

# *Lentinus edodes mycelia* (シイタケ菌菌糸) 水溶性抽出物のマウスマクロファージに対する作用と細菌感染防御効果

1) 自治医科大学微生物学教室  
2) 野田食菌工業株式会社飯塚研究所

松村 治雄<sup>1)</sup>, 寺田泰比古<sup>1)</sup>, 前田 浩明<sup>2)</sup>, 中野 昌康<sup>1)</sup>

(昭和62年3月27日受付)

## 緒 言

*Lentinus edodes mycelia* (シイタケ菌菌糸)の子実体からの抽出物は抗腫瘍効果およびインターフェロン誘導能があることがすでに報告されている<sup>1-6)</sup>。また、*L. edodes* を培養し、子実体を作る前にそれから温水で抽出した水溶性抽出物 (LEM) およびアルコール不溶画分 (LAP) にも抗腫瘍効果があり、このLEM および LAP の抗腫瘍効果は宿主の防御機構が活性化された結果であることが示唆されている<sup>7)</sup>。したがって、これらの防御機構活性化作用にマクロファージ (M $\phi$ ) が関与していることが推定される。そこで、我々は LEM および LAP をマウスに投与した際の M $\phi$  の活性化作用について、monokine (lymphocyte activating factor: LAF) 産性能、遊走能、貪食能、殺菌能などを調べた。その結果、それらを投与されたマウスは細菌感染に対して抵抗性を示すのみならず、それらマウスの腹腔滲出 M $\phi$  は LAF 産性能、遊走能、貪食能、殺菌能が高進していることを見出したので、それについて報告したい。

## 材 料 と 方 法

1. マウス。当教室にて自家繁殖させている C57BL/6, BALB/c, B10.A(5R) の早および含 7~15週令を用いた。  
2. LEM, LAP の調製。Sugano らの方法によった<sup>7)</sup>。即ちサトウキビの搾粕と米ヌカの混合物の固体培地中において *L. edodes* を培養し、子実体を形成する前の段階において、40~50°C の温水にて 60 時間加温して菌を自己融解させ、また、そこに含まれる菌の

酵素によって培地を部分消化させた後で、それを 60°C の温水にて抽出後ろ過し、凍結乾燥した粉末を LEM とした。次に LEM を水に溶かし、そこに 4 倍量のエタノールを加え、生じた不溶物を回収して LAP とした。LEM および LAP は、特にことわらない限り、いずれもリン酸緩衝液 (PBS, pH 7.2) に溶解させ、ろ過滅菌 (Acrodisc, pore size 0.45  $\mu$ m, Gelman Science Inc., Michigan, USA) したのちに使用した。

3. LPS. *Salmonella typhimurium* LT2 より phenol抽出法にて得た<sup>8)</sup>。LPS は PBS に溶解させて使用した。

4. 大腸菌の培養上清。*Escherichia coli* K-12 株をブイヨン培地にて 37°C 24時間培養し、8000 g で遠心した後、上清をろ過し、7%非働化ウシ胎児血清 (FCS) 加 RPMI 1640 培地 (Flow Laboratories Inc., Va, USA: 10 mM Hepes, 100 u/ml penicillin G, 100  $\mu$ g/ml streptomycin を含む) にて1/20に希釈した。

5. 腹腔滲出細胞および腹腔 M $\phi$  の採取と培養。無処置マウス、あるいは、あらかじめ4日前にチオグリコレート培地 2 ml を腹腔内 (ip) に注射したマウスに、5 ml の RPMI 1640 培地を用いて、腹腔を洗浄して細胞を集め、さらに、RPMI 1640 培地で3回洗浄したものを腹腔滲出細胞 (PEC) とした。これら PEC は 7% FCS 加 RPMI 1640 培地に浮遊させ (2 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/ml), 24穴プレート (マルチプレート, 住友ベークライト, 東京) に入れて、37°C にて炭酸ガス培養器で培養した。また、この PEC を 1 時間培養した後で、3 回洗い、非付着細胞を除いたものを M $\phi$  とした。ここで用いた M $\phi$  は95%以上が M $\phi$  であること

が Giemsa 染色および nonspecific esterase 染色により確かめられている。それら  $M\phi$  も 7%FSC 加 RPMI 1640 培地を加え更に培養を続けた。

