リンパ性器官の除去がコクシジウム症に対する鶏の 免疫獲得におよぼす影響

東 條 英 昭・岡 本 正 幹

九州大学農学部 福岡市

鳥類のリンパ性器官である胸腺、ファブリシウス嚢（以下F嚢と略称）および脾臓は、免疫学的に重要な器官であることはすでによく知られている。とくに胸腺とF嚢とはその組織学的構造は類似しているが、多くの除去試験の結果、胸腺は細胞性免疫に、F嚢は体液性免疫に、それぞれ関与しているものと考えられている。

鶏のリンパ性器官とコクシジウム症との関係について、PANDA AND COMBS¹⁾ は鶏に3種類のコクシジウムを混合感染させ、回復後にF嚢や脾臓の重量が増加することを認めた。また、PIERCE AND LONG²⁾ はふ化直後に胸腺を除去した鶏は、除去しなかった鶏に比べて、再感染後における *E. tenella* の排出オーシスト数が多い傾向を示したと報告している。

一方、LONG AND PIERCE³⁾ はF嚢を除去した鶏は感染に対する抵抗性にはなんら影響を示さなかったと述べ、また ROSE⁴⁾ は、脾臓除去の場合には初感染時および再感染時ともに、排出オーシスト数には対照とほとんど差が認められなかったと報告している。しかし、現在までのところ、鶏コクシジウム症の免疫性とリンパ性器官との関係について検討された研究例は少なく、コクシジウムに対する免疫獲得にはどのリンパ性器官がおもに関与しているのかいまだ明らかでない。

本実験は、以上の点を追求する目的で行なったものである。

材料ならびに方法

供試鶏はすべて抗生物質や抗コクシジウム剤が添加されていない飼料で飼育した白色レグホン種の雄を用い、コクシジウムは *Eimeria acervulina* を用いた。また、感染は成熟オーシストを嗦嚢内に直接注入する方法で行ない、免疫の獲得は LONG AND ROWELL⁵⁾ の方法に準じ、24時間ごとに測定した排出オーシスト数によって判定した。

実験Ⅰとして、非感染対照区・感染対照区・胸腺除去感染区・F嚢除去感染区の4区（試験Ⅰ）と、胸腺除去

非感染区・同感染区・F嚢除去非感染区・同感染区の4区（試験Ⅱ）とを設定した。除去手術は、1～2日齢時の雛に対して、胸腺については ASPINAL *et al.*⁶⁾ の方法に準じ、F嚢については CHANG *et al.*⁷⁾ の方法に準じて行なった。その後2週間目に1羽当たり20万個のオーシストを感染させ、感染2週間後にすべての鶏について体重測定の後、リンパ性器官の重量を測定した。

つぎに、実験Ⅱとして、胸腺除去区、F嚢除去区および脾臓除去区を設定し、除去手術は胸腺およびF嚢については前述の方法で、また脾臓については2週齢時の雛に対して、CHANG *et al.*⁸⁾ の方法に従って行なった。器官の除去手術2週間後に免疫付与の目的で、胸腺除去鶏とF嚢除去鶏に対しては1羽当たり20万個、脾臓除去鶏に対しては、1回目の試験では10万個、2回目では25万個のオーシストをそれぞれ感染させた。さらに、感染2週間後に攻撃感染として、前者には、80万個、後者には100万個と250万個のオーシストを感染させた。これらの鶏についてはすべて感染後、糞中に排出されるオーシスト数の測定を行なった。なお除去鶏の対照としては、偽手術鶏を用いた。

結果ならびに考察

Ⅰ. 実験Ⅰ

実験Ⅰは、*E. acervulina* の感染がリンパ性器官の重量におよぼす影響を観察し、さらに胸腺またはF嚢除去を実施した鶏に感染を行なった場合に、他のリンパ性器官の重量がどのような変動を示すか検討するために行なったもので、その結果は表1に示すとおりである。

実験終了時の体重は、試験1, 2を通じて、胸腺除去感染区の鶏以外は各区の間でそれぞれ差は認められなかった。これは胸腺やF嚢の除去そのものでは成長に対してなんら影響をおよぼさないことを示している。奥山⁹⁾ は、ふ化直後に胸腺またはF嚢を除去した場合でも、その後6週齢時までは成長にほとんど影響しないことを報告しており、本実験の結果もこれとよく一致している。しかし、器官の除去を実施した鶏に感染を行なった

表 1. *E. acervulina* 20 万個オーシストの感染がリンパ性器官の重量におよぼす影響
 Table 1. Effect of infection with 20×10^4 *E. acervulina* oocysts on the weight of lymphoid organs

試験 Test	処 理 区 Treatment of birds	供試羽数 No. of birds	剖検時体重† (g) Body weight at autopsy (g)	リンパ性器官重量† (mg/100g of body) Weight of lymphoid organs (mg/100g of body)		
				脾 臓 Spleen	胸 腺 Thymus	ファブリシウス嚢 Bursa of Fabricius
試験 1 Test 1	非感染対照 Noninfected controls	15	165 ± 19	144 ± 58	289 ± 69	431 ± 88
	感染対照 Infected controls	15	167 ± 17	161 ± 24	349 ± 78*	444 ± 117
	胸腺除去感染 Thymecto-infected	15	149 ± 32*	148 ± 32	—	367 ± 105
	ファブリシウス嚢 除去感染 Bursecto-infected	15	166 ± 27	142 ± 38	387 ± 85**	—
試験 2 Test 2	胸腺除去非感染 Thymecto-noninfected	10	164 ± 27	147 ± 39	—	410 ± 84
	胸腺除去感染 Thymecto-infected	10	146 ± 22*	207 ± 48*	—	345 ± 94
	ファブリシウス嚢 除去非感染 Bursecto-noninfected	10	160 ± 28	128 ± 34	350 ± 54	—
	ファブリシウス嚢 除去感染 Bursecto-infected	10	166 ± 24	144 ± 33	428 ± 44**	—

† 平均値 ± 標準偏差

Mean ± S.D.

