

## 小形条虫感染に及ぼす Cyclophosphamide の影響

——特に Thy-1,2 陽性細胞と PFC の推移と感染防御能の関係——

内 田 信 吾   鈴 木 博 子   中 村 文 規  
浅 野 和 仁   岡 本 謙 一

(昭和56年1月29日 受領)

**Key words:** *Hymenolepis nana*, cyclophosphamide, Thy-1,2 positive cell, PFC, protective immunity

小形条虫の虫卵を経口投与することによって、その腸絨毛内に cysticeroid の寄生が一度成立した宿主マウスは再度の虫卵による経口感染に対する強力な防御能を獲得し、再感染を完全に拒否するのが普通である。しかしこの強力なマウスの小形条虫に対する再感染阻止能も、新生時胸腺摘出 (Okamoto, 1968), 抗胸腺細胞血清 ATS の処理 (Okamoto and Koizumi, 1972), コーチゾン処理 (Okamoto, 1969) などによって極めて明確に減弱し、その結果、これらの処理を受けたマウスでは再感染が容易に成立するようになる。これらの処理はいずれも宿主の免疫能低下、特にリンパ球の減少をもたらすものであるところから、上述の阻止能の誘発とその時の宿主のリンパ球の挙動との間の関連性が注目される。

一方、リンパ球はその由来、機能等の違いから、T細胞、B細胞等に分けられている。寄生性蠕虫の感染の際、これらリンパ球が種々の役割を果たしているものと考えられているが感染を完全に阻止するいわゆる完全免疫が極めて成立しにくい為、「感染の成否」そのものを扱いにくくしている。さいわい、小形条虫—マウスの系では、前述のような明確な再感染の拒絶が認められる。そこで、我々は、T細胞とB細胞にそれぞれ異った作用を及ぼすといわれている cyclophosphamide (Pouter and Turk, 1972; Stockman *et al.*, 1973; Winkelstein, 1973) を初感染の前後のいろいろな時期に宿主マウスに投与し、再感染防御能の変動を観察したところ興味ある知見を得たので、さらに cyclophosphamide の腸間膜リンパ節における Thy-1,2 陽性細胞と羊赤血球に対するプラク形成細胞 (PFC) におよぼす影響を観察し、小形条虫の感染の成否とこれら細胞の役割について考察を試みたので報告する。

### 材料及び方法

小形条虫の感染実験 (実験1.)、並びに Thy-1,2 陽性細胞、羊赤血球に対する PFC の数の推移を追跡する実験 (実験2.) には、いずれも ICR 系マウス、雌雄とも 5~6 週齢、体重 22~28g のものを用いた。感染実験に用いた小形条虫虫卵は、当教室において direct cycle により維持されている虫体の受胎節より集めたものを Berntzen and Voge (1965) の方法により脱殻したものである。マウスに経口投与した虫卵数は、初感染、再感染ともに 1 匹当り 2,000 個であった。

Cyclophosphamide (塩野義製薬、以下 CY と略記する) は注射用蒸留水に溶解後、直ちに 400mg/kg をマウスの腹腔内に注射した。

抗 Brain associated Thy-1,2 血清 (以下抗 Thy-1,2 血清と略記する) は以下の方法で作製した。5 匹分の C3H マウスの脳に BSS を 2.5 ml 加えてホモジネートした後、等量の Freund's complete adjuvant を加えた。その 1 ml をウサギの皮下に 1 週間隔で 2 回注射し、その後さらに 3 週間目に 1 回注射、その 3 週間後にウサギより全採血をおこない、血清を分離した。その血清を C3H マウスの赤血球並びに肝ホモジネートで吸収し、56C 30 分非動化した。なおこの抗 Thy-1, 2 血清は *in vitro* において、2,048 倍の希釈濃度で使用した時、C3H マウスの胸腺細胞に対し 50% の cytotoxicity を示した。

Cytotoxic test に用いた補体は、モルモットより得た血清 (GPS) である。Cohen and Schlesinger (1970) の方法に従い、GPS 中に含まれる可能性のある胸腺細胞に対する自然の細胞毒を除去した。すなわち GPS 1 ml に対し Noble agar (Difco) 80mg を加え、30分間

