

A群溶連菌または Freund 完全アジュバント処置 マウス由来リンパ球の脂質組成

福井医科大学薬理学教室

北 島 耕 作

木 越 茂

(昭和59年2月2日受付)

本研究では、A群溶連菌(Su株)または Freund の完全アジュバント(FCA)で処置したマウスならびに非処置マウスについて、リンパ組織の総リンパ球およびコルチゾン抵抗性リンパ球の脂質組成を調べた。Wood と Gunsalus の合成培地に 37°C で 12 時間培養した溶連菌を、アセトンで処理したのち乾燥させてから、生理食塩水に浮遊させた(10 mg/ml)、0.5 ml の溶連菌浮遊液または 0.5 ml の FCA を ddY 系雌マウス(7-8 週令)の皮下に注射し、注射後 14 日目にマウスからリンパ組織を摘出した。組織抽出の 2 日前に酢酸ヒドロコルチゾン(125 mg/kg)を腹腔内に注射したマウスの胸腺、脾臓および腸間膜リンパ節からコルチゾン抵抗性リンパ球を採取し、ヒドロコルチゾンによる処置をしないマウスのリンパ組織から総リンパ球を得た。マウスの各リンパ組織から得られたコルチゾン抵抗性リンパ球数は、胸腺では総リンパ球数のほぼ 1/20、脾臓と腸間膜リンパ節では総リンパ球数の 1/5 前後であった。Folch らの方法によって、クロロホルム・メタノール(2:1, v/v)を用いてリンパ球脂質を抽出したのち、Amenta の重クロム酸塩還元法によって、リンパ球脂質を定量した。溶連菌処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球では、非処置マウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球に比較して、中性脂質とリン脂質の含量が多くなっていた。すなわち、溶連菌処置マウスおよび非処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球の中性脂質とリン脂質の含量(脂質/10¹⁰個細胞)は、コレステロールでは 31 mg と 15 mg、遊離脂肪酸では 50 mg と 27 mg、トリグリセリドでは 47 mg と 28 mg、コレステロールエステルでは 40 mg と 21 mg、リン脂質では 70 mg と 40 mg であった。同様に、FCA 処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球では、コレステロール、遊離脂肪酸およびリン脂質の含量が、非処置マウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球のそれぞれの脂質量よりも多くなっていた。しかしながら、FCA または溶連菌で処置したマウスの胸腺の総リンパ球と非処置マウスの胸腺の総リンパ球との間には、脂質組成に差異が認められなかった。なお、FCA または溶連菌で処置したマウスの脾臓および腸間膜リンパ節のコルチゾン抵抗性リンパ球の中性脂質とリン脂質の含量は、リンパ節細胞のコレステロール・エステルを除いては、非処置マウスのそれぞれのリンパ球の中性脂質とリン脂質の含量に類似していた。

以上の成績は、FCA または溶連菌でマウスを処置すると、胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球の中性脂質とリン脂質が増加することを示している。

Key word Lymphocytes, Lipid Composition, Streptococcus,
Freund's Adjuvant.

Lipid Composition of Lymphocytes of Mice Treated with a Group A Streptococcus or Freund's Complete Adjuvant. Department of Pharmacology, Fukui Medical School.
Kousaku Kitajima and Shigeru Kigoshi.

マウスをコルチステロイドで処置するとリンパ組織が萎縮すると同時に、リンパ組織中のリンパ球が減少することが明らかにされている¹¹²⁾。また、ヒドロコルチゾンで処置したマウスのリンパ組織のリンパ球はコルチゾン抵抗性リンパ球といわれるが、コルチゾン抵抗性リンパ球は腫瘍免疫や移植免疫に関与することが報告されている³⁻⁶⁾。

最近、マウスの胸腺および腸間膜リンパ節のコルチゾン抵抗性リンパ球の腫瘍細胞に対する傷害作用が、A群溶連菌または Freund の完全アジュバント（結核菌を含む）によって増強されることが見いだされた⁷⁾。A群溶連菌および結核菌は、腫瘍に対する宿主の抵抗性を増強することが知られており、Tリンパ球やマクロファージが宿主の抵抗性増強に関与することが報告されている⁸⁾⁹⁾。しかしながら、マウスのコルチゾン抵抗性リンパ球に対するA群溶連菌または結核菌の作用機序については不明な点が多い。

