用した膜分画 (単核白血球 71%、多形核白血球 29%

由来) は 100 μ l 当りりん脂質 65 μ g、蛋白量 300 μ g を含んでいる。

大腸菌に対するマウス食細胞膜分画の抗菌作用：*S. aureus* に示した多形核白血球 (94%) 由来の膜分画 (100 μ l 当り、りん脂質 113 μ g、蛋白量 240 μ g を含む) の強い抗菌活性は *E. coli* に対しては全く効果を発揮しなかった (Fig. 4-a, b)。

モルモット腹腔滲出細胞膜分画による結核菌に対する静菌効果：モルモットの腹腔滲出細胞膜分画の結核菌に対する殺菌テストにおいても、メリチン添加による活性化が認められた (成績未発表) ので、本静菌テストには材料としてモルモット腹腔滲出細胞 (単核白血球 51%、多形核白血球 49%) に由来する膜分画を使用した。Fig. 5 はメリチンの存在下における正常モルモット膜分画の結核菌に対する静菌作用を示す。膜分画を添加しない系列においては、メリチンの濃度の高低によらず、いずれも菌発育は旺盛であつて、日数が経つにつれて管壁を這い上るほどの様相がみられた。しかし一方、膜分画の存在においては、添加メリチンの濃度に応じて菌発育は阻害をうけ、コロニー数が減少すると同時に深部発育に変わっていくことが観察された。コロニーは深部である程度の大きさにまで発育した。

マウス腹腔滲出細胞膜分画とメリチンあるいはインドメサシンの存在下におけるレシチンの分解：L- α -phosphatidyl choline, β -[1- 14 C] arachidonyl, α' -stearoyl を基質として膜分画 (単核白血球 85%、多形核白血球 15% 由来、100 μ l 当り、りん脂質 168 μ g、蛋

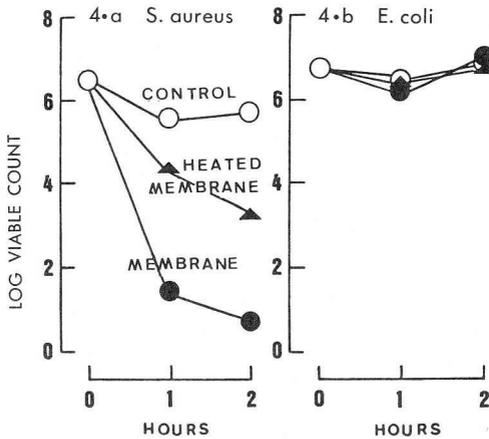


Fig. 4. Comparison of the sensitivity to the bactericidal activity of the membrane fraction between *S. aureus* and *E. coli*.

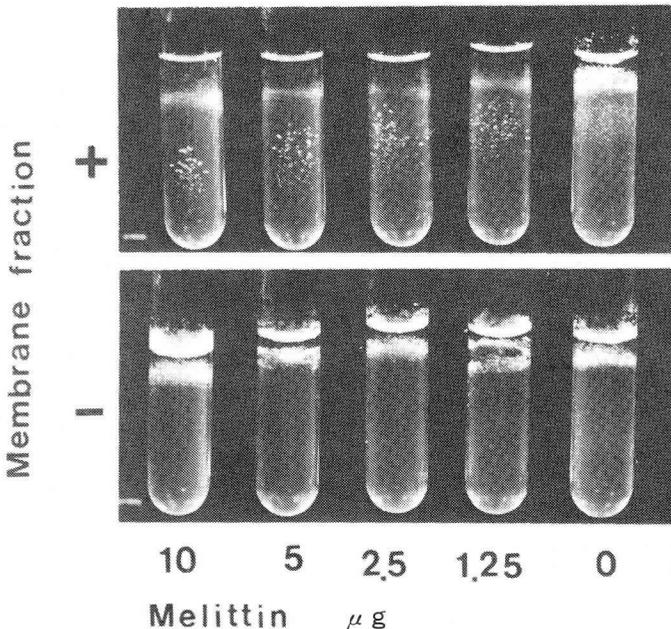


Fig. 5. Melittin-induced bactericidal effect of the membrane fraction on tubercle bacilli.

