

## II. PFC 乳剤の基礎

### 4. PFC 乳剤投与後の網内系機能

大柳 治正\* 渡辺 正弘\* 岡本 浩之\*  
 斉藤 洋一\* 横山 和正\*\*

#### 1) はじめに

現在、臨床応用が可能になったPFC乳剤 Fluosol DA は、動物実験はもとより第1相から第3相までの臨床試験においても、特記すべき副作用は報告されていない<sup>1)</sup>。しかし、平均粒子径 0.1 $\mu$  のコロイド溶液である Fluosol DA の主成分である perfluorochemicals (PFC) は生体にとって本来異物であり、蓄積期間が短くなったとはいえ網内系 (Reticuloendothelial system, RES) に取り込まれることが明らかにされている<sup>2,3)</sup>。

RES機能の第1の役割は異物侵入に対する生体防御であり、網内系細胞である macrophageは抗原の捕捉、処理を行い、抗原情報を免疫担当細胞に伝えるという機能を有し、抗体産生に重要な役割を果たしているといわれている。

したがってRESに取り込まれたPFC粒子がRES機能にどのような影響を与えているかを知ることには、Fluosol DA投与量の限界を検討するうえで非常に重要と思われる。

ここでは Fluosol DA 投与後の RES 機能を、投与量との関係において、墨粒クレアランス、エンドトキシン・ショックに対する生存率、およびヒツジ赤血球や *E. coli* lipopolysaccharide に対する抗体産生能より検討したので報告する。

#### 2) 材料および方法

(1)実験材料 実験動物には体重 150g 前後の Wistar 系雄ラットを使用した。またエンドトキ

シンの実験には体重約 20g の雄 dd マウスを用いた。Fluosol-DAは20%液を用い、5, 10, 20, 40, 60ml/kgを静脈内に1回投与した。食食能測定の対照には生食を60ml/kg投与し、RES亢進群として triolein 10% emulsion 5ml/kg b. w. ip 投与、RES 抑制群として carbon particle (Cll/1431a) 320mg/kg b. w. ip投与し、免疫産生能のそれには生食中に25mg/mlに溶いた carbon (Pelican 社製) 溶液を125および250mg/kg静脈内に、あるいは生食中に10mg/mlに溶いた cyclophosphamide 溶液25mg/kgを腹腔内に投与した。

(2) RES 食食能の測定 食食能はFluosol DAあるいは生食投与後、1, 24, 72時間、1および2週間後に実施した。

ラットをペントバルビタール麻酔後、頸動脈にカテーテルを挿入し、ヘパリンを含む carbon 懸濁液を 16mg/100g b. w. の割合で尾静脈より投与した。Carbon 懸濁液投与後4, 10および20分にそれぞれ0.05mlの血液を採取し、5mlの0.1%炭酸ナトリウム溶液を加え攪拌し、675nmにおける吸光度を測定し、血中の carbon 濃度を求めた。

つぎに carbon 濃度を時間との相関で半対数グラフにプロットし、phagocytic index Kを次式のように求めた。

投与後  $t_1$  (4分),  $t_2$  (20分) 時の血中濃度を  $C_1, C_2$  とすると  $K = \frac{1}{t_2 - t_1} \times \log \frac{C_1}{C_2}$ 。

(3) 組織学的検査 動物はRFS食食能測定後ただちに頸動脈に留置したカテーテルにより放血致死に至らしめ、肝、腎、脾、肺、骨髄について

\* 神戸大学医学部第一外科

\*\* ミドリ十字中央研究所

formalin 固定を行い, paraffin 切片を作成し, hematoxylin eosin 染色標本を作成した。

(4) エンドトキシンショックに対する Fluosol DA 前投与の影響の検討 エンドトキシンとしては DIFCO 社の *E. coli* lipopolysaccharide B(055 = B<sub>5</sub>) を用いた。すなわち, エンドトキシン 100 mg を 100 ml の生食で溶解後約 37°C で 2 時間攪拌したのち, 2500rpm 30 分の遠心後の上清を用いた。

エンドトキシンは Fluosol DA などの薬剤投与 24 時間, 72 時間, 2 週間後に 25 μg/g b.w. の割合で尾静脈より投与した。エンドトキシン投与後のマウスの生存率は 12 時間ごとに 120 時間後まで観察した。

(5) 抗体産生に及ぼす Fluosol DA 投与の影響の検討 抗原として市販ヒツジ赤血球 (SRBC) と lipopolysaccharide (LPS) を使用した。すなわち, 市販 SRBC を使用時生食で 3 回洗浄し, 生食に浮遊させ, 浮遊液 0.5 ml に精製水 7.0 ml を加えて溶血させたときの 541 nm における吸光度が, 0.68~0.70 になる濃度, 赤血球数にして 10<sup>9</sup>/ml を使用した。また, LPS は, Difco 社の LPS を生食で 10 μg/ml の濃度に溶解して用いた。

