

臭化エチジウム脊髄内注入による実験的脱髄病巣における ミクログリアの動態

伏見 滋子, 東 靖人, 森定 ゆみ, 調 輝男

マウス脊髄後索内に臭化エチジウム (EBr) を注入して作成した脱髄病巣におけるミクログリア/マクロファージ系細胞の動態を, クラスII MHC (Ia) 抗原発現を中心として免疫組織化学的ならびに免疫電顕的に検索した.

Mac-1 および F4/80 免疫組織化学染色では, 3日後円形の陽性細胞が主に障害周囲部に出現し, 6~8日後病巣部で増加し, 8~10日後ピークに達し, その後徐々に減少した. その形態は, 病巣部では plump なマクロファージ様を, 正常部では長い分岐した突起を有する ramified ミクログリア様を示した.

Ia 免疫組織化学染色でも同様の経過をたどり, 3日後円形および紡錘形の陽性細胞が障害周囲部に出現し, その後病巣部で増加し, 10日以降減少した. また, 2週後より障害周囲部に長い分岐した突起を有する ramified ミクログリア様の Ia 陽性細胞が出現した. 免疫電顕では, Ia 陽性細胞の細胞体内に myelin debris が観察され, 貪食能が示唆された.

ミクログリア/マクロファージの変化および Ia 陽性細胞の出現は, 髄鞘崩壊以前より見られ, 長期にわたり存続した. 病巣部で見られたマクロファージ様の Mac-1 陽性細胞は, 単球由来細胞と既存のミクログリア由来細胞の両方が存在していると考えられた. また, Ia 陽性細胞は, 一部の Mac-1 陽性細胞が活性化され Ia 抗原を発現していると考えられた.

EBr 注入による脱髄疾患モデルは, 非免疫性神経疾患における Ia 発現を検討するモデルとしても有用であると考えられた. (平成5年8月28日採用)

Microglial Reactions to Demyelinating Lesions Induced by Ethidium Bromide

Shigeko Fushimi, Yasuto Higashi, Yumi Morisada and Teruo Shirabe

The reaction of microglia/macrophages and the expression of class II major histocompatibility complex antigens (Ia) were immunohistochemically and immunoelectron microscopically investigated in the demyelinating lesions induced by an injection of ethidium bromide in the posterior column of the mouse spinal cord. The monoclonal antibodies to the type-three complement receptor (Mac-1), to macrophage specific antigen (F4/80) and to mouse Ia antigen were used for this study.

Three days after EBr injection some round Mac-1 positive cells appeared in the marginal zone before demyelination. These cells increased in the lesion at 6 to 8 days, peaked at 8 to 10 days and declined thereafter. Mac-1 positive cells showed

the cellular morphology of ramified microglia with elongated and branched processes in the normal zone, but in the lesion they were plump and macrophage-like in shape. The time course of the changes in Ia positive cells was same as that of Mac-1 positive cells. Ia positive cells showed the cellular morphology of round or slender amoeboid microglia in the lesion. Two weeks later, with the beginning of remyelination, Ia positive ramified microglia-like cells with elongated and branched processes appeared in the marginal zone. By immunoelectron microscopy, Ia positive cells were found to contain myelin debris in their cytoplasm.

The results of the present study suggested that the plump Mac-1 positive cells in the lesion might be derived from both resident ramified microglia and blood monocytes. A subpopulation of them may express Ia antigen. (Accepted on August 28, 1993) *Kawasaki Igakkaishi* 19(3): 169-179, 1993

Key Words ① Ia antigen ② Ethidium bromide ③ Microglia
④ Macrophage

はじめに

マクロファージは異物の取り込みと処理、自己の老廃物や異常細胞の排除、種々の酵素や生体機能調節物質の分泌などの多彩な機能を持っているが、特に、免疫反応に関して重要な働きを担っていることが知られている。一部のマクロファージは、貪食した抗原を水解酵素で処理して、クラスII MHC分子と複合体を形成し膜表面に提示しIa抗原提示細胞となり、CD4陽性T細胞に抗原についての情報を提示する。

Ia抗原の発現は、神経組織では、免疫性神経疾患とされる多発性硬化症^{1)~4)}やその実験モデルの実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)^{5)~11)}などで研究されてきた。しかしながら、最近Parkinson病、Alzheimer病¹²⁾などの変性疾患や実験的Waller変性^{13)~15)}、代謝障害 twitcherマウス¹⁶⁾などの非免疫性神経疾患においてもIa抗原の発現が報告されており、その役割について議論されている。神経組織でのIa抗原発現細胞については、さまざまな報告がなされており、ミクログリア/マクロファージ^{2),7)~9),11),17)}を中心にアストロサイト^{6),18),19)}、オリゴデンドログリア²⁰⁾、血管内皮細胞^{5),10),21)}、上衣細胞²²⁾、Schwann細胞²³⁾などでIa抗原誘導が可能とされている。

従来よりわれわれは、マウス脊髄後索内に臭化エチジウム(EBr)を注入して脱髄と髄鞘再生過程を観察してきた²⁴⁾。今回われわれは、この脱髄疾患モデルでのミクログリア/マクロファージ系細胞の動態を、特にIa抗原の発現について免疫組織化学的および免疫電顕的に検索したので報告する。

材料と方法

動物は、12~17週齢のBALB/c雄マウスを、実験群では24匹、コントロール群では3匹用いた。ネブタール麻酔下に脊髄の下部胸髄~上部腰髄レベルで一部椎弓切除を行い、マイクロピペット(先端径25 μ m)を後索に硬膜から300 μ mの深さで挿入し、マイクロインジェクターで実験群では0.1%EBrを0.5 μ l、コントロール群では生理食塩水を同量注入した。