白量 280 μg を含む)とともに6時間インキュベイトしたとき、4%の分解がみられたが、ここにメリチンが添加されると分解は促進されて、3時間で21.3%、6時間で36.5%であった。この phospholipase A 活性によるレシチンの分解はインドメサシンの添加によって部分的阻害をうけた (Fig. 6)。また、多形核白血球を主体とした膜分画 (Fig. 4 の実験にも使用) もメリチンによって活性化されたが、EDTA の添加によって分解の阻止がみられた。メリチン添加で8時間で88%、これに EDTA を加えると僅か0.4%の分解におさえられた。メリチンとインドメサシン添加では59.7%でやはり部分的阻害がみられた。膜自体の分解率は3.3%であった。

考 察

食細胞のもつ抗菌物質に関する Elsbach⁹⁾ の総説によれば、生細胞の代謝産物としては、活性酸素や乳酸等の蓄積による細胞内 (おそらくは食胞内) pH の低下などがあり、一方、代謝に依存せず、細胞分画として検討されたものには、非酵素性蛋白あるいは物質分解能のある酵素蛋白 (lysozyme, protease, phospholipase A₂ 等) が挙げられている。

私たちがこの報告でとりあげた主題は、上の2つの可能性のうち後者に属するものであるが、しかし phospholipase A そのものが菌に働くのではなく、食細胞膜に内在するこの酵素の過度の活性化によって、膜りん脂質の不可逆的分解があり、それによって遊離する抗菌活性の強い脂肪酸やリゾ体が菌に対して直接的に作用するという発想においては、Elsbach の示した2つの可能性の中間に位置するものと言えよう。

膜に内在する phospholipase A₂ の生理的意義に関し

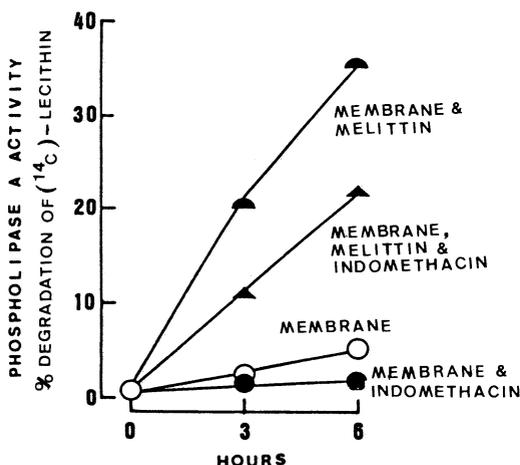


Fig. 6. Phospholipase a activity of the membrane fraction as activated by melittin and inhibited by indomethacin.

ては、現在、プロスタグランジンの前駆体としての多価不飽和脂肪酸を膜りん脂質から遊離供給する点に関心が集中している。また、Bリンパ球においては、Fc γ レセプターに phospholipase A₂ 活性が認められると報告され⁷⁾、NK 細胞の細胞毒性に際しても phospholipase A₂ の活性化⁸⁾ が観察されるなど、当酵素の重要性が次第に注目されている。

しかし、私たちが今回報告した食細胞の抗菌活性における phospholipase A₂ の意義は、上記のような生理的事象というよりは病理的現象に属するものと考えている。phospholipase A₂ の活性化によって、抗菌効果に発揮される程の脂肪酸やリゾ体が遊離するには、おそらく膜それ自体の崩壊があると推定するからである。ブドウ球菌による膿瘍そのものもつ抗菌活性をリポドに属する物質に帰している Dye と Kaprel⁹⁾ の報告は、この菌の侵入に対して集積した多形核白血球の分解産物が抗菌力を発揮して感染が停止することを示唆している。

