

小形条虫に対する宿主マウスの感染阻止能のヌード マウスへの移入 (Passive transfer) と その免疫細胞学的検討

浅野 和 仁 中 村 文 規 岡 本 謙 一

(昭和57年7月12日 受領)

Key words: *Hymenolepis nana*, nude mouse passive transfer, protective immunity, lymphocyte, T-cell subpopulation

あらかじめ小形条虫虫卵の経口投与による初感染を受けたマウスでは、再度の虫卵による経口感染が、初感染後極めて早期に阻止される (Hynemann, 1962, 1963). このような強い感染阻止能の発現機構を理解するために、これまで、感染マウスの血清 (Weinman, 1966; Ito, 1977), 脾細胞 (Friedberg *et al.*, 1967), あるいは腹腔浸出細胞 (Gupta *et al.*, 1980) を未感染マウスに移入し、いわゆる阻止能の passive transfer が調べられたが、得られた結果はいずれも、虫卵感染マウスが示す上記のような強い阻止能とは比べものにならない程弱く、passive transfer ができたと理解するにはあまりにも不十分なものであった。

われわれは、先に cyclophosphamide 投与マウスの防御能が、腸間膜リンパ節内のT細胞の推移と密接な関連をもっていることを示唆する結果を報告したが (内田ら 1982), 今回、(1)腸間膜リンパ節細胞を用いた阻止能の passive transfer, 並びに、(2)胸腺摘出や ATS 処理により阻止能を変動させ、その際の腸間膜リンパ節内の T, B 細胞、さらにはT細胞の subpopulation の動態を観察した。その結果、小形条虫に対するマウスの感染阻止能の発現機構に細胞性免疫が深くかかわっていることがより一層明確になつてきたので報告する。

材料及び方法

実験動物：移入実験には、供与者として BALB/c 系マウス (+/+) を、受容者として BALB/c 系ヌードマウス (nu/nu) を用いた。また、免疫細胞学的検索には

この研究の一部は昭和56年度文部省科学研究費の援助によつておこなわれた。

昭和大学医学部医動物学教室

C3H 系並びに ICR 系マウスを用いた。

Brain associated θ antiserum (BAT) の作製：BAT は Golub (1971) の方法に準じて作製した。5匹の C3H 系マウスの脳を Balanced salt solution 中で homogenize し、同量の Freund's complete adjuvant を加えて混和、この 1 ml を体重 2~3 kg の New Zealand White 系雌ウサギの皮下に注射し、その後さらに 1 週目と 4 週目に同様皮下に注射した。最終注射後 3 週目に全採血をおこない、型通り血清分離、56C 30分間非働化、次いで C3H マウス赤血球で 4C 12時間吸収 (血球：血清 = 1 : 4), さらに C3H マウス肝 homogenate と混和攪拌しながら 4C 12時間吸収 (組織：血清 = 1 : 2) して調製した。このものの C3H マウス胸腺細胞に対する力価を Gorer and O' Gormar の Cytotoxic test (Waksal *et al.*, 1971による変法) により測定したところ 1 : 2,048 であつた。BAT は使用時まで -80C に保存した。

抗 Thy-1・2抗血清の作製：10週齢を過ぎた AKR マウスの腹腔内へ 2週齢の C3H マウスから採取した胸腺細胞 10^7 個を 1 週間隔で 6 回注射し、最終注射後 1 週目に心臓より採血、血清を分離、非働化 (56C 30分) し、ATS の場合と同様 C3H マウス赤血球 (血清：血球 = 1 : 4) を混じて 4C で 12時間吸収をおこなつた (Reif and Allen, 1964)。この抗血清の cytotoxic test による C3H 胸腺細胞に対する力価は 1 : 128 であつた。この抗血清を使用時まで -20C に保存した。

Antithymocyte serum (ATS) の作製：ATS は Suthiwan *et al.*, (1969) の方法に準じて作製した。2~3 週齢の C3H マウス胸腺細胞 2×10^8 個を 2 週間隔で 2 回 New Zealand White 系雌ウサギの耳静脈内に注射、最終注射後 1 週目に採血、血清分離、非働化した後、

抗 Thy-1・2 抗血清の場合と同様の方法で吸収をおこなった。Gray *et al.*, (1966) の方法により調べたこのものの C3H マウス胸腺細胞に対する凝集力価は 1:64 であった。この抗血清を使用時まで -20C に保存した。

補体: cytotoxic test に使用した補体は雄モルモット (体重 300~400g) より得た血清を Cohen and Schleginger (1970) の方法に従って Noble agar (Difco) で T 細胞に対する自然抗体を吸収したものである。調製した補体を分注し、使用時まで -80C で保存した。使用に当っては、Medium 199 (日水製薬) で 3 倍に稀釈したものをを用いた。