免疫は SRBC 浮遊液 1.5 ml あるいは LPS 20 μg/kg を 1 回静脈内投与することにより行った。

SRBC および LPS 両者ともラットに免疫した日を 0 とし, Fluosol DA および carbon は免疫 7, 4, 1 日前および 1 日後に cyclophosphamide は 1 日後にそれぞれ投与した。動物は免疫後 4, 5, 6 および 7 日目に殺し, 心臓から採血のの後, 脾臓を摘出した。抗体産生は脾臓の溶血斑形成細胞 (PFC) 数および血清の赤血球凝集素価 (HA 価) をそれぞれ Jerne<sup>4)</sup> の原法およびマイクロプレート法で測定し検討した。

### 3) 結果

(1) RES 貪食能 生食抗与群における phagocytic index K はほぼ一定値を示し, 投与後 1 時間値では 0.0180 ± 0.0029 であった。これに対し, Fluosol DA 投与群の投与 1 時間後の K 値は, 5 ml/kg 群で 0.0162 と低下しないが, 他の 10, 20, 40, 60 ml/kg それぞれ 0.0153, 0.0145, 0.0158, 0.0144 と低下傾向がみられた。投与 24 時間後の K 値では 5, 10 ml/kg 群は前値に回復し, 20 ml/kg 群で

は生食群か 0.0185 であるのに対し, 0.0212 (115%) と上昇し, 40 および 60 ml/kg 群ではまだ生食群以下であった。投与 72 時間後の K 値は生食群に比し, 5 ml/kg では差がないのに反し, 10 ml/kg では 140%, 20 ml/kg 群で 160%, 40 ml/kg 群で 132%, 60 ml/kg 群で 96% となった。投与 1 週間後の K 値では, 10 ml/kg 群で 135%, 20 ml/kg 群で 211%, 40 ml/kg 群で 157%, 60 ml/kg 群で 107% となり, 2 週目の K 値では 20 ml/kg 群が 101% になったのに反し, 40 ml/kg 群で 131%, 60 ml/kg 群で 126% となった。すなわち, phagocytic index は Fluosol DA 投与後ごく短期間軽度で低下後, 一過性的上昇をきたすが, その程度は投与量が少なくとも多くても小さく 20 ml/kg 投与群が最大であった (図 1)。

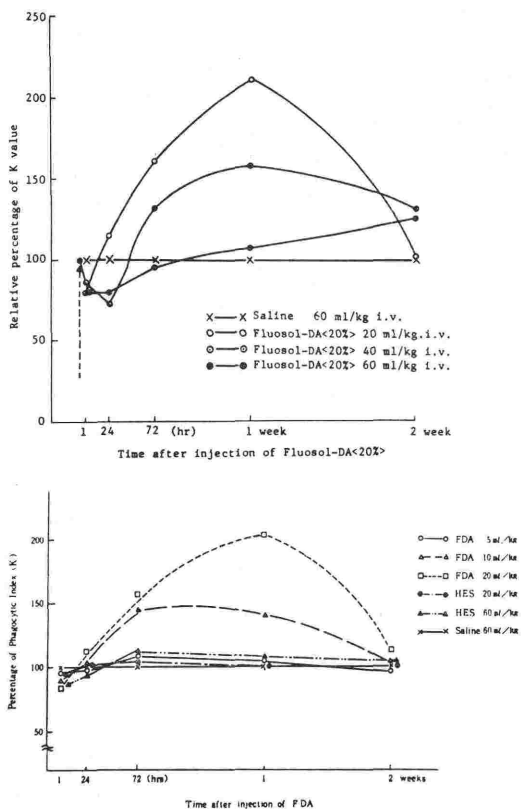


図 1. Effect of Fluosol-DA <20%> on the phagocytic index (K) in rats

(2) 組織学的検査 生食投与群では投与された炭素粒子のほとんど肝動脈周辺を中心とする Kupffer 細胞に取り込まれていたが, 脾においても

赤脾髄に取り込まれているのが観察された。しかし、肺、腎および骨髄には炭素粒子は取り込まれていなかった。

Fluosol DA 20ml/kg 投与群では投与後72時間および1週間後における食能亢進状態が肝のKupffer細胞による炭素粒子の取り込み増加として観察された。炭素粒子の取り込み状態は72時間ではPFC空胞変性部への取り込みが主であるが、1週ではPFC変性部よりもそれ以外のKupffer細胞による取り込みの方が主であった。2週後ではPFC空胞変性部はほぼ消失し、炭素粒子の取り込み量も正常に回復していた(図2)。

