Parabiosis 法による皮膚移植の実験的研究

第2編 parabiont の病理組織学的検索および組織培養法に おける細胞間の接触態度について

兼 松 宣 武

Studies on allograft in adult rat parabiont

II. It's pathological findings and cell-to-cell contact in tissue culture.

Nobutake KANEMATSU

I 緒 言

免疫寛容は大量の抗原を胎生期、または新生児期に注入することにより導入されることが Billingham ら⁶⁾によって示された。この事実、それまでの移植は組織適合性因子が同じでなければ成立しないといわれていた概念を一変した。その後、種々の検索により、胎生期に導入される寛容状態は、成熟動物にも導入されることが示され、その術式の一つに parabiosis があげられる。著者は、rat における組織適合性因子を考慮した parabiosis による寛容状態導入の検索が見られないところから、rat における R 抗原に注目し、本法を用いての同種同系、同種異系の皮膚移植の可能性を検索した。なお、あわせて parabiosis をおこなうことによって生じる免疫応答反応が parabiont に与える影響について、第1編において血液学的検索をおこなったが、本編において、皮膚接合部および全身諸臓器の病理組織学的検索をおこなった。また、移植における免疫の問題を細胞レベルで検討すべく、組織培養法を用いて、各々の rat の strain 由来の fibroblast 間の相互反応、およびリンパ球の fibroblast への作用の検索をおこない興味ある所見を得たので報告する。

II 実験材料ならびに実験方法

A. 実験材料

a. rat の系統と R 因子

(1) Wistar/Mk 近交系 (以下 W/Mk と略)
北大牧野教室に保存されている近交系で F69 に達している。この rat はすべて R^w 因子を保有していることが明らかにされている¹¹⁾¹²⁾。

(2) Fisher-344 近交系 (以下 F/NMk と略)

北大牧野教室に保存されている近交系で F109 に達している。この rat はすべて R^f を保有していることが明らかにされている¹¹⁾¹²⁾。

以上、2 系統の rat で生後 49~50 日 (7 週令) 体重 150~200g の雄 rat を使用した。

B. 実験方法

1. 動物実験

(1) 各群 parabiosis rat の病理組織学的検索

Parabiosis を第1編と同様の方法により以下の2群に分けておこなった。

第1群: W/Mk と F/NMk 11組。

第2群: W/Mk と W/Mk 5組。

なお、対照群として W/Mk と F/NMk を固定のみ parabiosis rat と同様におこなった。parabiosis の期間は皮膚移植弁が完全に相手の移植部に生着すると思われる2週間おこなった。なお、病理組織学的検索は、parabiosis rat の死亡時には死亡 rat とペアの rat、また、14日間生存した例では2匹とも屠殺して皮膚接合部と全身臓器を採取、10%ホルマリンにて固定をおこない、通法により病理組織切片作製後 H-E 染色をほどこして

岐阜歯科大学口腔外科学教室第2講座 (主任: 柴田寛一教授)
大阪歯科大学理工学教室・組織培養室 (主任: 川原春幸教授)
Second Department of Oral Surgery, Gifu College of
Dentistry (Chief: Prof. Kanichi Sibata)
Department of dental Materials, Tissue Culture Center,
Osaka Dental University
(Chief: Prof. Haruyuki Kawahara)
受付: 昭和50年5月15日

鏡検した。

2. 組織培養実験

(1) 結合組織細胞の接触状態

W/Mk および F/NMk を 10% ネブタルにて麻酔後、rat の腹部の皮膚を切開、皮下結合組織を採取しガラス板上で 1mm³ の小細片としたのち、シャーレ上に静置して primary culture をおこなった。培養は牛胎児血清 20% 含有の培養液 199 を用いて、5% CO₂ の気相でおこなった。実験は W/Mk の皮膚片と F/NMk の皮膚片、W/Mk の皮膚片同志、対照群として同じ rat の皮膚片を 2 コ静置しておこなった。観察は Nikon-MD 型倒立位相差顕微鏡を用いて両皮膚小細片から outgrowth した fibroblast がお互に接触する状態を観察した。

(2) 感作リンパ球の働きについて

前記と同様の方法で培養した fibroblast を subculturei 標的細胞とした。感作リンパ球は、rat の腹側に 2×4cm 大の全層遊離皮膚片を移植し、排除した直後の移植側の腋下リンパ節から採取した。リンパ球の採取は氷冷した Hanks 液 (約 4°C) にリンパ節を摘出し、ガラス板上にて血液、結合組織等を除去したのち 1mm³ の細片とし、2 枚のスライドガラスの間にリンパ節の細片をはさんで押しつぶし、その抽出液を培養液 (約 4°C) に入れてリンパ球浮遊液を作成した。なお、浮遊液は 37°C 1 時間静置してマクロファージとの分離を図り、培養液の上清中に含まれるリンパ球を使用した。標的細胞となる fibroblast に対して感作リンパ球を 1×10⁵ cells/ml の割合で混入し、rat 血清 15% 含有の培養液 199 を使用して、5% CO₂ の気相で培養した。観察は経時的に (1) と同様におこなった。