細胞浮遊液: BAT 陽性細胞, C3 レセプター保有細胞, または Thy-1・2 陽性細胞の変動を調べるために、腸間膜リンパ節あるいは脾臓の細胞浮遊液を作った。用いた培養液は Medium 199 である。BAT 陽性細胞を調べるための細胞浮遊液は、臓器を眼科用ハサミで細切、ピペットで攪拌して作り、他は同様臓器を細切後、スライドグラス 2 枚の間にはさんで圧平、流出した細胞をピペットで攪拌して調製した。また、passive transfer に用いた感作細胞浮遊液は、感作後所定の日数を経過した BALB/c 系の供与者マウスの腸間膜リンパ節及び脾臓より調製したものである。摘出したこれらの臓器を 100 U/ml のペニシリン G カリウム (明治製薬), 100 μ/ml のストレプトマイシン (科研化学), 2% 牛胎児血清 (GIBCO) を含む冷却した Medium 199 中に入れ、眼科用ハサミで臓器を細切、さらに滅菌した 2 枚のスライドグラスの間で圧平、細胞を集め、これらを 4C 10 分間遠心 (800rpm) して洗浄、生細胞数が 250×10^6 /ml になるように調製した。

移入実験に用いた供与者マウスの感作と感染血清: 5~6 週齢に達した BALB/c 系雄マウスに 1,000 個の小形糸虫脱殻卵を経口投与し感作した。感染 4 日目マウス由来移入細胞, 同じく 21 日目マウス由来移入細胞は、移入当日に日数を合わせてあらかじめ感染させておいたマウスより移入の都度前記の方法により作った。また、移入に用いた血清は、所定の日数を経過した感染マウスより採血、血清分離後非働化し、それらを集めて -20C に保存しておいたものである。

新生時ならびに成体時の胸腺摘出: 新生時胸腺摘出は生後 24 時間以内に Okamoto (1968) によつて記載された方法に従つておこなった。成体時胸腺摘出は Miller (1960) の方法に準じた。ネンブタール (Abbot Lab.) を用いて麻酔した 5 週齢のマウスを開胸し、胸腺を露出、アスピレーターに連結したキャピラリーで胸腺を吸

引除去した。胸腺摘出後胸腔内に少量のペニシリン液を注入、胸壁を軽く圧してから外科用アロンアルファ (三共製薬) で胸筋切開部を接着、さらに皮膚を縫合した。

BAT 陽性細胞ならびに Thy-1・2 陽性細胞の検出: マウスより前記の方法で被検細胞数が 5×10^6 個/ml になるように作った細胞浮遊液を用いて BAT 陽性細胞を調べた。細胞浮遊液 0.05ml, 抗血清 (BAT) 0.05 ml, 並びにモルモット補体 0.05ml を混合、これを 37C 45 分間 incubate した後、0.16% トリパン・ブルー液 0.1 ml を加え、顕微鏡下に細胞の生死を判別計数した。Thy-1・2 陽性細胞の判別計数も同様の方法によつた。被検臓器ごとに作った細胞浮遊液中に占める Thy-1・2 陽性細胞数を抗 Thy-1・2 血清及び補体を用いて調べた。

C3 レセプター保有細胞の検出: Lay and Nussenzweig (1968) 及び Chensue and Boros (1979) に準じロゼット形成細胞を観察する方法によつた。5% 羊赤血球 (SRBC) 浮遊液と、これと同量の Veronal 緩衝液 (VBS) で $1/50$ に稀釈した抗 SRBC-IgM 抗体 (Cappel Lot. 14078) とを混合し、37C 30 分反応をおこない、VBS で 1 回洗つたもの (EA とする) を用意する。次に、この EA とマウス補体 ($1/10$ 稀釈マウス血清) とを混合、再び 37C 30 分間反応をおこない EAC を作つた。さらに、0.01M EDTA 含有 RPMI-1640 培地 (GIBCO) 1 ml 中上記 EAC が 5×10^7 個含まれるように EAC 浮遊液を調製した。この EAC 浮遊液 50 μl とこれと同量の被検臓器の細胞浮遊液 (Medium 199 中の細胞を 1 回洗つて RPMI-EDTA 1 ml 中 5×10^7 個の細胞を含むように調製したもの) を小試験管に入れ、37C 30 分間反応させた後、氷中に 5 分間静置して反応を停止、あとこれをおだやかに振つて、管中の被検液を血球計算盤に移し検鏡した。