実験群では、EBr注入3, 6, 8, 10日, 2, 4, 8, 12週後PLP固定液にて経時的に灌流固定を行い、脊髄を摘出した。コントロール群では、注入8日後に同様の方法で摘出した。10%蔗糖含有0.1Mリン酸緩衝液中で2日~7日4 $^{\circ}$ Cで浸漬後、マイクロスライサー(DTK-3000, 堂阪イーエム)で厚さ約50 μ m厚の切片を作製した。免疫染色のための一次抗体は、ミクログリ

ア/マクロファージに対しては抗 Mac-1 抗原モノクローナル抗体 (1:100 Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) (MAb-Mac-1) および抗 F4/80 抗原モノクローナル抗体 (1:100 Serotec, Oxford, UK) (MAb-F4/80), 抗原提示細胞については抗マウス Ia 抗原モノクローナル抗体 (1:100 Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) (MAb-Ia) を用いた。二次抗体はビオチン化抗ラット IgG (1:100 Vector) を使用し, Avitin-biotin peroxidase complex 法 (ABC-Elite kit, Vector) にて Higashi ら¹⁹⁾ の方法に従い浮遊法で免疫組織化学染色を行った。

免疫電顕のためには, MAb-Mac-1, MAb-Ia で免疫染色後 1% 四酸化オスミウムで 40 分固定を行い, 通常の方法で脱水, エポン包埋した。1 μ m 切片をトルイジンブルーで染色し, 光顕的に観察し, その後超薄切片を作製して酢酸ウラニールで 20 分電子染色を行い日本電子 JEM-2000EX II 型電子顕微鏡にて検鏡した。

結 果

1) MAb-Mac-1 および MAb-F4/80 陽性細胞

コントロール群では, 大部分の Mac-1 および F4/80 陽性細胞は, 長い分岐した突起をもつ ramified ミクログリアの形態を有し, 100 倍で 1 視野に約 60 個の割合で脊髄全体に散在していた。

注入 3 日後, 障害中心部および障害辺縁部 (病巣部) では ramified ミクログリア様の Mac-1 陽性細胞は見られず, 円形の Mac-1 陽性細胞が極少数見られた。障害周囲部では, 円形の Mac-1 陽性細胞とコントロールに比べて少し突起が短い ramified ミクログリア様の Mac-1 陽性細胞が見られた。さらにその周囲の脊髄全体 (正常部) には, コントロール群と同様に長い分岐した突起を

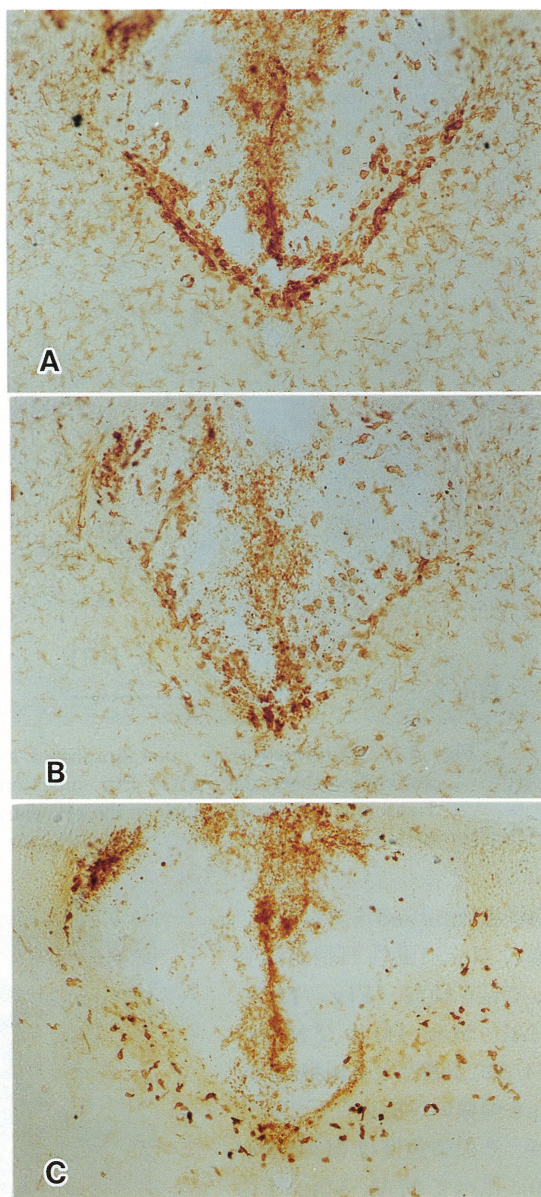


Fig. 1. Light micrographs of immunohistochemical staining with anti-Mac-1 (A), anti-F4/80 (B) and anti-Ia (C) antibodies three days after EBr injection. A. A few round Mac-1 positive cells and pseudo-positive necrotic materials are observed in the lesion. Some round Mac-1 positive cells are noted in the marginal zone. Many Mac-1 positive ramified microglia-like cells with elongated and branched processes can be seen in the normal zone ($\times 60$). B. Some round F4/80 positive cells are observed in the marginal zone ($\times 60$). C. Some round or slender Ia positive cells can be seen in the marginal zone ($\times 60$).

