

同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応

第 2 編

局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響

岡山大学医学部第 2 外科教室 (指導: 砂田輝武教授)

岡山大学医学部第 1 解剖学教室 (指導: 尾曾越文亮教授)

副 手 後 藤 有 三

I. 結 言

本研究の第 1 編¹⁾において、成熟家兔の片側の耳介背側に同種皮膚移植を行ない、それに対する局所リンパ節 (耳介根部リンパ節) の増生反応を、リンパ節の重量、DNA および RNA 含量の増加率を指標として定量的に追求した。本編はその続編をなすもので、その目的は同じ実験系を用いて同種皮膚移植片の生着期間および局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響を検討するにある。

同種移植片の拒否現象が免疫反応に基づくことはもはや疑問の余地はないが、第 1 編¹⁾に述べた如く、拒否現象と局所リンパ節の反応の強さとの関係を見ると、リンパ節の増生反応の極期と拒否現象の始まる時期とがよく一致し、また移植片の生着期間が著しく短縮される第 2 次反応においては局所リンパ節の反応の極期が早まり、かつ反応の強さも著しく増す。このように、同種移植片の拒否現象と局所リンパ節の増生反応の強さとの間には密接な関係があるが、後者を Freund's adjuvant によつて増強した場合に、同種皮膚移植片の生着期間が短縮されるか否かを吟味することは、上記の両者の関係をさらに明瞭にするために有意義である。

Freund's adjuvant、とくに熱殺抗酸菌の菌体を含む complete Freund's adjuvant はリンパ節の増生反応を著しく増強することが、Rupp ら (1960)²⁾、Steiner ら (1960)³⁾、Moor ら (1963)⁴⁾、Schoenberg ら (1963)⁵⁾ によつて明らかにされている。また、Freund's adjuvant を蛋白抗原とともに注射すると、抗体産生が著しく促進されることは、古くからよく知られている。そこで、Freund's adjuvant により同種皮膚移植片に対する宿主の抗体産生も促進されることが予想された。

II. 実験材料および方法

1. 実験動物

市販の雑系家兔 (体重 2.0~3.0 kg) を 1~2 週間教室の標準食によつて飼育した後実験に用いた。とくに耳介に炎症などの異常を認めないものを厳選し、実験中に体重減少の著しいものは除外した。

2. 実験方法

厳選した正常家兔の左側の耳介背側に、本研究の第 1 編¹⁾に述べたと同じ方法で 3.0×1.5 cm の長方形の全層同種皮膚移植を行ない、同時に complete Freund's adjuvant を腹腔内に投与し、移植皮膚片の生着状態を観察するとともに、移植後 3 日目、5 日目、7 日目、10 日目、14 日目、および 21 日目に両側耳介根部の局所リンパ節を摘出し、リンパ節の重量、DNA および RNA 含量を測定した (本研究の第 1 編¹⁾に述べたように Schneider 変法により核酸を抽出し、Diphenylamin 反応によつて DNA 含量を、そして Orcinol 反応によつて RNA 含量を測定した)。そして、リンパ節の重量、DNA 含量ならびに RNA 含量について、それぞれ対照側の値を基準として、実験例の値を百分比であらわした。

本実験に用いた complete Freund's adjuvant は DIFCO 製で、流動パラフィンである Bayol F 8.5 ml に表面活性剤である Arlaeol A 1.5 ml を混じ、これに熱殺 *Mycobacterium butyricum* 菌体 5 mg を加えたものである。このような complete Freund's adjuvant 0.5 ml を同量の生理的食塩水に混じ、water-in-oil の emulsion として移植当日腹腔内に注入した。