Cytotoxic Index と C3 レセプター保有細胞: BAT 陽性細胞または Thy-1・2 陽性細胞の観察結果は、

$$\text{Cytotoxic Index (CI)} = \frac{A - B}{100 - B} \times 100 (\%)$$

A: 抗血清を加えた場合死滅した細胞の百分率

B: 抗血清を加えなかつた対照で観察された死滅細胞の百分率

で表わした。観察した細胞数は 100 個である。

また、C3 レセプター保有細胞とは、4 個以上の EAC を付着しロゼットを形成していた細胞である。結果は 300 個の細胞を観察し、その中に占めるロゼット形成細胞の百分率で表わした。

感染マウスの細胞または血清の移入と感染阻止能の判定：前記の方法であらかじめ感染をおこない所定の日数を経過した（4日または21日）BALB/c 系雄マウスより得た感作供与細胞または感作血清を BALB/c 系雄ヌードマウスに移入し、それらの阻止能を調べた。移入に用いた細胞数は脾細胞、腸間膜リンパ節細胞ともに1回の移入注射につき 5×10^7 個であつた。注射は1回あるいは実験によつては48時間おきに計3回尾静脈内におこなつた。感染血清の場合は0.5ml/1回、48時間おきに3回計1.5mlを腹腔内に注射した。いずれの場合も、移入終了後48時間目に、それぞれの受容者ヌードマウスに脱殻卵1,000個を経口投与し、その4日後にマウスを殺し、Hunninen (1935)の方法により腸絨毛内 cysticercoïdsの有無を検査し感染阻止能移入の成否を判定した。

腸間膜リンパ節細胞の免疫細胞学的検討と感染阻止能：腸間膜リンパ節細胞の免疫学的性質の検討を次の二点から試みた。1) 新生時胸腺摘出により再感染が成立し感染阻止能の消退をきたした ICR 系マウスの腸間膜リンパ節細胞中の BAT 陽性細胞と C3 レセプター保有細胞の変動を調べる、2) T細胞には長寿命のものと短寿命のものがあるとされるが (Raff and Cantor, 1971; Cantor, 1972), これらのうちいずれが阻止能発現に関与しているかを検討する、の二点である。2) の実験では、成体時胸腺摘出をおこなつた後15週飼育し腸間膜リンパ節内の短寿命のT細胞を減少せしめた C3H 系マウスと、成体時胸腺摘出後少量（普通 ATS を多量に投与すると阻止能は消退するが本実験では ATS のみでは阻止能消退を来さない量である0.03ml/マウス）の ATS を注射して長寿命のT細胞を減少させた C3H 系マウスの双方における感染阻止能を再感染由来の cysticercoïdsの有無で調べた。

結 果

1. 感染マウス細胞による感染阻止能移入実験

BALB/c 系マウスに小形糸虫虫卵1,000個を経口投与し供与者マウスとした。虫卵投与後4日目または21日目（以下4日目採取の細胞を Donor group A, 21日目採取の細胞を Donor group B, 対照として用いた非感染マウスから採取した細胞を Donor group C と表わす）に腸間膜リンパ節細胞 (MLNC) あるいは脾細胞 (Sp.C) を採取した。これらの細胞を受容者として用意した BALB/c 系ヌードマウスの尾静脈より所定の数注射し、その2日後に1,000個の虫卵を経口投与して、感染の阻止が認められるか否かを調べた。その結果は Table 1 に示

してある。

Donor group A の MLNC 5×10^7 個を攻撃感染2日前に1回だけ注射したヌードマウスでは、7匹すべてに感染が成立し、阻止能（ここでいう阻止能とは完全に感染の成立しないことを意味し、いわゆる防御能とは区別して用いることとする）を移入することはできなかつたが、cysticercoïds の平均感染数16.1は対照群ヌードマウスの163.0より明らかに少なかつた (Exp. I)。ところが Donor group A の MLNC を攻撃感染6、4ならびに2日前の3回注射したヌードマウスでは、8匹すべてに阻止能が移入され cysticercoïds を検出できなかつた。この時の対照群の cysticercoïds 数は186.0であつた (Exp. II)。Exp. III は Exp. II と全く同じ条件で事実の再確認を計つたものである。ここでも MLNC を注射されたヌードマウス7匹すべてにおいて初感染の阻止されることが示された。

次に、供与マウスから細胞を採取する時期を変えて検討した。感染後21日を経過したマウスから細胞を採取し (Donor group B), これらをヌードマウスに移入し Exps. I, II, III と同様の感染をおこなつたところ、阻止能は移入できず、すべてのマウスで感染が成立した (Exps. IV, V)。また、MLNC に代えて Sp.C を注射した実験でも、阻止能を移入することはできなかつた (Exp. IV)。同様に、感染後4日目ならびに21日目に採血したマウス血清を0.5ml ずつ3回注射し阻止能の移入を試みたが、どのマウスにも感染の阻止は認められなかつた (Table 2, Exps. VII, VIII)。