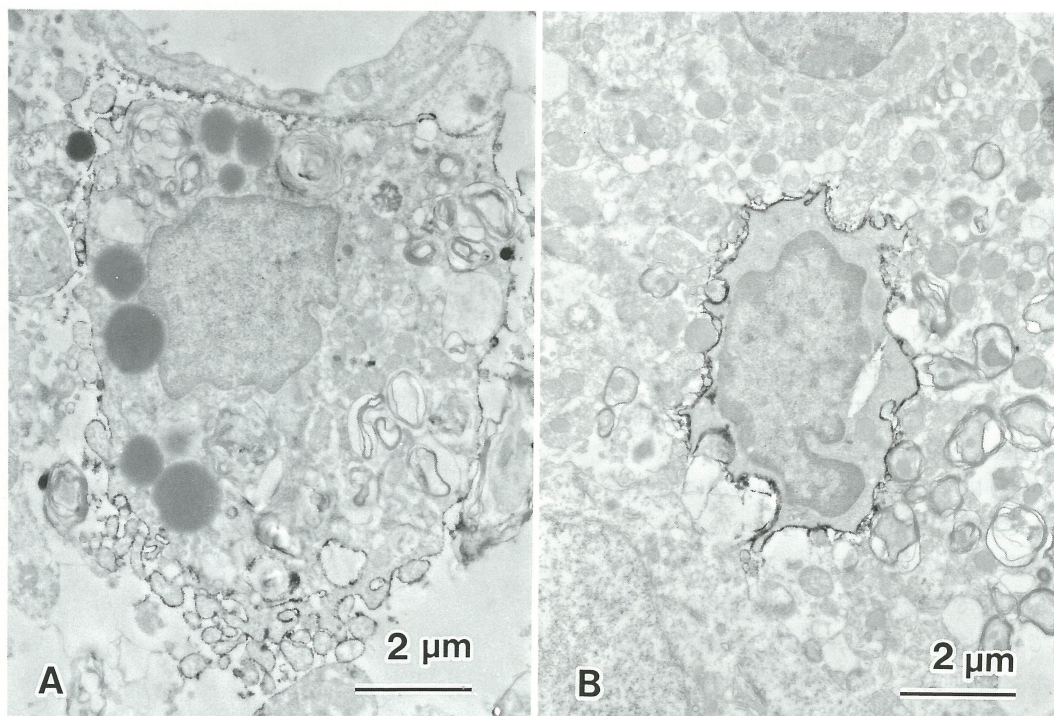


Fig. 2. Immunoelectron micrographs of staining with anti-Mac-1 (A) and anti-Ia (B) antibodies three days after EBr injection. **A.** A Mac-1 positive cell contains some lysosomes and myelin debris in the cytoplasm. **B.** An Ia positive cell has an electron dense cytoplasm.

有する ramified ミクログリア様の Mac-1陽性細胞が散在して見られた (**Fig. 1A**). MAb-Mac-1および MAb-F4/80で認識される細胞はいずれも同様の形態を有していたが、その染色性は MAb-F4/80に比べて MAb-Mac-1の方がより優れていた (**Fig. 1B**). 免疫電顕では、ミクログリア/マクロファージ系細胞における Mac-1 抗原の局在は細胞膜に観察され、円形の陽性細胞は、その細胞体に多数のリソゾームと myelin debris を有していた (**Fig. 2A**).

注入 6, 8, 10日後, 病巣

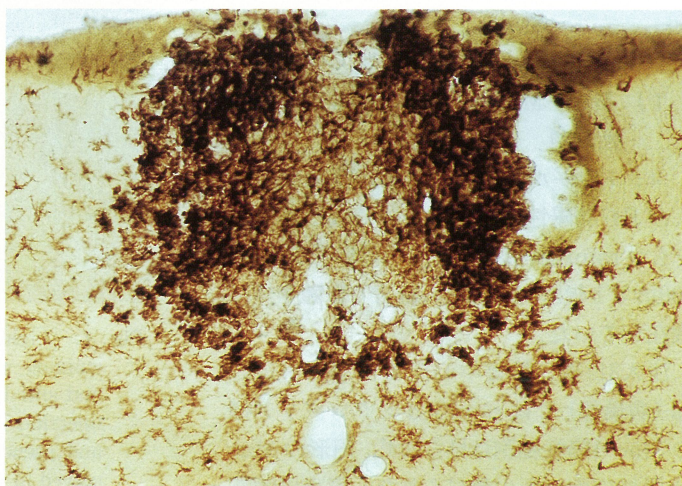


Fig. 3. A light micrograph of immunohistochemical staining with anti-Mac-1 eight days after EBr injection. Mac-1 positive cells are plump in shape in the lesion, while they have the morphology of ramified microglia in the normal zone. The transformation from ramified to plump cells can be seen ($\times 100$).

