腎盂腎炎の細胞性免疫に関する研究:

変形菌による実験的ラット逆行性腎盂腎炎における adoptive immunity

岡山大学医学部泌尿器科教室 荒 木 徹
(主任: 新島端夫教授)

CELL-MEDIATED IMMUNITY IN PYELONEPHRITIS:

Passive Transfer of Adoptive Immunity to Retrograde *Proteus mirabilis*
Pyelonephritis in the Rat

Tohru Araki

Department of Urology, Okayama University Medical School, Okayama

(Director: Prof. T. Niijima)

A system was described for studying an adoptive immunity to retrograde *Proteus mirabilis* (Pm) pyelonephritis in the rat. Cyclophosphamide-treated (100 mg/kg) rats were challenged with Pm retrogradely, immediately after receiving intravenously $1.5-2.0 \times 10^8$ cells of the following sources: Immune spleen cells from retrograde Pm pyelonephritic rats and thymus and spleen cells from normal rats respectively. Protective immunity was measured by the presence or absence of renal abscesses and their frequency.

The demonstration of the protective immunity was dependent upon the Pm dose challenged. When challenged with 10^5 Pm, the development of renal abscesses in the former 2 groups receiving either immune cells or normal thymus cells was inhibited significantly compared to the latter group. The inhibition was not significant in the case challenged with 10^8 Pm.

Since a small amount of serum antibody was found only in the immune cell recipient, the immunity was considered to be conferred by the transferred cells. It was also suggested that the observed adoptive immunity might be due to the T-cells in the transferred cell populations since a protection was also observed in the normal thymus cell recipient. The fact that the simultaneous administration of immune serum did not affect the result suggests that the resistance developed in the recipient was dependent upon the cell-mediated immunity in this system.

緒 言

腎盂腎炎に免疫が関与することはよく知られている¹⁾
3) 6) 9) 10) 13) 18) ~ 20) 22) 25)。実験的腎盂腎炎では、起炎菌の種類によつて程度に差があるが、生菌による免疫が同一菌による本症の発症を抑制することが報告されている^{3) 6) 10) 20) 25)}。Sanford et al.²⁵⁾ はラットを用いて *E. coli*, *Klebsiella* および *Proteus mirabilis* 血行性腎盂腎炎を作成し、各々の発症・経過と免疫による防禦効果を比較し、その性格に違いがあることを示した。又、Hunter et al.¹⁰⁾ は *Proteus mirabilis* (以下 Pm と略) によるラット逆行性腎盂腎炎において、生菌、死菌免疫および抗 Pm 抗血清投与が何れも発症抑制効果を示したこと

を報告している。

一方、腎盂腎炎の起炎菌は腸内細菌群がそのほとんどを占めるが、それらの菌体抗原に対する抗体価は腎病変の程度と関連せず、特に慢性期のそれは診断的価値しかないとも考えられている^{13) 18) 22)}。又、近来、腎感染巣における局所免疫反応と全身のリンパ系組織における免疫反応が目され、Plaque-forming cell の所在等を中心に研究が進められている^{9) 13) 18) 19)}。

さて、凡そ細菌感染症には他の防禦因子と共に、起因菌による差はあるにしろ、液性および細胞性免疫が共に関与している筈である³²⁾。腎盂腎炎においても、上述の諸報告からも両免疫の作用が考えられるが、従来の

報告は抗体にのみ目を向けていて、細胞性免疫に注目し、その関与の有無、意義などを検討したものは最近まで認められなかつた。しかし、1974年Williams et al.³¹⁾は Pm および E. coli によるラット腎盂腎炎において細胞性免疫の関与を示唆する論文を発表した。同年、我々⁴⁾も Pm 逆行性腎盂腎炎ラットの脾細胞の移入が腎盂腎炎の発症を抑制することを報告した。今回の実験は更に是を掘り下げ、Cyclophosphamide 投与ラットを recipient とし、免疫脾細胞投与による adoptive Immunity を検討し、Pm 腎盂腎炎における細胞性免疫の関与と防禦効果を追求したものである。

実験材料と方法

(1) ラットおよび起炎菌。

日本ラット KK (浦和市) から購入した雌ドンリユーラット (生後7~8週、体重100~140g) を用い、抗生剤を含有しない飼料と水を自由に摂取させた。

起炎菌は腎盂腎炎患者から分離した Pm を用いた。BHI ブイヨンに37°C、10時間培養後、小試験管に分注し-70°Cに保存した。使用に際し、これを融解し生食水で10倍に希釈したものを接種した。保存菌は2カ月毎にラット腎を通して起炎力を保持すると共に保存を更新した。