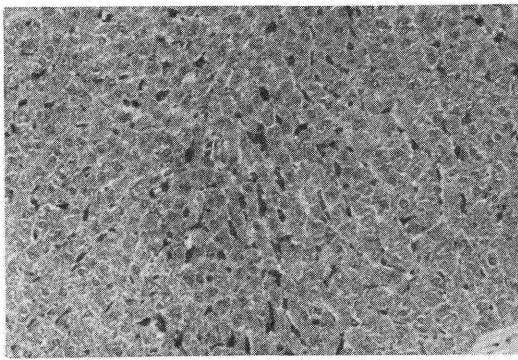


図 2. 20ml/kg 投与, 2週後

40ml/kg 投与群では投与後72時間および1週においては食能の亢進に応じて炭素粒子の取り込み増加傾向がみられた。1週後には空胞化していないKupffer細胞への多数の炭素粒子の取り込みがみられ食能亢進状態がうかがわれたが、PFCを取り込んではや炭素粒子を取り込まないものもみられた。

60ml/kg 群では投与後72時間では炭素粒子の取り込み量はやや少なく、炭素粒子を取り込まない

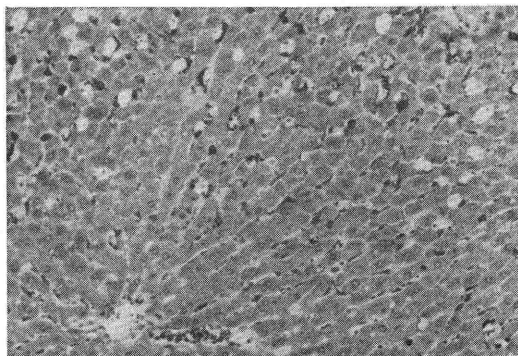


図 3. 60ml/kg 投与, 72時間後

PFC空胞細胞が多くみられた(図3)。

1週後では炭素粒子を取り込まない空胞細胞が減少し、他のKupffer細胞による炭素粒子の取り込みがみられ、炭素粒子の取り込み量としては対照群とほぼ等しかった。

つぎに脾への炭素粒子の取り込み状態をFluosol DA投与1週間目で観察した。食能の亢進状態にある20ml/kgと40ml/kg群では赤脾髄を中心に炭素粒子の取り込みが観察され、食能が正常近くに回復した時期の60ml/kg群では炭素粒子の取り込みはほぼ対照群と同じであった。

(3) エンドトキシン・ショックに対するFluosol DA前投与の影響 薬剤投与後24時間におけるエンドトキシン投与に対する生存率は、Fluosol DA投与群で低下がみられ、とくに60ml/kg群では24時間後の生存率は0%であった(図4)。

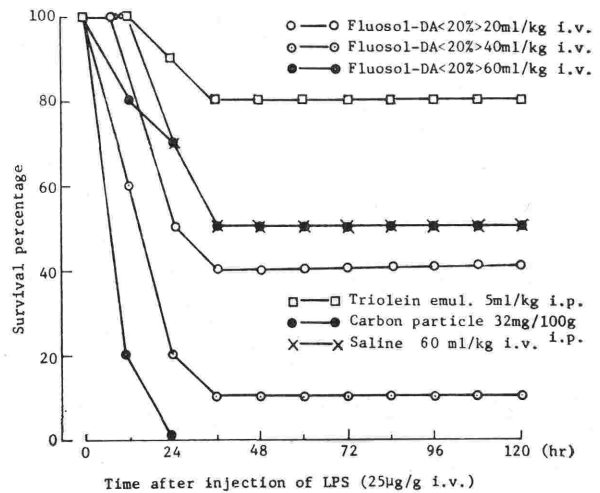


図 4. Effects of Fluosol-DA <20%> on vital resistance to LPS toxicity in mice (24hr after)

薬剤投与後72時間におけるエンドトキシン投与に対する生存率はFluosol DA 60ml/kg投与群だけが生存率の低下を示し、20および40ml/kg群は生食やtrioleinあるいはcarbon粒子投与群と同じであった。

薬剤投与2週間目におけるエンドトキシン投与に対する生存率は、72時間目のそれとほぼ同じであり、Fluosol DA 60ml/kg群のみ生存率の低下がみられた(図5)。