私たちは食細胞膜における phospholipase A₂ の活性化が、菌と細胞表面膜との間のレセプター対リガントという生理的接触ではなく、それを超えての両細胞の表面密着という病理的状況であると想定した。これは電顕による形態学的所見からの仮説にすぎないが、こうした仮説のもとに実験条件として微少容積の中での菌と膜分画との密な接触を準備した。このことが果して電顕写真でみられる食胞膜と細胞内菌の密着状況を再現しえたか否か、今後の検討を待つことになるが、私たちはこの実験条件が殺菌効果を定常的に発現しえた理由のひとつと考えている。intact の食細胞と菌との単なる混合では成功しないのは、限られた時間内では目的とする膜と菌との密着が実現しないのかもしれない。また、ブドウ球菌の場合には、この菌のもつ白血球崩壊毒素 (ロイコシジン) が膜の phospholipase A₂ を活性化する¹⁰⁾ ことが知られているので、菌は白血球を殺し、崩壊した白血球の分解産物が、今度は逆に菌に作用するという図式が一層可能性を秘めている。

菌と細胞膜との密着ということは、単に phospholipase A₂ の活性化のためばかりではなく、遊離した脂肪酸やリゾ体が体液中の蛋白質によって中和されることなく、ただちに菌に作用しうる場を提供するという可能性でも重要であるかもしれない。抗酸菌のもつリポフィリックな表層は膜の脂質2重層との接触に好条件であろう。

また、ブドウ球菌は結核菌よりも遊離脂肪酸に対する感受性が弱いにもかかわらず、今回の実験条件では急速な殺菌効果をうけている。これは、リゾ体の殺菌作用に対してブドウ球菌が結核菌以上に強い感受性をもつことと関係があるかもしれない。また、長鎖脂肪酸にもリゾ体にも感受性をもたない大腸菌に対して、膜

分画が抗菌力を示さなかったことは、私たちの仮説を一面で支持するものである。加熱膜分画は結核菌、ブドウ球菌のいずれに対しても抗菌力の減弱をみたが、なお残存している活性は膜分画に既存の遊離脂肪酸、あるいはその他の抗菌物質の作用と理解している。加熱した膜分画、あるいは抗菌活性を殆んど示さなかった赤血球膜分画にメリチンを添加したときの活性上昇は、精製されたメリチンにおお夾雑しているホスホリパーゼA₂活性の存在によると思われる。

In vivo, つまり結核感染病巣において、この報告で設定したような実験条件が成立するか否かについて更に検討が必要であるが、少なくともこれまでの私たちの一連の報告¹¹⁾によれば、感染病巣での菌と組織との接触部位においては脂肪酸の動きが活発であり、それによる膜コレステロールのエステル化、更にエステル菌体への吸着といった現象が得られ、ライソゾーム由来の水解酵素の菌体への吸着という観察と総合する時、phagolysosomeの膜構造と菌体との密着という可能性が強く示唆された。しかも、このことを私たちは既に電顕的に観察している¹²⁾。

更に、*in vitro*の系で大量の結核菌と膜分画とを混合インキュベイトして、膜のホスホリパーゼAの活性化されることを認めた¹³⁾。また、結核菌は脂肪酸のエステル化活性が強く、殺菌に有効な不飽和長鎖脂肪酸もコレステロールとエステル結合すると、その抗菌力が失われた¹⁴⁾。そして、膜分画に含まれるコレステロールエステラーゼ活性は菌の存在のもとで阻害をうけた¹³⁾。清谷らも結核菌培養濾液中から腹腔マクロファージのリパーゼを阻害する物質を証明した¹⁵⁾。

以上のように、宿主生体膜ならびに菌体の相互作用において、脂質代謝機構の関与が病理学的に重要な要因と考えられるが、そうした生化学的な反応の方向と強弱を支配する微小環境条件もまたさまざまであろう。殊に、遊離脂肪酸はその分子種、量、環境条件、菌の生理的状態等によって、菌に対して発育阻止にも、また発育支持にも働くので、結核感染におけるリピドの意義については、単一モデル実験の成績から短絡的に考えることなく、種々の条件の実験成績から、総合的に評価することが必要であろう。

