

病原真菌の抗体成分と免疫学的活性

第2報. 抗 *Candida albicans* および抗 *Aspergillus fumigatus*

ウサギ血清の抗体諸成分の感染防禦効果

東京大学医学部細菌学教室

岩 田 和 夫 長 井 辰 男

(受付: 3月12日, 1968)

諸種病原微生物の免疫血清または抗体成分, とくにγ-グロブリンの感染症に対する予防ないし治療効果とその機序は漸次明らかにされてきたが, 病原真菌のそれについてはほとんど全く知られていない. 諸種真菌の免疫血清の真菌症, とくに深在性真菌症に対する治療効果に関しては, 従来賛否両論があるが¹⁾, いずれにしてもその効果は少なく, どちらかといえば否定的ですらある. しかし, 著者ら²⁾は, さきにマウスの実験的真菌感染に対してその受け身免疫は低度ながら防禦効果を有することを証明した.

諸種深在性真菌症の治療は, 抗真菌性抗生物質の出現によつて画期的な進歩をみたとはいえ, 今日なおきわめて困難であり, 化学療法奏効しない症例が多く, 血清療法に依存せざるをえない場合も少なくない. 著者らは, このような実際上の観点から免疫血清, とくにそのγ-グロブリンの治療効果を検討する意図を背景とし, 一方, まだほとんど解明されていない真菌免疫の機序を究明することを企図した. 本文においては, 前報³⁾に記載した抗 *Candida albicans* ならびに抗 *Aspergillus fumigatus* ウサギ血清から分離精製した抗体諸画分を用い, それぞれの菌株によるマウスの実験的感染に対する防禦効果について検討した成績を報告する.

材料と方法

1. 使用菌株

攻撃菌として前報³⁾に記載した *C. albicans* C-a-13株と *A. fumigatus* As-f-6株の2菌株を用いた.

2. 培地と培養法

前報³⁾のごとく, *C. albicans* は SABOURAUD ブドウ糖寒天斜面に37°C48時間培養した酵母状細胞を生理食塩水に浮遊し, *A. fumigatus* は CZAPEK-DOX 寒天斜面における27°C2週間培養菌の胞子を0.1% Tween 80加生理食塩水に浮遊したものを, それぞれ感染材料とし

た.

3. 使用動物

DD系(高杉)マウス, 雄性, 4週令, 体重14±1g.

4. 抗体成分

前報³⁾記載の抗 *C. albicans* C-a-13株および抗 *A. fumigatus* As-f-6株ウサギ血清からそれぞれ分離精製されたIgG-1, IgA-3 および IgM-1 の抗体画分を用いた.

5. 感染防禦実験

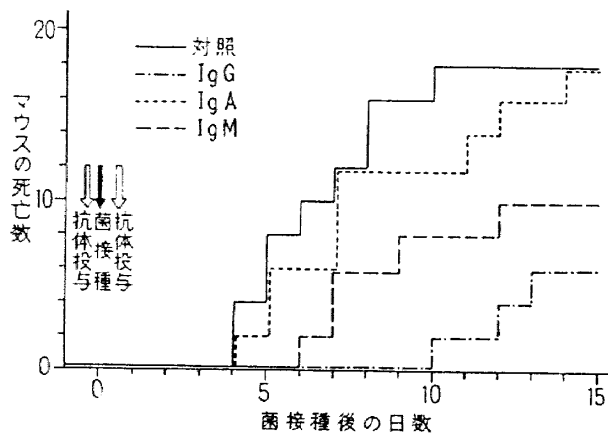
上記各抗体画分を micro-Kjeldahl 法でN量を定量し, 蛋白量に換算して各1mg(生理食塩水に溶解してその0.5ml中にこの量を含むように調製しておく)ずつを, 各群20匹のマウスの腹腔内に投与し, 3時間後に相応する菌株の上記培養の生菌 1×10^6 個を尾静脈内に注射し, さらに12時間後に各抗体1mgずつを再度投与し, 生死を指標として2週間経過を観察した.

成 績

まず, 抗 *C. albicans* C-a-13株ウサギ血清から分離精製したIgG-1, IgA-3 および IgM-1 の抗体諸画分を同菌株の生菌をマウスに腹腔内接種する前後に投与した場合, 図1に示すように, 生菌のみを接種した対照群に比較して, 処置群ではいずれも延命効果と死亡率の低下がみられ, 明らかな感染防禦効果が認められた. その効果はIgG-1抗体が最も著るしく, ついでIgM-1で, 中等度の効果を示し, IgA-3は比較的low度であつた.

