多様な生物活性を有する muramyl dipeptide と peptidoglycans を用いた急性炎症の慢性化の機序

小橋 修・小橋悠紀子・重松信昭*

Mechanisms of chronicity of acute polyarthritis induced by N-acetylmuramyl peptides and peptidoglycans as biological response modifiers in rats A single or multiple systemic administrations of aqueous forms instead of water-in-oil emulsion of biological active acyl muramyl dipeptides (acyl MDPs) induced acute polyarthritis in euthymic rats and athymic nude rats except for WKY rats.

Histological studies revealed acute exudative inflammatory reactions around joints which consisted of hypertrophy of both synovial villi and tendon sheath, infiltration of polymorphonuclear leukocytes and fibrin deposition of the affected joint spaces. During multiple systemic injections of acyl MDPs, this acute arthritis became chronic one in euthymic rats but not in athymic nude rats. It remains uncertain whether chronic polyarthritis results from repeating flare of acute inflammatory reactions by continuing stimulation of adjuvants or whether the chronicity of the disease may require some immunologic process to exogenous substances such as bacterial fragments or autoantigens modified by exogenous substances, such as type II collagen.

Osamu Kohashi・Yukiko Kohashi・Nobuaki Shigematsu*

Research Institute for Diseases of the Chest, Faculty of Medicine, Kyushu University

key words : *chronicity, polyarthritis, MDP, peptidoglycans, inflammation*

慢性炎症が、どのような機序で発生するかについては、いくつかの説明がなされている。① 急性炎症の持続・反復によって、慢性炎症が成立する。② 急性炎症のたんなる持続・反復のみでは慢性炎症は成立せず、急性炎症の持続・反復の過程で外因物質（細菌、ウイルス、化学物質）や、これらによって新しく出現した抗原に対する免疫応答が加わってはじめて慢性炎症が成立する。③ もう一つの考えは、急性炎症を経過することなく、はじめから慢性炎症が出現するというもので、この場合は、慢性炎症を起こす特異な物質があるとしている¹⁾。

多様な生物活性を有する細菌細胞壁 peptidoglycans (PG) およびそれらの最小有効構造である N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (MDP)²⁾ を起炎物質として、ラットの炎症モデルを用いて急性炎症の慢性化の機序を検討した。MDP と PG はともに血管透過性促進³⁾、補体の活性化⁴⁾、化学走化性⁵⁾、抗体産生促進、細胞性免疫増強作用⁶⁾、インターロイキン-1 や-2 の産生促進⁷⁾、線維芽細胞増殖促進作用、破骨細胞活性化作用などの多彩な生物活性を持っており⁸⁾、これらの物質の全身投与によって容易に急性炎症をラットの関節滑膜につくることができた⁹⁾。MDP や PG の頻回投与による急性炎症の繰り返しの結果、有胸腺ラットは、容易に慢性炎症ができるが、注射の度に既存の慢性炎症のうえに急性炎

症が加わった。一方、先天的胸腺欠損ヌードラットでは、急性炎症は容易にできるが、慢性炎症はできない¹⁰⁾。これらの点を踏まえて、興味ある知見を得たので報告する。

材料と方法

(1) 動物

Rowett 無胸腺ヌードラット(rnu/rnu)と、そのヘテロの有胸腺ラット(rnu/+)は、実験動物中央研究所(川崎)より購入し、東海大学医学部アニマルセンター、および九州大学医学部アニマルセンターにて SPF レベルで飼育維持した。SD, WKY, SHR は、日本チャールスリバー社より購入した。6～8 週齢の雌雄のラットを使用し、すべての実験は SPF 環境下でなされた。

(2) アジュバント

使用した合成アジュバントは、第一製薬より供与された N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン (MDP), MDP-Lys-L18, B30-MDP である。

(3) 急性多発性関節炎の惹起方法

合成アジュバントは所定量(40 mg)を 20 ml のリン酸緩衝液(PBS, 0.02 M pH 7.2)に溶解したあと、テフロンホモゲナイザーにて十分に懸濁した。この注射液(2 mg/ml)を用いて 2 mg/kg になるように、ラットの尾静脈より注射した。頻回注射の場合は毎日朝はば一定の時間に注射した。毎日体重の測定と関節の臨床所見の観察

