

実験旋毛虫症における抗原-抗体結合物の影響について

ウォルター スタール*

ホセ オリヴェア・ゴンサーレス

フェルトリコ大学医学部医動物学教室

(昭和 38 年 8 月 28 日受領)

数年前に Najjar と Robinson (1958) はある種の疾患での抗原-抗体結合物 (antigen-antibody complexes) の役割を推論して啓発的な理論を発表した。その理論というのは、蛋白質分子が相互に作用し合うと、その分子の元来の物理的、生化学的性質に変化が生ずるだろうという前提に基いているのである。それに加えるに、結合した分子の表面の構造が作り直されて新しい抗原性をもつものができ上ったりするかもしれぬということである。したがって抗原-抗体の結合ということが実際には新しい抗原の形成をもたらすのである。

最近の研究で Oliver-Gonzalez (未発表) は、あらかじめマウスに住血吸虫の不溶性抗原抗体結合物を与えておくと、実験的に Manson 住血吸虫に感染させたマウスで起る普通の病理変化とは著しく異なる結果が生れるということを示している。そして彼はこの初期の実験成績に始まって、Manson 住血吸虫の卵抗原と人抗体 (ヘテロ) との不溶性結合物に対してできた家兎抗血清の免疫学的血清学的な性状についての詳細な検索を行うに至っている。この家兎を用いての研究 (Stahl, Oliver-Gonzalez and de Sala, 1963) の結果は、抗原との結合の結果として結合物のうちのヘテロ抗体成分に変化が生じて新しい抗原性をもつものが作り出されるのだということを示すものと解釈される。このヘテロの抗原-抗体結合物を用いた実験の解釈からホモ抗体-抗原結合物で免疫したさいの反応の性質に関して推察が生れてくる。つまりホモ抗体は同一の種類動物に対し自己抗体の産成を刺激

する程に充分に抗原性もちうるかということである。これ等の今までの事実や推論に基いて、本論文の実験は次の3つを目標としている。

1) 実験的蠕虫感染における不溶性結合物の影響をさらに深く研究すること、2) ホモとヘテロの抗体-抗原結合物の影響を比較対比させること、3) ホモ抗体結合物で免疫すると果して自己抗体産成を意味するような事実が現われるか否かを知ること。材料として *Trichinella* を選んだのはそのもつ生態と技術上の利点の為である。

方法ならびに材料

数カ月に亘つてくりかえし感染させた家兎とラットから、その間定期的に採血して旋毛虫の抗血清をとった。agar-gel diffusion test によつて調べた所、この家兎血清は旋毛虫子虫抗原とは3バンド、成虫体抗原とは2バンドを示していた。施毛虫の子虫、成虫抗原は虫体粉末を1%の phenol-saline 中に24時間室温放置して抽出したものである。感染しているラットの体をペプシンで消化して取出した子虫をゾンデを用いて実験動物に与えて感染させた。

結果

実験1 ヘテロ抗体-子虫抗原結合物を用いた実験8,000の生子虫をペニシリン、ストレプトマイシンを加えた家兎抗血清4ml 中に入れて作った結合物をこの実験に使用した。子虫を37°Cで20時間置き、その後

This research was supported by Grants 2E-7 (administered by Louisiana State University, School of Medicine) and E-3268, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, United States Public Health Service, Bethesda, Maryland.

* Interamerican Fellow in Tropical Medicine and Parasitology, Louisiana State University, School of Medicine.

Present address: Department of Parasitology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan.

それを攪拌して血清上清と浮游している沈降物を注意深くピペットで採った。この沈降物浮游液を0.5 ml 宛に分け、それを、あらかじめ2週間前に旋毛虫に感染させてある8匹のラットの腹腔に注射した。

毎日注射を行ったが最初の1週には実験ラットは何の変化をも示さずにすんだ。その後の4日間に、注射を続けていた8匹中5匹が死亡したかまたは瀕死となつたので剖検した。筋肉圧平標本を肉眼で検査した所、検べた筋肉全てから子虫が検出された。その子虫の大部は未だ細長形であつたが全く正常な状態と思われた。しかしながら多数の虫体で特異な凝塊物が被囊子虫の周囲に見られた例もあつた。