2. 感染阻止能発現に働く腸間膜リンパ節細胞の検討
経口的に一度虫卵の感染を受けたマウスでは、再感染が阻止されるが、この阻止能は新生時胸腺摘出によつて容易に消退する (Okamoto, 1968)。このことを利用して、先ず MLNC 中のどの種の細胞が阻止能発現に関与しているかを検討した。対象としたのは BAT 陽性細胞と C3 レセプター保有細胞である。Table 3 にその結果を示した。剖検時再感染の成立が確認され阻止能を失つている新生時胸腺摘出群のマウスと無処置対照群のマウスについて、BAT 陽性細胞と C3 レセプター保有細胞の全 MLNC 中に占める割合を調べたところ、BAT 陽性細胞の占有率は、無処置対照群では平均47.0%、胸腺摘出群では平均3.2%であつた (Exp. IX)。また、EAC ロゼット形成法により検出された C3 レセプター保有細胞のそれは、両群それぞれ平均15.6%、15.3%であつた (Exp. X)。

BAT 陽性細胞を調べるための実験 (Exp. IX) では、

Table 1 Passive protection of nude mice by the injection of donor cells from BALB/c mice infected with *Hymenolepis nana* eggs

Exp. No.	Donor group (see Table 1)	No. of 2-day-interval transfer injection (5×10^7 cells, i.v.)	Recipients		
			No. of donor cells ($\times 10^7$) and cell type	No. of mice infected	No. of mice examined
I	A	1*	5 MLNC†	7/7	16.1 (5.9)
	C	1	5 MLNC	3/3	163.0 (29.5)
II	A	3	15 MLNC	0/8	0
	C	3	15 MLNC	3/3	186.0 (36.6)
III	A	3	15 MLNC	0/7	0
	C	3	15 MLNC	4/4	148.3 (47.9)
IV	E	1	5 MLNC	7/7	302.0 (87.6)
	C	1	5 MLNC	3/3	240.6 (45.5)
V	B	3	15 MLNC	7/7	181.7 (35.0)
	C	3	15 MLNC	3/3	264.0 (19.5)
VI	A	3	15 Sp. C‡	8/8	211.9 (49.2)
	C	3	15 Sp. C	3/3	241.3 (26.7)

All the donor mice were orally given a single inoculation with 1,000 *H. nana* eggs and the periods from egg inoculation to cell collection for donor groups A and B were 4 days and 21 days, respectively.

Donor group C served as non-sensitized control.

All the recipient mice were orally challenged with 1,000 *H. nana* eggs 2 days after the final transfer injection.

* The figures of this column indicate that a single dose of 5×10^7 cells was transferred once (2 days before challenge infection) or three times (6, 4 and 2 days before the challenge).

† Mesenteric lymph node cells ‡ Spleen cells

Table 2 Passive transfer experiments of protective immunity against *Hymenolepis nana* in nude mice by the injection of immune serum

Exp. No.	Interval between oral infection and collection of serum from donor	Recipients		
		Total dose of immune serum injected (ml)	No. of mice infected	No. of mice examined
VII	4	1.5	7/7	208.1 (22.4)
	control	1.5	3/3	165.0 (27.4)
VIII	21	1.5	8/8	96.3 (47.8)
	control	1.5	3/3	00.3 (48.8)

All the recipient mice were intraperitoneally injected three times with a single dose of serum (0.5 ml) on days -6, -4 and -2 relative to the challenge.

検査する細胞の採取に際し組織の圧平をおこなわず単にピペット攪拌により採集しており、組織から充分細胞を採取したとはいえないので細胞総数の算出をさけたが、C3 レセプター保有細胞 (RFC) の測定時 (Exp. X) に算定した MLNC 総数は、新生時摘出群 2.01×10^7 個、対照無処置群 5.50×10^7 個であった。この結果は、新生時胸

腺摘出により MLNC の総数が 64.5% 減少したことを示すが、このことを考慮に入れて BAT 陽性細胞ならびに C3 レセプター保有細胞の変動を算出すると、無処置対照群では MLNC 総数中 2.59×10^7 個が、新生時胸腺摘出群では 0.06×10^7 個が BAT 陽性細胞であり、胸腺摘出により 97.7% も減少したことになる。同様に算出する

Table 3 Percentages of BAT antigen bearing lymphocytes (BAT-L) and EAC rosette forming cells (RFC) in the mesenteric lymph node of neonatally thymectomized mice and their protective immunity to *Hymenolepis nana*