6. LAF 活性の誘導および測定。PEC あるいは  $M\phi$  に LAP または LPS を加えて24時間培養し LAF を産生させる。その培養上清を採取、遠心後、上清を PBS (pH 7.2), 次いで RPMI 1640 培地に対して十分に透析し、LAF 試料とした。LAF 活性の測定は C3 H/HeJ マウスの胸腺細胞を用いた co-stimulating assay<sup>9)</sup> により、4 倍希釈の LAF 試料における  $^3H$ -thymidine の取り込みによって行なった。

7. 走化性の測定。腹腔  $M\phi$  の走化性の測定は Boyden ら<sup>10)</sup>によって考案され、Horwitz ら<sup>11)</sup>によって改良された方法に従った。即ち、Boyden chamber (Nuclepore Corp., Pleasanton, CA, USA) の lower chamber には 7%FSC 加 RPMI 1640 培地に溶解させた LAP あるいは大腸菌培地上清液を入れ、upper chamber には無処置マウスから得た PEC (常在 PEC) を加えて、37°C で3時間培養し、chamber を隔てる pore membrane (pore size 5 $\mu$ m) の pore を通り抜けて下面に遊走してきた  $M\phi$  を Giemsa 染色し、顕微鏡にて数えた。結果は10視野あたりの遊走した  $M\phi$  の数で示した。

8. 貪食能測定。無処置マウスあるいは、あらかじめ3日前と1日前に LAP 100  $\mu$ g を ip 注射されたマウスから PEC を採取し、直径 35 mm のプラスチックディッシュ (Corning Glass Works, Corning, NY, USA) に 1.5 ml ずつ入れ (2 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/ml), 炭酸ガス培養器内で 37°C 1時間培養した。培養後 latex beads (直径 1 $\mu$ m, Poly-science Inc., Warrington, PA, USA) を最終濃度で 0.02%となるように加え、再び 37°C で20分間培養した。次に、RPMI 1640 培地にてよく洗い、残っている付着細胞を固定、染色し、latex beads を貪食している細胞の割合を求めた。

9. 細菌。教室保存の *Pseudomonas aeruginosa* および *Salmonella enteritidis* No. 11 株を使用した。それぞれ普通寒天培地に20時間培養、生理食塩水に浮遊させ、OD<sub>630</sub> にて吸光度を測定 (Ultrospec II, LKB, Cambridge, England) することにより、標準曲線と対比させながら菌数を求め、その菌液 0.2 ml をマウスの腹腔内に注射した。

10. 感染防御効果および殺菌活性増強能の測定。マウスにあらかじめ LEM, LAP あるいは LPS を腹腔に注射し、特にことわらない限り24時間後に菌を腹腔に注射した。感染防御効果については、感染後時間を追

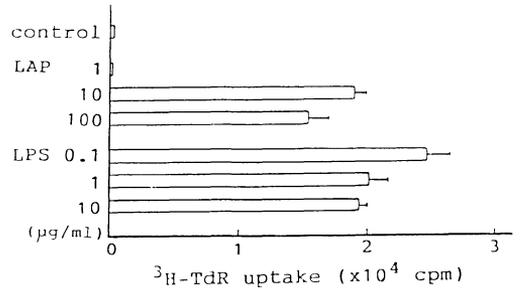


図1

って生死を観察することにより、50%死亡時間を算出し、また感染7日後のマウスの生存率を調べることにより求めた。殺菌活性については、感染24時間後に腹腔を生理食塩水で洗浄することにより回収される菌と、脾臓を 5 ml の生食水とともにホモジナイザー (AM-1, 日本精機, 東京) にて破碎、そこに含まれる菌数とをそれぞれ定量培養することによって測定した。

## 結 果

### 1. LAF 活性誘導能

まず最初に LAP の刺激によって PEC から monokine の産生が誘導できるかどうかを調べる目的で、チオグリコレート培地をあらかじめ注射したマウスから得た PEC の  $M\phi$  (TGB- $M\phi$ ) に LAP あるいは LPS (陽性対照) を加えて培養し LAF 活性を指標として調べた。図1に示したように、LAP 10 または 100  $\mu$ g/ml を加えて培養した上清には LPS を加えて培養した  $M\phi$  の上清同様に高い LAF 活性の誘導が認められた。しかし、LAP 1 $\mu$ g の添加では LAF 活性は認められなかった。この結果より、適当な濃度の LAP で刺激を与えられたマウス  $M\phi$  は monokine の1種である LAF<sup>12)</sup>、すなわち IL-1 を産生することが明らかとなった。