近年、免疫反応における脂質の役割が多くの研究者の関心を集めており¹⁰⁾、コレステロールや遊離脂肪酸などの中性脂質がTリンパ球の細胞傷害作用に関与することが報告されている¹¹⁻¹³⁾。したがって、A群溶連菌または Freund の完全アジュバントで処置したマウスの胸腺およびリンパ節のコルチゾン抵抗性リンパ球と、非処置マウスのそれぞれのリンパ組織のコルチゾン抵抗性リンパ球とでは、脂質組成、とくに中性脂質の組成が異なるのではないかと考えられる。

著者らは、A群溶連菌 (Su株) あるいは Freund の完全アジュバントで処置したマウスの胸腺、脾臓および腸間膜リンパ節から得られたリンパ球の脂質組成と、非処置マウスの各リンパ組織のリンパ球の脂質組成とを比較検討したので、その成績を報告する。

材料と方法

I. マウスの処置

A群溶連菌 (Su株, 3型。以下、溶連菌と略記) および Freund の完全アジュバント (Freund's complete adjuvant containing *M. tuberculosis* H37 Ra, Difco。以下、FCA と略記) をマウスの処置に用いた。溶連菌は Wood と Gunsalus の合成培地¹⁴⁾に 37°C で 12 時間培養したのち、菌体の 20 倍量のアセトンで処理してから乾燥したもの¹⁵⁾を生理食塩水に浮遊させて使用した (10 mg/ml)。0.5 ml の溶連菌浮遊液または 0.5 ml の FCA を ddY 系雌マウス (7-8 週令) の皮下に注射して、14 日目にマウスよりリンパ組織を摘出した。

コルチゾン抵抗性リンパ球を得るために、リンパ組織を摘出する 2 日前に、酢酸ヒドロコルチゾン (Schering AG, 125 mg/kg) を上記マウスの腹腔内に注射し

た³⁾¹⁶⁾。また、A群溶連菌や FCA による前処置をしないマウス (非処置マウス) に対しても酢酸ヒドロコルチゾンを投与して、2 日後にリンパ組織を摘出した。

II. リンパ球浮遊液の調整

酢酸ヒドロコルチゾンで処置したマウス (50-60 匹) またはコルチゾン処置をしないマウス (15-20 匹) より、胸腺、脾臓および腸間膜リンパ節を摘出し、ハanks液を用いて、それぞれの組織からリンパ球浮遊液を調整した¹⁷⁾。胸腺および腸間膜リンパ節から調整した細胞浮遊液では、95-98%の細胞がリンパ球であり、2-4%の細胞がマクロファージであった。また、脾臓から調整した細胞浮遊液では、ほぼ 90%の細胞がリンパ球であり、残りの細胞はマクロファージであった。

本論文では、コルチゾン処置マウスから得られたリンパ球をコルチゾン抵抗性リンパ球 (cortisone-resistant lymphocytes) と記載し、コルチゾン未処置マウスから得られたリンパ球を総リンパ球 (total lymphocytes) と記載する。

III. リンパ球脂質の定量

Folch らの方法¹⁸⁾によってリンパ球の総脂質をクロロホルム・メタノール (2:1, v/v) で抽出したのち、総脂質中の中性脂質およびリン脂質の含量を Amenta の方法¹⁹⁾によって調べた¹⁷⁾。すなわち、シリカゲル H (E. Merck) の薄層 (20×20 cm, 厚さ 0.25 mm) 上に 5 本のレーンを作り、それぞれのレーンにリンパ球の総脂質 (1-1.5 mg) または標準脂質 (200 μg) をスポットし、ヘキサン・エチルエーテル・酢酸 (70:30:2, v/v) を展開溶媒として上昇法で 16 cm 展開した。標準脂質としては、ホスファチジルコリン (E. Merck) およびパルミチン酸 (PL Biochemicals) を用いた。展開後、ヨード試薬によって脂質のスポットの位置を確認してから、クロマトプレートを 90-100°C で 30 分間加熱した。放冷後、クロマトプレートより脂質を含むシリカゲルをかきとって試験管に移し、重クロム酸カリウム試薬¹⁹⁾ 2-3 ml を混和して、100°C で 45 分間処置した。放冷後、混液を 2000 rpm で 15 分間遠心してから、その上清の 0.5 ml を 20 ml のイオン交換水で希釈したものを Spectronic 20 (Bausch & Lomb, U.S.A.) により 350 nm で吸光度を求め、次式によって脂質量を算出した。また、脂質を含まないシリカゲルをクロマトプレートよりかきとり、脂質を含むシリカゲルと同様な操作をしたのち、シリカゲルの吸光度を求めた (シリカゲル盲検値)。