残りの3匹のラットは15回の注射を完了した。最後の注射の2日後に(感染後1カ月)、これらの3匹のラットと対照ラットとを殺した。簡単にこれ等のラットでの所見を述べると、次のようである。対照ラットでは1匹当たり平均140,000匹の子虫、ラットの組織1g中には、1,246匹の子虫が見つかったが、実験ラットではラット1匹当たり100,000匹の子虫、組織1g中には946匹の子虫が見つかった。肉眼的に、同様な特異的な凝塊物がみづかりはしたが、子虫自体には対照実験ラットからのものに明白な相違はみられなかつた。組織学的にこれらの凝塊物は種々な数の空泡性の球状構造物から出来上つていて、被囊子虫の被囊の中や周囲、特に被囊の端に存在した。これが何であるかは分らないし文献にも同様なことを観察した記録はない。さらにもう一つの興味あることは、実験ラットでは対照ラットよりも少数の子虫がみられたのだが、それにも拘らずより激しい症状を呈したということである。つまり実験ラット8匹中5匹が結合物注射開始の7~10日後に死んだのである。

実験2 ヘテロ抗体-成虫抗原結合物を用いた実験結合物の作製方法は次の通りである。100倍稀釈の成虫体抗原(1%フェノール生食水に10mg per mlに加えたもの)の0.4mlを家兎抗血清1.6mlに加えた。37°C 2時間放置後混合物を冷蔵庫に移して1晩放置した。翌日混合物を3000rpmで5分間遠沈し、上清を捨てた。そして残っている沈降物の塊を生食水で数回洗滌し、最終的には2.0mlの生食水中に浮游させて1匹のラット宛0.5mlの沈降物懸濁液を投与するようにした。

結合物を連続10日間腹腔注射で与えた。最後の注射の後に4日間休んでから1,500匹の旋毛虫を感染させた。感染後10日経つてラットを検査する予定であつたが、重篤な症状や死亡が極めて早期に出現した。感染

第1日に実験ラットでは下痢に傾くものであつた。2日後に全てが下痢となり、神経質な不安定な様相を伴っていた。3日目からは疾病の重篤の度合がさらに進む様相があらわれた。つまり逆毛し汚れ、体が一側に曲り、無関心状態となつたのである。4日目に4匹の実験ラット中2匹が死んだ。この例では腸の中に虫体があることは確かめられたが、数はかぞえなかつた。その翌日もう1匹のラットが死んだが、これには1,200匹の旋毛虫成虫が見つかった。残つた1匹のラットは10日目まで生きのびたが、このラットは対照に比べ、甚しい病的状態であつた。対照においては感染期間中何の症状もなかつた。実験ラットの最後の群では、殺した時に大変やせていて病的であり、体重も相当に減つていた。その中の旋毛虫の虫体数は成虫990匹であつた。一方対照ラットでは、1匹当たり平均428匹の虫体のみられた。しかしながら実験対照両群のラットの組織を組織学的に比較したところ、明白な相違は何一つ見られなかつた。

実験3 ホモ抗体-成虫抗原結合物を用いた実験

この実験は、結合物を作るにさいしホモ(ラット)抗体を代りに用いたことを除くと、前の実験と本質的には重複したものである。実験ラットに25日間に15回にわたり結合物を注入し、それから1,500匹の旋毛虫を感染させた。前掲の実験同様に、対照の目的で成虫体抗原だけのある群のラットに注入することは抗原を充分量作製することが難しいために不可能であつた。

第1表 ラットの実験的旋毛虫症における
ホモ抗体-抗原結合物の影響

調査項目		対照ラット (生理食塩水)	実験ラット (抗原-抗体結合物)
ラット 体 重	注 射 前 (0日)	51 gm	46 gm
	感 染 前 (28日)	105 gm	96 gm
	実験終了時 (33日)	103 gm	82 gm
虫 体 数	接種子虫数	1,500匹	1,500匹
	検出された成虫体数	794匹	1,331匹
	回 収 率	50%	90%
所 見	感染後5日間	病的所見なし	激しい下痢 逆毛, 汚れ 体の屈曲, 無関心, 瀕 死状態