III 実験結果

(1) 各群 parabiosis rat の病理組織学的検索

(a) 全身臓器の病理解剖学的所見

(i) 第 1 群

胸腺：早期に死亡した rat においては概して萎縮しており、鬱血状態を呈していた。14 日間生存例、ならびに途中で屠殺した rat においては肉眼的に正常であった。

腋下リンパ節：正常なものが多いが、早期に死亡した rat ではリンパ節の萎縮が、14 日間生存例では肥大を来しているものも見られた。

脾臓：早期死亡例および屠殺した rat の脾臓は小さく、萎縮しており、14 日間生存例では貧血状態を呈している rat において多少肥大しているように思われた。

肝臓：早期死亡例と屠殺例、および 14 日間生存例との違いはあまり見られなかったが、parabiosis 中毒で貧血症の状態にある rat の肝臓は暗紅色で、多血症の状態にある rat の肝臓は鮮紅色を呈していた。

腎臓、副腎：著明な変化は見られなかった。

心臓：肉眼的に異常は認められなかった。

肺臓：parabiosis 中毒を呈して死亡した rat の肺臓は組織が崩壊し、鬱血状態であった。屠殺例および 14 日間生存例では肉眼的に正常なものが多かった。

(ii) 第 2 群

腋下リンパ節：正常もしくは多少肥大しているように思われた。

脾臓：正常なものが多いが、小數に鬱血の見られるものが存在した。

胸腺、脾臓、肝臓、腎臓、心臓、副腎：特記すべき変化は認められなかった。

(iii) 対照群

各臓器とも肉眼的に特別な変化は認められなかった。

(b) 全身臓器の病理組織学的所見

(i) 第 1 群

胸腺：早期死亡例においては皮質ならびに髓室の鬆粗化が見られた (写真 1)。

腋下リンパ節：parabiosis 中毒を呈した rat においては、胚中心が不明瞭となる所見が見られた。早期死亡した rat においては、皮小節の萎縮が見られた (写真 2)。また、周縁洞にエオジン好染の大型細胞が出現している例が見られた (写真 3)。

脾臓：parabiosis 中毒を呈した rat、とくに早期死亡例に白脾髓の消失、または萎縮が見られ、赤脾髓の線維性増殖した例が見られた (写真 4)。

骨髄：異常所見は見られなかった。

肝臓：早期死亡例に肝細胞の変性壊死、ならびに肝細胞の pyknosis と血管の鬱血が見られた (写真 5)。14 日間生存例では W/Mk 7 例中 2 例、F/NMk 7 例中 3 例に散在性は肝細胞の変性壊死、pyknosis が見られた。

腎臓：早期死亡例の皮質および髓室の尿管に円形細胞の浸潤が見られた (写真 6)。

副腎：異常所見は見られなかった。

心臓：早期死亡例に心筋の変性壊死、好中球の浸潤が見られた (写真 7)。

肺臓：早期死亡例および parabiosis 中毒を呈した rat の肺胞中隔に鬱血と円形細胞の浸潤が見られた (写真 8)。

(ii) 第 2 群

胸腺：異常所見は見られなかった。

腋下リンパ節：大多数は著変はないが、皮小節においてリンパ球の増多が認められたものが存在した。

脾臓：特記すべき所見は見られなかった。

骨髄：異常所見は見られなかった。

肝臓：10 例中 3 例に肝細胞の pyknosis を認めた。

腎臓、副腎：異常所見は見られなかった。

心臓：10 例中 2 例に心筋の変性、ならびに円形細胞の浸潤が見られた。

肺臓：異常所見は見られなかった。

写真1 第1群死亡 rat 胸腺 (Wistar/Mk, H-E 染色 ×100)

写真2 第1群死亡 rat 腋下リンパ節 (Wistar/Mk, H-E 染色 ×100)

写真3 第1群死亡 rat 腋下リンパ節, 周縁洞にエオジン好染の大型細胞の出現が見られる (Fisher-344, H-E 染色 ×200)

写真4 第1群死亡 rat 脾臓 (Wistar/Mk, H-E 染色 ×100)

写真5 第1群死亡 rat 肝臓 (Wistar/Mk, H-E 染色 ×100)

写真6 第1群死亡 rat 腎臓 (Wistar/Mk, H-E 染色 ×200)