(2) 逆行性腎盂腎炎の作成。

エーテル麻酔下、膀胱を無菌的に露出し、頂部に6~10針付絹糸を用いて小さなポーチを作成。外尿道口をピンセットで軽く圧えつつポーチを通して膀胱に Pm10⁷ (0.2~0.3ml) を注入した。

(3) 病理組織所見と防禦免疫の判定。

エーテル麻酔下に開腹し、腹部大動脈から採血後、腎、膀胱、脾、胸腺およびリンパ節 (旁腹部大動脈、腎門部および頸部) を無菌的に採取した。なお、末梢白血球数の算定には肋間動脈血を用いた。

腎と膀胱は切半してドリガルスキー培地とブドウ球菌培地に塗布し細菌の検出、同定を行つた。腎およびその他の採取組織は全て肉眼的観察と重量計測を行つたのちホルマリン液で固定、HE 染色により腎病変その他を組織学的に検索した。各腎の組織標本は切半した両半片から作成した。

腎病変は Arana et al.⁵⁾ の分類を多少修正して判定した。即ち、

Grade 0: 炎症なし

I: 炎症が腎盂内にとどまるもの

II: 髄質内または軽度に皮質に浸潤するが皮質表面まで達していないもの

III: 肉眼的、組織学的に皮質膿瘍を形成したもの。

防禦免疫は皮質膿瘍の有無、即ち、Grade III か、II 以下か、を指標として判定した。なお、両側腎で Grade が異なる場合はより高度な方をもつてその個体の Grade とした。

(4) 血清抗 Pm 抗体価の測定。

Pm 生菌を抗原とする凝集反応で測定した。Tripticase-Soy Broth (BBL) に37°C、20時間培養した Pm を生食水で2回洗浄後、broth と等量の生食水に浮遊させ、4°Cに保存した生菌を抗原とした。この抗原は作成当日または翌日のうちに使用した。この抗原浮遊液には1~2×10⁹/ml の生菌が含まれる。

血清は採取後、-20°Cに保存し、測定に際しては融解後、56°Cに30分間非働化した。この検体血清を0.25ml 宛1:10~1:10,240までの2倍希釈系列をつくり、上述の抗原を等量加え、37°Cに2時間、ついで4°Cに一夜静置したのち凝集を肉眼で観察した。

無処置ラット40匹について、この方法で抗体価を測定した所、2匹が1:10の抗体価を示しただけであつた。

(5) 脾および胸腺細胞浮遊液の作成。

予め(2)の方法で Pm 10⁷ を接種された免疫ラット (免疫脾細胞の donor) から脾を、正常ラットから脾および胸腺を無菌的に採取し、これらを各々別個にプールした。

これらの組織を pH 7.2 の磷酸緩衝液 (PBS) 内で2本のピンセットを用いて細胞を圧出し、#100ステンレス・メッシュを通して夾雑物を除去したのち、450G、10分間遠沈、上清を捨てた。沈渣内の赤血球を Tris-buffered NH₄Cl 液で溶血せしめ⁶⁾、PBS で3回洗浄後、再び濾過して夾雑物を除去した。ここでトリパン青排除テストにより各細胞の生存率を算定 (90~95%以上であつた)、各浮遊液が1.5~2.5×10⁶/ml の生単核細胞を含む様、PBS に再浮遊して移入に用いた。

なお、脾細胞浮遊液には上述の単核細胞の外に、その約1/10程度の多核白血球が混入していた。つまり、ラット1匹当り1.5~2.0×10⁶の生単核細胞が移入されたが、脾細胞の recipient には更にこの多核白血球が同時に投与されたことになる。

(6) Cyclophosphamide (CY と略) による免疫抑制。

塩野義製薬から提供されたエンドキサンを20mg/ml に溶解し、100mg/kg を尾静脈内に投与した。投与は1回だけで、24時間後に実験を行つた。以下、CY を投与されたラットを CY ラットを称す。

(7) 本実験

24時間前に CY 100mg/kg を投与された recipient ラットに前述した 3 種の donor 細胞 $1.5-2.0 \times 10^8$ を尾静脈内に投与し、その直後 Pm 10^8 または 10^5 を (2)の方法で膀胱内に攻撃接種した。

投与された donor 細胞の種類によつて recipient ラットを次の 3 群に分けた。

(a) 予め Pm 10^7 を逆行性に接種された免疫ラット脾細胞の recipient (ImSp 群)