Exp. No.	Treatment	% of BAT-L (SD)	% of RFC (SD)	No. of total cells ($\times 10^7$) (SD)	No. of mice reinfected /	No. of mice examined
IX	Neonatal thymectomy	3.2(2.4)	—	—	5/5	
	None (control)	47.0(1.0)	—	—	0/3	
X	Neonatal thymectomy	—	15.3(1.4)	2.01(0.2)	5/5	
	None (control)	—	15.6(1.1)	5.50(0.5)	0/3	

Table 4 Combined effects of adult thymectomy (ATx) and antithymocyte serum (ATS) on the percentages of Thy-1.2 positive cells and on the protective immunity to *Hymenolepis nana* in C3H mice

Exp. No.	Treatment		No. of mice examined	Interval between treatment and primary infection (days)	% of Thy-1.2 positive cells		No. of mice reinfected /	No. of mice challenged
	ATx	ATS			Spleen	Mesenteric lymph node		
XI	None		5	—	20.4(0.9)	44.6(8.3)	—	
			9	—	—	—	0/ 9	
XII	+	—	11	105	5.2(4.6)	46.0(6.1)	—	
			14	105	—	—	0/14	
XIII	None		6	—	20.0(1.7)	47.0(6.1)	—	
			14	—	—	—	0/14	
XIV	—	+	6	2	20.1(2.3)	47.3(3.9)	—	
			8	2	—	—	0/ 8	
XV	+	—	8	2	20.2(1.0)	43.8(4.2)	—	
			10	2	—	—	0/10	
XVI	+	+	10	2	17.4(2.3)	6.3(5.0)	—	
			21	2	—	—	17/21	

Adult thymectomy was performed at 5 weeks of age.

ATS-treated mice were injected two times with a small dose of ATS (0.03 ml).

Figures in parentheses represent standard deviation.

と C3 レセプター保有細胞は64.0%減と計算される。

次に、T細胞の2つの subpopulation である T_H 細胞と T_H 細胞 (Raff and Cantor, 1971) のいずれが阻止能発現に主要な役割を果しているかを検討した。Table 4に、成体時胸腺摘出 (ATx) と抗胸腺細胞血清 (ATS) 処理を組合せた実験マウスにおける脾臓ならびに腸間膜リンパ節内の Thy-1・2陽性細胞の占める百分率と、再感染の成否を示した。生後5週目に ATx をおこない、その後15週 (105日) 間飼育したマウスで抗 Thy-1・2抗血清を用いた cytotoxic test により Thy-1・2陽性細胞を調べたところ、胸腺摘出マウス (Exp.XII) における腸間膜リンパ節内の陽性細胞の百分率 (46.0%) は

対照群マウス (Exp.XI) のそれ (44.6%) と差がなかったが、脾臓内の陽性細胞の百分率 (5.2%) は対照群のそれ (20.4%) に比較して著しく低下していた。このような脾臓内のT細胞 (短寿命の T_H 細胞) の減少したマウスを用いておこなった感染実験では、14匹中いずれのマウスにも再感染由来の cysticercoids は検出できず阻止能の消退は認められなかった。ATx 後24時間間隔で2回、1回量0.03ml の ATS を注射し、その48時間後に Thy-1・2陽性細胞を調べた実験 (Exp.XVI) では、脾臓内の Thy-1・2陽性細胞の百分率 (17.4%) は、対照群 (Exp.XIII) の20.0%、ATS 処理のみの実験群 (Exp.XIV) の20.1%、ならびに ATx のみの実験群 (Exp.

XV) の20.2%に比較して大差なかつたが、腸間膜リンパ節内の Thy-1・2陽性細胞の占める百分率(6.3%)は、上記の3群のそれぞれの百分率(47.0%, 47.3%, 43.8%)に比較して有意に減少していた。このような腸間膜リンパ節内のT細胞(T₂細胞, 長寿命)の減少したマウスでおこなつた感染実験は、被検マウス21匹中17匹(81.0%)に再感染由来の cysticercoids の寄生を認め、阻止能が顕著に消退していることを示した。対照群を含む他の3群(Exp.XIII, XIV, XV)では阻止能が働いて再感染は全く認められなかつた。