$$\text{被験脂質量 } (\mu\text{g}) = \text{標準脂質量 } (\mu\text{g}) \times$$

$$\frac{\text{シリカゲル盲検値} - \text{被験物測定値}}{\text{シリカゲル盲検値} - \text{標準脂質測定値}}$$

本論文では、 10^{10} 個のリンパ球についての脂質量 (mg) を示した。

成 績

I. 胸腺リンパ球の脂質組成

溶連菌処置マウスの胸腺の総リンパ球の脂質組成は非処置マウスの胸腺の総リンパ球の脂質組成に類似しており、中性脂質の含量は5-7 mg, リン脂質量は23 mgであった(表1)。しかし、FCA 処置マウスの胸腺の総リンパ球では、非処置マウスの対応するリンパ球に比較して、コレステロールエステルとリン脂質が多くなっていた(コレステロールエステルが8 mgと5 mg, リン脂質が29 mgと23 mg)。

胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球の場合には、溶連菌処置マウスと非処置マウスとでは、脂質組成が著しく異なっていた。すなわち、溶連菌処置マウスのコルチゾン抵抗性胸腺リンパ球の各脂質の含量は、コレステロールが31 mg, 遊離脂肪酸が50 mg, トリグリセリドが47 mg, コレステロールエステルが40 mg, リン脂質が70 mg であって、非処置マウスのコルチゾン抵抗性胸腺リンパ球の各脂質の含量(中性脂質が15-28 mg, リン脂質が40 mg)のほぼ2倍になっていた。また、FCA 処置マウスのコルチゾン抵抗性胸腺リンパ球でも、非処置マウスのコルチゾン抵抗性胸腺リンパ球に比較して、コレステロール、遊離脂肪酸およびリン脂質が多く、1.5-2倍になっていた(コレステロールが28 mgと15 mg, 遊離脂肪酸が43 mgと27 mg, リン脂質が62 mgと40 mg)。

したがって、マウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球の中性脂質(コレステロール、遊離脂肪酸など)およびリン脂質は、溶連菌やFCAによる処置によって増加するものと考えられる。

II. 脾リンパ球の脂質組成

溶連菌処置マウスの脾臓の総リンパ球の脂質組成は、非処置マウスの対応するリンパ球の脂質組成に類似していた(コレステロールエステルは4 mg, その他の中性脂質は6-10 mg, リン脂質は31-35 mg)(表2)。しかし、FCA 処置マウスの脾臓の総リンパ球では、非処置マウスの脾臓の総リンパ球に比較して、コレステロールエステルが多く、ほぼ2倍になっていた(8 mgと4 mg)。

脾臓のコルチゾン抵抗性リンパ球の場合には、FCA 処置マウスのリンパ球の遊離脂肪酸を除いては、溶連菌またはFCAで処置したマウスと非処置マウスとの間には、中性脂質およびリン脂質の含量に有意な差が認められなかった(コレステロールは11-15 mg, トリグリセリドとコレステロールエステルは8-10 mg, リン脂質は34-36 mg)。なお、FCA 処置マウスのコルチゾン抵抗性脾リンパ球では、非処置マウスのコルチゾン抵抗性脾リンパ球に比較して、遊離脂肪酸が少なくなっていた(9 mgと13 mg)。

したがって、溶連菌およびFCAはマウス脾臓のリンパ球の脂質組成にはほとんど影響を及ぼさないものと考えられる。

III. 腸間膜リンパ節細胞の脂質組成

FCA 処置マウスのリンパ節の総リンパ球と非処置

Table 1. Lipid composition of total and cortisone-resistant lymphocytes from mouse thymus