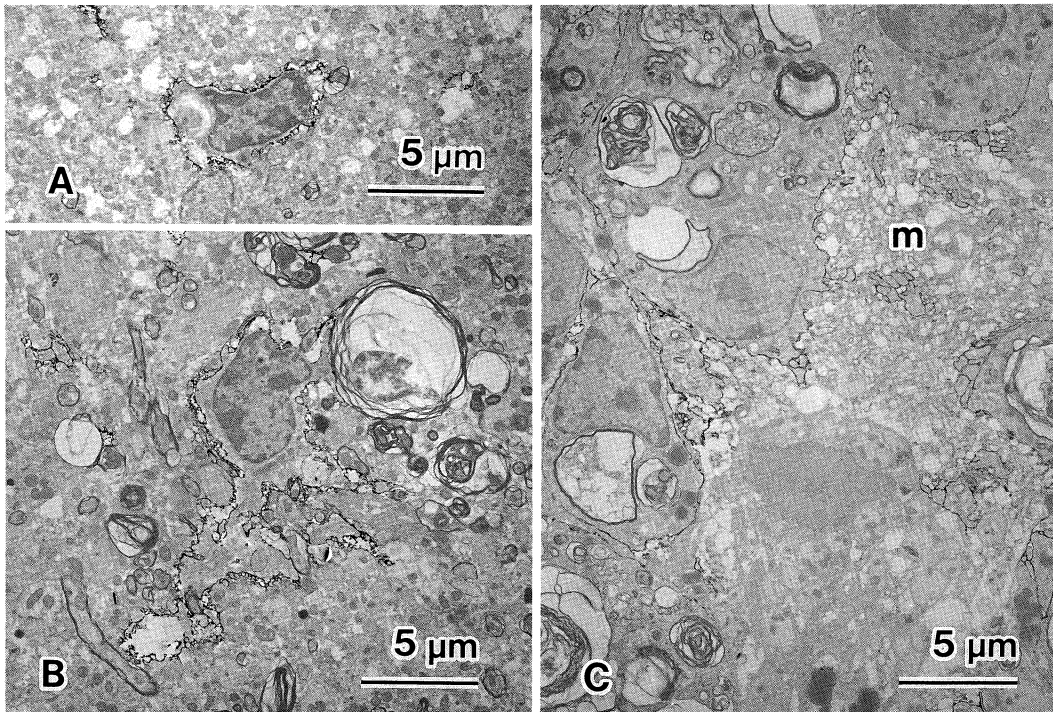


Fig. 4. Immunoelectron micrographs of staining with anti-Mac-1 antibody eight days after EBr injection. **A.** The Mac-1 positive cell is characterized by a rather scanty cytoplasm in the normal zone. **B.** The cytoplasm of the Mac-1 positive cell becomes hypertrophic in the marginal zone. The process of the cell attaches to myelin lamellae. **C.** Mac-1 positive cells contain abundant myelin debris in the cytoplasm in the lesion. Destruction of the myelin sheath is observed (m).

部では、肥満した細胞体を有するマクローファージ様の強陽性細胞が多数見られた。障害周囲部では、太く短い突起を有する強陽性細胞が見られた。正常部では、コントロール群と同様にramified ミクログリア様の陽性細胞が見られ、数的に変化は見られないが、染色性は亢進していた (**Fig. 3**)。免疫電顕的には、正常部のramified ミクログリア様細胞の細胞体が小さく細胞内小器官が乏しいのに対して (**Fig. 4A**)、病巣部の陽性細胞は細胞体にリソゾームとmyelin debrisを豊富に有していた (**Fig. 4C**)。また、障害周囲部の陽性細胞は、正常部のramified ミクログリア様細胞より腫大した細胞体を有し、内部にmyelin debrisを有するものや、崩壊したmyelinに突起をのぼす細胞が見られた (**Fig. 4B**)。10日以降、病巣部のplumpな

強陽性細胞は徐々に減少した。

注入4週後、病巣部のplumpなMac-1陽性細胞は数的に減少し、1 μ m切片で見るとこれらの細胞は再生髄鞘間に泡沫状の細胞体を有する細胞として認められた。

注入8, 12週後、病巣部のplumpなMac-1陽性細胞は極少数残存するのみで、短い突起を有する細胞が病巣部から障害周囲部にかけて散在して見られた。

2) MAb-Ia 陽性細胞

コントロール群では、軟膜で太く短い突起を有する陽性細胞が、また、血管周囲で稀に紡錘形の陽性細胞が見られた。

注入3日後、障害周囲部に円形および紡錘形のIa陽性細胞が見られた (**Fig. 1C**)。免疫電顕では、Ia抗原の局在はMac-1抗原と同様に細胞

膜に見られた。Ia 陽性細胞は細胞内小器官が乏しく電子密度が高かった (Fig. 2B)。

注入6, 8, 10日後, 病巣部に比較的細長い紡錘形および円形のIa 陽性細胞が多数見られた (Fig. 5)。また, 正常部に太く短い突起を有するIa 陽性細胞が極少数認められた。免疫電顕的には, 病巣部のIa 陽性細胞の細胞体にライソゾームと myelin debris が見られた (Fig. 6A)。血管周囲には紡錘形のIa 陽性細胞が多数見られたが, 血管内皮細胞で反応は認められなかった (Fig. 6B)。

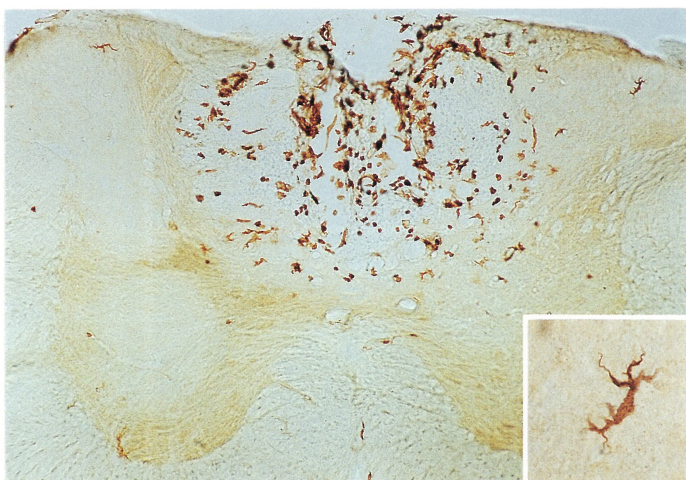


Fig. 5. A light micrograph of immunohistochemical staining with anti-Ia antibody eight days after EBr injection. Numerous round or spindle Ia positive cells can be seen in the lesion. A few Ia positive cells with short processes are noted in the normal zone ($\times 60$). The inset shows a higher magnification of the latter ($\times 290$).