考 察

あらかじめ小形条虫の虫卵を経口投与され一度感染の成立したマウスに再度虫卵を経口投与しても再感染が成立しないことは、この寄生虫の特徴である。このような再感染の阻止は、再投与された虫卵由来の六鉤幼虫が宿主マウスの腸絨毛内に侵入し、その後死滅排除されるためとされている(Ito and Yamamoto, 1976; Miyazato *et al.*, 1979)。この感染阻止機構について、これまでに体液性(Weinmann, 1966; Di Conza, 1969; Ito, 1977)細胞性(Okamoto, 1968; Okamoto and Koizumi, 1972)それぞれの免疫の立場から研究されてきた。なかでも移入実験では、特にこの寄生虫の特徴から単なる防御傾向が受容者に賦与され寄生虫体数が減少したことを指標にするのではなく、前記の強力な阻止能が移入されて受容者における感染が成立しなくなることを指標にし、かつ、それが再現性の高いものである必要がある。この観点から、感染血清を用いた移入実験(Weinmann, 1966)には、防御傾向の移入が示されてはいるが阻止能移入の点で充分ではなく、また阻止能移入を示した報告(Ito, 1977)も前述の実験(Exp.VII, VIII)の結果などからみて再現することが必ずしも容易ではないという難点がある。さらに、脱殻虫卵を皮下に注入し発育してきた cysticercoids の存在している皮下へ直接感染血清を注射(受動的に移入)し、それらの発育阻止を示した Di Conza (1969)の実験もあるが、この研究には、虫体の発育阻害に及ぼす感染血清の役割を皮下という場を借りて解析することはできても、自然に認められる腸管における感染機構そのものの解明には結びついてこないという難点がある。一方、細胞性免疫の面から感染機構に検討を加えてきた Okamoto (1968), Okamoto and Koizumi (1972)の研究は、胸腺を除去したり、抗胸腺細胞血清処理により阻止能を消退させることはできたものの、細胞移入による阻止能の移入の証明は得られないままであつ

た。また、感染マウス脾細胞(Friedberg *et al.*, 1967)や腹腔浸出細胞(Gupta *et al.*, 1980)を用いた移入実験もあるが、自然の再感染阻止能の強さからみて、完全な阻止能移入に成功したものは判定し難い。

先天的に胸腺を欠損しているヌードマウスでは再感染が容易に成立し(岡本ら, 1978)、さらに繰り返し自家感染も成立してくること(Reed *et al.*, 1977)が示されている。ここに報告した阻止能移入の実験(Exp. II)の結果は、このようなヌードマウスに感染後4日目という非常に早期のマウスの腸間膜リンパ節細胞(MLNC)を尾静脈中に注射移入することにより、自然に認められる正常マウスの再感染阻止能に匹敵する強力な阻止能を賦与することに成功したことを示している。確認のため同じ実験を再度試みた場合(Exp. III)にも、同様に阻止能移入の成功結果を得た。

既に、内田ら(1982)は cyclophosphamide 処理マウスを用い阻止能に寄与するのはB細胞ではなくT細胞であろうと報告した。本研究では、新生時胸腺摘出マウスにおける観察から阻止能発現に関与しているのは腸間膜リンパ節内の BAT 陽性細胞すなわちT細胞であることが示唆されたが(Exps. IX, X), Raff and Cantor (1971)のいうT細胞の subpopulation T₁細胞とT₂細胞の再感染阻止能に対する関与について、さらに ATx と ATS 処理の組合せを用いて調べたところ、阻止能に寄与しているのは MLNC 中の Thy-1・2陽性細胞すなわちT細胞に属し、かつ ATS に感受性の高いT₂細胞であることが示唆された(Exp. XVI)。また、T₁細胞が主として胸腺ならびに脾臓に分布し、T₂細胞がリンパ節ならびに末梢血中に分布している(Raff and Cantor, 1971)と報告されているところから、MLNC を移入した実験(Exps. II, III)において阻止能移入が成功し、Sp.Cを用いた実験(Exp. VI)では移入が成功しなかつたことはうなずける結果である。

今後、MLNC 中に含まれる細胞を種類別に分別採取したものを用いて移入実験を試み、直接的に阻止能に関与している細胞の証明を得よう努めると共に、感染後早期の MLNC 移入に有効であることの意味ならびに移入された阻止能の持続性についても検討する必要がある。さらにT細胞が虫体消失(殺虫)に関与している機構を解析することもこれからの課題として残されている。

要 約

BALB/c 系マウスを供与者, BALB/c 系ヌードマウスを受容者として, 小形条虫に対する感染阻止能の移入 (passive transfer) を試みたところ, 自然に認められる再感染阻止能に匹敵する強力な阻止能を移入することができた. その要点は次の通りである.