(iii) 対照群

W/Mk 5例中1例の肺胞中隔に円形細胞の浸潤が見られた。その他の例の各臓器には著変は認められなかった。

(c) 皮膚接合部の病理組織学的所見

(i) 3日目の接合部所見

3日目の組織所見は外科的侵襲による炎症性反応が見られ、第1群、第2群の差はあまり認められない。移植皮膚弁の表皮にあたる部分にエオジン濃染される物質があり、接合部には円形細胞の浸潤がみられる。毛細管

写真 7 第1群死亡 rat 心臓，心筋内に円形細胞の浸潤が見られる (Wistar/Mr, H-E 染色 ×100)

写真 8 第1群死亡 rat 肺臓 (Wistar/Mk, H-E 染色 ×100)

写真 9 3日目皮膚接合部，第1群 (Wistar/Mk の Fisher-344, H-E 染色 ×50)

写真 10 3日目皮膚接合部，第2群 (Wistar/Mk の Wistar/Mr, H-E 染色 ×50)

写真 11 7日目皮膚接合部，第1群 (H-E 染色 ×50)

写真 12 7日目皮膚接合部，第2群 (H-E 染色 ×50)

は拡張，充血して周囲に軽度の出血を来たしている部分も見られる。毛根は比較的正常である (写真9, 10)，

(ii) 7日目の接合部所見

7日目には皮膚接合部の再生現象が著明に認められる。第1群，第2群ともに表皮の肥厚が軽度ながら見られ，上皮細胞の増殖しているのが分かる。第1群において真

皮の部分に軽度の円形細胞の浸潤が見られるが，接合部は線維性結合組織によって接合しており線維芽細胞の増殖が盛んである所見が認められる (写真11)。

第2群においては，第1群と良く似た像を呈しているが，第1群とくらべて接合部の円形細胞の浸潤が少なく，毛根部の細胞は正常で，毛細血管に富み増生が盛んなよ

写真 13 第1群死亡ペアー皮膚接合部, 6 日目 (H-E 染色 ×50)

写真 14 14日目皮膚接合部, 第2群 (H-E 染色 ×50)

写真 15 14日目皮膚接合部, 接合線に沿って円形細胞の浸潤が見られる (H-E 染色 ×50)

写真 16 Fibroblast の contact 培, 養後84時間 (×40)

写真 17 Fibroblast の contact, 培養後96時間 (×100)

写真 18 採取したリンパ球 (ギムザ染色 ×200)

うに思われる (写真12).

第1群死亡ペアー (6日目) の皮膚接合部は生存例と同様表皮は多少肥厚しているが, 真皮の部分は完全に線維性結合組織で接合している. なお, 円形細胞の浸潤は, 第1群生存例とくらべて少なく良好な状態を呈している (写真13).

(iii) 14日目の接合部所見

14日目には皮膚接合部は正常な状態に近くなる. この傾向は, 第2群 W/Mk 同志の皮膚接合部において著明に認められる. すなわち, 接合部の表皮の肥厚は減少し, 真皮の部分も線維性結合組織によって完全に接合しており, 膠原線維の正常化が見られる. また, 新生毛細血管

写真 19 Wistar/Mk の fibroblast に Wistar/Mk の感作リンパ球混合培養後 48時間 (×200)

写真 20 Wistar/Mk の fibroblast に Fisher-344 の感作リンパ球混合培養後 2 時間 (×200)

写真 21 同 24時間 (×200)

写真 22 同 48時間 (×200)

写真 23 Fisher-344 の fibroblast に Wistar/Mk の感作リンパ球混合培養後 2 時間 (×200)

写真 24 同. 36時間 (×200)

が多数見られ、毛根も正常な像を呈している (写真14)。

第1群において、皮膚と皮膚の接合は菲薄な線維性結合組織によってなされているが、表皮の肥厚が見られ、皮膚接合部と思われる部分に円形細胞が浸潤しており、接合線に沿って带状に続いている。また、接合線と平行に線維性結合組織が走行し、この部の毛細血管の増生が

盛んである (写真15)。

2. 組織培養実験

(1) 結合組織細胞の接触状態

Fibroblast は 24~48 時間後に outgrowth を始め、72~96 時間で 2 つの皮膚片から outgrowth した fibroblast がお互いに接触し、その後も outgrowth を続け

て網状となる (写真16, 17). W/Mk と F/NMk, W/Mk 同志, 自己の皮膚片同志の3型において特別の差異は認められなかった。

(2) 感作リンパ球の働きについて

感作された rat のリンパ節より前記の方法で採取した細胞をメイグムザ染色をおこない鏡検すると, 大部分がリンパ球であることが判明した (写真18). subculture をおこなった fibroblast に抗原感作された W/Mk, および F/NMk 由来のリンパ球を加えて培養すると, 同じ strain 由来の fibroblast とリンパ球では, 混合培養後48時間経ても fibroblast に何ら変化が起こらなかった。