### 2. 走化性。

次に、LAP の  $M\phi$  に対する作用として走化性を Boyden chamber を用いて調べた。図2に示すように、LAP 100  $\mu$ g/ml を加えた場合、陽性対照として加えた大腸菌培養上清同様に、TGB- $M\phi$  に対して強い走化性が認められた。また、LAP 10  $\mu$ g/ml を添加した場合にもかなりの走化性が認められた。さらに、ここではデータとして示さないが、無処置マウスの腹腔  $M\phi$  (常在  $M\phi$ ) を用いた実験でも同様な結果が得られている。

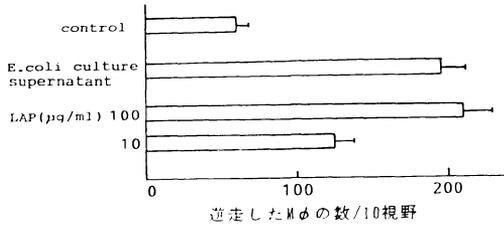


図2

〔表1〕 貪食能増強効果

ビーズ数/細胞	対照	LAP
0	62.3(%)	32.3
1-9	22.6	23.2
≥10	15.1	44.6

BALB/c マウス (10週令, ♂)

3. 貪食能増強効果。

次に、生体防御、特に細菌感染防御と密接な関係があると考えられ、また Mφ の活性化の指標の1つとされる貪食能に対する LAP の作用を調べた。無処置マウスと LAP 投与マウスからの Mφ を用いて、それらの latex beads 貪食能を比較すると (表1)、1個以上貪食している割合は LAP 67.8% と、対照の37.7%より多く、また、10個以上貪食している割合で比較しても LAP 44.6% と、対照の15.1%より多かった。この実験では latex beads の貪食時間を20分間に設定しているが、40分間になると LAP 投与群、対照群の両群ではほとんどすべての Mφ が latex beads を10個以上貪食してしまう。したがって、LAP 投与群の Mφ は latex beads 貪食の速度が高まっていると考えられる。

4. 感染防御効果。

上記の結果より、LAP は Mφ の貪食能を高めていることが明らかとなったので、次に、LAP をあらかじめ投与されたマウスが細菌感染防御能を付与されているか否かを調べた。即ち、LAP 100 µg をマウス腹腔に投与し、その24時間後に *P. aeruginosa* を感染させ、マウスの生死を観察した。LAP 投与群では対照に比較して50%のマウスが死亡するまでの時間が明らかに延長しており、また生存率も高かった (表2)。

5. 殺菌活性増強効果。

LAP をあらかじめ投与することによって生じる感染防御効果は生体内での殺菌活性が増大したと推定されるので、それを確かめる為に、あらかじめ、LEM

〔表2〕 *P. aeruginosa* の感染<sup>a)</sup> に対する感染防御効果

	50%死亡時間	生存率
対照 (20匹)	20時間	19%
LAP (21匹)	50時間	35%

a) *P. aeruginosa* 1×10<sup>8</sup> 個/マウス  
C57BL/6 マウス (7~10週令, ♀)

〔表3〕 *P. aeruginosa* の感染<sup>a)</sup> に対する殺菌能増強効果

薬 剤	生菌数 (×10 <sup>4</sup> 個/マウス)	
対 照	脾臓	454±220
	腹腔	812±188
LEM 100 µg	脾臓	5.2±2.2
	腹腔	13±9
LEM 10 µg	脾臓	8.7±7.6
	腹腔	3.2±1.5
LAP 100 µg	脾臓	8.9±7.5
	腹腔	3.5±2.1
LAP 10 µg	脾臓	60±29
	腹腔	7.6±3.6

a) *P. aeruginosa* 4.8×10<sup>7</sup> 個/マウス  
B10. A(5R)マウス(15週令, ♀)

