



Title	抗血清により生じたTrypanosoma gambienseの凝集が解離する過程について
Author(s)	福間, 利英
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32441">https://hdl.handle.net/11094/32441</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	福間利英
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4851 号
学位授与の日付	昭和 55 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	抗血清により生じた <i>Trypanosoma gambiense</i> の凝集が解離する過程について
論文審査委員	(主査) 教授 中林 敏夫 (副査) 教授 伊藤利根太郎 教授 天野 恒久

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

*Salivaria* に属するトリパノゾーマでは、感染過程において、表面抗原型の変化した原虫が逐次宿主血液中に出現してくる。このことが、突然変異と選択による結果なのか、宿主からの免疫反応をまぬがれるために適応的に生ずるのか、いまだ確定していない。アフリカ睡眠病の病原原虫 *Trypanosoma gambiense* (Tg) も抗原変異の生ずる原虫の一つである。Tg を抗 Tg 血清と反応させた時、Tg 凝集塊が生ずるが、経時的に凝集は疎となり、やがて個々の Tg が凝集から解離してくる。この凝集原虫が解離してくる過程を解明することを通して、トリパノゾーマの抗原変異の機序を明らかにすることを目的とした。

#### 〔方法ならびに成績〕

マウスで継代されてきた *Trypanosoma gambiense* Wellcome 株 (Tg) を用いた。Tg の継代および供与には 5 ~ 7 週令の ddO マウスを使用した。Tg 感染マウスは正常人血清により虫血症から回復せることができるが、後日、表面抗原の異なる変異型 Tg が再発してくる。もとの型を Tg-O とし、再発してきた Tg をクローン化して継代し、変異型 : Tg-R とした。Tg-O, Tg-R の各々  $10^7$  個を家兎に皮下接種し、抗 Tg-O, Tg-R 血清を得た。

Tg を 10% 仔牛血清加 Eagle の MEM 培養液で、L-細胞との共存のもとに培養するとき、37°C で 24 時間以内の *in vitro* 実験に応用できる。

培養液に、抗 Tg-O, 抗 Tg-R 血清あるいは正常家兎血清を加えて、感染マウス血液から集めた Tg-O または Tg-R を培養する——これを基軸として、Tg 密度は  $2 \times 10^6 / \text{ml}$ 、抗血清は培養液の凝集価が

2<sup>5</sup>となるように加えて、経時的に、以下にのべる観察、測定を行なった。

抗血清により、培養開始時、Tg凝集塊が生ずるが、培養液の凝集価は30分に一段階低下し、2.5時間で検出不能となり、個々のTgも凝集から解離してきた。以上は用いたTgの型と特異抗血清との間でのみ認められた。

この系に<sup>3</sup>H-leucineを添加してTgの蛋白合成を測定すると、特異抗血清の存在下で、他の血清の存在下より約3/2倍Tgの蛋白合成が高まっていた。いずれの場合でも、50μg/mlのpuromycinでTgの蛋白合成は100%阻害された。特異抗血清でTgの蛋白合成は刺激されると考えられるが、少くとも3時間以内には、培養上清中に<sup>3</sup>H-leucineで標識された物質は増量してこなかった。また、一度特異抗血清でTgを刺激してから十分な時間を置いて後、再度抗血清を加えても、Tgは凝集され、培養液の凝集価の低下、凝集解離過程には変化がなかったので、抗体刺激によりTg内で産生された物質が、虫体外に遊離されて培養液中の抗体が不活化されるのではない。しかしながら、超音波処理または50℃、5分の熱処理で殺したTgによっては、培養液の凝集価の低下が認められないので、その低下には生原虫の存在が必要である。FITC標識抗家兎IgGを用い、間接蛍光抗体法で、Tg表面に吸着した抗体の動態を観察すると、最初凝集Tg表面全周に存在していた抗体は、Tg鞭毛起始部にcappingの形で集められ、凝集原虫解離とともに消失した。

50μg/mlのpuromycin添加あるいは4℃の条件では、凝集価の低下も、蛍光抗体の消失過程も抑制され、凝集Tgも解離してこなかった。

更に、凝集解離直後にも、再度抗血清を添加した場合、Tgは凝集され、蛍光抗体によっても虫体全周が染められたので、逐次、cappingで移動した抗原欠損部位は修復されていると考えられる。cappingと表面のturn overにより、培養液中の抗体濃度が低下し、凝集が解離していくと考えられる。

#### [総括]

- ① *Trypanosoma gambiense*を用いて、本原虫の抗血清による凝集が解離する過程について、トリパノゾーマの抗原変異との関連において、検討した。
- ② 抗血清を加えた培養液中でTgは凝集されるが、凝集価の低下とともに凝集Tgは解離してきた。この過程は、抗原型について特異的であり、生原虫の存在が必要であった。
- ③ 特異抗血清の存在で、Tgの蛋白合成が増高した。
- ④ Tg表面に吸着した抗体はcappingにより処理されることが間接蛍光抗体法で観察された。
- ⑤ 蛋白合成阻害剤puromycin添加、また4℃で②、④の過程は抑制された。
- ⑥ 原虫の凝集解離直後にも、再度抗血清の添加により原虫は凝集され、蛍光抗体によっても染められた。
- ⑦ 以上のことから、Tgの表面で抗原部位のturn overが短時間に起っており、これとcappingにより抗体が逐次処理され培養液中の抗体濃度が低下し、凝集Tgが解離していく。感染動物内でTgは抗体により、表面のturn overが持続して刺激され、これが、次の抗原型物質産生開始の契機となるのであろう。

## 論文の審査結果の要旨

抗血清を加えた培養液で、トリパノゾーマは凝集されるが、上清の凝集価が低下して、トリパノゾーマは解離していくことがわかった。更に、抗血清の刺激でトリパノゾーマの蛋白合成は増し、虫体表面で物質の turn over が生じ、これと capping により、抗体が消費され、凝集が解離していくことを見出した。

トリパノゾーマの宿主内抗原変異を *in vitro* でモデル化した研究であり、この成果は、アフリカ睡眠病の病原体であるトリパノゾーマの研究に大きく貢献するものである。