

実験トリコモナス症におけるマウスの防御反応 誘導に及ぼす adjuvant の効果

林 弘 三 石川 富士郎 岡 好 万

徳島大学養護教諭養成所

古 谷 正 人 伊 藤 義 博 尾 崎 文 雄

徳島大学医学部寄生虫学教室

(昭和49年7月5日 受領)

Trichomonas foetus 由来の ribosome に Freund's complete adjuvant (FCA) を添加し、マウスを免疫した場合、*T. foetus* の致死感染に対し強い特異抵抗性を示した。この実験の対照である FCA のみによる処置群においても、致死感染に非特異的に抵抗する個体がみられた(岡ら, 1967 a, b, 1970)。しかし、FCA の代わりに Freund's incomplete adjuvant (FIA) で処置した場合には、非特異的抵抗は全く得られなかった。FCA の非特異的效果は、BCG 感作動物が示す細胞内寄生細菌に対する抵抗(武谷ら, 1973 a, b)、あるいは抗腫瘍作用(Baldwin and Pimm, 1973; 徳永ら, 1973)と類似するように考えられる。

我々は adjuvant の非特異的效果を分析する意図から、FCA 及び FIA のマウス腹腔内投与量の *T. foetus* 致死感染に及ぼす影響を比較検討した。

材料と方法

供試動物：17~18g(1カ月齢)の ddY 系マウスの雄を使用した。

Adjuvant：FCA及び FIA(共に Difco 社製)はそれぞれ0.01 M phosphate buffer, pH 7.0と等量に混合して emulsion となし、マウス当たり0.1, 0.3, 0.5及び0.7 ml を腹腔内に注入した。各実験群は12~14匹である。

攻撃原虫と攻撃量：上記 adjuvant 投与3週間後、発育上昇中期の *T. foetus* を遠心集虫し、FCA 投与各群には 3.5×10^7 個の原虫を、また FIA 投与各群には 3.0×10^7 個の原虫を腹腔内に投与した。これら実験の対

照として同齡無処置の雄マウスにも同数の原虫を投与した。

観察：攻撃後30日間マウスの生死の状況を観察し、それ以上生残したもので、腹水の貯留例では直接、また見かけ上正常なマウスでは約3 ml の滅菌生理食塩水を注入後、腹水を採取し、原虫の有無を検索した。

結 果

FCA 投与の結果： 3.5×10^7 個の原虫の感染によつて、無処置の対照群は平均生存日数6.5日で100%の死亡率を示した(Table 1)。これに対して、FCA と buffer の emulsion をマウス当たり0.1及び0.3ml 投与した群は14.3%(14匹中2匹)、0.5 ml 投与群では46.2%、0.7 ml 投与群では半数が生残した(Table 1)。なお0.5 ml 及び0.7 ml 投与群において対照との間に有意差($p < 0.05$)が認められた。生残耐過したほとんどのマウスには腹腔中に原虫を認めなかったが、0.5 ml 投与群の生残6例の内2例のみには原虫が観察された。死亡マウスの平均生存日数は0.1, 0.3, 0.5及び0.7 ml 投与群それぞれ9.5, 8.7, 7.1及び12.0日であつた(Table 1)。

FIA 投与の結果： 3.0×10^7 原虫の感染では、無処置の対照群においても21.4%(14匹中3匹)が生残した。これに対して、emulsion 0.1 ml 投与群は全例死亡し、0.3, 0.5及び0.7 ml 投与群ではそれぞれ28.6, 14.3及び21.4%が生残した(Table 1)。これらの生残マウスの腹腔内には *T. foetus* 原虫は認められなかった。また、死亡マウスの平均生存日数は、対照群, emulsion 0.1, 0.3, 0.5及び0.7 ml 投与群それぞれ5.8, 7.9, 6.2,

Table 1 Effects of complete or incomplete adjuvant on protective reaction in mice