(b) 正常ラット脾細胞の recipient (NSp 群)

(c) 正常胸腺細胞の recipient (NT 群) である。

免疫脾細胞は Pm 10^7 を接種後、4, 6, 8, 14および18日目の donor から採取した。実験日により投与細胞数が $1.5-2.0 \times 10^8$ /ラットの範囲で多少異なるが、毎回 ImSp 群と同数の細胞を投与した NSp 群, NT 群を同時に行い、NSp 群を対照として 3 群の発症を比較した。

これらのラットを Pm 接種後 4 日目に屠殺し、腎からの菌検出、腎の病理組織学的観察並びに血清抗 Pm 抗体価を測定、比較した。Pm 接種後24時間内死亡例は手術、麻酔の直接の影響による死亡が考えられるため対象から除外したが、それ以後の死亡例は比較の対象とした。これらは何れも両腎が Grade II—III で、腎盂腎炎ないし膿腎症が死因と考えられたためである。

結 果

(1) 予備的データ

(a) 正常ラットにおける腎盂腎炎の発症 (Fig. 1, 2)。

正常ラットに Pm 10^7 を逆行性に接種すると、3 日目には腎盂および腎実質内に多核白血球が著しく浸潤し、中には皮質膿瘍を形成するものもみられた。10日前後から浸潤細胞は単核細胞が主体となり線維化も著明で慢性期の様相を呈し、20日前後から癒痕も形成された。

Grade I 以上を発症とすると、この方法で約90%が発症し、感染日数の経過に伴つて病変は高度なものが増加し (Fig. 1), 多くは結石形成を伴つた。検出菌は Grade 0ラットの一部に E. coli が検出された外は全てPmであつた。この E. coli は腎採取時の contamination と思われる。

血清抗 Pm 抗体価は菌接種後 4 日目には 1 : 20~1 : 80を示し、以後上昇するが抗体価と Grade には相関がみられなかつた。注目すべきは Grade 0のラットにも抗体価が上昇していたことで、腎病変の有無に関係なく Pm 接種後 4 日目には全例 Pm に感作されていること

Fig. 1. Frequency and severity (Grade) of renal lesions in normal rats following retrograde challenge with 10^7 Proteus mirabilis (Pm). The number above bars indicates the rats experimented and frequency of developed pyelonephritis in parenthesis.

Fig. 2. Course of development of agglutinine response in normal rats following retrograde challenge with 10^7 Pm. Correlation between grade of renal lesions and antibody titre. Symbols, ○ : Grade 0, △ : Grade I and II, ● : Grade III. Note even Grade 0 rats were detected elevated antibody on the day 4.

を示している (Fig. 2)。

(b) CY 投与の影響 (Fig. 3)。

CY 100mg/kg を投与されたラットは体重減少、脾、胸腺およびリンパ節の著しい萎縮、末梢白血球の著減を来した (Fig. 3)。脾とリンパ節の萎縮、白血球の減少

Fig. 3. Effects of Cyclophosphamide (CY) on the spleen, thymus and peripheral white blood cell. Mean of 3 to 38 rats. Symbols, ★—★: CY only, □—□: CY+cells, ■—■: CY+cells+Pm. Rats were administered CY on day 0, cells and Pm on day 1. ■: normal range.

*Grade 0-II, **Grade III.

は CY 投与後 3～4 日目 が最も つよく、7～8 日には逆に正常化ないし腫大、著増を来した。胸腺の萎縮と回復は脾のそれにやや遅れる傾向がみられ、特に重量の回復は数日遅れた。

脾重量と末梢白血球の減少と回復の経過は CY だけ投与した場合も、CY+細胞或いは CY+細胞+Pm 投与の場合も大差なかつた。しかし、胸腺重量は CY+細胞+Pm 接種により皮質膿瘍を形成した Grade III のラットにおいてのみ回復が遅れ、CY 投与後 10 日でも 0.1g (正常 0.25-0.45g) に止つた (Fig. 3 の (2))。

末梢白血球は多核、単核球共に 1/5-1/10 に減少したが、4-5 日頃から両者共大型の細胞で占められ mitosis が著明であつた。

組織所見では、リンパ節で一部萎縮の著明でない部もみられたが、脾と胸腺ではリンパ球が殆んど空になる程著しく萎縮し、脾では T 細胞、B 細胞域の別がなかつた。但し、網内系細胞は残存していた。