* 九州大学医学部胸部疾患研究施設

表 1 arthritis-inducing ability of synthetic adjuvants in either water-in-oil emulsion or aqueous suspension in various rat strains

synthetic adjuvants	type of materials	number of arthritic rats/total among rat strains						
		rnu/+	PVG/c	Lewis	SD	WKY	rnu/rnu	SHR
MDP	w/o*	10/10	10/10	10/10	7/10	6/10	0/10	0/10
	PBS**	0/10	0/10	0/10	0/10	ND	0/10	0/10
L18-MDP	w/o	0/10	0/10	0/10	0/10	ND	ND	ND
	PBS	10/10	10/10	10/10	10/10	ND	ND	ND
MDP-Lys-L18	w/o	0/10	0/10	0/10	ND	ND	0/10	ND
	PBS	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10
B30-MDP	w/o	0/10	0/10	ND	0/10	ND	ND	ND
	NIKKOL**	10/10	ND	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10
control	w/o	0/10	0/10	0/10	ND	ND	ND	ND
	PBS	0/10	ND	0/10	ND	ND	ND	ND
	NIKKOL	0/10	ND	0/10	ND	ND	ND	ND

* Each rat was immunized intradermally into left footpad with 0.05 ml of w/o emulsion containing 0.2 mg of synthetic adjuvant.

** Each rat was injected intravenously with an aqueous suspension (PBS or NIKKOL-HCO60) containing 2 mg/kg of synthetic adjuvant, once a day for 7 days.

をした¹¹⁾。

(4) 古典的アジュバント関節炎惹起方法

MDP の所定量をリン酸緩衝液(PBS, pH 7.2)に溶かしたあと、ミリポアメンブレン(0.45 μ m)にて濾過滅菌した。同量の Difco 不完全アジュバントを用いて MDP を含んだ油中水型(w/o)エマルジョンを作製し、その 0.05 ml(MDP 含量 100 μ g)をラット左下肢足裏皮下に注射した¹²⁾。

病理組織学的検索

MDP 注射第4週後まで1週ごとに3頭ずつエーテル麻酔下に心採血により殺し、肝、腎、脾、肺、膝窩リンパ節などを切りだしホルマリン固定を行い、パラフィン包埋した。標本はヘマトキシリンエオジン(HE)染色をし、病理組織学的検索に供した。対照としては、MDP を含まない不完全アジュバントを注射し、同様の組織学的検索をした。急性多発性関節炎の場合も、同様にエーテル麻酔下に心採血によりラットを殺し、必要諸臓器を採取し、ホルマリン固定し、ヘマトキシリンエオジン染色した¹²⁾。

成 績

(1) アジュバント関節炎感受性と急性多発性関節炎感受性のラット系統差

表1に、MDP(w/o)による古典的アジュバント関節炎の疾患感受性と、アシル MDP による急性多発性関節炎の疾患感受性の比較を示した。アジュバント関節炎の感受性を発症頻度からみると、rnu/+, PVG/c, Lewis は高感受性、SD, WKY は中等度感受性、SHR は低感受

性、rnu/rnu は抵抗性であった。

合成アジュバントの投与形態、水様性か w/o エマルジョンかによって、関節炎の発生がまったく異なることが注目された。MDP は w/o エマルジョンでは関節炎誘起活性があるが、水様性での投与ではまったく誘起活性はなかった。反対にアシル MDP は w/o エマルジョンでは関節炎誘起活性はでなかったが、水様性での全身投与では表1に示すように、WKY ラットを除くすべてのラットに急性多発性関節炎を発生した。

表2に示すように、アシル MDP(2 mg/kg)を7日連続静注したとき、WKY を除くすべてのラットがそれぞれの発生日と発症頻度をもって急性多発性関節炎を発症した。WKY は抵抗性であった。一般にアジュバント関節炎に高感受性のラットほど、急性多発性関節炎の発生日も早く、かつ重症の関節炎を起こす傾向がみられた。