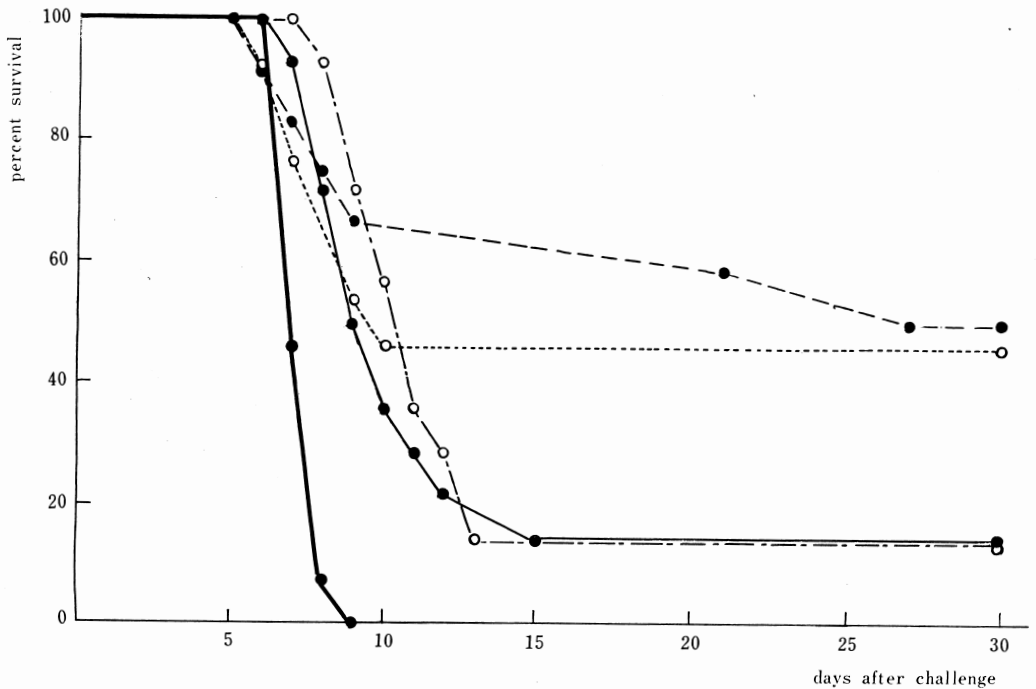
Inoculum	Emulsion dose (ml)	Number of mice	Number of mice survived ¹⁾	Percent survival	Mean survival days of dead mice ²⁾
Complete adjuvant	0	13	0	0	6.5±0.6 ³⁾
	0.1	14	2	14.3	9.5±1.6 ³⁾
	0.3	14	2	14.3	8.8±2.1 ³⁾
	0.5	13	6	46.2 ⁴⁾	7.1±1.4 ³⁾
	0.7	12	6	50.0 ⁴⁾	12.0±8.0 ³⁾
Incomplete adjuvant	0	14	3	21.4	5.8±0.9 ³⁾
	0.1	14	0	0	7.9±2.5 ³⁾
	0.3	14	4	28.6	6.2±1.1 ³⁾
	0.5	14	2	14.3	6.7±1.7 ³⁾
	0.7	14	3	21.4	6.9±1.2 ³⁾

1) : mice survived more than 30 days after challenge

2) : mice died within 30 days after challenge

3) : standard deviation

4) : significantly different ($p < 0.05$) from the control value

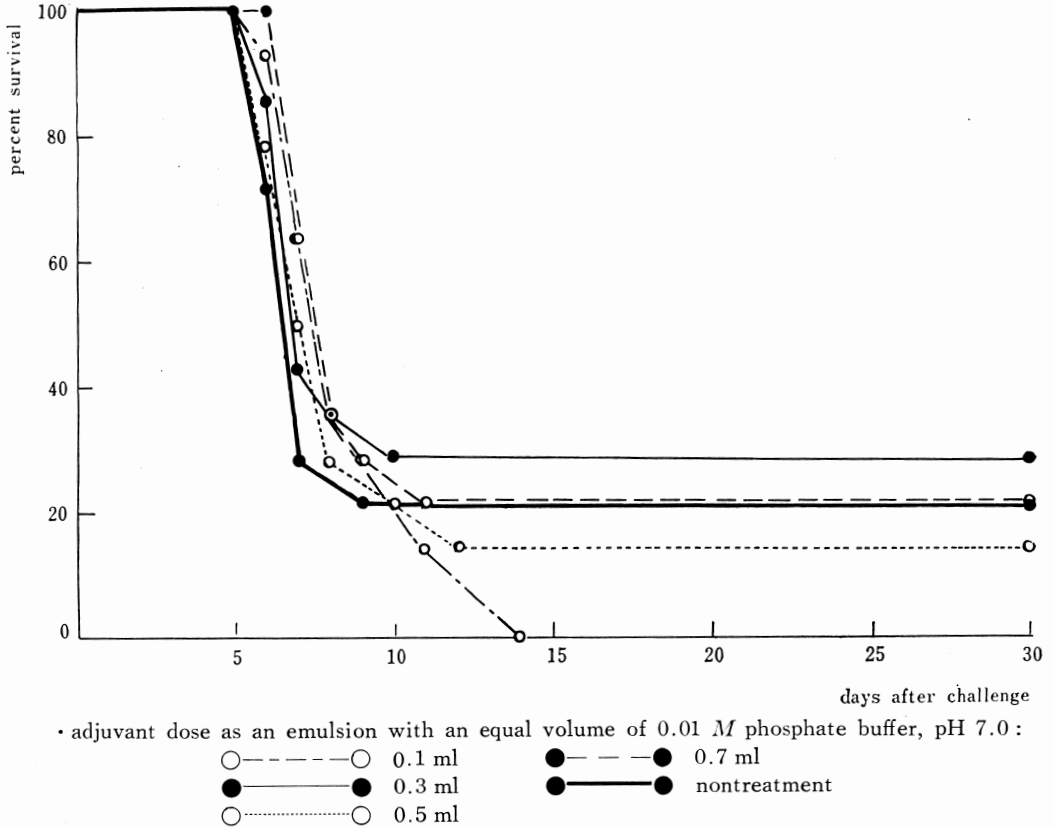


• adjuvant dose as an emulsion with an equal volume of 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0 :