ま と め

正常マウス、モルモットの腹腔滲出細胞（マクロファージ、あるいは多形核白血球を主要成分とする）から膜分画を調製し、これと結核菌、ブドウ球菌、あるいは大腸菌の密度の高い混液をつくり、pH 5.6の酸性環境での生菌数消長を追求した。この両者の接触度の高い条件において、結核菌並びにブドウ球菌の生菌数は顕著に減少し、前者は10数時間で、後者は1時間で1/100にもなった。この殺菌効果は膜活性物質であるメリ

チンで加速され、またインドメサシン、EDTA、膜の加熱等で抑制された。大腸菌の生菌数は同一条件で全く影響をうけず、また、赤血球由来の膜分画はそれ自体で殆んど活性をもたなかった。以上の成績並びに膜分画のホスホリパーゼ活性の測定から、上記の抗菌効果はこの酵素活性の上昇によって膜りん脂質が分解し、この反応に由来するゆり脂肪酸の直接作用と説明された。この現象の*in vivo*における可能性について論議し、食細胞自体の崩壊を犠牲としての感染防御効果を示唆した。

文 献

- 1) Habermann, E.: Bee and Wasp venoms, *Science*, 177: 314, 1972.
- 2) Kaplan, L., Weiss, J. and Elsbach, P.: Low concentrations of indomethacin inhibit phospholipase A₂ of rabbit polymorphonuclear leukocytes, *Proc Natl Acad Sci*, 75: 2955, 1978.
- 3) Franson, R. et al.: Phospholipid metabolism by phagocytic cells. Phospholipase A₂ associated rabbit polymorphonuclear leukocytes granules, *J Lipid Res*, 15: 380, 1974.
- 4) Kondo, E. and Kanai, K.: A comparative observation on cholesterol ester contents of uninduced and induced mouse peritoneal cells, *Japan J Med Sci Biol*, 27: 67, 1974.
- 5) Drysdale, B. and Shin, H.S.: Activation of macrophages for tumor cell cytotoxicity: Identification of indomethacin sensitive and insensitive pathway, *J Immunol*, 127: 760, 1981.
- 6) Elsbach, P.: Cell surface changes in phagocytosis, G. Poste and G.L. Nicolson (eds.), *The synthesis, Assembly and Turnover of Cell Surface Components*, Cell surface Review, 4: 363, Elsevier North-Holland Biochemical Press, 1977.
- 7) Suzuki, T. et al.: Studies of Fcγ receptors of human B lymphocytes: Phospholipase A₂ activity of Fcγ receptors, *Biochemistry*, 19: 6037, 1980.
- 8) Hoffman, T. et al.: Phospholipid methylation and phospholipase A₂ activation in cytotoxicity by human natural killer cells, *Proc Natl Acad Sci*, 78: 3839, 1981.
- 9) Dye, E.S. and Kaprel, F.A.: Partial characterization of bactericidal system in *Staphyrococcal* abscesses, *Infect Immun*, 30: 198, 1980.
- 10) 加藤巖: 総説, ブドウ球菌 α 毒素とロイコシジンの構造と毒作用, *日細誌*, 36: 445, 1981.

- 11) 金井興美・近藤瑩子：総説，結核感染における宿主脂質，IV. 補遺とまとめ，結核，56：257，1981.
- 12) Kondo, E., Yasuda, T. and Kanai, K.: Electroscopic demonstration of close contact between intra cellular mycobacteria and the phagosomal membrane, Japan J Med Sci Biol, 35 : 197, 1982.
- 13) 近藤瑩子・金井興美：食細胞の脂質分解酵素と結核菌，結核，57：1，1982.
- 14) 近藤瑩子・金井興美：総説，結核感染における宿主脂質，II. コレステロール，結核，56：41，1981.
- 15) 清谷克寛他：結核菌培養濾液中よりの Mycobacterial Lipase Inhibitor の分離ならびに性状，結核，58：571，1983.