しかし, fibroblast とリンパ球の strain が異なると, リンパ球は抗原となった strain 由来の fibroblast に付着し, 24~48時間後に付着部の細胞質を変性, 崩壊せしめる像が得られた (写真19, 20, 21, 22, 23, 24)。

III 総括ならびに考按

Parabiosis における病理組織学的検索については, Nakić⁷⁾, 北村ら¹⁹⁾⁴⁰⁾の報告があり, 血液の交叉循環をおこなうことによって生じる病理組織像については, Wheelers⁵³⁾, Kekis⁴¹⁾, 太田⁶⁴⁾, 宮本³⁹⁾の報告がある。いずれの報告も, 早期にはリンパ系組織の細網細胞の増殖と形質細胞の増加などの増殖性変化を示し, 晚期にはリンパ濾胞の消失など萎縮性変化が見られたと述べている⁷⁾¹⁹⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾⁵³⁾⁶⁴⁾。また早期には赤脾臓および骨髓の機能は亢進しているが, 晚期には赤脾臓および骨髓の低形成が見られるという報告も存在する¹⁹⁾。リンパ網内系組織以外では, 腎臓の上部尿管上皮の瀰漫腫脹, 下部尿管の萎縮, 皮質髓室移行部の尿管管壊死などの所見が見られたと述べている⁶⁴⁾。太田⁶⁴⁾は腎臓における上部尿管の瀰漫腫脹は, パートナーの血液が網内系組織で速やかに破壊され, 腎臓を通過する時に上部尿管上皮に cytotoxic に作用して損傷を与えたものと思われる⁶⁴⁾と述べている。なお, 腎臓の皮質髓室移行部⁴¹⁾, 間質結合組織⁶⁴⁾に円形細胞の浸潤が見られた報告もある。また肝臓に鬱血およびヘモジデリン沈着とクッパー星状細胞の増殖⁶⁴⁾, 肝細胞の萎縮⁶⁴⁾, 門脈周囲に円形細胞の浸潤などの所見が観察された記載もある。太田⁶⁴⁾は肺および他の臓器に見られる鬱血は早期死亡例により多く出現するとし, 星細胞の増殖は鬱滞した赤血球が肝臓で破壊されてヘモジデリンが沈着し, これを処理するためのものと考えている。

本実験においては, parabiosis 中毒に陥り重篤な貧血状態となった rat, とくに早期死亡 rat において腋下リンパ節の皮小節の萎縮が著明である。また, 脾臓の白脾臓においても萎縮が著明である。このことは, 早期死亡 rat の血液所見において, リンパ球の減少が見られることと合致している。以上の所見は, parabiosis

rat (parabiont) が大量の抗原の侵入に対して応答するリンパ網内系が荒廃し, 機能を営むのに障害をうけている状態を示していると思われる。

Rat を免疫寛容の状態に導くには, 胎生期に抗原を注入すると, 注入された抗原に対して寛容状態になり, rat が成熟したのちも免疫寛容の状態を維持しているが⁶⁵⁾, 抗原にリンパ網内系など免疫適格細胞を使用すると, 注入された rat に Graft-Versus-Host reaction にもとづくラント病が出現し, リンパ系組織の荒廃など parabiosis 中毒とよく似た症状を呈する²⁴⁾。また, 出生時に胸腺摘出をおこなうと, rat はリンパ節, 脾臓の胸腺依存領域の萎縮を来とし, 末梢血のリンパ球も減少し, 免疫機能低下によって寛容状態に似た現象が出現する。この際, 一部または全部の rat が正常な発育をとげず, 体重減少, 倦怠, 粗毛, 立毛, 下痢などが認められ, この症状は parabiosis 中毒の重篤な症状の rat とよく似ている⁶⁶⁾。この胸腺摘出に見られる“Wasting Symptom”の原因は, 前記のラント病同様 Graft-Versus-Host disease によるものと考えられていたが, 無菌動物の新生期に胸腺摘出をおこなっても“Wasting Symptom”が出現しないところから⁶⁷⁾⁶⁸⁾, 何らかの微生物感染にこの症状の原因を求める傾向が強い⁶⁹⁾。

なお, 本実験において parabiosis 中毒を呈した rat の心筋, 肺中隔, 腎臓の皮質と髓室などに円形細胞の浸潤が見られることは, リンパ網内系の萎縮による免疫機能低下の結果, 感染を来したものと考えられる。

以上の所見より, 本実験において parabiosis 中毒になり死亡した rat は, 相手側の rat から大量の免疫担当細胞を含む抗原の注入を受け, Graft-Versus-Host reaction により, まずリンパ網内系の荒廃を来たして, 免疫機能の低下が見られ, その後に細菌感染なども合併して前記の症状を呈し, 重篤な場合は死亡したと思われる。