○- - - - ○ 0.1 ml ●- - - - ● 0.7 ml
 ●- - - - ● 0.3 ml ●- - - - ● nontreatment
 ○.....○ 0.5 ml

• challenge dose : 3.5×10^7 *Trichomonas foetus*

Fig. 1 Survival patterns of mice pretreated with Freund's complete adjuvant



· challenge dose : 3.0×10^7 *Trichomonas foetus*

Fig. 2 Survival patterns of mice pretreated with Freund's incomplete adjuvant

6.7及び6.9日であつた (Table 1).

考 察

Adjuvant は抗原を protease 等の酵素作用から保護し、効率よく macrophage に取り込ませて処理させる等免疫保護剤として使われてきた。しかし、近年に至つて単に抗原の保護にとどまらず、adjuvant によつて免疫応答の反応系が刺激され、より能率よい反応が誘導されると考えられる現象も示された (Muramatsu, 1964)。また、この現象には結核菌菌体成分が重要な役割を演じていることが報告されている (武谷ら, 1973 a; 徳永ら, 1973)。我々はマウス腹腔内に実験的に感染させた *T. foetus* に対する感染防御機構の解明の過程で (岡ら, 1967 a, b, 1970)、対照群として adjuvant のみを腹腔内に投入したマウスがかなりの割合で生残することを経験した。そこで、ddY 系マウスを種々の量の FCA または FIA で処理した後に *T. foetus* 生原虫で攻撃し、生残率等を比較した。

FCA 投与実験における対照群が平均 6.5 日で全例死亡したのに対して、FIA 投与実験の対照群は 21.4% (14 匹中 3 匹) が生残した (Table 1)。この切れ味の悪い結果は、FIA 投与群及びその対照群に行つた攻撃原虫数の不足のためと考えられる。その理由として、他の実験で少なくとも $(3.5 \sim 4.0) \times 10^7$ 個の原虫で攻撃しなければ 100% 致死が得難いことを経験している。

FIA 投与実験では、最終的な生残率と emulsion 投与量との間に比例関係はみられず (Table 1)、死亡経過も各投与群と対照群との間に差異は認められない (Fig. 2)。このことは、単に FIA のみを腹腔内に注入した場合は、後の *T. foetus* の攻撃に対し、宿主の防御反応系に対応能力はできていないようにみえる。これに対して、FCA 投与は、emulsion の投与量の増加に伴つて生残率が上昇した。そして、FIA 投与群に比べて、FCA 投与群では投与量の増加につれて生残日数も幾分延長した (Fig. 1)。このことは、少なくとも 0.5 ml 以上の投与であれば、かなりの宿主が *T. foetus* に対して非特

異的に抵抗性を獲得することを示している。また逆に、FCA を導入した免疫実験において、ddY 系マウスを使う場合は、adjuvant の量に注意する必要があることを意味している。

FIA 投与マウスは *T. foetus* の攻撃に耐え得ないが、FCA の投与は *T. foetus* に対し抵抗性を与える。この相違が FCA に含まれる BCG 成分以外に起因するとは考えられない。また、BCG と *T. foetus* との間に交差免疫の成立した証拠はない。このような理由から、BCG によつて免疫系が刺激され、このことによつて腹腔内に侵入した原虫に抵抗する“非特異的効果”が誘導されたと考えたい。FCA と共に免疫すると γ_2 抗体の産生が促進されること (Askonas *et al.*, 1965), FIA は helper T 細胞の作用の増強に役立ち、FCA は B細胞と同時に T細胞を増殖させる可能性があること (武谷ら, 1973 b) 等から、BCG によつて増強されたある種の T細胞若しくは macrophage によつて、*T. foetus* に対する応答がより速やかに行われた結果と考えることができよう。

一方、岡ら(1967 b)の CF#1 マウスを用いた実験では、FCA の emulsion 0.5 ml を腹腔に投与した場合、*T. foetus* 攻撃で全個体が死亡した。また、無処理の CF#1 マウスは 1.0×10^7 原虫の攻撃でいずれの実験も完全致死を示した(岡ら, 1965)ことから、元来 ddY 系マウスは CF#1 マウスに比べて、免疫作動が敏感であり、BCG によつてその感受性がより高められるものと思われる。