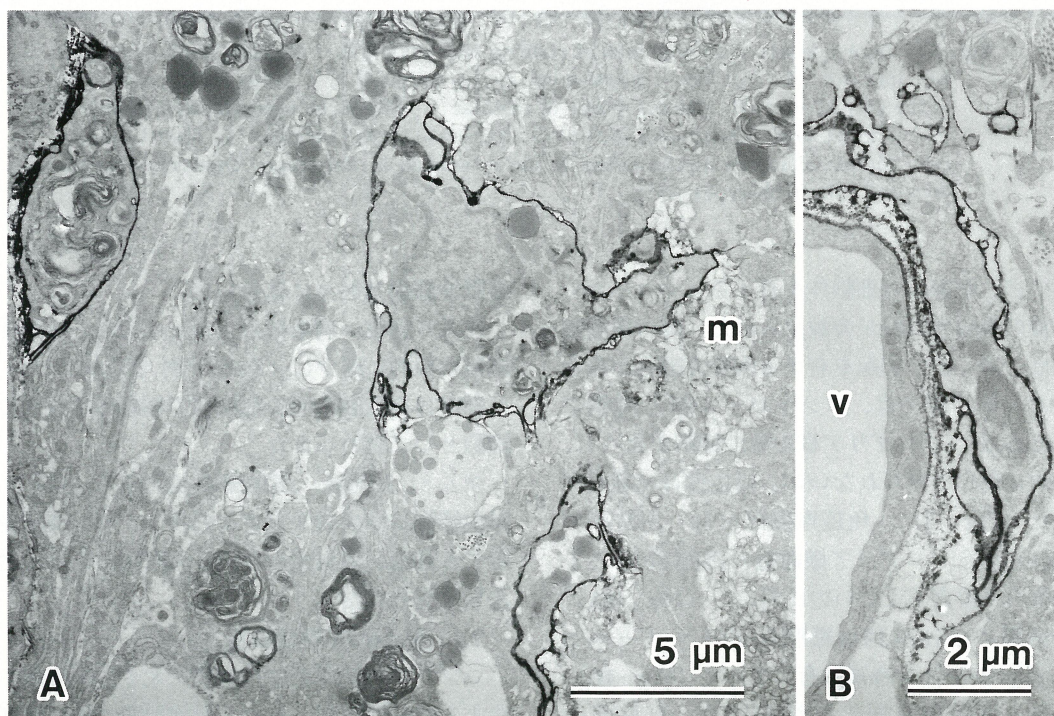


Fig. 6. Immunoelectron micrographs of staining with anti-Ia antibody eight days after EBr injection. A. Ia positive cells contain myelin debris and lysosomes. Destruction of the myelin sheath is observed (m). B. An Ia positive cell is located in the perivascular region. vessel (v)

注入 2 週後、病巣部の Ia 陽性細胞はやや減少したが、新たに障害周囲部に長い分岐した突起をもつ ramified ミクログリア様の Ia 陽性細胞が出現した。この細胞は、明らかにアストロサイトの形態とは異なっていた。

注入 4 週後、病巣部の Ia 陽性細胞はさらに減少し、2 週後と同様に障害周囲部に長い分岐した突起を有する ramified ミクログリア様の陽性細胞が認められた (Fig. 7)。免疫電顕的には、病巣部の泡沫状の細胞体を有する細胞の一部で Ia 発現が認められた

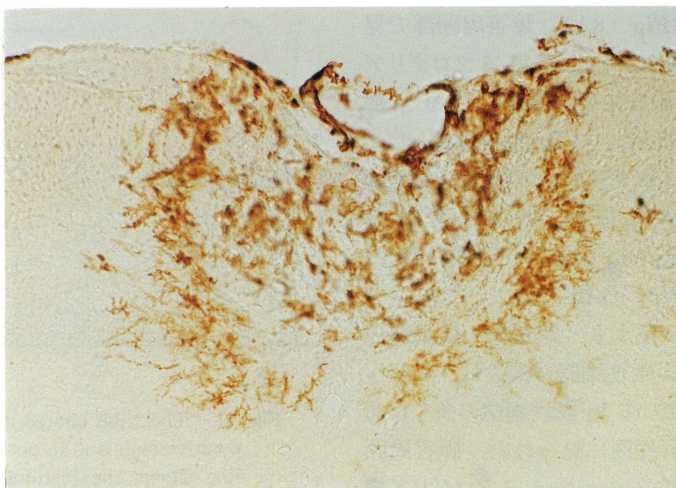


Fig. 7. A light micrograph of immunohistochemical staining with anti-Ia antibody four weeks after EBr injection. There are many round or spindle Ia positive cells in the lesion. Ia positive ramified microglia-like cells with elongated and branched processes are observed in the marginal zone ($\times 90$).