(2) MDP-Lys-L18 による急性多発性関節炎の容量依存発症頻度

表3に MDP-Lys-L18 の各種濃度による SD ラットでの急性多発性関節炎の発症頻度を示した。2 mg/kg では100%に中等度の関節炎を、1 mg/kg では50%に、0.5 mg/kg では16%に、それぞれ中等度の関節炎を起こした。それ以下の濃度では、関節炎は発症しなかった。

(3) アシル MDP による急性多発性関節炎の臨床所見と病理所見

アシル MDP の1回静注によって、rnu/+, PVG/c ラットに24時間以内に carpal joint, tarsal joint に発赤腫脹が出現する(図1)。繰り返し注射をしていると徐々に関節の腫脹は強くなる。このもっとも腫脹の強いときの病理所見を図2に示した。多形核白血球の強い浸潤と

表 2 onset day of acute polyarthritis by seven consecutive intravenous administrations of aqueous suspension of MDP-Lys-L18(2 mg/kg) or B30-MDP(2 mg/kg) among various rat strains

rat strains		No. of arthritic rats/total at the day after first injection of adjuvant						
		1	2	3	4	5	6	7
rnu/+	a	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	b	9/10	9/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Lewis	a	5/10	8/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	b	3/10	6/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
SD	a	5/10	8/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	b	0/10	5/10	8/10	9/10	9/10	10/10	10/10
rnu/rnu	a	5/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	b	2/10	5/10	8/10	10/10	10/10	10/10	10/10
SHR	a	0/10	0/10	0/10	2/10	4/10	7/10	10/10
WKY	a	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

a : Each rat was injected intravenously with 2 mg/kg of B30-MDP suspended in NIKKOL-HCO60 for seven days.

b : Each rat was injected intravenously with 2 mg/kg of MDP-Lys-L18 suspended in PBS for seven days.

表 3 dose response of MDP-Lys-L18 in aqueous form to induce polyarthritis in SD rats

dose of MDP-Lys-L18	incidence (%)	maximum score of arthritis in each rat	No. of arthritic rat/total rat at the day after the first injection of MDP-Lys-L18			
			1	2	3	7
2 mg/kg	7/7(100)	4, 5, 5, 6, 6, 9, 9	4/7	7/7	7/7	7/7
1	3/6(50)	4, 5, 15	3/6	3/6	3/6	3/6
0.5	1/6(17)	8, 0, 0, 0, 0, 0	0/6	1/6	1/6	1/6
0.25	0/6(0)	0, 0, 0, 0, 0, 0	0/6			0/6
0.1	0/6(0)	0, 0, 0, 0, 0, 0	0/6			0/6
0	0/6(0)	0, 0, 0, 0, 0, 0	0/6			0/6

Each rat was injected intravenously with the indicated amounts of MDP-Lys-L18 in aqueous suspension of PBS, everyday for seven days.

フィブリンの析出, 血管拡張, 間質の浮腫および組織球の増生と滑液膜増殖が特徴であった。注射をやめると急速に発赤と腫脹は消退した。rnu/+ラットは, 前述したようにアシル MDP 静注後24時間以内に100%急性多発性関節炎が発症した。肉眼的に発赤と腫脹が認められなくなったところ, 再び各種アジュバントを1回静注し, 急性関節炎の再燃をSDラットに起こさせたときの成績を表4に示した。

古典的アジュバント関節炎を惹起しうる WSA, SECS, LPCM などは, 2 mg/kg の量でも急性炎症を惹起できず, アシル MDP の 2 mg/kg のみが急性炎症を再燃させた。このときの病理組織像は, 図2とくらべると, 細胞成分の浸潤の少ない, しかし強い血管透過性亢進と関節腔の浮腫拡大, 滑液膜下浮腫(図3)が特徴的であった。興味あることは, 第2回目の惹起注射も第1回目の注射と同量のアシル MDP を必要としたことである。