尿路への影響は、著明な膀胱炎を生じ膀胱壁が腫脹、発赤し、外尿道口の発赤や血尿を来したものの多かつた。膀胱の変化に伴うと思われる尿管も認められた。Pm 接種時まれに膀胱壁にほとんど変化のないものもあつたが、腎盂腎炎の発症は膀胱炎の有無に左右されなかつた。

つた。この外、腎実質内に多かれ少なかれ出血が認められた。

(c) CY ラットにおける Pm 接種菌数と腎盂腎炎の発症 (Table)。

Pm $1-2 \times 10^3$ 接種により 86% (18/21) が発症し、62% が Grade III であつた。同 $1-2 \times 10^5$ 接種では 12 匹全てが発症し、11 匹が Grade III であつた。なお、4 日までの致死率は前者 27% (3/11)、後者 75% (8/12) で、死亡例の Grade は全て III 又は II であつた。

これらの中 5 匹で血清抗体価を測定したが 1 例にも検出されなかつた。

CY ラットの Pm 逆行性腎盂腎炎には次の様な特徴

Table Frequency and Grade of renal lesions in CY-treated rats following retrograde challenge with various numbers of Pm.

No. of Pm	Grade				Mortality rate upto 4 days
	0	I	II	III	
10^1	3	1			0/4
10^3	3	3	2	13 (62%)	3/11
10^5		1		11 (92%)	8/12

ある所見がみられた。①腎実質に線維化が速かに出現し、菌接種後4日で既に広範囲に認められた。②皮質膿瘍の出現が速かで、Pm 接種後24時間で既にその形成がみられた。③その炎症巣内には多量の細菌を有し、強い壊死を来しているにも拘らず、極めて僅かしか炎症細胞の浸潤が見られなかつた。④腎の高度な病変に対し、膀胱には殆ど或いは全く炎症の認められない例があつた。これらの中②③は明かに CY の影響であろう。

(2) CY ラットの腎盂腎炎発症に対する各種細胞投与の効果

(a) Pm 10⁵を接種した場合 (Fig. 4, 6).

CY ラットに24時間後、免疫脾細胞、正常脾細胞および正常胸腺細胞を各々1.5×10⁸投与し、その直後に Pm 10⁵を膀胱に接種した。免疫脾細胞は感染6日目の donor から採取した。

結果は Fig. 4の如くで、3群間に推計学的な有意差がなかつた。致死率も ImSp 群2/10, NSp 群3/10, NT 群2/10で大差なかつた。

(b) Pm 10⁵を接種した場合 (Fig. 5, 6).

前項と同処置を施したラットに Pm 10⁵を接種した。免疫脾細胞は感染4, 8および14日目の donor から採取した。

ImSp 群で、感染4日目の免疫脾細胞1.8×10⁸を投与

Fig. 4.i Effect of cell transfer in CY-treated rats after the retrograde challenge with 10⁵ Pm. Grade of pyelonephritis. ImSp₍₆₎, immune spleen cell recipients received cells from 6-day immune donors ; NSp, normal spleen cell recipients ; NT, normal thymus cell recipients. The number above bars indicates the frequency of Grade III.

Fig. 5. Effect of cell transfer in CY-treated rats after the retrograde challenge with 10⁵ Pm. Grade of pyelonephritis. ImSp, immune spleen cell recipients received cells from 4-day (ImSp₍₄₎), 8-day (ImSp₍₈₎), and 14-day (ImSp₍₁₄₎) immune donors ; NSp, normal spleen cell recipients ; NT, normal thymus cell recipients. The number above bars indicates the frequency of Grade III.

**omitted one case died within 24 hours after Pm challenge.

Fig. 6. Effect of cell transfer on agglutinine response in CY-treated rats after the retrograde challenge with 10^5 Pm. Symbols, ○ : Grade 0, △ : Grade I and II, ● : Grade III. n.d. ; not detectable.

*rats challenged with 10^3 Pm.

