

地 域 開 発 助 成

助成番号：133

免疫インターフェロンによる トキソプラズマ抑制機序の検討

白 幡 敏 一

獣医学科家畜微生物学研究室

1. 目 的

原虫性疾患において産出されるインターフェロン（以下 IF と略す）の意義、とくに生体防御機構との関連については不明な点が多い。トキソプラズマ（以下 Tp と略す）症においても IF あるいは IF 誘発剤の生体内投与や培養細胞への添加により、IF の抗原虫効果を立証しようとする種々の検討がなされている。しかし、これらはいずれも I 型 IF に関するもので、またその原虫抑制効果についても一般に否定的な見解がとられている。一方感作リンパ球の産出する免疫（II 型）IF は細胞性免疫のメディエーターとして、今日その多彩な生物活性が注目されている。

本研究では I 型および II 型 IF の抗 Tp 活性を IF 処理細胞内での Tp の増殖抑制を指標にして比較検討した。

2. 方 法

(1) IF の作製

I 型 IF サンプルは L 細胞とニューカッスル病ウイルス（NDV）の系で、また Poly I : C をマウスに静注して作製した。以下これらの I 型 IF は NDV - IF と略称する。免疫 IF は Tp および BCG 感染マウスの脾細胞を Tp 溶性抗原および精製ツベルクリン（PPD）の添加で培養後、その上清を Sephadex G-100 で部分精製して調製した。以下これらの免疫 IF を Toxo - IF および BCG - IF と略称する。IF 活性は VSV と L-929 細胞を用いたプラーク半減法により測定した。本実験系の 1 単位は NIH 標準 IF サンプルの 0.5 単位に相当する。

(2) 供試細胞

マウス腹腔マクロファージ（以下 Mp と略す）は 1% Na-カゼイン溶液をマウスの腹腔内に注射、4~5 日後に腹腔を洗浄して得た。L-929 細胞は教室保存の継代細胞である。これらの細胞は 5% CO₂ 孵卵器内で型の如く培養し実験に供した。

(3) Tp 抑制効果の判定

IF による Tp の抑制効果は L 細胞では m.o.i = 1, Mp では m.o.i = 0.2 の割合で虫体（S-273 株）を感染後、May-Grünwald Giemsa 染色を施し、細胞 100 個中の平均虫体数および感染率を求め

て判定した。

3. 結 果

- (1) Mp や L-929 細胞を IF サンプルで前処理し Tp を感染させると、BCG-IF や Toxo-IF などの免疫 IF はこれら細胞内での Tp 増殖を著明に抑制したが、Poly I:C-IF や NDV-IF ではそのような抑制効果は認められなかった。Tp 感染後に IF サンプルを添加した場合にも同様の結果が得られた。しかし免疫 IF で処理された Mp と L 細胞における Tp の抑制状況は若干異なり、Mp 内では殺虫的に、また L 細胞内では静虫的に作用することが示唆された。
- (2) Mp および L-929 細胞を免疫 IF で 24 時間前処理し、各稀釈単位における Tp 抑制効果を検討した。BCG-IF, Toxo-IF とともに Tp の増殖抑制に要する最小力価は L 細胞では 100 単位、Mp では 20 単位程度であり、Mp に対しより有効に作用することが示された。
- (3) 次に Mp および L 細胞を 500 単位の免疫 IF サンプルで種々の時間前処理し Tp を感染させた。これらの細胞が Tp 抑制能を獲得するに要する処理時間は Mp ではほんの 3 時間以内、L 細胞では 6 ~ 12 時間程であった。
- (4) 一方免疫 IF で処理された Mp や L 細胞では虫体接種 1 時間後の細胞内虫体数や感染率が明らかに低下していた。即ち免疫 IF 処理細胞は細胞内虫体の増殖抑制に加うるに、軽度の侵入阻害効果をも発現し得ることが示された。

4. 考 察

実験トキソプラズマ症において産出されるインターフェロンと本原虫のかかわりの一端を知る目的で、I 型および II 型 IF による細胞内 Tp の増殖抑制効果について比較検討した。

免疫 (II 型) IF の著明な抑制効果に比較して、I 型 IF は非貪食細胞である L-929 細胞はもちろん、Mp に対してもほとんど抗 Tp 活性を賦与し得なかった。また免疫 IF の抑制効果は L 細胞内では静虫的であるが、Mp 内では殺虫的に作用することが示された。今日活性化 Mp による微生物の殺滅・消化機序は酸素代謝に伴ない生成されるいわゆる活性酸素 (H_2O_2 , O_2 , 1O_2 , $OH\cdot$ など) が強力な殺菌効果を発揮するとともに、ライソゾーム内の消化酵素が作用して発現されると言われている。Tp 免疫 Mp もまた正常 Mp に比較してはるかに多量の H_2O_2 を放出することが知られている。今回示された免疫 IF 処理 Mp や L 細胞内での Tp の増殖抑制もまた同様の殺滅・消化機序に起因するか否かについてはいまのところ不明である。さらに今回の実験では免疫 IF 処理細胞内の虫体の侵入阻害もまた軽度ながら認められた。同様の侵入阻害効果についてはリンホカインで活性化された Mp と恙虫病リケッチャの系でも報告されている。

以上のことから、Tp の増殖抑制は IF 処理細胞内での殺虫あるいは静虫作用に加うるに、侵入阻害効果もまた関与することが示唆された。これら抑制機序の詳細は今後の研究課題としたい。