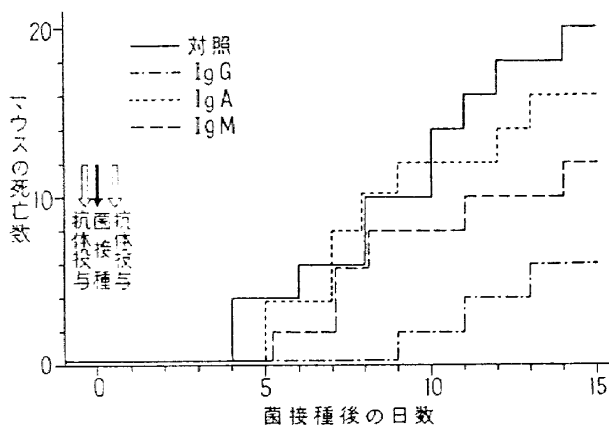
つぎに, 抗 *A. fumigatus* As-f-6株ウサギ血清からのIgG-1, IgA-3 および IgM-1 の各抗体画分を同一菌株のマウス腹腔内接種に対する感染防禦効果も, 図2に示すとおり, 前実験の成績とは程度に多少の差はあるが, 傾向としては全く同様であつて, IgG-1の効果が最もすぐれ, ついでIgM-1で, IgA-3のそれは著明でなかつた.

図1. 抗 *Candida albicans* C-a-13株ウサギ血清の IgG, IgA および IgM 抗体の同菌株感染マウスに対する感染防禦効果.



注. 使用抗体: IgG-1, IgA-3, IgM-1
接種菌量: 1×10^6 個尾静脈内接種
使用マウス: DD系 (高杉), 雄性, 4週令, 体重 14 ± 1 g

図2. 抗 *Aspergillus fumigatus* As-f-6株ウサギ血清の IgG, IgA および IgM 抗体の同菌株感染マウスに対する感染防禦効果.



注. 図1注に同じ.

考 察

さきに述べたように, 著者ら²⁾はマウスを用いる実験的真菌感染 (同じく *C. albicans* と *A. fumigatus* を用いた) に対して, 同種の抗真菌血清による受け身免疫が軽度ながら感染防禦的に作用することを認めたが, もし, それに普遍性が存するものならば, かかる抗血清からその主体をなす免疫性グロブリン, とくに γ -グロブリンを抽出精製して, それを比較的多量に適用すれば, 他の微生物の場合と同様に, より明確な感染防禦効果を

期待しうるのではないかとこの想定のもとに実験をおこなった. そこで, 今回も上記と同様に性状の著しく異なる2種の真菌を選び, 各1株ずつについて, 前報記載の抗血清から抽出精製した IgG-1, IgA-3 および IgM-1 の抗体画分を用いて菌接種前後に1回ずつ投与することにより, 抗体の種類により差はあるが, 感染防禦作用のあることが認められた. とくに, 一般の免疫性グロブリンの IgG 抗体に相当する, この IgG-1 抗体の作用が最も顕著であつた. いいかえれば, 真菌免疫血清による若干の感染防禦効果は, その抗体画分としての IgG の存在に主として基因するものとみなすことができよう. 諸種微生物の感染防禦上の要因としての補体の関与する殺菌作用, オプソニン作用その他の免疫学的活性の主体が IgM 抗体にあるとみなされているのに対し⁴⁻⁶⁾, 真菌の場合は, 少なくとも *C. albicans* と *A. fumigatus* の各使用菌株に関しては, IgG であり, この点の相違はきわめて興味深い. ただし, 著者らの実験においても, IgM および IgA が感染防禦に全く効果がないわけではなく, IgG ほどではないが, ある程度これに関与しているような成績であつた.

そこで, これらの実験結果は推計学的にみると, IgG-1 抗体が *A. fumigatus* 感染実験で 0.1%, *C. albicans* のそれでは5%の危険率で効果的であり, IgM-1の方は *A. fumigatus* 感染で, 1%の危険率で効果的であるが, *C. albicans* 感染では10~20%の危険率を伴なう. なお, これらの実験は, ほぼ同一の条件下で, くり返し実験をおこない, おおむね同様の成績をえているが, 条件が完全に同一ではないので, 本文には省略した.

以上の成績に照らして, 抗真菌血清からの精製 IgG 抗体は, 真菌感染に対して治療的意義を有することはある程度期待しうるように思われるので, 今後抗真菌剤の奏効しないような真菌症例にかかる抗体画分を適応し, その臨床的效果を検討することは, 意義なしとしないであろう.

このような抗真菌抗体, なかんずく, IgG-1 が感染防禦上とくに活性が高いという結果がえられたのは, 前報に記載したごとく, 抗ウサギ血清をうるのに死菌のみでなく生菌でも免疫したことがあずかつているかもしれないが, この点は死菌のみによる免疫血清のそれとの比較によつて明らかになるであろう.