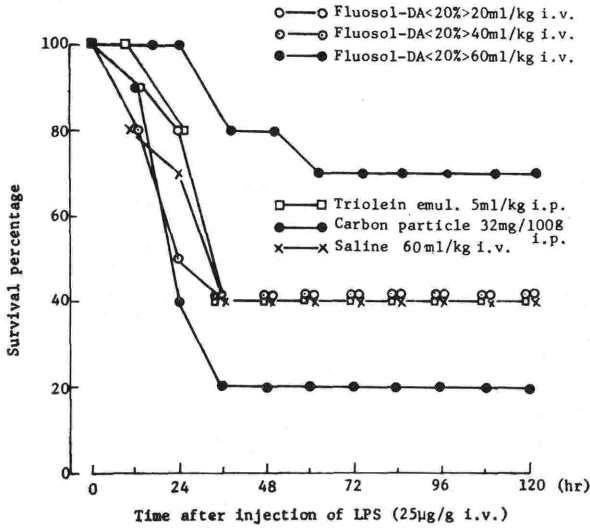


図 5. Effect of Fluosol-DA <20%> on vital resistance to LPS toxicity in mice (2week after)

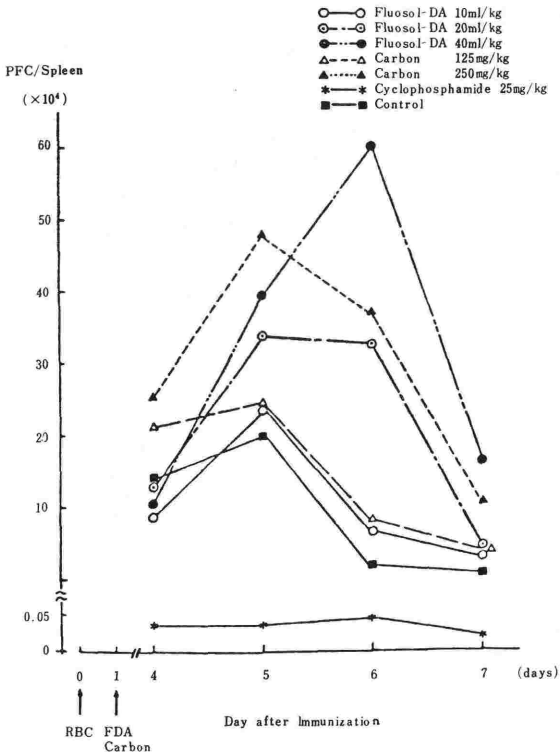


図 6. Effect of Fluosol-DA, carbon and cyclophosphamide on antibody plaque response of rats to sheep erythrocyte. Samples were injected into rats 1 day after immunization on day 0. Data are represented as per spleen cells.

(4) 免疫産生能に及ぼす Fluosol DA 投与の影響

a) SRBC 抗体産生に及ぼす Fluosol DA の影響——plaque forming cell よりの検討 SRBC 免疫 1 日後に試料投与した場合の plaque forming cell 数を白血球  $10^6$  個あたりのそれで検討した。Control 群の Plaque forming cell 数は免疫後 5 日目にピークとなり、以後急速に減少した。Fluosol DA 10, 20 および 40ml/kg 投与群 5 日目の plaque forming cell 数はそれぞれ 459, 513, 610 /  $10^6$  であり、いずれの群も control 群の  $700/10^6$  より低い値であった。5 日目以後 10ml/kg 投与群は control 群と同様に急速に減少したが、20 および 40ml/kg 群では 5 日目以降も増加し、6 日目にピークとなった。とくに 40ml/kg 投与群の plaque forming cell 数は  $930/10^6$  であり control 群のピーク時よりも高く、SRBC 抗体産生亢進作用を示した。

脾臓あたりの plaque forming cell 数を算出してもほぼ同一傾向を示し、免疫 1 日後試料投与では Fluosol DA は 40ml/kg 投与で carbon は 250 mg/kg 投与で SRBC 抗体産生亢進作用のあることが分かった(図 6)。

SRBC 免疫 1 日前に試料を投与した場合、白血球  $10^6$  個あたりの plaque forming cell 数も、脾臓あたりのそれも、control 群が 5 日目にピークになるのに対し、Fluosol DA 投与群は 20 および 40 ml/kg 投与群でピークが 6 日目となり、1 日ではあるが抗体産生のピーク遅延作用がみられた。10 ml/kg 群では変化なく、一方 carbon は 250mg/kg 投与で抑制作用がみられた。

SRBC 免疫 4 日前に試料を投与すると、白血球  $10^6$  個あたりの plaque forming cell 数は Fluosol DA 20 および 40ml/kg 投与で抗体産生抑制作用を示し、10ml/kg では変化なく、脾臓あたりのそれでは 10ml/kg では亢進、20 および 40ml/kg 投与で遅延作用を示した。

SRBC 免疫 7 日前に試料を投与すると、Fluosol DA は白血球  $10^6$  個あたりの plaque forming cell 数に対して、10, 20 および 40ml/kg 投与でほとんど抑制作用を示さなかったが、脾臓あたりの plaque forming cell 数でみた場合、各群とも亢進作用を示した(図 7, 表 1)。