(3) アシル MDP の連続頻回皮下注射による急性お

よび慢性関節炎の経時変化

MDP, アシル MDP はともに体内からの排泄が早く¹³⁾, 1回の静注による急性炎症は早期に消退するので, 急性炎症の慢性化の機序を調べるために前述の静注法のかわりに皮下注射を選びできるだけながくアジュバントが体内に残るようにした。MDP-Lys-L18 および B30-MDP 頻回皮下注射(36回)による Lewis ラットの体重変化と関節炎の経時変化を調べた。図4には, MDP-Lys-L18 の成績を示した。表2の静注法とくらべると皮下注射による関節炎の発症は遅れ約6~7日ころで, ちょうど古典的アジュバント関節炎の発症日に近く¹²⁾, その後注射の度に徐々に重症化した。36回の注射のころには MDP-Lys-L18 注射群の関節炎はほぼピークに達し, その後徐々に軽症化していった。B30 MDP の場合には, 注射後もさらに関節炎は重症化し, 強い線維性関節強直をきたした。

図1 diffuse swelling of all (fore and hind paws) four paws of Lewis rat one day after seven consecutive intravenous injections of 2 mg/kg of MDP-Lys-L18

考 察

本研究で、急性炎症の慢性化の機序を急性多発性関節炎のモデルを用いて調べた。合成アジュバントによって、WKY ラットを除く調べられたすべてのラットに、急性多発性関節炎が発症すること、有胸腺ラットでは、容易に急性関節炎が慢性関節炎になることを示した。

先天的胸腺欠損ヌードラットでは、急性関節炎のみで、慢性関節炎は容易にはできなかった。すなわち、有胸腺ラットでは、急性炎症の反復の過程で慢性炎症が惹起されたが、胸腺のないヌードラットでは急性炎症が繰り返すのみで慢性炎症にまでならなかった。しかし、ヌードラットにまったく慢性関節炎が起らないかどうかに関しては、さらに検討を要する。

一方、慢性増殖性炎症を特徴とするアジュバント関節炎は、ヌードラットには惹起できない¹⁴⁾。胸腺を移植するか、脾臓またはリンパ球を移入してはじめて慢性関節炎が発症する¹⁵⁾。またアジュバント関節炎は感作T細胞によって、受身伝達できる¹⁶⁾。しかし、なにが抗原となっているのか、どのような抗原に対して感作されたT細胞なのかはいまだに不明である。

もし、急性炎症の慢性化に胸腺の関与が必要であるとするならば、有胸腺ラットに起こりヌードラットでは起

図2 tarsal joint of Lewis rat with maximum joint score, a few days after clinical onset of diffuse swelling of joints (at about 6 to 10 days)

Note acute exudative inflammatory reactions with fibrin deposition and neutrophil infiltration in accordance with subsynovial edema and vascularization.

Pannus has extended into the joint space and cartilage and subchondral bone were replaced by granulation tissues with infiltration of mononuclear cells and neutrophils. (HE, $\times 150$)

図3 flare-up lesion of tarsal joint, one day after booster injection of 2 mg/kg of MDP-Lys-L18

Note very enlarged synovial spaces with exudation and fibrin deposition and with rather few neutrophil infiltrations.

Subsynovial edema and vascular congestions were also observed. (HE, $\times 15$)

表4 failure of an aqueous form of MDP, its analogs, bacterial peptidoglycans and alkyl-diamine to induce polyarthritis in SD rats

materials	dose mg/kg	number of injections	number of arthritic rats/total rats	adjuvant activity **
synthetic adjuvants				
MDP	1	14	0/10	+
	2	14	0/10	
MDP-O-nBu	1	14	0/10	+
MDP-Lys-L18(L)	1	14	0/10	-
L18-MDP(L)	1	14	0/10	-
BH48-MDP*	1	14	0/10	+
bacterial peptidoglycans				
WSA	2	7	0/10	+
SECS	2	7	0/10	+
LPCM	2	7	0/10	+
alkyldiamine*	4	7	0/10	+

Each rat was injected intravenously with the indicated amounts of adjuvant suspended in PBS or in NIKKOL-HCO60(*) for the indicated number of the injections.