〔表4〕 *S. enteritidis* の感染<sup>a)</sup> に対する殺菌能増強効果

薬 剤	生菌数 (×10 <sup>8</sup> 個/マウス)	
対 照	脾臓	18.5±8.3
	腹腔	98.0±3.0
LPS 10 µg	脾臓	3.9±0.2
	腹腔	98.0±3.0
LEM 1 mg	脾臓	1.4±0.4
	腹腔	2.3±0.3
LEM 100 µg	脾臓	2.4±0.4
	腹腔	3.1±0.5

a) *S. enteritidis* 1.2×10<sup>6</sup> 個/マウス  
BALB/c マウス(12週令, ♂♀)

あるいは LAP を投与したマウスに *P. aeruginosa* あるいは *S. enteritidis* を感染させ、24時間後の脾臓および腹腔における生残菌数を算定して、殺菌活性を判定した。*P. aeruginosa* を感染させた場合 (表3)、対照群に比べて、LEM および LAP を投与された群では、脾臓および腹腔における菌数が著しく減少した。*S. enteritidis* を感染させた場合も同様な結果が得ら

〔表5〕 LEM の投与時期の検討<sup>a)</sup>

投与の日 (LEM 100 $\mu$ g/マウス)	生菌数 ( $\times 10^8$ 個/マウス)
対 照	140 $\pm$ 10
感染 1 日前	56 $\pm$ 2
3 日前	50 $\pm$ 2
5 日前	40 $\pm$ 7
7 日前	68 $\pm$ 29

a) *S. enteritidis* ( $1 \times 10^6$  個/マウス)の感染に対する BALB/c マウス(8~10週令, ♂)の殺菌能増強効果で調べた。

〔表6〕 LAP の投与方法の検討<sup>a)</sup>

LAP の投与 (感染 n 日前, 100 $\mu$ g/1回)	生菌数 ( $\times 10^8$ 個/マウス)
対 照	53 $\pm$ 21
1(1回)	9.0 $\pm$ 3.0
3, 1(2回)	3.7 $\pm$ 0.7
5, 3, 1(3回)	5.0 $\pm$ 1.0
7, 5, 3, 1(4回)	19 $\pm$ 8
10, 7, 5, 3, 1(5回)	24 $\pm$ 17
LPS 10 $\mu$ g, 1 日前(1回)	3.1 $\pm$ 1.7

a) *P. aeruginosa* ( $7 \times 10^7$  個/マウス)の感染に対する C57BL/6 マウス(8週令, ♂)の殺菌能増強効果で調べた。

〔表7〕 LAP 投与による腹腔細胞の population の変化

マウス	LAP	腹腔からの回収細胞数 ( $\times 10^6$ 個/マウス)		
		PEC	M $\phi$	好中球
C57BL/6 <sup>a)</sup>	-	52 $\pm$ 3	13 $\pm$ 2	2.0 $\pm$ 0.2
	+	77 $\pm$ 7	28 $\pm$ 1	2.8 $\pm$ 1.0
BALA/c <sup>b)</sup>	-	31 $\pm$ 4	92 $\pm$ 8	ND <sup>c)</sup>
	+	36 $\pm$ 4	100 $\pm$ 19	ND

a) 13週令, ♂を使用した。

b) 12週令, ♂を使用した。

c) Not determined

れた(表4)。

LEM および LAP には殺菌能増強効果が認められたが、より有効な投与方法を調べるために、まず、LEM 100  $\mu$ g を *S. enteritidis* 感染に先立って1回投与する際の投与時期の検討を行った。その結果、表5に示すように、*S. enteritidis* に対する LEM の殺菌能増強効果は感染1, 3または5日前に投与した場合

には認められたが、7日前に投与した場合にはあまり認められなかった。次に、LAP 100  $\mu$ g を1~5回投与することによる *P. aeruginosa* に対する殺菌能増強効果を調べた(表6)。その場合、1~3回の投与では殺菌能増強効果が認められるが、4回以上の投与ではあまり効果は認められなかった。

#### 6. LAP 投与による腹腔内の細胞集団の変化。

LEM や LAP をあらかじめ投与することによって、局所に M $\phi$  や好中球が増加し、それら動員された食細胞が感染抵抗性に関与している可能性がある。そこで次のような検討を行った。LAP を ip に接種し、24時間後に採取した PEC 中の M $\phi$ 、好中球中の割合を調べた(表7)。そこでは、LAP 投与によって全 PEC 数はわずかながら増え、M $\phi$  や好中球も若干増加する傾向が見られる。しかし、炎症と呼ぶにふさわしい程には好中球の浸潤は認められない。この結果から、LAP を ip 投与しても急性炎症はほとんど起こらないこと、従って、顕著な食細胞の動員は起こらないことが示唆された。