群で5日目に  $371/10^6$  でピークとなり、以後減少傾向を示した。Fluosol DA 投与においては、10 ml/kg 群は5日目がピークで  $297/10^6$  とわずかに産生抑制がみられたが、20ml/kg群は6日目がピークで  $378/10^6$ 、40ml/kg 群は5日目がピークで  $461/10^6$  と control 群より高かった。以上よりLPS 免疫1日後の試料投与ではFluosol DAは40ml/kg 投与でLPS抗体産生亢進作用を示した。

LPS免疫1日前に試料を投与すると、Fluosol DA 40ml/kg 投与群で白血球  $10^6$ 個あたりの plaque forming cellよりみた抗体産生のピークは遅延していた。Carbon ではLPS抗体産生に対して明確な影響は認められなかった(表1)。

c) SRBC 抗体産生に及ぼす Fluosol DA 投与の影響——赤血球凝集素価による検討 SRBC 免疫1日後に試料を投与した場合を検討した。Control 群の HA 価は実験期間中 8~9 であった。Fluosol DA 10ml/kg 投与群の HA 価は control 群と差がなく、20ml/kg投与4日目のHA価は7.5でわずかな抑制がみられたが、7日目は control 群の8.5に対して10.5であった。40ml/kg 投与群では4日目のHA価は7.5とわずかな抑制が認められたが、5日目では9.75と急激なHA 価上昇を示し、以後その価を維持した。Carbon 投与群も control 群とのあいだに著しい差はなかった。Cyclophosphamide 25mg/kg 投与群のHA価は実験期間中2~3であり著しい抑制が認められた。

SRBC免疫1日前にFluosol DAを投与した場合、4日目の HA 価は各群とも6~6.5の範囲にあり、control 群の7.5にくらべてわずかな抑制が認めら

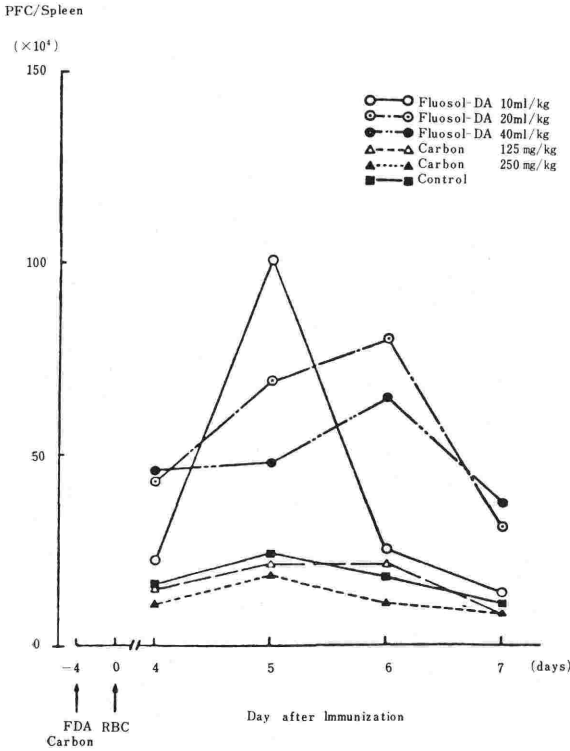


図 7. Effect of Fluosol-DA and carbon on antibody plaque response of rats to sheep erythrocytes. Samples were injected into rats 4 days before immunization on day 0. Data are represented per spleen cells.

b) LPS 抗体産生に及ぼす Fluosol DA 投与の影響——Plaque forming cellよりの検討 LPS 免疫1日後に試料を投与した場合の白血球  $10^6$ 個あたりの plaque forming cell 数は control

表 1. Effect of Fluosol-DA, Carbon and Cyclophosphamide on Number of PFC in Rats Immunized with either SRBC or LPS

* Day of Sample Injection	SRBC						LPS			
	Fluosol-DA		Carbon		Cyclophosphamide		Fluosol-DA		Carbon	
	PFC/ $10^6$	PFC/spleen	PFC/ $10^6$	PFC/spleen	PFC/ $10^6$	PFC/spleen	PFC/ $10^6$	PFC/spleen	PFC/ $10^6$	PFC/spleen
+1	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↑	→	→
-1	→	→	↓	↓	/	/	→	↑	→	→
-4	↓	↑	↓	→	/	/	/	/	/	/
-7	→	↑	↓	↓	/	/	/	/	/	/

↓ : marked suppression    ↓ : suppression    ↑ : marked enhancement    ↑ : enhancement  
 → : retard    - : no effect

\* Days before(-) or after(+) immunization

表 2. Effect of Fluosol-DA, Carbon and Cyclophosphamide on Haemagglutinin Titer in Rats Immunized with either SRBC or LPS