** See references(9, 10, 24~27, 56)

こりえないなんらかの抗原に対する免疫反応が急性炎症の慢性化の過程で起こったことを推察させる。MDP やアシル MDP は免疫原性がないので¹⁷⁾、少なくともこのものに対する免疫応答の関与は考えにくい。MDP やアシル MDP がアジュバントとして生体に作用して急性炎症の慢性化の過程で、たとえば 2 型コラーゲンに対する自己免疫応答を惹起している可能性はある^{18,19)}。

Tremtham ら¹⁹⁾ は、アジュバント関節炎ラットに 2 型コラーゲンに対する抗体を証明し、アジュバント関節炎の発症進展における自己免疫応答の役割を報告している。しかし、Kaibara ら^{20,21)} は、アジュバント関節炎と 2 型コラーゲン関節炎の発症機序は異なることを見いだした。したがって、アジュバント関節炎の急性炎症の慢性化に、2 型コラーゲンに対する免疫応答がどの程度関与しているかについてはさらに検討をしなければならない。

一方、T 細胞由来のリンフォカインが重要な役割をしているとされる類上皮細胞肉芽腫は、ヌードラットでも有胸腺ラット同様にアジュバント注射所属リンパ節にできることから^{14,22)}、ある条件ではヌードラットにもなんらかの免疫応答が起こっているのかもしれない。

いったん急性多発性関節炎が消滅したあとで、再び必要量のアシル MDP を静注すると、図 3 に見られるような強い血管透過性亢進、血管拡張、フィブリンの析出が 24 時間以内に観察された。このあとで多形核白血球の浸潤が観察された。この惹起注射(ブースター)による急性炎症反応は、MDP をはじめ、水様性のペプチドグリカンである WSA, SECS, LPCM によっても観察されな

図4 time course of body weight and polyarthritis induced by multiple subcutaneous injections of MDP-Lys-L18 in Lewis rats

(■): joint score of 7 males. (●): body weight of 7 males. (▲): joint score of 9 females. (○): body weight of 9 females. Bars represent $\pm$ standard deviation.

った。さらに、急性多発性関節炎を惹起できる最小必要量以下の量のアシル MDP では関節炎の再燃を惹起できなかったことは、注射されたアジュバント物質に対する免疫応答の関与というよりはアジュバント物質が炎症を惹起するに十分な最小有効閾値以上に炎症局所へ沈着することが重要であることを示唆しているのかもしれない。

もしそうであるなら、本研究で観察された急性多発性関節炎は、アジュバント物質そのものによる直接の炎症反応の結果である可能性が大きい。なぜなら、ここで用いられたアジュバント物質は前述したごとく、血管透過性亢進作用³⁾、貪食細胞の貪食機能亢進²³⁾、活性酸素産生増加^{24,25)}、PMN やマクロファージに対する化学走化性³⁾、マクロファージ刺激によるインターロイキン-1をはじめとする種々のファクター産生増加⁷⁾、補体の活性化⁴⁾、抗体産生増強および細胞性免疫賦活化⁶⁾ など多数の生理活性があるので、これらが複雑に関係しあってアジュバント物質の沈着した場所に、急性炎症を形づくったものと解釈可能である。

ちなみに、コブラ毒因子で血中の補体価を低下させると、急性関節炎も古典的アジュバント関節炎もともに発症が抑制される²⁶⁾。血中の白血球を抗癌剤で極端に減少させて、この急性多発性関節炎がどのように修飾されるかをみることによって、関節炎の発症進展における PMN の積極的な関与を証明できるのかもしれない。最近、Anderle ら²⁷⁾ は、A 群レンサ球菌の細胞壁由来のペプチドグリカン-多糖体 (PG-PC) ポリマーを用いて、多発性関節炎発症抵抗性ラットも、感受性ラットも、等しく関節に PG-PC ポリマーが沈着していることを証明し、この事実から、この多発性関節炎発症感受性の差は、組織に沈着した PG-PC ポリマーに対する炎症反応