## 考 察

*L. edodes mycelia* の水溶性抽出物 (LEM) およびそのアルコール不溶画分 (LAP) には in vivo 投与でラットの腹中肝癌 AH414 の増殖を阻止することが知られている<sup>7)</sup>。われわれは既に LEM はマウスに対する致死毒性が極めて低いこと、in vitro でマウスの脾細胞に mitogenic な作用があるが、胸腺細胞には mitogenic な作用はほとんど見られないことなどを報告した<sup>13)</sup>。この論文では LEM あるいは LAP を in vitro でマウス M $\phi$  に作用させると、LAF が産生され、走行性が高まり、またマウスの in vivo に投与すると PEC 中の食細胞の貪食能が高まり、感染抵抗性を与え、腹腔内や脾臓の中で感染菌の増殖が著しく阻止されることを示した。

LEM に見られるそれらの活性は LAP にも大体保持されていることから、LEM 中の活性成分はアルコール沈殿によって LAP に移行したと考えてよさそう。LAP を化学分析すると、それは主に糖 (57.6%) とタンパク (24.8%) からなっている<sup>7)</sup>。主な糖は xylose (30.2%), galactose (20.3%), glucose (19.9%), arabinose (17.4%), そして mannose (9.5%) である。しかしながら、LAP の活性本体についての分子構造は現在の所全く明らかにされていない。また、これら活性成分が *L. edodes mycelia* その物に由来するのか、あるいは *L. edodes* を培養した培地成分に由

来するのかも明らかでない。培地にはサトウキビの搾粕と米ヌカが用いられているが、サトウキビの搾粕にも抗腫瘍効果の有ることが報告されていることから<sup>14)</sup>、LAPの活性成分が*L. edodes*の酵素によって消化された培地成分に由来する可能性も残されている。

LAF活性の測定に、マウス胸腺細胞を用いた co-stimulating assay<sup>9)</sup> が使用されたが、LAPにはLEMあるいはLPSと同様に、マウス胸腺細胞に対して mitogenic な作用がないので、そこで現われた活性(図1)はLAPがMφに作用して生じたLAFによる活性と考えてよからう。さらに、われわれはLAPを in vitro でマウスの脾臓細胞またはMφに作用させて interferon (IFN) の産生についても調べたが、殆どその産生は認められなかった(未発表データ)。即ち、LAF活性測定の際に陽性対照として用いたLPSはMφに対して強力なLAFやIFN-α/β誘導作用を持つことが知られているが<sup>15)16)</sup>、LAPにはLAF誘導作用はあるがIFN誘導作用は見られない。これはLAPの monokines 誘導作用はLPSに比べて選択性が有ることを示している。既に、in vitro でLEMは胸腺細胞に対して殆ど mitogenicity を示さず、脾臓細胞に対して多クローン性B細胞活性作用は示さないにもかかわらず、脾臓細胞には mitogenic な作用を示すことが知られていたが<sup>13)</sup>、その脾臓細胞に対する mitogenic な作用はLEMの脾臓細胞に含まれるT細胞やB細胞に対する直接的な mitogenicity と考えるよりも、むしろMφによるLAF産生を介してのそれらリンパ球分裂作用と考えればよく説明できる。

食細胞はある種の刺激に反応して陽性あるいは陰性の走行性を示す。大腸菌の培養ろ液は強い陽性走化性物質であり、その中に含まれる formylmethionyl peptides<sup>17)</sup> や lipids<sup>18)</sup> が走行性を起こすことが知られている。LAPにもかなり強い陽性走化性作用が見られた(図2)。また、LAPの刺激を受けたMφは貪食性が高まっていて、短時間に多数の粒子を貪食できた(表1)。これらの成績はLAP刺激がMφの microfilament の運動を高めるように働いていることが示唆される。また、これらMφの走化性や貪食性の高まりは細菌感染に対する抵抗性の増大とも或る程度関連することが推定される。

あらかじめLAPを ip 投与されたマウスの24時間後のPEC数やその細胞構成の変化を調べてみると、僅かながら全PEC数が増え、Mφや好中球に若干増加の傾向が見られるが、炎症と呼ぶほどには好中球は