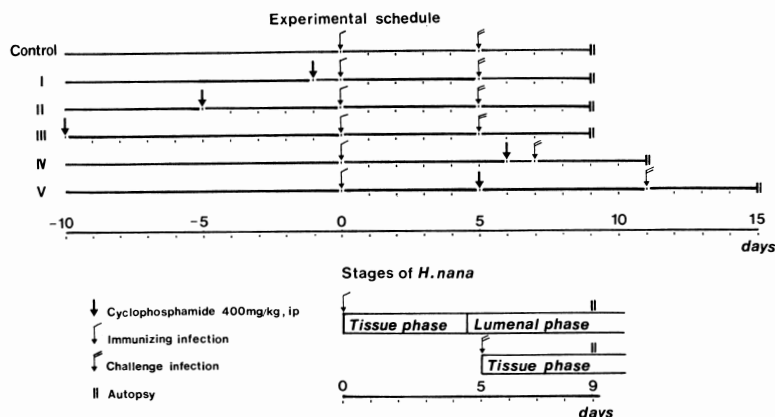


Fig. 1 Schedules of experiments and stages of *Hymenolepis nana* in mice.

充分振盪した後，3,000rpm で5分間遠心し，得られた上清を凍結保存した．使用に当っては，この GPS 1 容に RPMI1640 培養液 2 容を加えて用いた．また PFC の測定には，補体としてモルモット乾燥補体（東芝化学工業，1 ml 入り）を蒸留水 1 ml で溶解して用いた．

#### 実験 1.

CY を腹腔内注射することによってマウスの小形条虫再感染防御能にどのような変化が起るかを，虫卵投与時期に対して CY 注射の時期をいろいろ変えて検討した．それらの日程は，Fig. 1 に示した．マウスに CY を注射しない対照群 1 群と，CY 注射する実験群（I，II，III，IV 及び V）5 群の計 6 群を用意した．対照群のマウスには，小形条虫虫卵 2,000 個を経口的に投与して初感染（day 0）を行い，その 5 日後（day 5）に同じく 2,000 個を経口投与して再感染，さらにその 4 日後（day 9）にマウスを殺し，腸管腔に寄生している初感染由来の成虫の存在を確認するとともに，腸絨毛内に寄生している再感染由来の cysticercoids の数を Hunninen (1935) の方法に従って顕微鏡下で調べた．実験第 I 群のマウスは，初感染の前日（day -1）に CY 400 mg/kg をあらかじめ腹腔内に注射しておいたもので，その注射翌日（day 0）に初感染，その 5 日後（day 5）に再感染，さらに再感染後 4 日目（day 9）に対照群の場合と同じように，成虫と腸絨毛内の cysticercoids を検査した．実験第 II 群では，初感染の 5 日前（day -5）に，実験第 III 群では，初感染の 10 日前（day -10）にそれぞれ CY 400 mg/kg をあらかじめ腹腔内に注射し，その後初感染（day 0）と再感染（day 5）を行って成虫並びに cysticercoids の寄生状態を調べた．実験第 IV 群では，

初感染後，いわゆる tissue phase (cysticercoids が腸絨毛内に存在する期間で虫卵投与後の約 4 日間をさす) を経過してしまった時期に当る初感染後 6 日目 (day 6) に CY 400 mg/kg を腹腔内に注射し，翌日 (day 7) に再感染を行い，その感染の成否を再感染後 4 日目 (day 11) にマウスを殺して調べた．さらに，第 IV 群と同様，初感染後 tissue phase を経過した時期で，かつ第 IV 群とは異なり，再感染の 6 日前に CY を注射する実験第 V 群を用意した．この第 V 群は tissue phase 経過後 CY を注射するという点では実験第 IV 群と，また初感染や再感染を問わず，虫卵投与直前ではなく数日前に CY を注射しておくという点では第 II 群と比較検討することが出来るように感染日程を組んだものである．また Fig. 1 には，同一宿主体内で初感染と再感染由来の寄生虫のそれぞれが，日時の経過に伴って Tissue phase と luminal phase (成虫が腸管腔に寄生ようになった時期) のどの phase に到達しているかも図示されている．