この免疫機能の低下により, 第1群 parabiosis において W/Mk と F/NMk の皮膚移植片が, 術後7日目の所見において, 第2群の W/Mk 間の parabiosis 同様, 比較的良好に接合しているものと思われる。ちなみに, W/Mk と F/NMk 間の遊離全層皮膚移植片は平均6.5日で痂皮化され排除されている⁶⁰⁾。

なお, 当初の Graft-Versus-Host reaction の障害に耐え, 免疫機能の低下も軽度で14日間生存し得た rat の皮膚接合部は, 血管の閉塞が見られ線維性結合組織のみで接合していた。

In vitro における移植免疫の研究は近年とみに盛んになり, 組織適合性を検討する方法としてのリンパ球混合培養^{61)~63)}, また, 移植免疫機構の解析の方法として培養された免疫担当細胞の抗原細胞への影響など多くの検索がおこなわれている⁶⁴⁾⁶⁵⁾。

著者は, in vivo の実験において, strain の違う rat

間の parabiosis においても線維性結合組織の接合が見られたこと、また、リンパ網内系臓器の機能障害が移植の場において、寛容状態導入に関与していると思われることを考え合わせて、皮膚から outgrowth した fibroblast が strain の異同によって、接触態度にどのような変化を現わすか、また、免疫担当細胞は移植の場でもいかなる働きをなしているか、の2点について興味をもち in vitro の実験を試みた。免疫担当細胞はリンパ球を使用した。

組織培養した場合の抗原の変化については、Monson⁶⁰⁾の検索により、mouse の H-2 抗原は株化された培養細胞においても、免疫学的特異性を良く維持していることが判明している。また、抗原抗体反応の場が細胞膜表面に存在することは種々の検索より明らかである^{60)~69)}。この細胞膜には、山田⁷⁰⁾は正常培養細胞に見られる Contact inhibition^{71~73)} 細胞増殖進展に伴う Contact guidance⁷⁴⁾、Moscona^{75~78)} による細胞の Sorting out の機構、マクロファージに見られる貪食の選択性⁷⁹⁾などから相手を認識する機構が存在すると述べている。

本実験において W/Mk. および F/NMk の真皮より採取した皮膚片から outgrowth した fibroblast は培養後 72~96 時間でお互いに contact し、cytotoxic に働き合ったり、排除し合うことなく共存する。このことは fibroblast に抗原認識能が存在しないか、もし存在したとしてもそれに対して反応を示す機能が欠如していると思われる。ただし、Syngeneic の場合と Allogeneic の場合の接触態度は全く同じではなくて変化しているのだが、本実験法では検索出来ないほど軽微なものである可能性も否定出来ない。in vitro の所見と in vivo の14日目の所見において Allogeneic の parabiosis においても線維性結合組織の接合が見られる所見と考え合わせると、移植の場において fibroblast のみ存在するならば、かなりの組織適合性因子の違うものの間でも移植が可能であろうと思われる。また、本実験におけるリンパ球の抗原細胞への働きでも分かるごとく、移植の場においては免疫担当細胞が異種、異系の移植の成否に重要な役割を果している。この免疫担当細胞の働きをいかにコントロールするかが移植における今後の問題点といえよう。

IV 結 論

著者は、rat における主要な組織適合性抗原である R 抗原に注目し、R^w を保有している Wistar/Mk 近交系、および R^f を保有している Fisher-344 近交系を使用して parabiosis をおこない、皮膚移植の移植の可能性について検索した。なお、parabiosis をおこなうことによって生じる免疫応答反応が parabiont に与える影響について病理組織学的検索した。また、組織培養法を

用いて、移植の場における fibroblast およびリンパ球の反応を検索し、次の結論を得た。

(1) parabiont の全身臓器の病理組織学的検索では、早期死亡例、および parabiosis 中毒で貧血状態の重篤な rat において、白脾臓および腋下リンパ節の皮小節の萎縮と消失等リンパ系組織の荒廃像が著明である。

(2) リンパ網内系組織以外では、早期死亡例、および parabiosis 中毒で貧血状態の重篤な rat において、肝細胞の瀰漫性、小葉中心性変性壊死が見られる。また、肺中隔、心筋、腎臓の皮質と髓室等に円形細胞の浸潤が見られる。

(3) 早期死亡した rat、または parabiosis 中毒で重篤な貧血状態となった rat の病理組織学的所見は、いわゆるラント病で死亡した rat とよく似ている。parabiosis においては、お互いが donor であり、また、recipient でもあって、その組織適合性因子の異同の差によって Graft-Versus-Host reaction、また反対に Host-Versus-Graft reaction をおよぼし合い、劣勢となった rat は、体全体が移植片化して除去されるものと思われる。