Day* of Sample Injection	SRBC			LPS	
	Fluosol-DA	Carbon	Cyclophosphamide	Fluosol-DA	Carbon
+ 1	↑	↑	↓	↑	↑
- 1	→	→	/	—	—
- 4	—	→	/	/	/
- 7	—	→	/	/	/

↓ : marked suppression ↑ : enhancement → : retard — : no effect  
 \* Days before(-) or after(+) immunization

表 3. Effect of Fluosol-DA, Carbon and Cyclophosphamide on Number of Spleen Cells (x10<sup>6</sup>) in Rats Immunized with SRBC

Day after Immunization	Day5				Day6				
	Day of sample Injection	+ 1	- 1	- 4	- 7	+ 1	- 1	- 4	- 7
Group									
Fluosol-DA 10ml/kg		91.4** ±15.5	66.8 ±28.4	131.7* ±27.3	82.0* ±12.0	86.0** ±28.2	67.0 ±33.8	99.2 ±23.7	99.8 ±31.5
Fluosol-DA 20ml/kg		107.2** ± 9.8	77.3 ±35.9	110.2 ±11.5	93.2** ±26.1	105.1** ±26.9	85.5* ±22.4	133.4** ±29.2	117.2* ±25.9
Fluosol-DA 40ml/kg		107.8** ±12.1	50.5 ±18.7	95.4 ±29.8	97.3** ±19.7	115.9** ±35.6	51.4 ±28.2	102.9 ±32.6	121.9** ±21.4
Carbon 125mg/kg		49.2 ± 6.4	47.8 ± 8.4	73.3 ±24.1	51.9 ±16.0	50.6 ± 9.2	64.0 ±26.0	76.4 ±12.2	93.0 ±19.0
Carbon 250mg/kg		65.1 ± 8.3	56.2 ± 9.9	76.2 ±25.2	61.1 ±18.6	73.6* ±13.4	66.4 ±18.6	83.8 ±13.0	80.4 ±16.4
Cyclophosphamide 25mg/kg		15.0** ± 5.3	—	—	—	11.6** ± 2.3	—	—	—
Control (non-treated)		47.6 ± 6.0	44.6 ± 8.0	85.4 ±28.0	54.6 ±16.7	40.1 ± 7.3	47.4 ±19.4	71.4 ±11.3	78.1 ±15.8

\* : Statistical significance from the control at p<0.05  
 \*\* : Statistical significance from the control at p<0.01

れた。10ml/kg 投与群では 5 日以降の HA 価は control 群と差がなかったが、20、および 40ml/kg 群では抑制が 6 日まで認められ、7 日目では逆に高価となり、抗体産生遅延が考えられた。

SRBC 免疫 4 日前に Fluosol DA を投与した場合は 10ml/kg 群は control 群と差がなく、20ml/kg 群は 4 日目の HA 価のみわずかな減少があり、40 ml/kg 群では逆に control 群より高値を示した。

SRBC 免疫 7 日前に Fluosol DA を投与すると HA 価は control 群とのあいだに差がなかった(表 2)。

d) LPS 抗体産生に及ぼす Fluosol DA 投与の影響——赤血球凝集価による検討 LPS 免疫 1 日後に試料を投与した場合、control 群の HA 価は 7

日まで上昇を続け 9.5 となった。Fluosol DA 投与群では 5 日目までは control 群とのあいだに差は認められなかったが、6 日目の 10、20 および 40 ml/kg 群はいずれも control 群より高値を示した。

LPS 免疫 1 日前に Fluosol DA を投与すると、5 日目までは control 群と同じ HA 価を示し、6 日目に control 群は下降するのに対し Fluosol DA 群はそのままの値を維持した(表 2)。

e) 脾臓中の白血球数に及ぼす Fluosol DA の影響 SRBC を抗原として免疫した場合、免疫 1 日後の Fluosol DA 投与群は 5 日目および 6 日目において各群いずれも有意な白血球数の増加が認められた。Carbon 250mg/kg 投与群 6 日目でも増加したが、それは Fluosol DA 10ml/kg 投与

表 4. Effect of Fluosol-DA and Carbon on Number of Spleen Cells ( $\times 10^6$ )  
in Rats Immunized with LPS

Group	Day after Immunization		Day 5		Day 6	
	Day of sample Injection		+ 1	- 1	+ 1	- 1
Fluosol-DA 10ml/kg			77.1 ± 7.1	102.8 ±23.7	51.6 ±19.8	75.0 ±18.2
Fluosol-DA 20ml/kg			105.2** ±19.3	95.9 ±14.8	49.0 ±19.2	96.6 ±20.4
Fluosol-DA 40ml/kg			131.5** ±28.8	92.2 ± 9.7	85.0** ±17.7	86.9 ±17.4
Carbon 125mg/kg			60.8 ±14.3	81.3 ±16.6	31.8 ±17.4	80.4 ±20.8
Carbon 250mg/kg			74.2 ±1.35	86.1 ±21.7	42.5 ±12.1	93.0 ±12.4
Control (non-treated)			69.7 ±10.1	73.3 ±17.7	40.2 ±11.2	80.3 ±22.6