この実験の大略を第1表に示してある。

この実験ラット群での所見は前の実験でのそれと全くよく似ていた。つまり結合物を注射したラット群では早

期に発症し急激に悪化した。もう一つの注目すべき共通点は、前の実験と本実験とで共に結合物で処置したラッテ群では虫体数が対照よりはるかに多かつたことである。特に実験3ではこれが極めて明白に現われている。結合物処置ラッテでは感染させた1,500匹の幼虫の90%が感染5日後に成虫となつて検出された。これは対照ラッテからの虫体数の大体2倍の数である。しかしながら意外にも腸管と虫体の肉眼的顕微鏡的検査では両群の間に何一つはつきりした違いは見出されなかつた。旋毛虫成虫の成長発育は実験対照両群で同じようであり、そして定坐している虫体の周囲の組織反応も大凡同一であつた。実験2と3との最大の相違点は疾病の重篤度であり、異種抗体-成虫抗原結合物を注射したラッテ群の方がはるかに激しい障害を受けたのである。

考 按

不溶性の抗原-抗体結合物は、抗原だけで免疫するよりはより良いとして動物を免疫するのに時として使用されている。その理由は結合物が徐々に分解され抗原がゆつくりと放出されてくることに原因する adjuvant 的な作用によつてである。若しも上のような事実がこの実験にもあてはまるとすると結合物で処置したラッテは旋毛虫感染に対して極めて強い抵抗力をもつて、感染直後に多数の虫体が体外に出されてしまう筈であるし、また感染経過中を通じ比較的無症状であるべきである。しかしながらこの実験ではこれと異り、正に反対のことが観察された。実験ラッテでは、極めて多数の虫体が見つかり、軽いものは下痢、重いものは死亡という激しい症状を伴つていた。唯一の例外は第1実験のラッテ群で、はつきりした病状は呈したのだが、無症状の対照ラッテよりも虫体数は少なかつた。これは恐らくラッテに注入した血清-沈降物混合液中に含まれていた家兔の抗旋毛虫抗体によつて生じた受動的感染防禦機序の結果であろう。

後の二つの実験では、結合物処置をしたラッテに攻撃接種を行つたところ、激しい病的状態が急速にはじまり、最後には感染させた1,500匹の子虫の大部分が成虫となつて回収されたのだが、この結果から対照ラッテで無症状感染であつた位の虫体数の感染で結合物処置ラッテはすつかり圧倒されてしまつたのだと考えられる。

著者等は上の結論の説明に次のような考えを持つてゐる。つまり、結合物(ホモでもヘテロでも)でラッテを免疫すると結合物の抗体分画に対する抗体が作られるようになり、この抗-抗体の存在が感染にさいし旋毛虫感

染に対する正常な免疫反応の生成を中和するかまたは阻止してしまうのである。ヘテロ結合物で処置したラッテで感染に対する強烈な反応が起つた理由は、結合物中の家兔抗体分画が結合物に付着してかまたは結合物から遊離してラッテに対し強く抗原的に作用したことによるのかも知れぬ。

しかしながらホモ抗体が同一種の動物内で抗原性を示すには、それが変化し、変化したままの状態で動物体内に残つていなければならない。つまりこれは結合物と結びついて外形的にも物理的にも変化して抗原性を持つに至るのである (Najjar and Robinson, 1958; Harshman, Robinson and Najjar, 1963)。

ラッテの実験的旋毛虫症でのこの所見ならびに Oliver-Gonzalez がマウスの住血吸虫症で観察した未発表の所見は、不溶性抗原-抗体結合物が上の2種の寄生虫の感染に対するネズミの普通の反応を強く変えてしまう能力をもつものだというを明白に示している。これ等の結合物で免疫することによつてその寄生虫への抵抗が増すどころかむしろ自己免疫機序での宿主の防禦力が明に低下してしまつたという事実は慢性自己免疫疾患の成因における不溶性抗原-抗体結合物の役割に対しさらに考慮を払うべきだということを強く推察させるものである。

結 論

ラッテの実験的旋毛虫感染において、感染経過中および感染前に種々な抗原-抗体結合物で免疫を行つた。この研究の主な目的はホモ抗体結合物での免疫が自己抗体つまり結合物のホモ抗体分画に対する抗体の産生を示すような事実を生み出すかどうかを知ることにある。

1. あらかじめ結合物(ホモあるいはヘテロ)を与え、その後旋毛虫を攻撃接種すると、ラッテには両結合物間で大して違くない症状が生じる。
2. このさいの症状は極めて急激に下痢、消瘦、死亡という症状が発呈するのが特徴であるが、その激しさの程度では違いがある。
3. 実験ラッテ内の成虫数は、対照群でのそのほぼ2倍で、攻撃接種に使用した子虫数の約90%にあたるものであつた。
4. 抵抗力が増すどころかかえつて宿主の防禦がこのように明白に低下したということは、旋毛虫に対するラッテの免疫反応が中和されたり、抑制されたりしたのだが、自己免疫現象のあらわれと解釈される。
5. 上の結果により、慢性自己免疫疾患の成因におけ