増加しない(表7)。したがって、LEMやLAPを投与した後生体に見られる感染防御効果や殺菌性の高まりは、腹腔内への食細胞の動員も若干はあるだろうが、むしろ個々のMφの機能亢進に基づくものと思われる。

*P. aeruginosa* はヒトおよび動物に日和見感染を起こし、*S. enteritidis* もヒトに腸炎を起こすとともにマウスに全身性疾患(salmonellosis)の原因となることはよく知られている。あらかじめ *Lactobacillus casei* や *Corynebacterium parvum* (*Propionibacterium acnes*) の菌体を投与されたマウスは *P. aeruginosa* の感染にたいして抵抗性を示し、腹腔や脾臓内の感染菌の増殖を著しく抑制することが報告されているが<sup>19)</sup>、LAP投与によっても明らかにこの菌に対する抵抗性が増大し、体内で菌の増殖を抑制した(表2, 3, 6)。LAPの投与回数を4回以上に増やしても効果はそれ以上増加しないことは(表6)、LAPによるMφの刺激効果には限度があることがわかる。マウスに自然感染をおこす *S. enteritidis* に対してもLEMの投与は有効であった(表4, 5)。LPSやmuramyl dipeptide (MDP)などの細菌由来の immunomodulators を、あらかじめ1-3日前にマウスに投与すると、*S. enteritidis* や *Salmonella typhimurium* の感染に抵抗を示し、菌の増殖を阻止するが、感染の後に投与したものではその効果を示さない<sup>20-23)</sup>。LEMやLAPもそれら immunomodulators の場合と同様に感染1-3日前に投与するのが最も著しい効果が得られる。これはLEMやLAPを含めて、これら immunomodulators が効果を現わすためにはMφを活性化する時間が必要であることを示している。LEMやLAPには毒性が殆んど見られず、また炎症を起こすこともないので、副作用を心配することもなく、その immunomodulators としての効果が期待できる。

## 結 語

抗腫瘍効果が知られている *L. edodes* mycelia からの水溶性抽出物LEMおよびそのアルコール不溶画分LAPのマウスMφに対する生物活性を調べたところ、in vitro においてLAF活性誘導能および走化性促進作用が認められた。また、LAPをあらかじめマウスの腹腔に注射しておくと、腹腔Mφの貪食性が高まり、*P. aeruginosa* の腹腔感染に対して感染防御効果(50%マウス死亡時間の延長と生存率の上昇)が認められた。さらに、LEMあるいはLAPをあらかじめ投与されたマウスでは *P. aeruginosa* および *S.*

*enteritidis* No. 11 の腹腔感染において腹腔および脾臓内の感染菌の増殖を著しく抑制することが観察された。LEM および LAP には 直接の抗菌作用は認めら