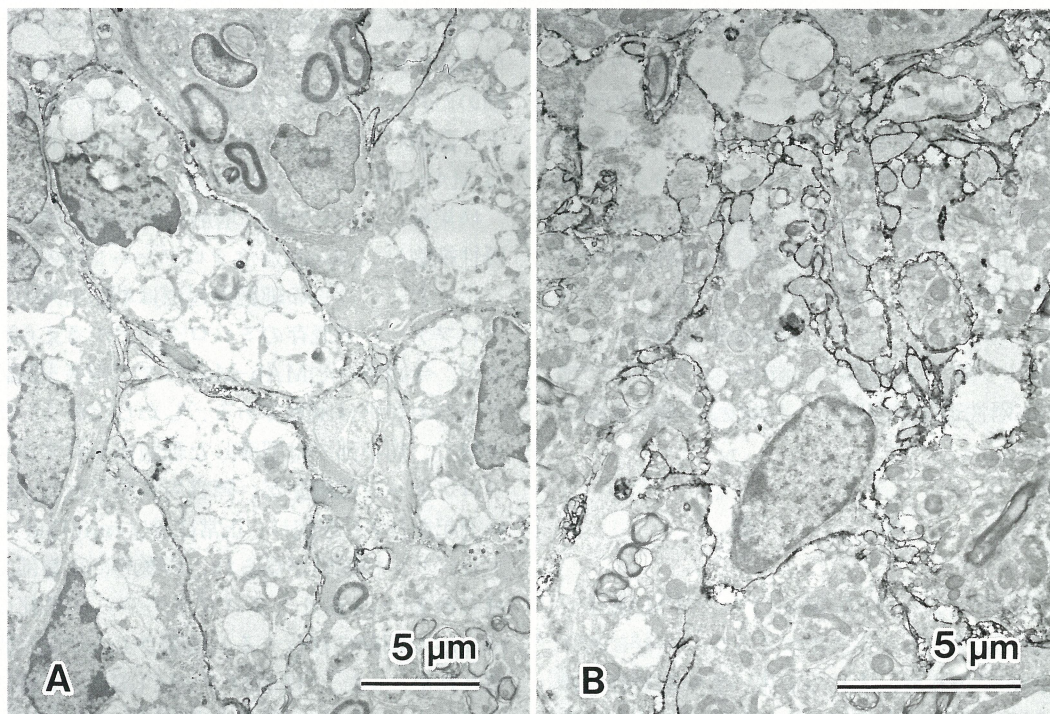


Fig. 8. Immunoelectron micrographs of staining with anti-Ia antibody four weeks after EBr injection. A. Some plump cells are Ia positive in the lesion. B. Ia positive ramified microglia-like cell becomes hypertrophic in the marginal zone. The cytoplasm of the cell contains myelin debris and vacuoles.

(Fig. 8A). 障害周囲部で見られた ramified ミクログリア様の Ia 陽性細胞は、正常部の Mac-1 陽性 ramified ミクログリアより腫大した細胞体を有し、内部に少量の myelin debris と空胞が見られた (Fig. 8B).

注入 8, 12 週後、病巣部の Ia 陽性細胞は減少し、残存している Ia 陽性細胞の多くは血管周囲に見られた。障害周囲部の ramified ミクログリア様の陽性細胞も徐々に減少した。

以上の経時的变化と前回報告した²⁴⁾ 脱髄と髄鞘再生の経

過をまとめて Figure 9 に示した。EBr 注入 3 日後、前回の通常の光顕、電顕観察では病巣部でオリゴデンドログリアおよびアストロサイトの変性を認めるにすぎなかったが、今回の実験結果では障害周囲部に円形の Mac-1 陽性細胞や円形および紡錘形の ameboid ミクログリア様の Ia 陽性細胞が見られた。髄鞘崩壊、脱落に従い plump な Mac-1 陽性細胞や Ia 陽性細胞は病巣部で増加し、8~10 日後ピークに達し、その後徐々に減少した。また、髄鞘再生が開始した 2 週後より障害周囲部に ramified ミクログリア様の Ia 陽性細胞が出現し、4 週後より徐々に減少した。

考 察

今回使用した MAb-Mac-1 および MAb-F4/80 は、いずれもマウスのマクロファージに対する抗体であるが、これらを用いて中枢神経組織のミクログリアを免疫染色し観察する報告が散見される。MAb-Mac-1 は、細胞表面にある CR3 レセプターを認識する抗体^{25),26)} であってその詳細な細胞学的役割は不明であるが、その増加は貪食、分泌、付着能力などの細胞機能の充

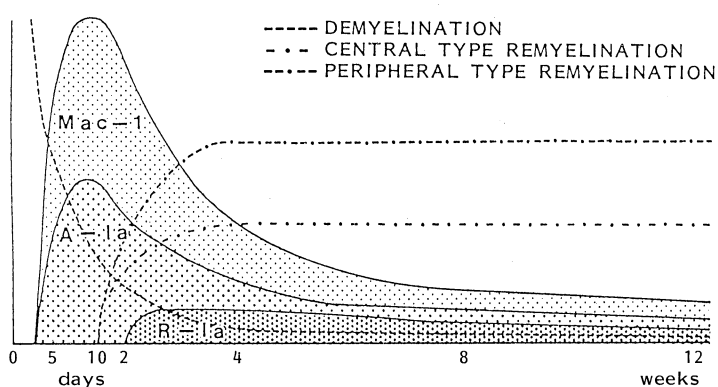


Fig. 9. The time course of the changes in the plump Mac-1 positive cells and Ia positive cells after EBr injection. Each line shows the histological stages of demyelination and remyelination induced by EBr injection. Mac-1: plump Mac-1 positive macrophage-like cells. A-Ia: round or slender Ia positive ameboid microglia-like cells. R-Ia: Ia positive ramified microglia-like cells with elongated and branched processes.

進を示唆するとされている。F4/80 は、認識するエピトープについては明らかでないが、Perry ら²⁷⁾ の報告によればミクログリアを良く認識する。今回のわれわれの検索では両者とも同様の細胞をよく認識したが、病変を形成した脊髄においては MAb-Mac-1 の方が優れていた。

病巣部において早期に増加が見られた Mac-1 陽性細胞は、plump なマクロファージ様の形態を示した。これらの細胞の起源は単球由来のマクロファージと既存のミクログリアが考えられるが、今回用いた MAb-Mac-1 では両者を認識するため識別は困難である。しかしながら、本実験で、病巣部では肥満した細胞体を有するマクロファージ様細胞が、障害周囲部では太く短い突起を有する細胞が、正常部では ramified ミクログリア様細胞が見られ、形態的に正常部で見られる ramified ミクログリアから病巣部の plump な細胞に移行すると推測される所見が観察された。また、今回のモデルは BBB が破壊されていることから、単球由来の細胞である可能性も十分考えられる。したがって、病巣部で見られた Mac-1 陽性細胞は、単球由来細胞と既存ミクログリア由来細胞の両方が存在していると考えられた。

plump な Mac-1 陽性細胞の発現は、極早期より見られるが、一方、アストロサイトの反応は、前回の結果を参考にするとミクログリアにやや遅れて反応する。この結果は、Matsumoto ら²⁸⁾ がラット EAE 病変において報告するミクログリアとアストロサイトの経時的変化と一致する。近年、ミクログリアの分泌する IL-1 がアストロサイトの分裂を促進するという報告²⁹⁾ がなされており、細胞間の情報伝達におけるサイトカインの役割を考える上で興味深い。