Origin of lymphocytes	Lymphocytes	Lipid composition of lymphocytes (mg/ 10^{10} cells)				
		Cholesterol	Free fatty acids	Triglycerides	Cholesterol esters	Phospholipids
Untreated mice	Total cells	7.2±0.3	7.6±0.5	5.8±0.3	4.5±0.2	22.7±0.7
Cocci-treated mice		5.5±0.4	7.2±0.4	6.2±0.5	6.6±0.8	22.6±0.6
FCA-treated mice		7.8±0.6	8.2±0.5	6.4±0.4	8.3±0.8**	29.2±0.8**
Untreated mice	Cortisone-resistant cells	14.9±0.4	27.3±0.8	27.8±1.7	21.4±0.9	40.2±0.5
Cocci-treated mice		31.0±0.9**	49.7±1.9**	46.8±1.8**	40.1±1.8**	69.8±1.0**
FCA-treated mice		27.6±0.5**	42.7±2.5**	31.3±1.6	27.1±1.1**	61.9±1.9**

Mice were injected s.c. with a group A streptococcus (cocci) or Freund's complete adjuvant (FCA), and sacrificed 14 days later to remove the lymphoid tissues. The cortisone-resistant lymphocytes were obtained from the thymus, spleen or mesenteric lymph node of mice injected i.p. with hydrocortisone acetate (125 mg/kg) 2 days before the tissue removal, and the total lymphocytes from the lymphoid tissues of animals without the treatment of hydrocortisone. The lymphocyte lipids were then extracted with chloroform-methanol (2:1, v/v), and analyzed quantitatively by the dichromate reduction procedure of Amenta.

Each value represents the mean ± S.E. of 6 experiments. **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$.

マウスの対応するリンパ球とでは、脂質組成が著しく異なっていた(表3)。すなわち、FCA 処置マウスのリンパ節の総リンパ球の各脂質の含量は、コレステロールが21 mg, トリグリセリドが25 mg, コレステロールエステルが28 mg, リン脂質が53 mg であって、非処置マウスのリンパ節の総リンパ球の各脂質の含量(遊離脂肪酸以外の中性脂質は12-13 mg, リン脂質は39 mg)に比較して、中性脂質はほぼ2倍, リン脂質は1.4倍になっていた。溶連菌処置マウスのリンパ節の総リンパ球においても、非処置マウスの対応するリンパ球に比較して、コレステロールやトリグリセリドが多くなっていたが、FCA 処置マウスのリンパ節の総リンパ球に見られる様な著しいものではなかった。

リンパ節の総リンパ球の場合とは異なって、FCA 処置マウスのコルチゾン抵抗性リンパ節細胞の脂質組成と非処置マウスのコルチゾン抵抗性リンパ節細胞の脂質組成は、コレステロールエステルを除いては、ほと

んど同じであった。すなわち、FCA 処置マウスおよび非処置マウスのコルチゾン抵抗性リンパ節細胞の各脂質の含量は、コレステロールが25 mg, 遊離脂肪酸が71-73 mg, トリグリセリドが34 mg, リン脂質が55-56 mg であったが、コレステロールエステルは34 mg と22 mg であった。他方、溶連菌処置マウスのコルチゾン抵抗性リンパ節細胞では、非処置マウスの対応するリンパ球に比較して、コレステロール, コレステロールエステル, リン脂質が多くなっており、トリグリセリドが少なくなっていた(コレステロールは29 mg と25 mg, トリグリセリドは28 mg と34 mg, コレステロールエステルは29 mg と22 mg, リン脂質は62 mg と56 mg)。しかしながら、溶連菌処置マウスのコルチゾン抵抗性リンパ節細胞にみられる脂質量の変化は、コレステロールエステルを除いては、著しいものではなかった。

これらの成績は、FCA は主として腸間膜リンパ節の

Table 2. Lipid composition of total and cortisone-resistant lymphocytes from mouse spleen

Origin of lymphocytes	Lymphocytes	Lipid composition of lymphocytes (mg/10 ¹⁰ cells)				
		Cholesterol	Free fatty acids	Triglycerides	Cholesterol esters	Phospholipids
Untreated mice	Total cells	9.9±0.4	8.2±0.4	6.2±0.6	4.4±0.4	31.3±1.6
Cocci-treated mice		9.9±0.5	8.5±0.5	6.3±0.4	4.2±0.5	35.3±0.8
FCA-treated mice		7.3±0.2**	6.9±0.3	6.2±0.7	8.2±1.0*	30.4±0.9
Untreated mice	Cortisone-resistant cells	12.7±0.6	13.0±0.6	10.0±0.4	8.7±0.6	34.3±1.1
Cocci-treated mice		14.7±0.8	13.8±0.7	10.0±0.7	9.4±0.3	35.9±1.6
FCA-treated mice		11.0±0.3	8.8±0.4**	8.4±0.8	8.0±0.9	34.6±1.3

Each value represents the mean ± S.E. of 6 experiments. **, p < 0.01; *, p < 0.05.