結 論

Freund の complete adjuvant または incomplete adjuvant と 0.01 M phosphate buffer, pH 7.0 との等量から成る emulsion をマウス当たり 0.1, 0.3, 0.5 及び 0.7 ml ずつ腹腔内に投与し、その後 3 週目に *Trichomonas foetus* の致死感染を施した。攻撃後 30 日間観察し、死亡経過及び生残率を比較した。その結果、complete adjuvant では投与量にほぼ比例して生残率が高くなり、0.5 ml 以上の emulsion 投与によつてほぼ 50% のマウスが生残し、対照との間に明らかに有意差をみとめた。incomplete adjuvant 投与では無処理の

対照群との間に差異はみられなかつた。また、観察期間中に死亡したマウスの攻撃後の生存日数も、complete adjuvant 投与の場合やや延命がみられたが、incomplete adjuvant 投与では対照群とほとんど差異をみなかつた。

文 献

- 1) Askonas, B. A., White, R. G. and Wilkinson, P. C. (1965): Production of γ_1 - and γ_2 -antiovalbumin by various lymphoid tissues of the guinea pig. *Immunochem.*, 2, 329-336.
- 2) Baldwin, R. W. and Pimm, M. V. (1973): BCG immunotherapy of a rat sarcoma. *Brit. J. Cancer*, 28, 281-287.
- 3) Muramatsu, S. (1964): Shortening of the period of primary immune response by the prior injection of Freund's adjuvant. *Nature*, 201, 1141-1142.
- 4) 岡 好万・白方隆晴・山川敬止・尾崎文雄(1965): 原虫細胞の免疫原性の解析 (11) *Trichomonas vaginalis* のハツカネズミに対する病原性と交差免疫原性. *医学と生物学*, 70, 279-282.
- 5) 岡 好万・伊藤義博・尾崎文雄(1967 a): 原虫細胞の免疫原性の解析 (19) *Trichomonas foetus* の大粒子と microsome の防御抗原性. *医学と生物学*, 74, 333-336.
- 6) 岡 好万・伊藤義博・新里仁達・尾崎文雄(1967 b): 原虫細胞の免疫原性の解析 (20) *Trichomonas foetus* の microsome から分離した膜構造と ribosome の防御抗原性. *医学と生物学*, 75, 17-20.
- 7) 岡 好万・新里仁達・尾崎文雄(1970): 原虫細胞の免疫原性の解析 (26) *Trichomonas foetus* の ribosomal protein および membrane structure の抗原的役割と complete adjuvant 添加の意義. *寄生虫誌*, 19, 182-188.
- 8) 武谷健二・野本亀久雄・森 良一(1973 a): 感染防御免疫. *免疫生物学*(武谷健二編), 朝倉書店, 東京, 165-172.
- 9) 武谷健二・野本亀久雄・森 良一(1973 b): 免疫の成立. *免疫生物学*(武谷健二編), 朝倉書店, 東京, 46-69.
- 10) 徳永 徹・片岡哲朗・中村玲子・山本三郎・高橋令治(1973): BCG の抗腫瘍作用の機序. 3. *日本免疫学会総会記録*, 207-209.

AbstractEFFECTS OF ADJUVANT ON INDUCTION OF PROTECTIVE REACTION
IN EXPERIMENTAL TRICHOMONIASIS IN MICE

HIROMI HAYASHI, FUJIRO ISHIKAWA, YOSHIKAZU OKA

(Training School for Nurse Teachers, University of Tokushima, Tokushima)

MASATO FURUYA, YOSHIHIRO ITO AND HUMIO OSAKI

(Department of Parasitology, School of Medicine, University of Tokushima, Tokushima)

In our previous study, part of mice pretreated with Freund's complete adjuvant intraperitoneally were able to conquer the challenge of lethal infection with *Trichomonas foetus*.

In the present report, an attempt was made to evaluate the influence of both complete and incomplete adjuvants on induction of protection reaction in mice.

Male ddY mice, weighing 17 to 18 g, were given 0.1, 0.3, 0.5 or 0.7 ml of an emulsion of complete or incomplete adjuvant with an equal volume of 0.01 M phosphate buffer, pH 7.0 intraperitoneally. After three weeks, the mice were challenged with $(3.0\sim 3.5)\times 10^7$ *T. foetus* intraperitoneally and observations were performed for 30 consecutive days.

Percent survival of mice given complete adjuvant was higher than that of nontreated mice, while, that of mice given incomplete adjuvant was almost the same as that of nontreated ones. Furthermore, an increase in percent survival was seen with increase in the amount of complete adjuvant given in the pretreatment.

The above findings may suggest that the nonspecific protection activity against *T. foetus* infections exhibited in mice is stimulated and enhanced by BCG in the adjuvant.