の系統差に基づくことを示唆した。

かくして本研究では、関節における急性炎症の慢性化の機序に関して急性炎症の繰り返しのみによっても慢性炎症が起こりうることを示したが、急性炎症が慢性化する過程で免疫応答がまったく関与していないかどうかに関してはさらにヌードラットを用いて詳細に検討すると同時に、アシル MDP の組織内沈着をも測定する必要がある。

文 献

- 1) Shibata, S.: On the development-mechanism of chronic glomerulonephritis (the contracted kidney). Jap. J. Inf. 3: 191-200, 1983.
- 2) Ellouz, F., Adam, A., Ciorbaru, R., Lederer, E.: Minimal structural requirements for adjuvant activity of bacterial peptidoglycan derivatives. Biochem. Biophys. Res. Commun. 59: 1317-1325, 1974.
- 3) Ohkuni, H., Norose, Y., Ohta, M., Hayama, M., Kimura, Y., Tsujimoto, M., Kotani, S., Shiba, T., Kusumoto, S., Yokogawa, K., Kawata, S.: Adjuvant activities in production of reaginic antibody by bacterial cell wall peptidoglycan or synthetic N-acetylmuramyl dipeptides in mice. Infect. Immun. 24: 313-318, 1979.
- 4) Lambris, J.D., Allen, J.B., Schwab, J.H.: *In vivo* changes in complement induced with peptidoglycan-polysaccharide polymers from streptococcal cell walls. Infect. Immun. 35:377-380, 1982.
- 5) Ogawa, T., Takada, H., Kotani, S., Fukuda, K., Tsukamoto, Y., Mori, M., Kusumoto, S., Shiba, T., Kawata, S., Yokogawa, K.: Human monocyte chemotaxis induced by bacterial cell walls and their related compounds, especially by N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (MDP). Proc. Jap. Soc. Immunol. 12:734-735, 1982.
- 6) Chedid, L., Audibert, F., Johnson, A.G.: Biological activities of muramyl dipeptides, a synthetic glycopeptide analogous to bacterial immunoregulating agents. Prog. Allergy 25: 63-105, 1978.
- 7) Iribe, H., Koga, T., Onoue, K., Kotani, S., Kusumoto, S., Shiba, T.: Macrophage-stimulating effect of a synthetic muramyl dipeptide and its adjuvant-active and adjuvant-inactive analogs for the production of T-cell activating monokines. cell Immunol. 64: 73-83, 1981.
- 8) Horton, J.E., Oppenheim, J.J., Mergenhagen, S.E., Raisz, L.G.: Macrophage-lymphocyte synergy in the production of osteoclast activating factor. J. Immunol. 113: 1278-1287, 1974.
- 9) Hamilton, J.A., Zabriskie, J.B., Lachman, L.B., Chen, Y.-S.: Streptococcal cell walls and synovial cell activation. Stimulation of synovial fibroblast plasminogen activator activity by monocytes treated with group A streptococcal cell wall sonicates and muramyl dipeptide. J. Exp. Med. 155: 1702-1718, 1982.
- 10) Kohashi, O., Kohashi, Y., Kotani, S., Ozawa, A.: A new model of experimental arthritis induced by an aqueous form of synthetic adjuvant in immunodeficient rats (SHR and nude rats). The Ryumachi 21: 149-156, 1981.
- 11) Wood, F.D., Pearson, C.M., Tanaka, A.: Capacity of mycobacterial wax D and its subfractions to induce adjuvant arthritis in rats. Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 35:456-467, 1967.
- 12) Kohashi, O., Aihara, K., Ozawa, A., Kotani, S., Azuma, I.: New model of a synthetic adjuvant, N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine-induced arthritis. Clinical and histologic studies in athymic nude and euthymic rats. Lab. Invest. 47: 27-36, 1982.
- 13) Parant, M., Parant, F., Chedid, L., Yapo, A., Petit, J.F., Lederer, E.: Fate of the synthetic immunoadjuvant, muramyl dipeptide (^{14}C -labelled) in the mouse. Int. J. Immunopharmacol. 1: 35-41, 1979.
- 14) Kohashi, O., Pearson, C.M., Tamaoki, N., Tanaka, A., Shimamura, K., Ozawa, A., Kotani, S., Saito M., Hioki, K.: Role of thymus for N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine-induced polyarthritis and granuloma formation in euthymic and athymic nude rats or in neonatally thymectomized rats. Infect. Immun. 31: 758-766.
- 15) Waksman, B.H., Wennersten, C.: Passive transfer of adjuvant arthritis in rats with living lymphoid cells of sensitized donors. Int. Arch. Allergy 23: 129-139, 1963.
- 16) Holoshitz, J., Matitlan, A., Cohen, I.R.: Arthritis induced in rats by cloned T lymphocytes response to mycobacteria but not to collagen type II. J. Clin. Invest. 73: 211-215, 1984.
- 17) Audibert, F., Heymer, C., Gros, C., Schleifer, K.H., Seidl, P.H., Chedid, L.: Absence of binding of MDP, a synthetic immunoadjuvant, to anti-peptidoglycan antibodies. J. Immunol. 121: 1219-1222, 1978.
- 18) Kohashi, O., Kakimoto, K., Kohashi, Y., Hirofuji, T., Koga, T., Shigematsu, N., Ozawa, A.: Experimental arthritis and induction of autoimmune response to type II collagen in rats, p 433-439, 1983. In G. Keusch and T. Wadstram (eds), Experimental Bacterial and Parasitic Infections. Elsevier Science Publishing Co., Inc.
- 19) Trentham, D.E., McCune, W.J., Susman, P., David, J.R.: Autoimmunity to collagen in adjuvant arthritis of rats. J. Clin. Invest. 66: 1109-1117, 1980.
- 20) Kaibara, N., Hotokebuchi, T., Takagishi, K., Katsuki, I.: Paradoxical effects of cyclosporin A on collagen arthritis in rat. J. Exp. Med. 158: 2007-2015, 1983.
- 21) Kaibara, N., Hotokebuchi, T., Takagishi, K., Katsuki, I., Morinaga, M., Arita, C., Jingushi, S.: Pathogenetic difference between collagen