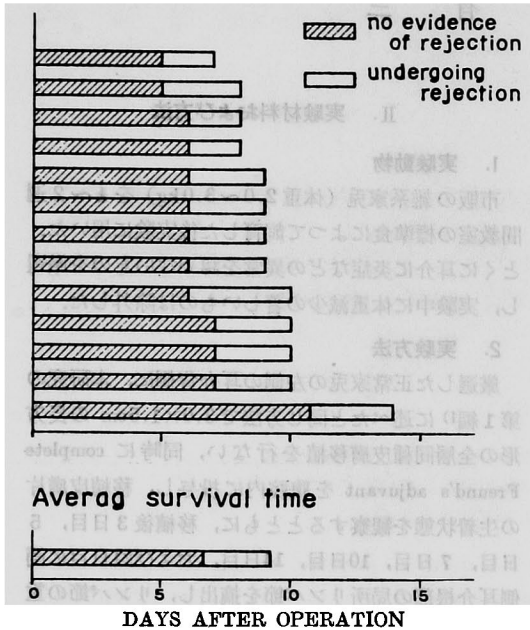
III. 実験成績

25羽の家兔に本実験を行なつたが、1例に化膿を認め、本実験例から除外した。移植皮膚片の脱落が

終了するまで観察のできたのは13例，生着期間は7～14日で，平均生着期間は 9.3 ± 0.41 日であった。これは第1次同種皮膚移植の場合の平均生着期間 9.5 ± 0.28 日とほとんど変わらない(図1)。

図1. 同種皮膚移植片の生着期間に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響

Survival time of homograft in 13 rabbits, together with intraperitoneal injection of complete Freund's adjuvant (0.5 ml)



局所リンパ節の反応の経時的变化(表1, 図2-5)をみると, リンパ節の重量, DNA および RNA 含量は同種皮膚移植後はほぼ平行して増加し, 7日目に最大値に達し, 以後漸減し, 21日目にはほとんど

対照側の値と同じになる。すなわち, 第1次同種皮膚移植の場合と同じく, 7日目をピークとする1峯性の増殖反応を示すが, 反応極期におけるリンパ節の重量, DNA および RNA 含量の平均増加率がそれぞれ265%, 348%, および347%で, 第1次同種皮膚移植の場合の平均増加率(それぞれ182%,

図2. 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響。リンパ節の反応の大きさを重量の増加率であらわす。

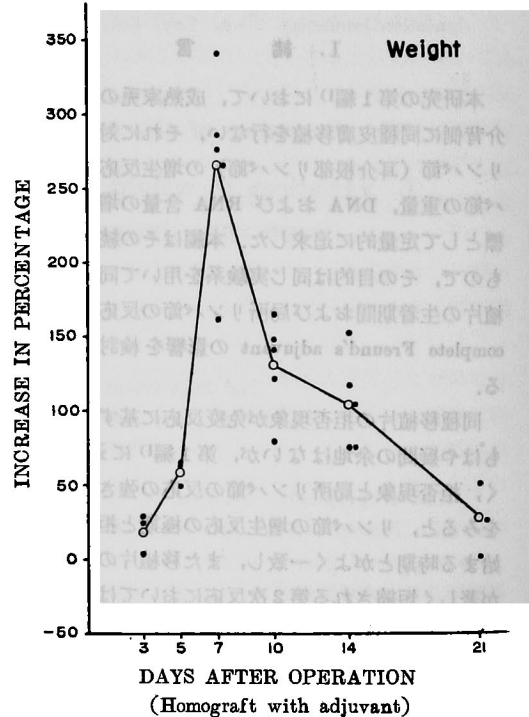


表 1 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響

移植後の 日数	実験 例数	家兎 の 体重 (kg)	リンパ節 の 重量			リンパ節の DNA-P 含量			リンパ節の RNA-P 含量			DNA-P濃度		RNA-P濃度		RNA: DNA比	
			実験 側 (mg/ kg)	対照 側 (mg/ kg)	増加 率 (%)	実験 側 (γ/ kg)	対照 側 (γ/ kg)	増加 率 (%)	実験 側 (γ/ kg)	対照 側 (γ/ kg)	増加 率 (%)	実験 側 (γ/mg)	対照 側 (γ/mg)	実験 側	対照 側		
3	3	2.47	75	64	18	98	88	13	86	72	21	1.30	1.36	1.14	1.13	0.88	0.82
5	3	2.17	112	71	58	141	84	66	122	72	69	1.24	1.18	1.08	1.01	0.88	0.86
7	5	2.17	136	38	265	157	35	348	152	34	347	1.15	0.94	1.12	0.92	0.98	0.98
10	5	2.22	91	39	130	101	42	141	92	38	140	1.15	1.10	1.04	0.98	0.91	0.91
14	5	2.13	74	36	104	69	32	110	63	31	103	0.94	0.91	0.87	0.87	0.93	0.96
21	3	2.25	59	48	26	72	57	30	57	46	26	1.21	1.17	0.97	0.97	0.80	0.83

図 3. 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響. リンパ節の反応の大きさを DNA-P 含量の増加率であらわす.