#### 実験 2.

CY 投与後のマウス腸間膜リンパ節内の Thy-1, 2 陽性細胞並びに PFC 数の経日的推移を調べた．ICR 系マウスに CY 400 mg/kg を 1 回腹腔内へ注射し，対照群には注射用蒸留水 0.2 ml を注射した．実験 1 の第 I 群，第 II 群及び第 III 群のそれぞれと同じ実験条件にする為，免疫細胞の検討を行うに当っては，CY 注射後 1, 2, 4 日目に調べるマウスには，CY 注射の翌日に，CY 注射後 6, 8 日目に調べるマウスには注射後 5 日目に，CY 注射後 11, 14 日目に調べるマウスには注射後 10 日目にそれぞれ 2,000 個の虫卵を経口投与した．

腸間膜リンパ節内の Thy-1,2 陽性細胞の全細胞数に対する相対的な比率と総細胞数は以下の方法で求めた。対照群及び CY 注射後1, 2, 4, 6, 8, 11並びに14日目に ICR 系マウスの雌雄各6匹計96匹を殺し、各マウスから摘出した腸間膜リンパ節を、血液や脂肪組織を取り除いた後、RPMI 1,640培養液内で鉄を用いて細切し、次いで尖平ピンセットで圧砕、キャピラリーピペットで数回攪拌した後、M-150メッシュの細胞濾過器を通して濾過した。以後この濾液を細胞浮遊液として算定に供した。培養液、抗 Thy-1,2血清、補体並びに細胞浮遊液のそれぞれ0.05ml ずつを小試験管に入れたもの、及び抗 Thy-1,2血清または補体を欠いた対照を用意し、これらを37Cで20分間振盪した後、氷槽に移して反応を停止させ、これらに trypan blue 溶液 (0.2% trypan blue 溶液4容+4.25% NaCl 溶液1容) 0.1 ml を加えて軽く攪拌したものについて死細胞数を数え、Thy-1,2陽性細胞数を算出した (Gorer *et al.*, 1956)。実際には、血球計算盤上で200個の細胞を調べ、抗 Thy-1,2血清と補体の添加により死滅した細胞を Thy-1,2陽性細胞とし、その割合と同時に測定した総細胞数より Thy-1,2陽性細胞数を算出した。

次に、CY 注射後の腸間膜リンパ節内の PFC の経日的推移を Cunningham and Szenberg (1968) の方法に従って調べた。対照群及び CY 400 mg/kg 腹腔内注射後1, 2, 4, 6, 8, 11並びに14日目に ICR 系マウス

雌雄各6匹計96匹を殺し、それぞれから摘出した腸間膜リンパ節を使用した。これらのマウスは、摘出5日前にあらかじめ羊赤血球 (SRBC)  $5 \times 10^8$  個を腹腔内に投与し感作されていたものである。摘出した各マウスの腸間膜リンパ節をイーグル MEM 培養液の中に入れ尖平ピンセットで圧砕、キャピラリーピペットで数回攪拌した後、M-150メッシュを通し、更に培養液で3回洗浄し、腸間膜リンパ節1個当たり0.5 ml の細胞浮遊液を調製した。この細胞浮遊液0.4 ml に、50% SRBC 溶液0.05 ml およびモルモット乾燥補体溶液0.05 ml を加えて混合し、Cunningham の chamber 内に注入、パラフィン・ワセリン混合物で封じた。これを 37C 45分 incubate し、その後 chamber 内の溶血斑総数を数え、これにより腸間膜リンパ節当りの PFC 総数を算出した。

## 結 果

### 実 験 1.

小形条虫感染に対する宿主マウスの防御能に及ぼす CY 注射の影響を Fig. 1 に示す実験日程に従って検討した。結果は Table 1. に示した。初感染5日後に再感染を行った対照群5匹のマウス中1匹に cysticercoids の寄生を認めたと、その寄生数は極めて少なく(3個)、残りの4匹すべてには、再感染は成立していなかった。CY 注射を行った5群(第I~第V群)では次の