免疫応答を支配する主要組織適合性遺伝子群 (MHC) は、ヒトでは第 6 染色体短腕の HLA 領域、マウスでは第 17 染色体の H-2 領域上にコードされている。マウスの Ia 抗原は、H-2 領域のなかのさらに I 領域にマップされている Ir 遺伝子 (immuno response gene) により支配されており、細胞表面に発現することによって免疫応答の誘導に重要な役割を果たすと考えられている。今回観察された Ia 陽性細胞は、当初から見られた円形および紡錘形細胞と回復期から出現した ramified ミクログリア様細胞の形態的に 2 種類の細胞が認められた。近接した切片では、これらの細胞はいずれも Mac-1 陽性と考えられた。また、免疫電顕ではこれらの細胞は内部に myelin debris を有しており貪食能があることが示唆された。したがって、Ia 陽性細胞は、一部の Mac-1 陽性細胞が活性化され Ia 抗原を発現していると考えられた。急性期に出現した円形や紡錘形の細胞は、その形態より単球および既存ミクログリア由来で、回復期に出現した ramified ミクログリア様細胞は、主に既存ミクログリア由来であると考えられた。

非免疫性に Ia 発現のおこるモデルでは、その Ia 発現の期間は比較的短いものが多い。Stoll ら^{14),15)} は、Waller 変性でマクロファージが foamy な細胞に至る前に一過性に Ia を発現すると報告し、Ia の持続的発現には IFN- γ のような液性因子の関与が必要と考えている。今回の結果では、病巣部の plump な細胞で Ia 発現が認められ、また、比較的長期間 Ia 発現を認めた。この状態はより EAE に近いものと考えられ、今

回のモデルは、非免疫性神経疾患における Ia 発現を検討するのに有用であると考えられる。

in vivo における Ia 陽性細胞の機能について Stoll ら^{14),15)} は、Waller 変性の際損傷に反応して出現し、抗原提示作用とは別の役割をする可能性があるとして述べている。一方、Konno ら³⁰⁾ は Waller 変性により Ia 陽性ミクログリアを誘導後、EAE の passive transfer に成功したことから、Ia 陽性ミクログリアが EAE 発症に重要な役割を果たすことを報告している。つまり、非免疫学的に誘導された Ia 抗原も抗原提示作用をする可能性があることを述べている。今回の実験で見られた病巣部の Ia 陽性細胞は、広義での抗原提示作用をしている可能性が考えられるが、回復期に出現した障害周囲部の ramified ミクログリア様細胞の役割は抗原提示作用とは考え難く、Stoll らの述べるように損傷修復に何らかの関与があるのかも知れない。

ミクログリアは液性因子として、IL-1^{28),31)}、IL-6³²⁾、TNF^{17),33)}、PGE₂³⁴⁾、PGD₂³⁴⁾、アポリポタンパク E³⁴⁾などを分泌することが知られており、このような種々のサイトカインや活性物質の放出によりグリア増殖、血管新生、ニューロン回路網の再生などの組織修復に寄与すると考えられている。神経系と免疫系とは内分泌系を一部介して、相互調節をしていることが明らかにされてきており、非免疫性神経疾患におけるミクログリア/マクロファージの Ia 抗原発現の機序や意義を検討するためには、神経細胞や他のグリア細胞との液性因子を介した相互作用の関与も一緒に検討する必要があるように思われる。