Table 3. Lipid composition of total and cortisone-resistant lymphocytes from mesenteric lymph node of mice

Origin of lymphocytes	Lymphocytes	Lipid composition of lymphocytes (mg/10 ¹⁰ cells)				
		Cholesterol	Free fatty acids	Triglycerides	Cholesterol esters	Phospholipids
Untreated mice	Total cells	11.5±0.3	29.5±1.6	12.4±0.7	13.1±0.7	38.5±1.0
Cocci-treated mice		15.0±0.8**	31.1±1.7	16.1±0.8*	14.0±1.0	42.9±0.9**
FCA-treated mice		21.4±1.0**	31.0±2.3	25.4±0.8**	27.9±2.1**	52.8±2.8**
Untreated mice	Cortisone-resistant cells	24.6±0.6	71.0±1.2	33.5±1.2	21.5±1.6	56.1±1.4
Cocci-treated mice		28.9±0.9**	74.6±0.6	28.0±0.8**	29.3±1.4**	61.6±1.3*
FCA-treated mice		24.7±0.7	73.1±3.1	33.8±1.9	34.2±3.1**	54.8±3.2

Each value represents the mean ± S.E. of 6 experiments. **, p < 0.01; *, p < 0.05.

総リンパ球の脂質組成に影響を及ぼすのに対し、溶連菌は腸間膜リンパ節の総リンパ球およびコルチゾン抵抗性リンパ球の脂質組成に影響を及ぼすが、溶連菌のリンパ球の脂質組成に対する作用は FCA に比較して弱いものであることを示している。

考 察

上記の成績は、溶連菌および FCA がマウスのリンパ球、とくに胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球の脂質組成に影響を及ぼすことを示している。すなわち、マウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球のコレステロール、遊離脂肪酸などの中性脂質が溶連菌または FCA による処置によって著しく増加し、非処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球に比較して、これらの脂質の含量はほぼ 2 倍になっていた。また、マウスの腸間膜リンパ節の総リンパ球のコレステロール、コレステロールエステル、トリグリセリドなどの中性脂質が FCA によって著しく増加し、非処置マウスの対応するリンパ球の中性脂質の含量の 2 倍前後になっていた。しかし、溶連菌および FCA はマウス脾臓のリンパ球の脂質組成にはほとんど影響を及ぼさなかった。

近年、免疫反応における脂質の重要性が多くの研究者によって指摘されている¹⁰⁾。

Heiniger らは、マウスの cytotoxic な T リンパ球において、コレステロールの含量と細胞傷害作用との間には密接な関係のあることを報告しており¹¹⁾¹³⁾、Kung らは、マウスの cytotoxic な T リンパ球が細胞傷害作用を示すためには脂肪酸が必要であることを示唆している¹²⁾。また、腫瘍細胞で処置したマウスの胸腺または脾臓のコルチゾン抵抗性リンパ球と処置に用いた腫瘍細胞とをインキュベートすると、リンパ球のコレステロールと遊離脂肪酸が減少することが報告されている¹⁶⁾。したがって、溶連菌または FCA によってマウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球のコレステロール、遊離脂肪酸などの中性脂質が増加したことは、溶連菌や FCA で処置したマウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球と非処置マウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球とでは、細胞傷害作用が異なることを示唆するものであろう。

最近、溶連菌または FCA で処置したマウスの胸腺および腸間膜リンパ節のコルチゾン抵抗性リンパ球は、非処置マウスのそれぞれの組織のコルチゾン抵抗性リンパ球に比較して、より強い腫瘍細胞傷害作用を示すことが知られている⁷⁾。このことから、マウス胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球のコレステロールや遊離脂肪酸が溶連菌または FCA によって増加したことから、本リンパ球の腫瘍細胞に対する傷害作用との間に