Table 1. Effect of cyclophosphamide (400 mg/kg, ip) on the reinfection with *Hymenolepis nana* in mice

| Group   | No. of reinfected |   | No. of cysticercoids* in individual mice |    |     |     |     |     |     |     |   |     |  |
|---------|-------------------|---|--|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|-----|--|
|         | No. of challenged |   |  |    |     |     |     |     |     |     |   |     |  |
| Control | 1/ 5              | M | 0  | 0  |     |     |     |     |     |     |   |     |  |
|         |                   | F | 0  | 0  | 3   |     |     |     |     |     |   |     |  |
| I       | 14/14             | M | 11                                       | 42 | 46  | 47  | 64  | 69  |     |     |   |     |  |
|         |                   | F | 17                                       | 18 | 31  | 43  | 79  | 242 | 314 | 325 |   |     |  |
| II      | 7/ 9              | M | 13                                       | 89 | 119 | 119 |     |     |     |     |   |     |  |
|         |                   | F | 0  | 0  | 24  | 62  | 120 |     |     |     |   |     |  |
| III     | 4/15              | M | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 1   |     |     |   |     |  |
|         |                   | F | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 2   | 4 | 172 |  |
| IV      | 2/10              | M | 0  | 0  | 0   | 0   | 1   |     |     |     |   |     |  |
|         |                   | F | 0  | 0  | 0   | 0   | 2   |     |     |     |   |     |  |
| V       | 2/10              | M | 0  | 0  | 0   | 2   | 407 |     |     |     |   |     |  |
|         |                   | F | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   |     |     |     |   |     |  |

M; male F; female

\* The criteria for the reinfection are the presence of cysticercoids in the intestinal villi.

様な結果であった。CY 注射翌日に2,000個の虫卵で経口的に初感染し、その5日後に同じく2,000個の虫卵で経口的に再感染した第I群では、雄6匹、雌8匹すべてが再感染由来の cysticercoids (最少11個、最多325個)を保有していた。また、初感染の5日前に CY を注射した第II群では、雄4匹のすべてが再感染したが、雌5匹中2匹では再感染は認められなかった。しかし初感染の10日前に CY 注射を受けた第III群では、再感染の成立しなかったものが雄6匹中5匹、雌9匹中6匹存在し、再感染が成立していたマウスの場合でも、cysticercoids の寄生数が1~4個と少なかった。なかの雄マウス1匹に172個という cysticercoids の寄生を認める例もあったが、これはその体重減少が著しく(16.0g)、CY 注射後の体重回復の遅れたものであった。一方、初感染後約4日間の tissue phase を経過した時期、すなわち初感染後5日目に CY を注射、この注射後6日目に再感染を行った第V群では、雄5匹中2匹(cysticercoids 数が2個と407個)に再感染を見たが、このうち407個の cysticercoids を保有していたマウスは体重減少(13.7g)が著しいものであった。また、この第V群の雌マウスには再感染したものはなかった。更に、再感染の前日に CY を注射した第IV群では、再感染は殆んど成立せず、僅かに2匹のマウスに少数の cysticercoids(1個と2個)の存在を認めるに過ぎなかった。

#### 実験2.

CY 400 mg/kg をマウスの腹腔内に注射するとともに、実験1.の場合と同様、方法のところでも示したように CY 注射翌日に虫卵2,000個を経口投与したマウスを1, 2, 4日目に、注射後5日目に2,000個虫卵投与したマウスを6, 8日目に、更に注射後10日目に2,000個虫卵投与したマウスを11, 14日目にそれぞれ殺し、Thy-1,2陽性細胞数および PFC 数を算定した。その結果は、Fig. 2に示す通りである。

正常マウスの腸管膜リンパ節における Thy-1,2陽性細胞の割合は、雌雄を平均して51.3±0.7%の値を示したが、CY を注射すると2日目には最低の32.9±1.9%まで低下し、注射後4日目までは正常マウスのそれよりも低値を保った。しかし注射後6日目頃より、その占める割合は逆に上昇し、11日目には最高値60.6±1.2%に達し、14日目にはほぼ正常値に近いものとなった。一方、総細胞数は正常マウスでは腸管膜リンパ節1個当たり、平均32.0×10<sup>6</sup>個であったものが、注射24時間後には7.7×10<sup>6</sup>個、4日目には最低の3.2×10<sup>6</sup>個にまで減