(4) 術日7目の皮膚接合部の所見では、第1群 Wistar/Mk 近交系と、Fisher-344 近交系の接合部において、早期死亡例および生存例双方ともその接合部に円形細胞の浸潤も少なく、第2群の Wistar/Mk 同志の接合部と同様良好に接合している。

(5) 14日間生存した全身状態の良好な Wistar/Mk 近交系と Fisher-344 近交系の皮膚接合部の所見では、線維性結合組織による接合が見られるが、その部に円形細胞の浸潤が著明である。また、Wistar/Mk 近交系間の14日目の接合部所見は、完全に接合している像を呈している。この所見は、組織適合性因子が同じであれば、かなり広い範囲の皮膚全層移植が可能であることを示唆している。

(6) 皮膚片から outgrowth した fibroblast 間の接触態度は、strain の異同による差は見られなかった。これは、fibroblast の細胞膜に移植抗原を認識する機能がないか、もしくは移植抗原に対する反応機構の欠如を思わせる。

(7) 免疫担当細胞であるリンパ球は、in vivo の場で抗原細胞に対して cytotoxic に働く所見が得られた。このことは、移植の場における細胞性抗体の重要性を示唆している。

稿を終るにあたって、ご指導を賜った岐阜歯科大学口腔外科学教室第2講座柴田寛一教授、大阪歯科大学理工学教室・組織培養室主任川原春幸教授、ならびに御協力賜った教室員各位に深謝いたします。

本論文の要旨は、第19回日本口腔外科学会総会（昭和

49年11月)において発表した。

引用文献

- 1) Nakić, B., Silobrić, V. : Tolerance of skin homografts related to fatal disease in separated rat parabionts. *Nature* 182 : 264 1958.
- 2) Rubin, B. A. : Tolerance to skin homografts of adult mice after parabiosis. *ibid* 184 : 205 1959.
- 3) Martinez, C. et al : Transfer of acquired immunological tolerance of skin homografts in mice joined parabiosis. *Proc Soc Exp Biol Med* 102 : 413 1959.
- 4) Martinez, C. et al : Tolerance of F_1 , hybrid skin homografts in the parent strain induced by parabiosis. *ibid* 103 : 266 1960.
- 5) Mariani, T. et al : Age factor and induction of immunological tolerance to male skin isografts in female mice subsequent to the neonatal period. *Ann NY Acad Sci* 87 : 93 1960.
- 6) Martinez, C., Shapiro, F., Good, R. A. : Transfer to tolerance induced by parabiosis to isologous newborn mice. *ibid* 107 : 553 1961.
- 7) Nakić, B. et al : Competitive tolerance of skin homografts in adult separated rat parabionts. *Brit J Exp Path* 42 : 63 1961.
- 8) Jensen, E., Simonsen, M. : Induced tolerance after parabiosis : Apparent facilitation of tolerance by a simultaneous Graft-Versus-Host reaction. *Ann NY Acad Sci* 99 : 657 1962.
- 9) Leonard, L., Albright, E., Studies on parabiotic union of normal and tolerant. DBA/2 and BALB/C mice. *Transplantation* 1 : 149 1963.
- 10) McBride, R. A., Simonsen, M. : Cellular and humoral phenomena during the inductive phase of parabiosis tolerance. *ibid* 3 : 140 1965.
- 11) 佐々木本道 : 北海道大学理学部実験動物研究室に保存されているラットの系統について。私信
- 12) 坂倉克明, 他 : ラットの組織適合系の研究—とくに R 抗原の allele について—。最新医学 23 : 1275 1967.
- 13) Sauerbruch, F., Heyde, M. : Ueber parabiose künstlich vereinigter Warmblüter. *Münch Med Wschr* 55 : 153 1908.
- 14) Hill, R. T. : Blood exchange and hormonal reaction in parabiotic rats. *J Exp Zool* 63 : 203 1932.