1. 小形条虫虫卵経口投与後4日目の供与マウスの腸間膜リンパ節細胞 (注射1回につき 5×10^7 個, 48時間間隔で3回, 総数 15×10^7 個) を受容者ヌードマウスの尾静脈内に注入, その2日後に脱殻虫卵1,000個を経口投与した. 虫卵投与後4日目に受容者ヌードマウスを殺し, 腸絨毛内の cysticercoids の有無を調べたところ, 用いたヌードマウスすべてに一匹の寄生も認められず完全に感染が阻止された.

2. 供与細胞移入の回数を1回だけにすると完全な阻止能の移入は達成できなかつた.

3. 虫卵経口投与後21日目のマウスの腸間膜リンパ節細胞, 投与後4日目の脾細胞, または, 投与後4日目と21日目にそれぞれ採取した血清を用いて阻止能移入を試みたが, いずれも移入を達成することはできなかつた.

4. 阻止能移入の役割を担当しているのは, T細胞, 特に T_2 subpopulation に属する細胞であることが示唆された.

文 献

- 1) Cantor, H. (1972) : T cell and immune response. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 25, 73-82.
- 2) Chensue, S. W. and Boros, D. L. (1979) : Population dynamics of T and B lymphocytes in the lymphoid organs, circulation and granulomas of mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 28, 291-299.
- 3) Cohen, A. and Schleginger, M. (1970) : Absorption of guinea pig serum with agar. *Transplantation*, 10, 130-132.
- 4) Di Conza, J. J. (1969) : Protective action of passively transferred immune serum and immunoglobulin fractions against tissue invasive stage of the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana*. *Exp. Parasit.*, 25, 368-375.
- 5) Friedberg, W., Neas, B. R., Faulkner, D. N. and Friedberg, M. H. (1967) : Immunity to *Hymenolepis nana* : Transfer by spleen cells. *J. Parasit.*, 53, 895-896.
- 6) Golub, E. S. (1971) : Brain associated θ anti-

gen : Reactivity of rabbit anti-mouse brain with mouse lymphoid cells. *Cell. Immunol.*, 2, 353-361.

- 7) Gray, J. G., Monaco, A. P., Wood, M. L. and Russel, P. S. (1966) : Studies on heterologous anti-lymphocyte serum in mice. I. *in vitro* and *in vivo* properties. *J. Immunol.*, 96, 217-228.
- 8) Gupta, R. K., Elizabeth, S. M., Kaushik, S. L. and Johri, G. N. (1980) : *Hymenolepis nana* : Transfer of acquired immunity in mice through sensitized peritoneal exudate cells. *Experimentia*, 36, 128-129.
- 9) Hunninen, A. (1935) : A method of demonstrating cysticercoid of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in the intestinal villi of mice. *J. Parasit.*, 21, 124-125.
- 10) Hynemann, D. (1962) : Studies on helminth immunity : I. Comparison between luminal and tissue phases of infection in the white mouse by *Hymenolepis nana* (Cestoda : Hymenolepididae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11, 46-63.
- 11) Hynemann, D. (1963) : Host-parasite resistance patterns-Some implication from experimental studies with helminths. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 113, 114-129.
- 12) Ito, A. (1977) : The mode of passive protection against *Hymenolepis nana* induced by serum transfer. *Internat. J. Parasit.*, 7, 67-71.
- 13) Ito, A. and Yamamoto, M. (1976) : The mode of active protection against *Hymenolepis nana* reinfection in mice inoculated with different doses of shell-free eggs. *Jap. J. Parasit.*, 25, 247-254.
- 14) Lay, W. H. and Nussenzweig, V. (1968) : Receptors for complement on leukocytes. *J. Exp. Med.*, 128, 991-1007.
- 15) Miller, J. F. A. P. (1960) : Studies on mouse leukemia. The role of the thymus in leukomogenesis by cell free leukemia filtrates. *Br. J. Cancer*, 14, 93-98.
- 16) Miyazato, T., Furukawa, T. and Inoue, T. (1979) : Intestinal pathology associated with primary and secondary infections of *Hymenolepis nana* in mice. *Jap. J. Parasit.*, 28, 185-197.
- 17) Okamoto, K. (1968) : Effect of neonatal thymectomy on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. *Jap. J. Parasit.*, 17, 53-59.
- 18) Okamoto, K. and Koizumi, M. (1972) : *Hymenolepis nana* : Effect of antithymocyte