**include rats challenged with 10^3 Pm.

されたラット (ImSp₍₄₎) は5/10が Grade III であった。同8日目の細胞 2.0×10^8 (ImSp₍₆₎) 又は同14日目の細胞 1.8×10^8 (ImSp₍₁₄₎) を投与された場合は共に7/10が Grade III であった。

一方、正常脾細胞を投与された NSp 群では3回の実験でいづれも9/10が Grade III であり、正常胸腺細胞を投与された NT 群では2回の実験で6/10, 6/9が Grade III であった (Fig. 5)。

NSp 群に比べ、他の2群は何れも皮質膿瘍を形成するものが少数であったが、各群を一括すると、NSp 群は90% (27/30) が Grade III であったのに対し、Im Sp 群63% (19/30, $p=0.0128^*$), NT 群63% (12/19, $p=0.0249^*$) となる (Fig. 5)。

致死率は3群間に殆ど差がなかった。

又、ImSp 群と NT 群を比較すると、前者は Grade 0 が4/20, I が2/20, II が2/20, III が12/20であったのに対し、後者は Grade 0 がなく、以下順に2/19, 5/19, 12/19であった。推計学的に有意差はないが、やや ImSp 群に軽症例が多い。

各群の血清抗体価は Fig. 6に示した。NSp 群と NT 群には1例も検出されず、免疫脾細胞を受けた ImSp 群にだけ抗体が検出された。この群では donor の感染日数が4日、6日 (Pm 10^3 接種の場合)、14日と進むに連れて、その recipient には抗体を検出されるものが増加し、同14日目の免疫脾細胞を投与された ImSp₍₁₄₎ 群では屠殺された全例に1 : 20—1 : 80の抗体価が検出された。

*Fishers exact test

Fig. 7. Comparison of passive transfer with cells and serum. One ml of immune serum was injected into CY-treated rats with either 18-day immune spleen cells (ImSp₍₁₈₎), normal spleen cells (NSp), or normal thymus cells (NT), and rats were challenged with 10^5 Pm. The number above bars indicates the frequency of Grade III. Symbols, ○ : Grade 0, △ : I & II, ● : III. n.d. ; not detectable.

この場合にも、抗体価と腎病変に相関はみられず、むしろ抗体が1例にしか検出されなかった ImSp₍₄₎ 群の方が、全例抗体を検出された ImSp₍₁₄₎ 群よりも重症例が少かった。但し、これは推計学的に有意差には至らない。

(3) 各種細胞と免疫血清の同時投与 (Fig. 7)。

感染18日目の免疫ラットから採取、プールした血清を 56°C 、30分間非働化した。この抗体価は1 : 640であった。CY ラットにこの抗血清1 ml と共に3種の細胞 1.5×10^8 を投与し、その直後に Pm 10^5 を接種した。免疫脾細胞は抗血清を採取した同じラットから採取した。

各群のラット数が少ないが、前項 ((2) の (b)) における成績と有意差がなかった。血清抗体は NSp 群、NT 群でも一部に検出され、ImSp 群では4例共1 : 10—1 : 20 が検出された。

考 按

冒頭に述べた如く、腎盂腎炎の免疫はもつばら液性免疫の面が追求されて来た。しかし、1974年 Williams et al.³¹⁾ は Pm および E. coli によるラット逆行性腎盂腎炎において、腎膿瘍を形成したラットの脾細胞は Concanavalin A 刺激による幼若化率が著しく低下していたことを報告し、腎病変の形成期に T リンパ球の強い傷害が

起るのではないかと考え、細胞免疫の関与を示唆した。又、同年、我々⁴⁾は免疫脾細胞の移入によつて正常ラットの Pm 逆行性腎盂腎炎の発症抑制効果がみられたことを報告した。即ち、Pm 逆行性腎感染後14～25日の免疫ラット脾細胞 $1\sim 2\times 10^6$ を移入されたラットでは、細胞移入の2～4日後に Pm 10^7 を逆行性に接種された時、腎盂腎炎は47.4% ($p<0.01$)にしか発症しなかつた。これに対し、同じ donors から得た血清1 ml、又は正常脾細胞を投与されたラットは80%が発症し、これは細胞も血清も投与されない対照群の発症率と差がなかつた。これらの報告は腎盂腎炎の少くとも発症期において細胞性免疫が感染防禦的に関与することを示唆する。

細胞内寄生性細菌に対する感染防禦は細胞性免疫が主である事が確認されている。この種の細菌感染では、未だ不明な点が多いものの、菌抗原によつて感作されたリンパ球が Lymphokine と総称される種々の mediator を放出してマクロファージの喰菌、殺菌作用を活性化する。防禦免疫は主にこの活性化マクロファージの殺菌作用によつて発現される¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾と考えられている。マクロファージを活性化するのはTリンパ球で¹²⁾²¹⁾、その感作は特異的であるが、活性化マクロファージの作用は非特異的である¹⁵⁾¹⁶⁾。しかし、この種の防禦は一人、細胞内寄生性細菌だけでなく、多核白血球が主役を荷つて処理する細菌においても細胞免疫による活性化マクロファージが加つて、更に感染防禦の効率をよくしていると考えられるものが多数認められつつある²⁷⁾³²⁾。