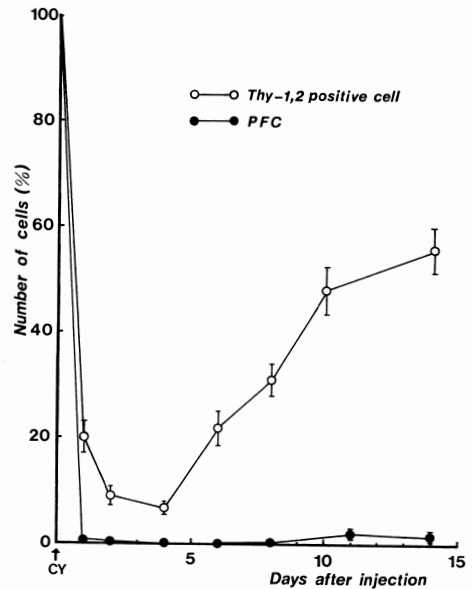


Fig. 2 Influence of cyclophosphamide on the population of Thy-1,2 positive cells and plaque forming cells (PFC) in the mesenteric lymph nodes from ICR mice injected intraperitoneally with the drug (400 mg/kg) on day 0. All the plots are given as geometric mean percent  $\pm$  SE for the control values.

少しした。その後6日目より徐々に回復増加し、14日目には16.7×10<sup>6</sup>個であった。腸管膜リンパ節1個当りの Thy-1,2陽性細胞数を総細胞数と Thy-1,2陽性細胞の比率より計算すると正常マウスを100% (16.5×10<sup>6</sup>個)としたとき、注射24時間後に20%に低下、4日目には最低の6.7% (1.1×10<sup>6</sup>個)を示した。6日目頃より徐々に回復増加し、14日目で55.8% (9.2×10<sup>6</sup>個)とほぼ正常値の1/2まで回復した。

それに対し、PFC 数の推移は腸管膜リンパ節当たり、無処置対照群 (day 0) で平均7×10<sup>2</sup>個 (これを100%とする)であったものが、CY 注射24時間後には僅か3個(0.4%)に激減しその後8日目までは殆んど消失、11日後でも13個(1.8%)を示すに過ぎず、実験期間を通じて極めて低値を保ち続けていた。

なお、sublethal dose である CY 400mg/kg を投与した場合、Thy-1,2陽性細胞数および PFC 数において明らかな性差は見られなかった。

#### 考察

小形糸虫に対する宿主マウスの再感染防御能は、T細

胞の生成を抑制するといわれる新生時胸腺摘出をほどこしたマウスや、抗胸腺細胞血清を注射したマウスでは明らかな消退を来し、容易に再感染が成立するようになる。しかし、これまでに宿主体内でT細胞の挙動を直接観察し、これと再感染防御能の変化との関係を調べようとした試みはない。そこで、著者らは従来B細胞を選択的に抑制するといわれているCYをマウスに投与し、小形条虫に対するマウスの防御能に及ぼす効果を調べるとともに腸間膜リンパ節内のThy-1,2陽性細胞とPFCの経日的推移を追跡した。

正常マウスでみられる再感染防御能が、400mg/kgというマウスにとって sublethal dose のCY注射によってどのような影響を受けるかを検討したところ、初感染前日にCY注射を行うと防御能が低下し、再感染が容易に成立し、また5日前にCY注射した場合も類似の傾向が見られた。しかし、注射時から初感染までの間隔が増すと、再感染は阻止された。このことは、出来るだけ初感染(感作)直前にCYを注射する事が防御能低下をもたらすのに有効であることを示している。更に、初感染後で、かつ再感染前にCYを投与した場合にも再感染の成立は困難である事が認められた。一方、CYを腹腔内に注射したとき、腸間膜リンパ節内のThy-1,2陽性細胞とPFCの数は、いずれも著しい減少を示したが、このような減少傾向も日時の経過とともに、Thy-1,2陽性細胞数の変動とPFC数の変動との間に明らかな違いのあることが示された。Thy-1,2陽性細胞数のCY注射後の経日的推移を見ると、注射後4日目に最低値を示したのち、それ以後は日時の経過とともに徐々に増加傾向を示し、14日目には正常値の約 $\frac{1}{2}$ にまで回復復帰するという変化を示した。これに対し、PFC数の変動はCY注射24時間後にはほとんど消失し、本実験期間を通じて低値(消失に近い状態)のままであった。すなわち、寄生虫の生育の場である腸管との間に機能的関連のある腸間膜リンパ節内でのCY注射後のThy-1,2陽性細胞数とPFC数の推移に特徴的な差異が認められた。