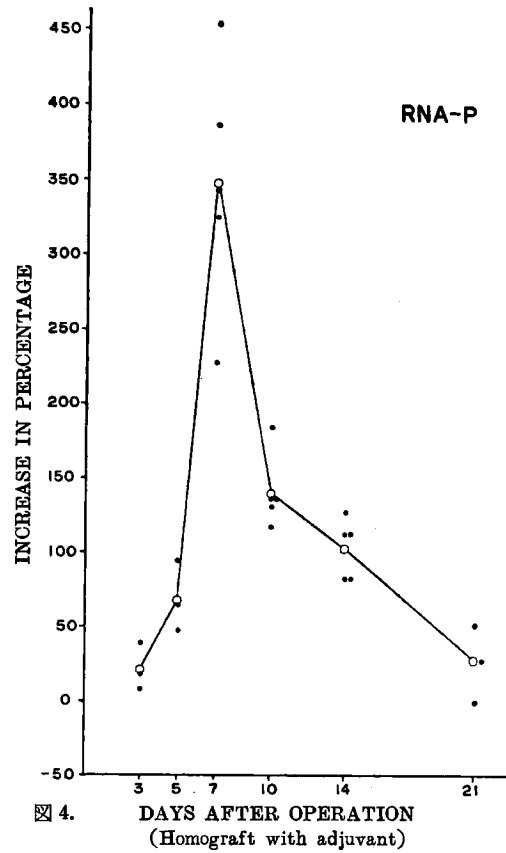
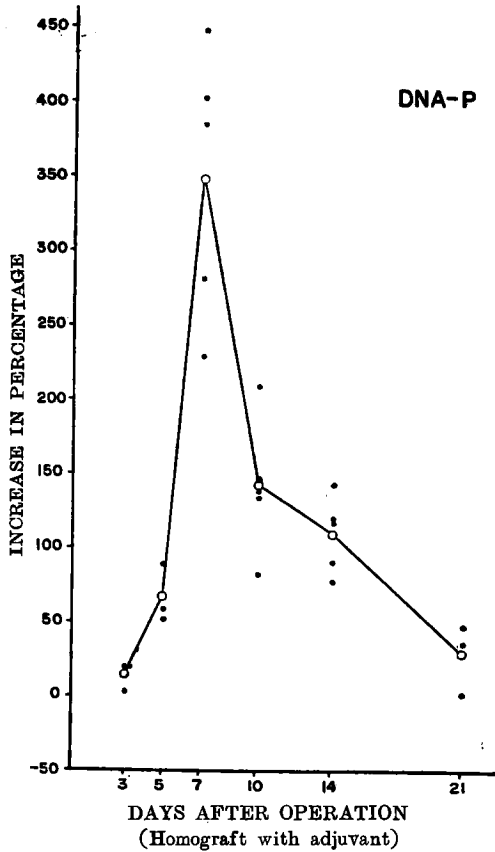


図 4. 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響. リンパ節の反応の大きさを RNA-P 含量の増加率であらわす.

212%および221%)に比し明らかに増大しているのが認められた。とくに DNA および RNA 含量の増加率の増大が著明であり、これは局所リンパ節の反応が著しく増強されていることを示す(図2-5)。そしてこの反応極期の7日目は拒否現象(rejection)の始まる時期に相当し、拒否現象の終了する10日目には上記3つの平均値はそれぞれ130%, 141%, および140%に減少し、それ以後さらに減少して21日目にはほとんど対照側の値と同じになる。

図 4. 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響. リンパ節の反応の大きさを RNA-P 含量の増加率であらわす.

図 5. 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響. リンパ節の反応の大きさを重量, DNA-P および RNA-P 含量の平均増加率でまとめてあらわす.

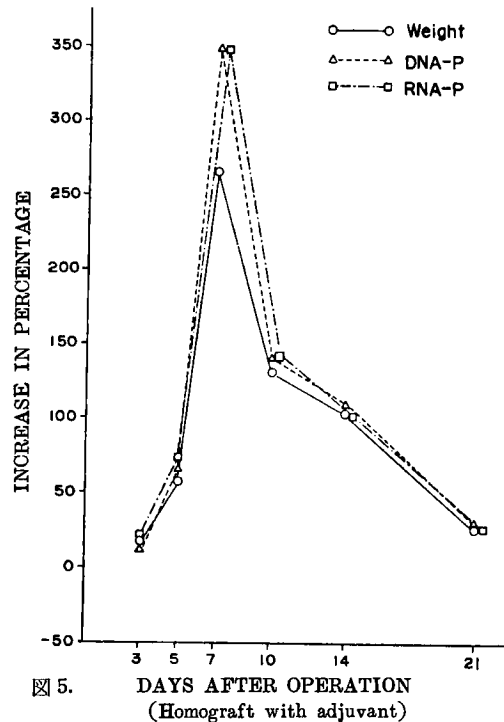


図 5. 同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響. リンパ節の反応の大きさを重量, DNA-P および RNA-P 含量の平均増加率でまとめてあらわす.