\*\* : Statistical significance from the control at  $p < 0.01$

群より少なかった。また、cyclophosphamide 25 mg/kg投与群の白血球数は5日および6日目で有意な減少がみられた(表3)。

SRBC免疫前のFluosol DA投与では7日前投与群で各群いずれもcontrol群の約1.5~2倍の白血球数増加が認められた。

LPSを抗原として免疫した場合、免疫1日後Fluosol DA 20および40ml/kg投与5日目の白血球数は有意に増加していた。免疫前Fluosol DA投与群においては白血球数増加は認められたがcontrol群とのあいだに有意差はなかった(表4)。

#### 4) 考 案

RESは細網細胞と内皮系からなる間葉性の細胞群より構成され、phagocytosis, storage, 活動遊走, 抗体, オブソニンの産生など共通の機能を持ち、生体防御機構の重要な一部を担うものと考えられているので、RESに取り込まれるFluosol DA粒子が網内系の機能にいかなる影響を及ぼすかは、Fluosol DAの安全性と直結する問題である。

Fluosol DAの投与量を変化させ、RES 貪食能の経時変化を追跡した。5 ml/kg群は生食と同様全く変化しなかったが、他は投与1時間後は10~20%の抑制があり、その後は投与量の少ない順に速く正常に回復し、ついで機能亢進がみられた。すなわち、40および60ml/kgの大量投与、とくに60 ml/kgの場合には貪食能の活性化、亢進が遅れて

2週後に亢進となった。このRES貪食能の抑制された時点では組織学的にもすでにPFC粒子を取り込んだ細胞がさらにcarbon粒子を取り込まないような像もみられた。一方、20あるいは40ml/kg投与1週後のように貪食能亢進時には、Kupffer細胞はPFC粒子を取り込んでいても同時にcarbon粒子を対照群と同程度取り込み、赤脾髄のmacrophageはPFC粒子を取り込んでいても対照群よりさらに多くのcarbon粒子を取り込んでおり、貪食能亢進は肝のKupffer機能の亢進もあるが、脾の作用がより大きいと思われた。

RES機能が変化すればエンドトキシンに対する処理能も変わるといわれているので、エンドトキシン投与に対する生存率よりFluosol DAのRESに及ぼす影響を検討した。Fluosol DA投与24時間後はエンドトキシンに対する生存率の低下がみられた。これはcarbon粒子のクレアランスからいえばごく軽度とみられるRESのblockといえども、エンドトキシンの処理が遅れ、血中でその毒性を強く発現したためと考えられる。Fluosol DA投与72時間後も2週間後も20, 40ml投与群では対照群と同じであるのに対し、60ml/kgのそれは対照群より低下していた。

したがってFluosol DA投与後のRESは、投与24時間以内では機能低下がみられるが、40ml/kg投与以下では24時間以降に回復がみられ、60ml/kg投与では2週間後においても機能の完全な回

復はみられず、RES機能という面より考えれば40 ml/kg以上の大量投与は避けた方が好ましい。

一方、Fluosol DA 投与後は一過性であってもRES 貪食能の亢進がみられるが、PFC そのものは生物学的に不活性であるので、界面活性剤として使用されている yolk phospholipids が作用した可能性はある。しかし、この貪食能亢進もエンドトキシンに対する生存率に好影響をもたらすほどには作用していなかった。

RESの機能は免疫過程のさまざまな段階に作用していると思われるので、Fluosol DA 投与後の抗体産生能について検討した。

Sabet ら<sup>5)</sup>は carbon粒子をマウス腹腔内に投与してRESを封鎖した後、SRBC で免疫し脾臓中の抗SRBC抗体産生細胞の出現について検討し、貪食細胞の抗原処理が妨害されると、抗体産生は抑制されると述べている。前述のように Fluosol DA は RES blocking agent であるので抗体産生能を調べたが、われわれの成績は Sabet のそれと異なり、免疫1日後に Fluosol DA あるいは carbon 粒子を投与すると、著しい plaque forming cell 産生増加が認められた。RES blocking agent 投与による抗体産生増加については Thorbecke<sup>6)</sup> や Fisher らも報告しているが、それは physiological stimulation に基づくものであるともいわれている。SRBC 免疫1日前に Fluosol DAを投与した場合、plaque forming cell 産生のピークは control 群よりも遅く、かつ、ピーク時の plaque forming cell 数は低く、PFC 産生の遅延と同時に抑制が認められた。この原因は免疫前に RES blocking agent を投与すると、後から投与された SRBC のあいだで macrophage の phagocytic activity に対する競争が生じるために macrophage が十分量の抗原を取り込めなかったことによるものか、それとも RES blocking agent が macrophage の機能を妨害したために、抗原を処理し免疫担当細胞への情報伝達が遅延したことによるものであると推察される。その他に macrophage 上に抗原 receptor があり、それが RES blocking agent で非特異的に占有されるために抗原の取り込みができなくなり免疫抑制を示すという考えなどもある。一方、LPSを抗原として免疫した場合においても plaque forming cell