る不溶性抗原—抗体結合物の役割に対してさらに考慮が
加えられるべきだと考える。

本論文を翻訳下さった慶大医学部寄生虫学教室浅見敬
三助教授に深く謝意を表します。

文 献

- 1) Stahl, W., Oliver-González, J. & Rivera de Sala, A. (1963) : Antibody response to immunization with *Schistosoma mansoni* egg antigen-antibody complex. *Experimental Parasitology*, 13, 204-210
- 2) Najjar, V. A. & Robinson, J. P. (1958) : A unified concept in immunologic reactions and allergic states. In: *Immunity and Virus Infection*. V. A. Najjar, Editor, John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 71-91.
- 3) Harshman, S., Robinson, J. P. & Najjar, V. A. (1963) : The mechanism of antibody-antigen interaction and the theory of subcomplementarity between the reactive sites of antibody and antigen. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 103, 688-714.

ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEXES IN EXPERIMENTAL TRICHINOSIS

WALTER STAHL* & JOSÉ OLIVER-GONZÁLEZ

(Department of Medical Zoology School of Medicine, University
of Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico)

Groups of rats were inoculated with a variety of insoluble antigen-antibody complexes before and during an experimental infection with *Trichinella spiralis*. The purposes of these experiments were to : investigate the effects of insoluble complexes in an experimental helminthic infection ; compare and contrast the effects of heterologous and homologous antibody complexes ; and to note if immunization with an homologous antibody complex would yield evidence indicating the production of autoantibodies, i. e., antibodies against the homologous antibody fraction of the complex.

Observations were made on the response of the rats to the parasite in terms of symptoms exhibited, worm burdens recovered, gross and microscopic appearance of tissues, and period of survival.

1. *Heterologous antibody-larval worm antigen complex*

Trichinella-infected rats (1,500 larvae, 2 weeks) were administered an insoluble, rabbit antibody-*Trichinella* larval antigen complex. One week of daily injections resulted in the death of 5 of the 8 experimental rats, and symptoms of distress in the survivors. At necropsy, fewer larval worms were recovered from the complex-treated rats than from the controls. Microscopic examination of rat tissues revealed globular-like cellular structures in and around the capsules of the encysting larvae. It is not known what these represent.

2. *Heterologous antibody-adult worm antigen complex*

Rats were immunized with a rabbit antibody-adult worm antigen complex, then were challenged with a *Trichinella* infection of 1,500 larvae. The experimental rats responded with an extremely rapid onset of symptoms of severe disease, progressing from diarrhea to emaciation to death within 5 days. The control rats however remained symptom-free. A distinct difference in the worm burdens of the 2 groups of rats was found at autopsy, with more than double the number of worms recovered from the complex-treated rats than from the control rats. Gross and microscopic examination of rat tissues and worms did not yield any indication as to why this difference existed. Both the appearance of the worms and the tissue response elicited was apparently equal in the 2 groups of rats.

3. Homologous antibody-adult worm antigen complex

Rats were immunized with a rat antibody-adult worm antigen complex, then were challenged with 1,500 *Trichinella* larvae. As in the preceding experiment, the complex-treated rats responded very quickly to the challenge with symptoms closely paralleling those previously recorded, but much reduced in severity. Initially, there was early onset of diarrhea, followed by a loss of weight almost to the point of emaciation, dirty and ruffled hair, and an increasing air of apathy. There were no deaths however in the 5 day period of infection. At autopsy, the experimental rats yielded adult worm burdens averaging 1,331 worms/rat in contrast to the 794 worms/rat recovered from the control rats.

These results were discussed and the following hypothesis was offered in explanation: that the immunization of rats with insoluble complex (heterologous or homologous) resulted in the production of antibodies against the antibody fraction of the complex, and that the presence of these anti-antibodies at the time of infection effectively neutralized or inhibited the normal immune response to the *Trichinella* infection.

In addition, the fact that immunization with these complexes led to an apparent breakdown of host defences with autoimmune manifestations, rather than an increased resistance to the parasite, strongly suggests that consideration be given to the role of insoluble antigen-antibody complexes in the genesis of the chronic and autoimmune diseases.