- 15) Bunster, E., Meyer, R. K. : An improved method of parabiosis. *Anat Rec* 57 : 339 1933.
- 16) Ornstein, L. : Disc electrophoresis-I, Background and Theory. *Ann NY Acad Sci* 121 : 321 1964.
- 17) Davis, B. J. : Disc electrophoresis-II, Method and Application to human serum protein. *ibid* 121 : 404 1964.
- 18) 阿部公生, 他 : Disc 電気泳動法によるラット血清蛋白の観察。齒科医学 33 : 269 1970.
- 19) 北村幸彦, 浜武英昭, 江角吉造 : パラビオーゼ——その移植学への応用—移植 2 : 339 1968.
- 20) Bert, R. : Sur la greffe animale. *J de L' Anat* 1 : 69 1864.
- 21) Schmit, G. : Stand und Ziele der Parabioseforschung, auf Grund eigener Untersuchungen. *Deutsche Zeitschr F Chir* 171 : 141 1922.
- 22) Finerty, J. C. : Parabiosis in physiological studies. *Physiol Rev* 32 : 277 1952.
- 23) Fuson, R. B., Lazzarini-Robertson, A. J. : Bibliography of parabiosis. *Transplant Bull* 27 : 111 1961.
- 24) Billingham, R. E. : Reaction of graft against their hosts. *Science* 130 : 947 1959.
- 25) Nakić, B., Nakić, Z., Silobrić, V. : Graft versus host reaction in parabiotic disease. *Nature* 186 : 322 1960.
- 26) Cornelius, E. A., Martinez, C. : Transfusion experiments and survival studies in parabiosis intoxication. *Proc Soc Exp Biol Med* 120 : 426 1965.
- 27) Nakić, B., Teplitz, R. L., Ohno, S. : Cytological analysis of parabiotic disease in mice. *Transplantation* 4 : 22 1966.
- 28) 内田東洋 : 同系間の Parabiosis に於ける Auto-graft, Cross homograft の態度。長崎医学会誌 43 : 457 1968.
- 29) 宮本信昭 : 交叉循環の研究。京大胸部研紀要 2 : 246 1969.
- 30) 田中早苗, 他 : 移植免疫学。第1版, 朝倉書店, 東京, 1970, 264頁。
- 31) Billingham, R. E., Hodge, B. A., Silvers, W. K. : An estimate of number of histocompatibility loci in the rat. *Proc Nat Acad Sci USA* 48 : 138 1962.
- 32) Ramseir, H., Palm, J. : Further studies of histocompatibility loci in rats. *Transplantation* 5 : 721 1967.
- 33) 武田勝男, 相沢幹 : ラット腫瘍移植の免疫遺伝学的研究。最新医学 19 : 474 1964.
- 34) Eichwald, E. J., Lustgraaf, E. C., Strainer, M. : Genetic factors in parabiosis. *J Nat Cancer Inst* 23 : 1193 1959.
- 35) Leonard, L. : Correlation between genetic differences and development of polycythemia-anemia in mouse parabionts. *Proc Soc Exp Biol Med* 116 : 116 1964.
- 36) VaDyke, D. C. et al : The efficiency of the vascular union in parabiosis. *Stanf Med Bull* 6 : 271 1948.
- 37) Sodicoff, M. and Binhammer, R. T. : The time of origin of parabiotic anastomosis. *Anat Rec* 148 : 625 1964.
- 38) McBride, R. A., Nisbet, N. W., Skowron-Cendrzak, A. : Rate of cross-circulation in parabiosis; its significance, relationship to gene-