れないので、それらの抗菌効果は宿主、特にその  $M\phi$  に依存していることが示唆された。

文 献

- 1) Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F.: Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. Nature, 222 : 687-688, 1969.
- 2) Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y., Arai, Y. and Fukuoka, F.: Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially Lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk) Sing. (an edible mushroom). Cancer Res., 30 : 2776-2781, 1970.
- 3) Takehara, M., Kuida, K. and Mori, K.: Antiviral activity of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake). Arch. Virol., 59 : 269-274, 1979.
- 4) Takehara, M., Kuida, K. and Hanawa, M. A.: Antitumor effect of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake) on Ehrlich ascites carcinoma in mice. Arch. Virol., 68 : 297-301, 1981.
- 5) Tsunoda, A., and Ishida, N.: A mushroom extract as an interferon inducer. Ann. N. Y. Acad. Sci., 173 : 719-726, 1969.
- 6) Ushiyama, R., Nakai, Y. and Ikegami, M.: Evidence for double-stranded RNA from polyhedral virus-like particles in *Lentinus edodes* (Berk) Sing. Virology, 77 : 880-883, 1977.
- 7) Sugano, N., Hibino, Y., Choji, Y., Maeda, H.: Anticarcinogenic actions of water-soluble and alcohol-insoluble fractions from culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. Cancer Letters 17 : 109-114, 1982.
- 8) Westphal, O., and Lüderitz, O.: Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden Gram-negativer Bakterien. Angew. Chem., 66 : 409-417, 1954.
- 9) Mizel, S. B., Oppenheim, J. J. and Rink, T. J.: Characterization of lymphocyte-activating factor (LAF) produced by the macrophage cell line, P388D1. 1. Enhancement of LAF production by activated T lymphocytes. J. Immunol., 120 : 1497-1503, 1978.
- 10) Boyden, S.; The chemotactic effect of mixture of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. J. Exp. Med. 115, 453-466, 1962.
- 11) Horwitz, D. A. and Garret, M. A.; Use of leukocyte chemotaxis in vitro to assay mediators generated by immune reactions. I. Quantitation of mononuclear and polymorphonuclear leukocyte chemotaxis with polycarbonate (Nuclepore) filters. J. Immunol., 106 : 649-655, 1971.
- 12) Gery, I. and Waksman, B.H.: Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediator(s). J. Exp. Med., 136 : 143-155, 1972.
- 13) 松村治雄, 小野塚和康, 前田浩明, 中野昌康; *Lentinus edodes* mycelia 水溶性抽出物 (LEM) のマウス免疫系に対する作用。日細菌誌, 40 : 407, 1985.
- 14) Tanaka, T.: Mechanism of antitumor action of polysaccharide fraction prepared from bagasse. II. Immunological reactivity of mice and properties of their sera. Gann, 58 : 451-457, 1967.
- 15) Unanue, E. R.: The regulatory role of macrophages in antigenic stimulation. Part two: Symbiotic relationship between lymphocytes and macrophages. Adv. Immunol., 31 : 1-136, 1981.
- 16) Maehara, N., and Ho, M.: Cellular origin of interferon induced by bacterial lipopolysaccharide. Infect. Immun., 15 : 78-83, 1977.
- 17) Schiffman, E., Showell, H. V., Corcovan, B. A., Smith, E., and Becker, E. L.: The isolation and partial characterization of neutrophil chemotactic factors from *Escherichia coli*. J. Immunol., 114 : 1831-1837, 1975.
- 18) Tainer, J. A., Turner, S. R., and Lynn, W. S.: New aspects of chemotaxis. Specific target

- cell attraction by lipid and lipoprotein fractions of *Escherichia coli* chemotactic factor. *Am. J. Pathol.*, 81 : 401-410, 1975.
- 19) Miake, S., Nomoto, K., Yokokura, T., Yoshikawa, Y., Mutai, M., and Nomoto, K.: Protective effect of *Lactobacillus casei* on *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice. *Infect. Immun.*, 48 : 480-485, 1985.
- 20) Nakano, M., Onozuka, k., Saito-Taki, T.: LPS-induced non-specific resistance to immunodeficient CBA/N mice against *Salmonella*-infection. *In Immunopharmacology of endotoxigenesis* (eds. by M. K. Agarwal H. & Yoshida) p. 115-132, Walter de Gruyter & Co., Berlin, 1984.
- 21) Onozuka, K., Saito-Taki, T., and Nakano, M.: Augmentation of protective and antibacterial activity induced by muramy dipeptides in CBA/N defective mice with *x*-linked immunodeficiency for *Salmonella enteritidis* infection. *Infect. Immune.*, 45 : 424-427, 1984.
- 22) Nakano, M., Onozuka, Y., Saito-Taki, T., and Minato, N.: Recovery of immune response in immunodeficient mice after administration of lipopolysaccharide: LPS-induced non-specific resistance in beige mice with Chediak-Higashi syndrome. *In Bacterial Endotoxin: Chemical, Biological and Clinical Aspects* (eds. by J. H. Homma, S. Kanegasaki, O. Luderitz, T. Shiba and O. Westphal) p. 281-293, Verlag Chemie, Basel, 1984.
- 23) Onozuka, K., Saito-Taki, T., and Nakano, M.: Effect of muramyl dipeptide analog on *Salmonella enteritidis* infection in beige mice with Chediak-Higashi syndrome. *Microbiol. Immunol.*, 28 : 1211-1221, 1984.

## (図 の 説 明)

- 図1 LAF 活性の誘導。BALB/c マウス (♀, 8-10週令) のチオグリコレート培地誘導腹腔滲出 Mφ (TGB-Mφ) を用いた。LPS は陽性対照として用いた。
- 図2 Mφ の走化性。C57BL/6 マウス (♂, 15週令) のチオグリコレート培地誘導腹腔滲出 Mφ を用いた。大腸菌培養上清は陽性対照として使用した。