- serum on acquired immunity in mice. *Exp. Parasit.*, 32, 56-61.
- 19) 岡本謙一・鈴木博子・内田信吾 (1978) : 小形条虫の感染防御に及ぼす Anti-brain-associated artiserum の影響. *寄生虫誌*, 27(増), 33.
- 20) Raff, M. C. and Cantor, H. (1971) : Subpopulation of thymus cells and thymus-derived lymphocytes. *Progress in Immunology*, ed. by Amos, B., Academic Press, New York, 83-93.
- 21) Reed, N. D., Isaak, D. D. and Jacobson, R. H. (1977) : The use of nude mice in model systems for studies on acquired immunity to parasitic helminths. *Proceeding of the Second International Workshop on Nude Mice*, ed. by T. Nomura *et al.*, University of Tokyo Press, 3-16.
- 22) Reif, A. E. and Allen, J. M. (1964) : The AKR thymic antigen and its distribution in leukemias and nervous tissues. *J. Exp. Med.*, 120, 413-432.
- 23) Sutthiwan, P., Shoretr, R. G., Hallengelk, G. A. and Elveback, L. R. (1969) : Comparison of rabbit antimouse thymus sera produced after different numbers of injections of lymphoid cells. *Transplantation*, 8, 249-257.
- 24) 内田信吾・鈴木博子・中村文規・浅野和仁・岡本謙一(1982) : 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—. *寄生虫誌*, 31, 105-111.
- 25) Waksal, S., D., St Pierre, R. L. and Hostetler, J. R. (1971) : Brain associated theta antigen. Differential effects on lymphocyte subpopulations. *Cell. Immunol.*, 12, 66-73.
- 26) Weinmann, C. J. (1966) : Immunity mechanism in cestode infections. *Biology of Parasites*, ed. by Soulsby, E. J. L., Academic Press. New York, 301-320.

Abstract

PASSIVE PROTECTION OF NUDE MICE WITH LYMPHOCYTES
FROM MICE INFECTED WITH *HYMENOLEPIS NANA* EGGS

KAZUHITO ASANO, FUMINORI NAKAMURA
AND KENICHI OKAMOTO

(Department of Medical Biology, School of Medicine,
Showa University, Tokyo, Japan)

A strong immunity is acquired by mice after a first infection with eggs of *Hymenolepis nana*. As yet, however, it has been impossible to confer such a strong immunity on the recipient by passive cell transfer. In athymic nude mice, repeated infections are established when the mice were given a single oral inoculation with *H. nana* eggs. The experiments to be described in this article provide a solution of the problem of how to make nude mice resistant to primary egg infection but not to reinfection.

In the present experiments, all donor mice (BALB/c) were orally given a single infection with 1,000 eggs of *H. nana*. Lymphoid cells were collected from the mesenteric lymph node of the donors and transferred to non-infected recipient nude mice. The periods from stimulating egg infection to cell collection were 4 days in one experiment and 21 days in another. These cells were collected on the designated days. Each recipient nude mouse was injected via a tail vein with mesenteric lymph node cells from immunized donors. Control nude mice were similarly injected with mesenteric lymph node cells from non-immunized donors. The cell dosage transferred was 5.0×10^7 cells per injection, number of transfers was one or three, and period from final transfer to challenging infection was 2 days.

A single transfer of cells collected 4 days after stimulating egg inoculation produced a significant reduction of cysticercoïd counts in the intestinal villi of the recipients, but failed to produce a complete rejection of cysticercoïd infection (Exp. I). However, three transfers of the cells made on days -6, -4 and -2 relative to challenging infection produced a drastic effect on the rejection of cysticercoïds and cysticercoïds were never detected in any recipient nude mice (Exps. II and III). Such a drastic effect on the rejection was not observed in the recipient nude mice received mesenteric lymph node cells collected 21 days after stimulating egg infection (Exps. IV and V). The transfer of spleen cells or of sera from infected donors had no demonstrable effect on cysticercoïd rejection (Exps. VI, VII and VIII). The above results of Exps. II and III show that passive cell transfer of strong immunity to *H. nana* was successful and the recipient nude mice did not harbor any cysticercoïd owing to the adoptive immunity.

In order to investigate the immunocytological properties of the cells contributory to the cysticercoïd rejection, we examined the single and combined effects of adult thymectomy and antithymocyte serum (ATS) treatment on the T cells in the mesenteric lymph node cells and on the rejection. In these investigations, we adopted T1 and T2 cell subpopulations, the original proposal by Raff and Cantor (1971) in describing subpopulations of peripheral T cells. Adult

thymectomy (2 to 105 days after the operation) did not affect the acquired immunity to *H. nana*; that is, all the mice operated were negative for cysticercoids derived from challenge infection. But 17 of 21 mice treated with 0.03 ml ATS (non-suppressive dose when ATS was used alone) on days 0 and 1 following adult thymectomy harbored cysticercoids from challenge infection. From the results obtained, it seems likely that the T2 cells, which are long-lived (>15-week half life) and highly sensitive to ATS, in the mesenteric lymph node are effective in the passive transfer of immunity against *H. nana*.