産生遅延が認められ、RES blocking agent による抗原の脾臓へ侵入妨害、すなわち、LPSのB cell への接触遅延が考えられた。

また、全身の免疫力の指標となる HA 価においても、4および5日目では Fluosol DA の抑制作用が認められたが、7日目では control 群と差はなかった。これらより Fluosol DA 免疫1日前投与で認められた抗体産生への影響は抑制というよりも遅延と考える方が適切であり、plaque forming cell 数よりの検討結果と一致する。

HA価は Fluosol DA は4日前および7日前投与においても control 群と差はなかった。Plaque forming cell 数の著しい抑制の認められた carbon 投与群の HA 価は6日目まで抑制されたが7日目には control 群と同じ抗体価を示した。Cyclophosphamide は免疫1日後に投与すると核酸合成阻害による著しい plaque forming cell 産生および HA 価の抑制が認められた。つまり生体の免疫力の低下は cyclophosphamide 投与群にみられたような plaque forming cell 産生が著しく抑制されたときに生じるものであり、Fluosol DA や carbon 投与により認められた plaque forming cell 産生抑制や遅延は生体の免疫力低下には至らないものと考えられた。

したがって、Fluosol DA は免疫後に投与すると physiological stimulation による抗体産生増強が、また、免疫前に投与するとその投与量によってRES機能に作用して抗体産生遅延を示すものと考えられる。

## 5) ま と め

Fluosol DA の安全性と投与量の限界を知るために、Fluosol DA 投与後の網内系機能を検討し、以下の結果をえた。

① Fluosol DA 投与群では投与量に関係なく投与1時間後に貪食能の軽度抑制傾向がみられた。その後の貪食機能の推移には dose response がみられ、20ml/kg 投与群は1週後に最高の亢進状態に達し、2週後に正常状態に復帰した。40ml/kg 投与群は72時間以降より亢進状態となり、やはり1週後に最高に達し以後は正常状態への収束がうかがえた。60ml/kg 投与群は72時間後に対照群とほぼ等しい phagocytic index を示し、貪食能は回復したが2週後にはやや亢進状態にあった。



② Fluosol DA 投与初期における食欲能抑制時には、肝において、すでにPFC粒子を取り込んだ Kupffer 細胞はもはや carbon 粒子を取り込まないのがみられた。また食欲能亢進時には、PFC 粒子を取り込んだ Kupffer も carbon 粒子を対照群と同程度に取り込み、一方脾の赤脾髄の macrophage は PFC 粒子を取り込んでいても carbon 粒子を対照群よりさらに多く取り込んでいた。

③ エンドトキシンに対する生存率は Fluosol DA 投与24時間後においては、20, 40, および60 ml/kg いずれの投与でも対照群より低かった。72 時間後では20および40ml/kg 投与群においてほぼ完全な回復がみられたが、60ml/kg 投与群では2 週間後においても完全な回復はみられなかった。

④ Fluosol DA は免疫後に投与すると抗体産生増強作用が、免疫前に投与すると抗体産生遅延

作用が認められた。これら作用は Fluosol DA 20 ml/kg 以上の投与で認められ、とくに60ml/kgで強かったが、10ml/kg 投与では認められなかった。

⑤ 網内系機能変化よりみれば、Fluosol DA 投与量は40ml/kg までは安全と思われるが、20 ml/kgにとどめておけば無難である。

#### 文 献

- 1) Mitsuno, T. *et al.* : *Ann. Surg.* (in press)
- 2) 大柳治正, 齊藤洋一: *治療学* 5:519, 1980.
- 3) Fluosol DA: Technical Information, Ser. No. 6, Green Cross, 1980.
- 4) Jerne, N.K. *et al.* : *Science* 140:405, 1963.
- 5) Sabert, T. Y. : *Proc. soc. Exp. Biol. Med.* 128:274, 1968.
- 6) Thorbecke, G. J. : *Progr. Allergy* 16: 559, 1962.
- 7) Fisher, S. : *Immunology* 11:127, 1966.
- 8) Sabert, T. Y. : *Immunology* 17:535, 1967.