- tic disparity, and experimental, modification. Transplantation 5 : 569 1967.
- 39) Cornelius, E. A. Yunis, E. J., Martinez, C. : Parabiosis intoxication : Clinical, hematologic, and serologic features, *ibid* 5 : 112 1967.
 - 40) Kitamura, Y. et al : Parabiosis intoxication : Interrelation of haematological and pathological changes. *Acta Haemat Jap* 32 : 135 1969.
 - 41) Kekis, B. P. et al : Parabiosis with cross circulation in adult-mongrel dogs. *Ann NY Acad Sci* 120 : 367 1964.
 - 42) Hall, C. E., Hall, O. : Categories of parabiotic intoxication : Further evidence that the condition results from unequal cross transfusion. *Am J Physiol* 184 : 155 1956.
 - 43) Eichwald, E. J. et al : The anemia of parabiotic intoxication. *Ann NY Acad Sci* 87 : 119 1960.
 - 44) Eichwald, E. J. et al : Parabiotic anemia-polycythemia. *Proc Soc Exp Biol Med* 106 : 441 1961.
 - 45) Binhammer, R. T., Hull, J. K. : Cross circulation in normal and intoxicated parabionts. *ibid* 111 : 134 1962.
 - 46) Binhammer, R. T. : Studies in rats of the "early disease" of parabiosis intoxication. *Transplantation* 5 : 580 1967.
 - 47) Fleming, D. G., Caldwell, L., Jacobs, R. : Determination of rate of cross circulation in parabiotic rate with ^{32}P -labelled erythrocyte. *Am J Physiol* 196 : 753 1959.
 - 48) MacGillivray, M. H., Tokuda, S. : Parabiotic intoxication. I. Blood volume, total circulating red cell mass, and ^{59}Fe uptake. *Transplant. Bull.* 29 : 83 1962.
 - 49) Tokuda, S., MacGillivray, M. H. : Parabiotic intoxication. II. The distribution and survival of ^{51}Cr -labeled red blood cells. *ibid* 29 : 90 1962.
 - 50) Chute, R. N. and Sommers, S. C. : Hemolytic disease and polycythemia in parabiotic intoxication. *Blood* 7 : 1005 1952.
 - 51) 畠山 茂 : 内分泌と免疫反応. *移植* 8 : 189 1973.
 - 52) 人見滋樹, 宮本信昭 : 交叉循環. *日胸外会誌* 19 : 985 1971.
 - 53) Wheelers, H. B., Gomes, R. : Effect of cross-circulation on kidney homograft rejection in dogs. *Surg Forum* 13 : 57 1962.
 - 54) 太田博造 : 移植免疫に関する基礎的研究 (交叉循環による経時的病理組織学的所見を中心として). *岐阜医紀* 15 : 631 1968.
 - 55) Billingham, R. E., Brent, L., Medawar, P. B. : Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 172 : 603 1953.
 - 56) Sherman, J. D., Dameshek, W. : "Wasting disease" following thymectomy in the hamster. *ibid* 197 : 469 1963.
 - 57) McIntire, K. R., Sell, S., Miller, J. F. A. P. : Pathogenesis of the post-neonatal thymectomy wasting Syndrom. *ibid* 204 : 151 1964.
 - 58) Wilson, R., Sjodin, K., Bealmear, M. : Absence of wasting in thymectomized germfree (anemic) mice. *Proc Soc Exptl Biol Med* 117 : 237 1964.
 - 59) Roosa, R. A., Wilson, D. B., Defendi, V. : Effect of thymectomy on hamster. *ibid* 118 : 584 1965.
 - 60) 相沢 幹移植免疫の基礎. *最新医学* 29 : 1381 1974.
 - 61) Festenstein, H. : Antigenic strength investigated by mixed cultures of Allogeneic mouse spleen cells. *Ann NY Acad Sci* 129 : 567 1966.
 - 62) Elves, M. W. : The mixed leucocyte reaction in inbred strains of rats. *Vox Sang* 13 : 7 1967.
 - 63) Bach, F. H. et al : Cell kinetic studies in mixed leucocyte cultures : An in vitro model of homograft reactivity. *Proc Nat Acad Sci USA* 62 : 377 1969.
 - 64) Govaerts, A. : Cellular antibodies in kidney homotransplantation. *J Immun* 85 : 516 1960.
 - 65) Hanaoka, M., Notake, K. : Quantitative studies on the cellular antibody in vitro. I. Inhibitory effect of sensitized homologous lymph node cells on strain SCI of culture leukemic cells : *Ann Report Inst Virus Res Kyoto Univ* 5 : 133 1962.
 - 66) Monson, L. A. Foschi, G. A., Palm, J. : In vivo and in vitro studies of histocompatibility antigens isolated from a cultured mouse cell line. *Proc Nat Acad Sci USA* 48 : 1816 1962.
 - 67) Herzenberg, L. A., Herzenberg, L. A. : Association of H-2 antigens with the cell membrane fraction on mouse liver. *ibid* 47 : 762 1961.
 - 68) Davies, D. A. L. : The isolation of mouse antigens carrying H-2 histocompatibility specificity : some preliminary studies. *Biochem J* 84 : 307 1962.
 - 69) Cerottini, J. C., Brunner, K. J. : Localization of mouse isoantigens on the cell surface as revealed by immunofluorescence. *Immunology* 13 : 395 1967.
 - 70) 山田 喬 : 細胞膜の流動性からみた抗原抗体反応. *移植* 9 : 1 1974.
 - 71) Abercrombie, M., Heayman, J. E. M. : Observations on the social behaviour of cells in tissue culture. I. Speed of movement of chick heart fibroblasts in relation to their mutual contacts. *Exp Cell Res* 5 : 111 1953.
 - 72) Abercrombie, M., Heaysman, J. E. A. : Observations on the social behaviour of cells in tissue culture. II. "Monolayering" of fibroblast. *ibid* 6 : 293 1954.
 - 73) Abercrombie M., Heaysman, J. E. M., Karthaus, H. M. : Socialbehaviour of cells in tissue

- culture. III. Mutual influence of sarcoma cells and fibroblasts. *ibid* 13 : 277 1957.
- 74) 山田喬 : がん細胞の自動性. がんの細胞膜 (寺山編) 第1版, 南江堂, 東京, 1969, 88頁.
- 75) Moscona, A., Moscona H. : The dissociation and aggregation of cells from organ rudiments of the early chick embryo. *J Anat* 86 : 287 1952.
- 76) Moscona, A. : Development of heterotypic combinations of dissociated embryonic chick cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 92 : 410 1956.
- 77) Moscona, A. : The development in vitro of chimeric aggregates of dissociated embryonic chick and mouse cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 43 : 184 1957.
- 78) Moscona, A. : Formation of Lentoids by dissociated retinal cells of the chick embryo. *Science* 125 : 598 1957.
- 79) Nagura, M. et al : Role of electric surface charge of cell membrane in phagocytosis. *Acta Path Jap* 23 : 279 1973.