は何らかの関係があるものと推察される。また、マウスの腸間膜リンパ節のコルチゾン抵抗性リンパ球では、非処置マウスの胸腺および脾臓のコルチゾン抵抗性リンパ球あるいは各リンパ組織の総リンパ球に比較して、コレステロールと遊離脂肪酸が多く、コレステロール量は 2-5 倍、遊離脂肪酸の含量は 2-10 倍になっていたが、このことも、リンパ球のコレステロールや遊離脂肪酸が腫瘍細胞傷害作用に関与することを示唆するものであろう。なお、マウスの腸間膜リンパ節の総リンパ球のコレステロール、コレステロールエステル、トリグリセリドなどの中性脂質が FCA によって著しく増加したのに対し、これらの脂質の溶連菌による増加が少なかったことは、リンパ球に対する作用機序が溶連菌と FCA とでは異なることを示すものであろう。

結 論

A 群溶連菌 (Su 株, 3 型) または Freund の完全アジュバント (FCA) で処置したマウスならびに非処置マウスの胸腺、脾臓および腸間膜リンパ節の総リンパ球とコルチゾン抵抗性リンパ球の脂質組成を調べて以下の成績を得た。

1. 溶連菌処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球では、コレステロール、コレステロールエステル、遊離脂肪酸、トリグリセリドなどの中性脂質が多く、非処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球の各脂質の含量のほぼ 2 倍になっていた。
2. FCA 処置マウスの胸腺のコルチゾン抵抗性リンパ球では、コレステロールと遊離脂肪酸が増加しており、非処置マウスの対応するリンパ球のそれぞれの脂質量の 2 倍近くになっていた。
3. FCA 処置マウスの腸間膜リンパ節の総リンパ球では、コレステロール、コレステロールエステル、トリグリセリドなどが多く、非処置マウスのリンパ節の総リンパ球の各脂質の含量の 2 倍前後になっていた。
4. 溶連菌または FCA で処置したマウスの脾リンパ球の脂質組成は、非処置マウスの脾リンパ球の脂質組成に類似していた。

文 献

- 1) Claman, H. N.: Corticosteroids and lymphoid cells. *New. Engl. J. Med.*, 287, 388-397 (1972).
- 2) Parrillo, J. E. & Fauci, A. S.: Mechanisms of glucocorticoid action on immune processes. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 19, 179-201 (1979).
- 3) Cohen, J. J., Fischbach, M. & Claman, H.

- N.: Hydrocortisone resistance of graft-versus-host activity in mouse thymus, spleen and bone marrow. *J. Immunol.*, **105**, 1146-1150 (1970).
- 4) **Tigelaar, R. E. & Asofsky, R.**: Graft-versus-host reactivity of mouse thymocytes: effect of cortisone-pretreatment of donors. *J. Immunol.*, **110**, 567-574 (1973).
- 5) **Small, M. & Trainin, N.**: Separation of populations of sensitized lymphoid cells into fractions inhibiting and fractions enhancing synergic tumor growth *in vivo*. *J. Immunol.*, **117**, 292-297 (1976).
- 6) **Umiel, T., Linder-Israel, M., Itzhaki, M., Trainin, N., Reisner, Y. & Sharon, N.**: Inhibition or acceleration of tumor growth by subpopulations of thymus cells separated by a peanut lectin. *Cell. Immunol.*, **37**, 134-141 (1978).
- 7) 西尾真友: マウスのコルチゾン抵抗性リンパ球に対する溶連菌およびアジュバントの作用. 十全医会誌, **92**, 631-644 (1983).
- 8) 癌の免疫化学療法—基礎と臨床(井口, 服部編), 第1版, 76-102頁, 南山堂, 東京. 1980.
- 9) 癌とBRM(漆崎, 塚越編), 124-144頁, サイエンスフォーラム, 東京. 1982.
- 10) **Meade, C. J. & Mertin, J.**: Fatty acids and immunity. *Adv. Lipid Res.*, **16**, 127-165 (1978).
- 11) **Heiniger, H.-J., Brunner, K. T. & Cerottini, J.-C.**: Cholesterol is a critical cellular component for T-lymphocyte cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 5683-5687 (1978).
- 12) **Kung, J. T., Mackenzie, C. G. & Talmage, D. W.**: The requirement for biotin and fatty acids in the cytotoxic T-cell response. *Cell. Immunol.*, **48**, 100-110 (1979).
- 13) **Heiniger, H.-J. & Marshall, J. D.**: Cholesterol synthesis in polyclonally activated cytotoxic lymphocytes and its requirement for differentiation and proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 3823-3827 (1982).
- 14) **Wood, A. J. & Gunsalus, I. G.**: The production of active resting cells of streptococci. *J. Bact.*, **44**, 333-341 (1942).
- 15) **Chedid, L., Lamensans, A., Parant, F., Parant, M., Adam, A., Petit, J. F. & Lederer, E.**: Protective effect of delipidated mycobacterial cells and purified cell walls against Ehrlich carcinoma and a synergic lymphoid leukemia in mice. *Cancer Res.*, **33**, 2187-2195 (1973).
- 16) **Kigoshi, S.**: Decrease of cholesterol and free fatty acids in cortisone-resistant lymphoid cells incubated with allogeneic tumor cells. *Experientia*, **35**, 836-838 (1979).
- 17) 木越 茂・北島耕作・川尻博男・小久保護・河野照茂・西尾真友: マウスの胸腺リンパ球, 脾リンパ球およびリンパ節細胞の脂質組成と脂質の脂肪酸構成. 十全医会誌, **89**, 731-739 (1980).
- 18) **Folch, J., Lees, M. & Sloan Stanley, G. H.**: A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1968).
- 19) **Amenta, J. S.**: A rapid chemical method for quantitation of lipids separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.*, **5**, 270-272 (1974).