そこで、CY注射による防御能の様子と前述したThy-1,2陽性細胞数とPFC数の推移を対比すると、次の様なことが考察される。まず、防御能とThy-1,2陽性細胞数の推移とを併せ考察した場合、初感染前日にCY注射したマウス(第I群)では、防御能誘発に重要な意味をもつ cysticeroids が腸絨毛内に侵入している期間、すなわち tissue phase に相当する期間中、Thy-1,2陽性細胞数が低下していることになる。また初感染

5日前(第II群)の場合もほぼ同様にThy-1,2陽性細胞数の低下期から上昇期に tissue phase がかさなり再感染防御が成立しにくい傾向が見られた。それに対し、10日前(第III群)に注射されたものでは、正常値の約 $\frac{1}{2}$ ではあるが、Thy-1,2陽性細胞数が増加復帰している時期と初感染虫体が tissue phase を経過している時期とが重なり、従つて正常マウスと類似の防御能が発揮された結果、再感染の成立が困難になつたと考えられる。次に、抗体産生能の一つの指標として用いたPFC数の推移と防御能とを対比して考察すると、PFC数が極めて低値であり、抗体産生能が低下していると考えられる時期に第I、第II、第III群のいずれの場合も tissue phase を経過していることになるが、再感染防御能に対してはその低下が上記3群に対し、画一的な効果を示してはなかつた。

このことは、Thy-1,2陽性細胞数の減少時と tissue phase が重なることが再感染を容易にし、PFC数の減少、消失があつても防御能は誘発されうることを意味する。従つて、小形条虫感染時の防御能の誘導には抗体産生の関与というより、むしろThy-1,2陽性細胞のかかわりを重視する必要がある。さらに初感染後にCY注射をしても(第IV、第V群)防御能に変化がない事は、初感染により感作された細胞(免疫記憶細胞?)にはもはやCYは、影響を及ぼし得ない事を示すものかもしれない。この点に関しては今後、更に解析を進め検討を加える必要がある。

最近、一般に生体の免疫応答がほとんどの場合、T細胞の関与した現象として理解されている。抗体産生における helper T cell, 外来性の生体に応答する killer T cell など、T細胞の機能は多岐にわたつており、さらには mediator を産出して単球やマクロファージの遊走などにも関与しているとされている。ここに報告した結果は、T細胞(特に腸間膜リンパ節内のThy-1,2陽性細胞として捕えたものではあるが)が、小形条虫感染に対する防御能の獲得に重要な役割を担っていることを示しているものと解釈できよう。

## 要 旨

Cyclophosphamide (CY) をマウスに注射し、小形条虫に対する再感染防御能に及ぼす影響を観察するとともに、CY注射による腸間膜リンパ節内のThy-1,2陽性細胞と羊赤血球に対するPFC数の経日的推移を追うことにより、本条虫の感染にThy-1,2陽性細胞やPFCがいかにかわつているかを検討した。得られた結果

は、次の通りである。

(1) 小形条虫の初感染直前に CY 400 mg/kg を注射した場合には、実験に供した全個体に再感染が成立した。しかし、注射時から初感染までの間隔が増したり、初感染後かつ再感染前に CY を投与したときには、おむね再感染は阻止された。

(2) CY をマウスに注射したとき、腸間膜リンパ節内の Thy-1, 2 陽性細胞数は、注射24時間後に正常値の20%に減少し、4日目には最低値の6.7%を示したのち、日時の経過とともに回復増加し、14日目には正常値のほぼ $\frac{1}{2}$ まで復帰した。それに対し、PFC 数は注射24時間後には、殆んど消失に近い状態となり、この状態は実験期間中持続した。

(3) Thy-1, 2 陽性細胞数の減少している時期と初感染由来の cysticercoids が腸絨毛内に侵入している時期すなわち tissue phase とが重なつたとき、容易に再感染が成立していた。しかし、PFC 数の推移と感染阻止能との間に直接の関連性は認め難かつた。