我々の既報の実験⁴⁾は、動物が近交系であり、且つ細胞移入から菌接種までに2～4日を置いているため移入細胞に対する Host-vs-Graft 反応が防禦の一端を荷っている可能性がある。現在では細胞性免疫が防禦の主体をなす事が明らかにされているものにマウスのチフス症がある²⁹⁾。このチフス感染マウスの腹腔腔細胞移入による防禦力の伝達を試みた秋山²⁾は、細胞移入後3～4日目に recipient をチフス菌で攻撃した時に最も強い防禦力が得られたと報告している。但し、この場合もマウスは純系ではない。今回の実験では、この H-v-G 反応を除外する目的で CY ラットを用いた。

今回の実験では、免疫脾細胞を移入された CY ラットが Pm 10^5 で攻撃された場合にのみ発症抑制傾向をみとめた。まず、この Pm 10^5 を攻撃接種されたラットの成績について考案する。

1) CY を投与されたラットでは、4～24時間後に与えられる同種或いは異種細胞による Graft-vs-Host 反応

が成立するが、その際100mg/kg の CY 投与が最も効果的であることが報告されている²⁴⁾²⁶⁾。この報告に基いて著者は100mg/kg を静脈内投与し、24時間後に実験を行った。

ImSp 群のラットへ移入された donor 脾細胞が Pm に感作されている事は Fig. 2から明かであるが、それを受けた ImSp 群にだけ血清抗体が検出された。さらに、免疫脾細胞 donor の感染日数が4, 6, 14日と進むにつれて血清抗体を検出される recipient の数が増加した (Fig. 6)。この成績は recipient である CY ラットの免疫能が移入細胞に依存するものであることを裏書している。

2) Mackaness は一連の実験¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾でマウスの実験的リステリア症の感染防禦免疫が細胞性免疫によることを示した。この中で adherent cells を除去した免疫脾細胞によつて正常マウスに移入される防禦免疫は、移入細胞が多い程つよく、又、感染日数6～7日目の donor 脾細胞が最も有効であつたことを報告している¹⁶⁾。

著者の実験では移入細胞から adherent cells を除去していない。従つて、とくに脾細胞の recipient にはリンパ系細胞と共にかかりの数の喰細胞が移入されている。しかし、これら喰細胞をほとんど含まぬ正常胸腺細胞を与えられた NT 群の防禦の方が NSp 群より優れていたことから、得られた防禦力は混入して投与された喰細胞によるのではなく、リンパ系細胞に依るものと考えられる。

3) 正常細胞を移入された NT 群と NSp 群には血清抗体が全く検出されなかつたが、前者には防禦が得られた。この防禦力の差は移入細胞の内容の相違に基くわけ、両者の最大の相違はTリンパ球の数であろう。ほとんど全てがTリンパ球である胸腺に対し、多くのBリンパ球や単核喰細胞を含む脾細胞中のTリンパ球は前者の約半数に過ぎない。従つて防禦力を伝達したものは移入細胞の中、Tリンパ球であろうと考えられる。NT 群が ImSp 群に近い防禦力を示した理由も、前者は非感作、後者は感作細胞の移入ではあるが、やはりTリンパ球の数の差に帰せられるかと思われる。即ち、ImSp 群と NSp 群の差が感作細胞の効果を反映するものとみることが出来る。

また Fig. 3 に示す如く、皮質膿瘍を形成したラットにだけ萎縮した胸腺の回復が遅れた。この結果も腎盂腎炎、とくに膿瘍の形成にTリンパ球が大きな関りをもつことを示唆し、この所見は Williams et al.³¹⁾の指摘を

支持するものと思われる。

4) Tリンパ球は細胞性免疫ばかりでなく, Helperおよび Suppressor T-cell として抗体産生にも関与する。Hunter et al.¹⁰⁾ はラットの Pm 腎盂腎炎が生菌, 死菌免疫と共に抗 Pm 抗血清の投与でも発症を抑制されたと報告している。著者も本症における液性免疫の防禦効果を決して否定するものではない。ただ, 今回の実験では, ① 血清抗体価と腎病変の Grade に相関がみられなかつただけでなく, 逆に唯1例にしか抗体が検出されなかつた ImSp₍₄₎群の方が, 全例にそれが検出された ImSp₍₁₄₎群よりも重症例が少かつたこと (Fig. 5, 6). ② 各細胞に抗体価 1:640の免疫血清 1 ml を加えて投与しても各群の重症例の発生頻度に影響を与えなかつたこと (Fig. 7). ③ 血清抗体が検出されなかつた NT 群にも防禦がみられたこと (Fig. 5, 6). これらの結果は, 本実験で得られた各群間における防禦力の差が液性免疫由来でなく, 細胞性免疫に依存するところが大きいことを示唆している。