Lipid Composition of Lymphocytes of Mice Treated with a Group A Streptococcus or Freund's Complete Adjuvant Kousaku Kitajima and Shigeru Kigoshi, Department of pharmacology, Fukui Medical School, Matsuoka, Fukui 910-11 - J. Jusen Med. Soc., **93**, 190-196 (1984)

Key words: Lymphocytes, Lipid Composition, Streptococcus, Freund's Adjuvant

Abstract

The present study was undertaken to examine the lipid composition of total and cortisone-resistant lymphocytes of lymphoid tissues of mice treated with a group A streptococcus Su strain, or Freund's complete adjuvant (FCA) and untreated animals. Streptococcal cells grown in Wood and Gunsalus medium at 37°C for 12 hr were dried after treatment with acetone, and suspended in physiological saline (10 mg/ml). Female mice of ddY strain, 7-8 weeks old, were injected s.c. with 0.5 ml of streptococcal suspension or 0.5 ml of FCA, and sacrificed 14 days later to remove the lymphoid tissues. The cortisone-resistant lymphocytes were obtained from the thymus, spleen or mesenteric lymph node of mice injected i.p. with hydrocortisone acetate (125 mg/kg) 2 days before the tissue removal, and the total lymphocytes from the lymphoid tissues of animals without the treatment of hydrocortisone. The number of cortisone-resistant lymphocytes obtained from each lymphoid tissue of mice was about 1/20 of that of the total lymphocytes for the thymus and about 1/5 of that of the total lymphocytes for spleen and mesenteric lymph node, respectively. The lymphocyte lipids were then extracted with chloroform-methanol (2:1, v/v) by the method of Folch et al, and analyzed quantitatively according to the dichromate reduction procedure of Amenta. The cortisone-resistant thymic lymphocytes of mice treated with streptococci contained a large amount of neutral lipids and phospholipids as compared with the corresponding lymphocytes of untreated animals. The contents of neutral lipids and phospholipids (lipids/10¹⁰ cells) in the cortisone-resistant thymic lymphocytes of mice treated with and without streptococci were about 31 and 15 mg for cholesterol, 50 and 27 mg for free fatty acids, 47 and 28 mg for triglycerides, 40 and 21 mg for cholesterol esters, and 70 and 40 mg for phospholipids, respectively. Similarly, the amounts of cholesterol, free fatty acids and phospholipids in the cortisone-resistant thymic lymphocytes of mice treated with FCA were larger than those in the corresponding lymphocytes of untreated animals. However, only a slight difference was observed in the lipid composition between the total thymic lymphocytes of untreated mice and those of animals treated with FCA or streptococci. In addition, the quantities of neutral lipids and phospholipids in the cortisone-resistant splenic and mesenteric lymphocytes of mice treated with FCA or streptococci were similar to those in the corresponding lymphocytes of untreated animals, except the cholesterol esters in the mesenteric lymphocytes. These results indicate that the treatment of mice with FCA or streptococci results in an increase of neutral lipids and phospholipids in the cortisone-resistant thymic lymphocytes.