(4) 上記の結果は、小形条虫感染時の防御能誘導には、Thy-1, 2 陽性細胞のかかわりを重視する必要があることを示している。

#### 文 献

- 1) Berntzen, A. K. and Voge, M. (1965) : In vitro hatching of oncospheres of four Hymenolepidid cestodes. J. Parasit., 51, 235-242.
- 2) Carter, P. B. and Collins, F. M. (1974) : The route of enteric infection in normal mice. J. Exp. Med., 139, 1189-1203.
- 3) Cohen, A. and Schlesinger, M. (1970) : Absorption of guinea pig serum with agar. Transplant., 10, 130-135.
- 4) Cunningham, A. J. and Szenberg, A. (1968) : Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody forming cells. Immunol., 14, 599-600.
- 5) Gorer, P. A. and O'Gorman, P. (1956) : The cytotoxic activity of isoantibodies in mice. Transplant. Bull., 3, 142-143.
- 6) Hunninen, A. (1935) : A method of demonstrating cysticercoids of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in the intestinal villi of mice. J. Parasit., 21, 124-125.
- 7) Okamoto, K. (1968) : Effect of neonatal thymectomy on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. Jap. J. Parasit., 17, 53-59.
- 8) Okamoto, K. (1969) : Effect of cortisone on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. Jap. J. Parasit., 18, 591-594.
- 9) Okamoto, K. and Koizumi, M. (1972) : *Hymenolepis nana* : Effect of antithymocytes serum on acquired immunity in mice. Expt. Parasit., 32, 56-61.
- 10) Poulter, L. W. and Turk, J. L. (1972) : Proportional increase in the carrying lymphocytes in peripheral lymphoid tissue following treatment with cyclophosphamide. Nature New Biol., 238, 17-19.
- 11) Stockman, G. D., Heim, L. R., South, M. A. and Trentin, J. J. (1972) : Differential effects of cyclophosphamide on the B and T cell compartments of adult mice. J. Immunol., 110, 277-282.
- 12) Winkelstein, A. (1973) : Mechanisms of immunosuppression; Effects of cyclophosphamide on cellular immunity. Blood, 41, 273-283.

**Abstract**

EFFECT OF CYCLOPHOSPHAMIDE ON ACQUIRED IMMUNITY TO  
*HYMENOLEPIS NANA* IN MICE — POPULATION DYNAMICS OF  
THY-1, 2 POSITIVE CELLS AND PLAQUE FORMING CELLS  
AND HOST REACTIVITY TO CHALLENGE INFECTION —

SHINGO UCHIDA, HIROKO SUZUKI, FUMINORI NAKAMURA,  
KAZUHITO ASANO AND KENICHI OKAMOTO  
(Department of Medical Biology, School of Medicine,  
Showa University, Tokyo, Japan)

In some factors responsible for the strong acquired immunity to *Hymenolepis nana*, the thymus has been assigned a role in the rejection of cysticercoids from the intestinal villi of the mouse, although no clear evidence for the participation of T lymphocytes yet available.

In the present study, we delineated the changes of acquired immunity to *H. nana* in mice injected intraperitoneally with a single dose of cyclophosphamide (CY, 400 mg/kg) at various times before or after the immunizing infection. The population dynamics of Thy-1, 2 positive cells and plaque forming cells to sheep red blood cell were also observed in the mesenteric lymph nodes from ICR mice treated intraperitoneally with CY.

All of the mice injected with CY on the day before the immunizing infection (on day -1) showed a marked reduction of acquired immunity; they were all positive for cysticercoids from reinfection. Some of the mice injected on day -10 and -5 relative to immunizing infection, and the majority of them injected on day +5 and +6, at which time the tissue phase already elapsed, were negative for the cysticercoids.

The depression of the population of Thy-1, 2 positive cells continued through the 4th day after CY treatment. Thereafter the population of Thy-1, 2 positive cells showed a gradual rise on day +6, then restored about a half to normal level on day +14. The population of plaque forming cells showed dramatic elimination immediately after the CY treatment and they remained markedly eliminated for the duration of this study.

A notable point in these experiments was the fall in the population of Thy-1, 2 positive cells in the mesenteric lymph nodes during the first 4 to 5 days of CY treatment. CY-treated mice showed the most remarkable reduction of protective immunity to *H. nana* challenge, when the mice were treated immediately before the immunizing infection. These results were interpreted to indicate that the host resistance to the challenge was influenced by the population of Thy-1, 2 positive cells during the tissue phase of immunizing infection.