IV. 考 察

上に述べたように、complete Freund's adjuvantの腹腔内注射によつて、同種皮膚移植片に対する局所リンパ節の増生反応は著しく増強されるにも拘らず、同種皮膚移植片の生着期間は全然短縮されない。このことから、complete Freund's adjuvantは局所リンパ節における非特異的な細胞増殖を促進するが、移植皮膚片の拒否現象、換言すれば抗体の産生に直結する細胞増殖には影響を及ぼさないと見える。

さきに教室の三原(1966)⁶⁾は、蛋白抗原と Freund's adjuvantを用いて動物を免疫すると、局所リンパ節におけるリンパ球その他の免疫適格細胞の非特異的増殖がまずおこり、それが抗体産生に直結する特異的増殖に転化することを立証した。本実験の成績からみると、移植免疫においては、Freund's adjuvantによつてひきおこされる局所リンパ節の非特異的増生反応は、抗体産生に直結する特異的増生反応に転化されないといわねばならない。

文

- 1) 後藤有三：同種皮膚移植に対する局所リンパ節の反応。I. 第1次および第2次反応における局所リンパ節の重量、DNA および RNA 含量の変動。岡山医誌, 78 : 429—437, 1966.
- 2) Rupp, J. C., Moore, R. D. and Schoenberg, M. D. : Stimulation of the reticuloendothelial system in the rabbit by Freund's adjuvant. Arch. Path., 70 : 43—49, 1960.
- 3) Steiner, J. W., Langer, B. and Schatz, D. L. : The local and systemic effect of Freund's adjuvant and its fractions. Arch. Path., 70 : 424-434, 1960.

V. 結 語

成熟家兎の片側の耳介背側に同種皮膚移植を行ない、局所リンパ節の増生反応に及ぼす complete Freund's adjuvant の影響を検討し、つぎのことが明らかにされた。

1. complete Freund's adjuvant の腹腔内注射によつて、同種皮膚移植片に対する局所リンパ節の増生反応は著しく増強されるにも拘らず、同種皮膚移植片の生着期間は全然短縮されない。
2. このことから、移植免疫においては、Freund's adjuvantによつてひきおこされる局所リンパ節の非特異的増生反応が、抗体産生に直結する特異的増生反応に転化されないといえる。

稿を終えるに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師砂田教授ならびに尾曾越教授に対し深甚の謝意を表する。

献

- 4) Moor, R. D., Lamm, M. E., Lockman, L. A. and Schoenberg, M. D. : Cellular aspects of the reaction of Freund's adjuvant in the spleen and lymph nodes. Brit. J. Exp. Path., 44 : 300-311, 1963.
- 5) Schoenberg, M. D., Gilman, P. A., Mamaw, V. and Moor, R. D. : Proliferation of the reticuloendothelial system and phagocytosis. Exp. Molecl. Path., 2 : 126-143, 1963.
- 6) 三原淳良：リンパ節の反応性に関する研究。岡山医誌, 78 : 73—93, 1966.

The Response of the Regional Lymph Node to Skin Homografts

II. Effects of complete Freund's adjuvant on the response of the regional lymph node

by

Yuzo Goto

2nd Department of Surgery (Director : Prof. T. Sunada)
and 1st Department of Anatomy (Director : Prof. B. Osogoe)
Okayama University Medical School

By homografting of skin on the dorsum of the left ear of adult rabbits, the effects of complete Freund's adjuvant on the response of the regional lymph node have been studied. The essential results obtained are as follows :

1) The proliferative response of the regional lymph node to skin homografts is markedly increased by a single intraperitoneal injection of complete Freund's adjuvant, whereas the skin homograft survival is not shortened at all.

2) The results indicate that in transplantation immunity the nonspecific proliferative response of the regional lymph node elicited by complete Freund's adjuvant is not converted into the specific one which ultimately leads to the formation of antibody.