5) 以上, recipient が Pm 10⁵で攻撃された場合について検討したが, 前述の如く Pm 10⁸で攻撃された場合には3群間に防禦の差が明かでなかつた (Fig. 4). ここでその理由を考えてみたい。

CY 投与によりリンパ系全組織が傷害されるが, とくにBリンパ球に著明で, 抗体産生が抑制され, それに伴って遅延型過敏反応が逆に増強されること, しかし, 網内系細胞の損傷は軽度であることが認められている¹¹⁾ 29) 30)。又, CY マウスに免疫脾細胞を移入し抗リステリア免疫が伝達されることをみた Tripathy & Mackaness²⁸⁾ は, この際の effector cell が recipient のマクロファージであろうと推察している。この推察は上記の所見からも正しいと思われる。著者の実験でも CY ラットの脾に網内系細胞の残存をみとめた。Pm の様な一般細菌では, Host が CY ラットであつても, 感染防禦の effector cell として多核白血球をはじめ多種類の recipient 細胞, 因子が関与しており, その中の1つに活性化マクロファージがあるとみるべきであろう。更に菌接種が逆行性感染であるため, 10⁸個の細胞移入では腎内で細菌に接触するリンパ球の数も多くはない筈である。本実験でみられた細胞免疫によると思われる防禦はさして強いものではなかつた。

従つて, Pm 逆行性腎盂腎炎に対する細胞性免疫は, 恐らくある一定量以上の細菌の侵襲があつた時はじめて有効に効力を発現するのではないかと考えられる。つま

り, Pm 10⁸の逆行性攻撃では細胞性免疫を有効に発現させ得なかつたのではないかと思われる。

この点に関して, Baughn & Bonventre の次の様な報告がある。彼等は *in vitro* で培養したマクロファージ 100個に対し, staphylococcus 1,700個と18個を与えた際の殺菌力をみた。6時間後, 前者は800個以上が殺菌されたが, 後者は12個しか殺菌されなかつた。前者の結果からすれば後者は当然18個全部が殺菌される筈である。にも拘らず12個しか殺菌されなかつたことは, マクロファージのもつ殺菌力を最大限に発揮させるには投与菌数に一定量以上の critical threshold があるのではないかと推察させる⁷⁾。同様の性格は多核白血球の殺菌能にも認められている¹⁷⁾。これらは著者の実験とやや意を異にするものの, 前述した著者の推察を多少とも支持する様に思われるが今後なお検討を要する所である。

結 語

ラットの Pm 逆行性腎盂腎炎における細胞免疫の関与を adoptive immunity を用いて検討した。CY 100mg/kg を投与したラットに, 次の3種の細胞1.5-2.0×10⁸を静注投与した直後, Pm を逆行性に攻撃接種した。移入細胞は免疫脾細胞(ImSp 群), 正常胸腺細胞(NT群), 及び正常脾細胞(NSp 群)である。これら3群の腎盂腎炎の発症, とくにその進行による皮質膿瘍の形成を指標として防禦免疫を比較した。

各細胞の recipient に Pm 10⁵を攻撃接種した場合には NSp 群に比べ他の2群には膿瘍の形成が抑えられた。しかし, Pm 10⁸接種では3群間に差がなく, 防禦免疫の発現は攻撃接種される菌量にも左右されると思われた。

血清抗 Pm 抗体は少量であるが ImSp 群にだけ検出されたことから, 各群の免疫能は移入細胞によつて発現されたものと考えられた。又, 正常細胞の recipient には血清抗体が検出されなかつたにもかかわらず, NT 群には防禦がみられたことから, この adoptive immunity は移入細胞中の Tリンパ球によつて伝達されたものと思われた。さらに, 細胞と共に与えた抗血清が3群間の発症の差に影響を与えなかつたことから, 本実験でみられた感染進行の抑制は細胞免疫によるものと考えられた。