接種菌量を 1×10^6 個用いた理由は, さきにこれらの使用菌株と使用動物との関係において, この種の感染実験において最も自然で適当な死亡曲線がえられることを

確認していたことによる。

総 括

前報²⁾記載の抗 *C. albicans* および抗 *A. fumigatus* ウサギ血清から分画精製した IgG-1, IgA-3 および IgM-1 各抗体画分をマウス当たり 1 ㏎ずつ対応する菌株の静脈内接種前後に 1 回ずつ腹腔内投与することによつて、感染防禦効果をしらべた結果、ともに、とくに IgG-1 画分に最も顕著な効果が認められ、IgM-1 画分の作用は中等度、IgA-3 画分は低度であつた。

(本論文の要旨は、第17回日本医学会総会、総会講演、1967年4月2日、名古屋市および第22回日本細菌学会関東支部総会、1967年11月17日、東京都において発表した。)

文 献

- 1) Negroni, P.: Etude analytique de L'antigène *Monilia albicans*, Compt. Rend. Soc. Biol., 115, 342—346, 1934.

- 2) 岩田和夫：真菌の感染機序，第17回日本医学会総会講演，1967年4月2日，名古屋市。
- 3) 岩田和夫，長井辰男：病原真菌の抗体成分と免疫学的活性，第1報，抗 *Candida albicans* および抗 *Aspergillus fumigatus* ウサギ血清の抗体成分の分離精製，本誌印刷中。
- 4) Pike, R.M., and Schulze, M.L., Production of 7 S and 19 S Antibodies to the Somatic Antigens to *S. typhosa* in Rabbits, Proc. Soc. Exp. Bio. and Med., 115 (3), 829—833, 1964.
- 5) Weidanz, W.P., Jackson, A.L., and Landy, M., Some Aspects of the Antibody Response of Rabbits to Immunization with Enterobacterial Somatic Antigens, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 116 (3), 832—837, 1964.
- 6) Robbins, J.B., Kenny, K., and Stuter, E.: The Isolation and Biological Activities of Rabbit γ M-anti- and γ G-*Salmonella typhimurium* Antibodies, J. Exp. Med., 122 (1), 385—402, 1965.

Studies on Antibodies Formed by Pathogenic Fungi and Their Immunologic Activities

2. Infection-Preventing Effects of the Antibodies of the Anti-*Candida albicans* and Anti-*Aspergillus fumigatus* Rabbit Sera

Kazuo Iwata and Tatsuo Nagai

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo

In view of the present status that preventive and curative effects of anti-fungus sera and their antibody components have not been clarified yet, the authors attempted to investigate such effects of the IgG-1, IgA-3 and IgM-1 components from the anti-*Candida albicans* and anti-*Aspergillus fumigatus* rabbit sera described in the preceding paper* against the experimental infections of mice with organisms of their respective strains.

One mg of the antibody components was intraperitoneally administered to each mouse of DD strain each once before and after the intravenous challenge with 1×10^6 yeast cells of *C. albicans* C-a-13 strain and also with the same number of conidia of *A. fumigatus* As-f-6 strain.

In the both infections, all the treated groups of mice were significantly smaller in mortality than the non-treated control ones; the IgG-1 fraction exhibited the most conspicuous preventive effect, the IgM-1 came next and the IgA-3 showed only a slight degree of activity.

* It is in press in this journal.

Studies on Antibodies Formed by Pathogenic Fungi and Their Immunologic Activities

3. Passive Cutaneous Anaphylaxis Activities of the Antibodies of the Anti-*Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* Rabbit Sera

Kazuo Iwata and Tatsuo Nagai

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo

In an attempt to investigate the responsibility of antibodies of anti-fungus sera for hypersensitivity in mycotic infections, were performed experiments by means of passive cutaneous anaphylaxis technique.

As antibodies were used the IgG, IgA and IgM components from the anti-*Candida albicans* C-a-13 strain and anti-*Aspergillus fumigatus* As-f-6 strain rabbit sera described in the previous paper* in various contents and as antigens the cell-free extracts in 10 μ g N obtained from the cultures of the respective strains employed in immunization mixed with Evans blue. Test animals were guinea pigs. The results obtained were as follows.

In the both homologous antigen-antibody systems, the IgG-1 antibody proved the most active in PCA reaction, whereas the IgA and IgM antibodies were not so active as to all their fractions, positive in 1-10 μ g N.

Thus it might be concluded that IgG antibody is mainly responsible for hypersensitivity in terms of PCA reaction in pathogenic fungi and IgA and IgM antibodies do not play an important role in this property, as far as the test strains of *C. albicans* and *A. fumigatus* are concerned at least.

* It is in press in this journal.