稿を終るにあたり、EBr の脊髄後索内注入に際しご協力、ご指導下さった川崎医科大学生理学 II 教室の諸先生方に感謝いたします。

なお、本研究の一部は川崎医科大学プロジェクト研究費 (4-803) の援助において行われたものである。

文 献

- 1) Woodrooffe MN, Ballamy AS, Feldmann M, Davison AN, Cuzner ML: Immunocytochemical characterisation of the immune reaction in the central nervous system in multiple sclerosis. Possible role for microglia in lesion growth. *J. Neurol. Sci.* 74: 135-152, 1986
- 2) Hayes GM, Woodrooffe MN, Cuzner ML: Microglia are the major cell type expressing MHC class II in human white matter. *J. Neurol. Sci.* 80: 25-37, 1987
- 3) Hayashi T, Morimoto C, Burks JS, Kerr C, Hauser SL: Dual-label immunocytochemistry of the active multiple sclerosis lesion: Major histocompatibility complex and activation antigens. *Ann. Neurol.* 24: 523-531, 1988
- 4) Lee SC, Moore GRW, Golenowsky G, Raine CS: Multiple sclerosis: A role for astroglia in active demyelination suggested by class II MHC expression and ultrastructural study. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 49: 122-136, 1990
- 5) Sobel RA, Blanchette BW, Bhan AK, Colvin RB: The immunopathology of experimental allergic encephalomyelitis. II. Endothelial cell Ia increases prior to inflammatory cell infiltration. *J. Immunol.* 132: 2402-2407, 1984
- 6) Hickey WF, Osborn JP, Kirby WM: Expression of Ia molecules by astrocytes during acute experimental allergic encephalomyelitis in the Lewis rat. *Cell Immunol.* 91: 528-535, 1985
- 7) Matsumoto Y, Fujiwara M: *In situ* detection of class I and II major histocompatibility complex antigens in the rat central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. An immunohistochemical study. *J. Neuroimmunol.* 12: 265-277, 1986
- 8) Matsumoto Y, Hara N, Tanaka R, Fujiwara M: Immunohistochemical analysis of the rat central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis, with special reference to Ia-positive cells with dendritic morphology. *J. Immunol.* 136: 3668-3676, 1986
- 9) Vass K, Lassmann H, Wekerle H, Wisniewski HM: The distribution of Ia antigen in the lesions of rat acute experimental allergic encephalomyelitis. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 70: 149-160, 1986
- 10) Butter C, Healey DG, Agha N, Wilcox CE, Antoniou AV, Turk JL: The localization of fibrin, fibronectin and class II major histocompatibility complex antigen in the spinal cord in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 22: 11-17, 1989
- 11) Konno H, Yamamoto T, Iwasaki Y, Saitoh T, Suzuki H, Terunuma H: Ia-expressing microglial cells in experimental allergic encephalomyelitis in rats. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 77: 472-479, 1989
- 12) McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG: Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology* 38: 1285-1291, 1988
- 13) Konno H, Yamamoto T, Iwasaki Y, Suzuki H, Saito T, Terunuma H: Wallerian degeneration induces Ia-antigen expression in the rat brain. *J. Neuroimmunol.* 25: 151-159, 1989
- 14) Stoll G, Griffin, JW, Li CY, Trapp BD: Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: Participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. *J. Neurocytol.* 18: 671-683, 1989
- 15) Stoll G, Trapp BD, Griffin JW: Macrophage function during Wallerian degeneration of rat optic nerve: Clearance of degenerating myelin and Ia expression. *J. Neurosci.* 9: 2327-2335, 1989
- 16) Higashi Y, Komiyama A, Suzuki K: The twitcher mouse: Immunocytochemical study of Ia expression in macrophages. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 51: 47-57, 1992
- 17) Fei K, Siepl C, Groscurth P, Bodmer S, Schwerdel C, Fontana A: Antigen presentation and tumor

- cytotoxicity by interferon- γ -treated microglial cells. *Eur. J. Immunol.* 17 : 1271—1278, 1987
- 18) Fontana A, Fierz W, Wekerle H : Astrocytes present myelin basic protein to encephalitogenic T-cell lines. *Nature* 307 : 273—276, 1984
 - 19) Wong GHW, Bartlett PF, Clark-Lewis I, Battye F, Schrader JW : Inducible expression of H-2 and Ia antigens on brain cells. *Nature* 310 : 688—691, 1984
 - 20) Kim SU, Moretto G, Shin DH : Expression of Ia antigens on the surface human oligodendrocytes and astrocytes in culture. *J. Neuroimmunol.* 10 : 141—149, 1985
 - 21) Male DK, Pryce G, Hughes CCW : Antigen presentation in brain : MHC induction on brain endothelium and astrocytes compared. *Immunology* 60 : 453—459, 1987
 - 22) Steiniger B, van der Meide PH : Rat ependyma and microglia cells express class II MHC antigens after intravenous infusion of recombinant gamma interferon. *J. Neuroimmunol.* 19 : 111—118, 1988
 - 23) Pollard JD, McCombe PA, Baverstock J, Gatenby PA, McLeod JG : Class II antigen expression and T lymphocyte subsets in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J. Neuroimmunol.* 13 : 123—134, 1986
 - 24) 伏見滋子, 森定ゆみ, 調 輝男 : 臭化エチジウム脊髄内注入による実験的脱髄と髄鞘再生の形態学的研究. *川崎医学会誌* 18 : 227—236, 1992
 - 25) Beller DI, Springer TA, Schreiber RD : Anti-Mac-1 selectively inhibits the mouse and human type three complement receptor. *J. Exp. Med.* 156 : 1000—1009, 1982
 - 26) Wright SD, Rao PE, Van Voorhis WC, Craigmyle LS, Iida K, Talle MA, Westberg EF, Goldstein G, Silverstein SC : Identification of the C3bi receptor of human monocytes and macrophages by using monoclonal antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80 : 5699—5703, 1983
 - 27) Perry VH, Hume DA, Gordon S : Immunohistochemical localization of macrophages and microglia in the adult and developing mouse brain. *Neuroscience* 15 : 313—326, 1985
 - 28) Matsumoto Y, Ohmori K, Fujiwara M : Microglial and astroglial reactions to inflammatory lesions of experimental autoimmune encephalomyelitis in the rat central nervous system. *J. Neuroimmunol.* 37 : 23—33, 1992
 - 29) Giulian D, Lachman LB : Interleukin-1 stimulation of astroglial proliferation after brain injury. *Science* 228 : 497—499, 1985
 - 30) Konno H, Yamamoto T, Suzuki H, Yamamoto H, Iwasaki Y, Ohara Y, Terunuma H, Harata N : Targeting of adoptively transferred experimental allergic encephalitis lesion at the sites of Wallerian degeneration. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 80 : 521—526, 1990
 - 31) Giulian D, Baker TJ, Shin L-CN, Lachman LB : Interleukin 1 of the central nervous system is produced by amoeboid microglia. *J. Exp. Med.* 164 : 594—604, 1986
 - 32) Fei K, Malipiero UV, Leist TP, Zinkernagel RM, Schwab ME, Fontana A : On the cellular source and function of interleukin 6 produced in the central nervous system in viral diseases. *Eur. J. Immunol.* 19 : 689—694, 1989
 - 33) Sawada M, Kondo N, Suzumura A, Marunouchi T : Production of tumor necrosis factor-alpha by microglia and astrocytes in culture. *Brain Res.* 491 : 394—397, 1989
 - 34) Gebicke-Haerter PJ, Bauer J, Schobert A, Northoff H : Lipopolysaccharide-free conditions in primary astrocyte cultures allow growth and isolation of microglial cells. *J. Neurosci.* 9 : 184—194, 1989