- arthritis and adjuvant arthritis. *J. Exp. Med.* 159: 1388-1396, 1984.
- 22) Tanaka, A., Emori, K., Nagao, S., Kushima, K., Kohashi, O., Saito, M., Kataoka, T.: Epithelioid Granuloma Formation Requiring No T-Cell Function. *Am. J. Pathol.* 106: 165-170, 1982.
- 23) Wahl, S.M., Wahl, L.M., McCarthy, J.B., Chedid, L., Mergenhagen, S.E.: Macrophage activation by mycobacterial water soluble compounds and synthetic muramyl dipeptide. *J. Immunology* 122: 2226-2231, 1979.
- 24) Pabst, M.J., Cummings, N.P., Shiba, T., Kusumoto, S., Kotani, S.: Lipophilic derivative of muramyl dipeptide is more active than muramyl dipeptide in priming macrophages to release superoxide anion. *Infect. Immun.* 29: 617-622, 1980.
- 25) Masihi, K.N., Azuma, I., Brehmer, W., Lange, W.: Stimulation of chemiluminescence by synthetic muramyl dipeptide and analogs. *Infect. Immun.* 40: 16-21, 1983.
- 26) Kourounakis, L., Nelson, R.A.Jr., Kapusta, M.A.: The effect of cobra venom factor on complement and adjuvant-induced disease in rats. *Arch. Rheum.* 16: 71-78, 1973.
- 27) Anderle, S.K., Allen, J.B., Wilder, R.L., Eisenberg, R.A., Cromartie, W.J., Schwab, J.H.: 1985. Measurements of streptococcal cell wall in tissues of rats resistant or susceptible to cell wall-induced chronic erosive arthritis. *Infect. Immun.* 49: 836-837, 1978.