従つて, 左程につよくはないが, Pm 腎盂腎炎の発症期には細胞免疫も感染防禦的に作用していることが示唆される。

本論文の要旨は第63回日本泌尿器科学会総会シンポジ

ウム「感染防禦機構をめぐって」において発表した。

稿を終えるあたり、終始御懇篤な御指導を賜り、御校閲を賜った恩師新島端夫教授に深甚の謝意を表します。又、適切な助言を与えて下さった N.Y. 州立大、酒井昭義教授と病理学的検討に御協力戴いた岡山大学第一病理、元井信講師に感謝致します。さらに多くの示唆と助言を与えられた宮脇昌二、山名征三両講師（第三内科）、統計処理して下さいた太田武夫講師、小川孝規技官（衛生学）、実験助手を勤められた藤田敬子、山本俊美、中山洋子女史に感謝致します。

文 献

- 1) Aoki, S., Merkel, M., Aoki, M. and McCabe, W.R.: J. Lab. Clin. Med., **70**, 204, 1967.
- 2) 秋山武久：日細菌誌, **14**, 87, 1959.
- 3) Anderson, B.R. and Jackson, G.G.: J. Lab. Clin. Med., **60**, 457, 1962.
- 4) 荒木 徹, 新島端夫, 元井 信：医学のあゆみ, **91**, 155, 1974.
- 5) Arana, J.A., Kozij, V.M. and Jackson, G.G.: Arch. Pathol., **78**, 558, 1964.
- 6) Arana, J.A., Kozij, V.M. and Jackson, G.G.: J. Immunol., **94**, 337, 1965.
- 7) Baughn, R.E. and Bonventre, P.F.: Infect. Immun., **12**, 346, 1975.
- 8) Boyle, W.: Transplantation, **6**, 761, 1968.
- 9) Cotran, R.S.: J. Exp. Med., **117**, 813, 1963.
- 10) Hunter, B.W., Akins, L.L. and Sanford, J.P.: J. Exp. Med., **119**, 869, 1964.
- 11) Lagrange, P.H., Mackaness, G.B. and Miller, T.E.: J. Exp. Med., **139**, 1529, 1974.
- 12) Lane, F.C. and Unanue, E.R.: J. Exp. Med., **135**, 1104, 1972.
- 13) Lehmann, J.D., Smith, J.W., Miller, T.E., Barnett, J.A. and Sanford, J.P.: J. Clin. Invest., **47**, 2541, 1968.
- 14) Mackaness, G.B.: J. Exp. Med., **116**, 381, 1962.
- 15) Mackaness, G.B.: J. Exp. Med., **120**, 105, 1964.
- 16) Mackaness, G.B.: J. Exp. Med., **129**, 973, 1969.
- 17) Melly, M.A., Thomison, J.B. and Rogers, D.E.: J. Exp. Med., **112**, 1121, 1960.
- 18) Miller, T.E. and North, D.: J. Lab. Clin. Med., **78**, 891, 1971.
- 19) Miller, T.E. and North, D.: J. Inf. Dis., **128**, 195, 1973.
- 20) Nijjima, T. and Himman, Jr. F.: J. Urol. **95**, 476, 1966.
- 21) North, R.J.: J. Exp. Med., **138**, 342, 1973.
- 22) Percival, A., Brumfit, W. and De Louvois, J.: Lancet, **ii**, 1027, 1964.
- 23) 齊藤和久：蛋白質, 核酸, 酵素, **18**, 294, 1973.
- 24) Saleh, W., MacLean, L.D. and Gordon, J.: J. Immunol., **103**, 114, 1969.
- 25) Sanford, J.P., Hunter, B.W. and Souda, L.L.: J. Exp. Med., **115**, 383, 1962.
- 26) Santos, G.W. and Owens, Jr. A.H.: Nature (London), **210**, 139, 1966.
- 27) 武谷健二, 野本亀久雄：蛋白質, 核酸, 酵素, **19**, 889, 1974.
- 28) Tripathy, S.P. and Mackaness, G.B.: J. Exp. Med., **130**, 17, 1969.
- 29) Turk, J.L. and Poulter, L.W.: Clin. Exp. Immunol., **10**, 285, 1972.
- 30) Turk, J.L., Parker, D. and Poulter, L.W.: Immunology, **23**, 493, 1972.
- 31) Williams, T.W., Friedlander, A.M., Lyons, J.M. and Braude, A.I.: Cell. Immunol., **14**, 33, 1974.
- 32) Wilson, G.S. and Miles, A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology, and Immunity, 6th ed., p. 1518, Edward Arnold, London, 1975.

(1977年1月2日受付)