* 試験 1 および 2 において、それぞれ非感染との間で有意差あり (P < .05)

Difference from noninfected is statistically significant in test 1 and 2 (p < .05)

** 試験 1 および 2 において、それぞれ非感染との間で有意差あり (P < .01)

Difference from noninfected is statistically significant in test 1 and 2 (P < .01)

場合、F 嚢除去鶏ではまったく体重の減少がみられなかったのに対し、胸腺除去感染鶏のみが有意な体重減少を示した。このことは、胸腺を除去したことにより感染に対する抵抗性が低下したことを示唆している。

つぎに、リンパ性器官の比体重量については、脾臓は試験 1 において感染対照区の鶏で増加する傾向がみられた他は、各区の間でほとんど差は認められなかったが、試験 2 においては、胸腺除去感染鶏で有意な増加が、F 嚢除去感染鶏においても増加の傾向が観察された。胸腺は、試験 1 および 2 のいずれにおいても、感染鶏で有意な増加を示した。これに対し、F 嚢では感染による比体重量の増加はほとんど観察されなかった。PANDA AND COMBS¹⁾ は、4 週齢時の鶏に、*E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina* の 3 種のコクシジウムを混合感染させ、6 週間目に脾臓および F 嚢の比体重量が増加することを認め、CHANG *et al.*⁸⁾ は、*S. typhimurium* の感染により同様な結果を得ており、コクシジウムや細菌の感染により鶏のリンパ性器官の重量が増加することを示した。

ところで、これらのリンパ性器官の相互の関係について、CHANG *et al.*⁸⁾ は、脾臓除去鶏または F 嚢除去鶏にそれぞれ *S. typhimurium* を感染させた場合に、脾臓と F 嚢とが互いに代償肥大を示すことを報告している。本実験においては、非感染対照鶏（試験 1）と F 嚢除去非感染鶏（試験 2）および感染対照鶏（試験 1）と F 嚢除去感染鶏（試験 1 および 2）とをそれぞれ比較した場合に、非感染または感染処理にかかわらず、F 嚢除去により、脾臓の比体重量が減少する傾向が認められたと同時に胸腺が代償的に肥大しているのが観察された。一方その逆の F 嚢が胸腺の除去によって代償的に肥大するというような事実は認められなかった。これらの結果はリンパ性器官そのものの機能を追求する上で興味深いことと考えられるので、今後詳細に検討する必要がある。

II. 実験 II

実験 II は、リンパ性器官の除去が *E. acervulina* の感染後の免疫獲得におよぼす影響について検討したもので、得られた結果は、全排出オーシスト数を表 2 および 3

に、24時間ごとの変動の状況を図1、2および3にそれぞれ示した。

はじめに、胸腺除去鶏とF囊除去鶏とを比較した場合は、表2と図1に示すように、免疫付与の目的で感染させた後に排出されたオーシスト数は、両者とも対照鶏とほとんど差はみられなかった。しかし、攻撃感染後においては、F囊除去鶏と対照鶏との間にはほとんど差がなかったのに対し、胸腺除去鶏においては、他の2者に比較して多くの排出オーシスト数が観察された。

現在までのところ、鶏においては、ふ化直後に胸腺を除去すると移植免疫や遅延型反応が非除去鶏に比較して

低いことが、一方F囊除去の場合には種々の抗原に対する血中の抗体価が上昇し難くなるという現象が多く、報告において明らかにされている。PIERCE AND LONG²⁾は、*E. tenella*を用いて、胸腺除去鶏においては初感染後の排出オーシスト数には対照と差がなかったが、2～3回目の感染後では、除去鶏で対照鶏に比べ多くの排出オーシスト数が観察されたと報告している。本実験においても、攻撃感染後において、胸腺除去鶏で多くの排出オーシストが認められた。このことはこれらの鶏が対照鶏やF囊除去鶏に比較して、感染後に獲得した免疫の低かったことを示すものと考えられる。一方、脾臓除去による結

表 2. 胸腺除去鶏およびF囊除去鶏における感染後の全排出オーシスト数

Table 2. Total numbers of discharged oocysts in thymectomized bird and bursectomized bird after infection

処 理 区 Treatment of birds	供試羽数 No. of birds	免 疫 感 染 Immune infection			攻 撃 感 染 Challenge infection		
		接種オーシスト数(万) No. of inoculated oocysts($\times 10^4$)	排出オーシスト数(万) No. of discharged oocysts($\times 10^4$)	増殖指数 Reproduced index	接種オーシスト数(万) No. of inoculated oocysts($\times 10^4$)	排出オーシスト数(万) No. of discharged oocysts($\times 10^4$)	増殖指数 Reproduced index
対 照 Controls	4	20	35272	1763.6	80	975	12.1
胸腺除去 Thymectomized	4	20	27700	1385.0	80	3427	42.8
ファブリシウス囊除去 Bursectomized	4	20	30194	1509.7	80	881	11.0

† 1羽当たりのオーシスト数
Number of oocysts per bird

表 3. 脾臓除去鶏における感染後の全排出オーシスト数

Table 3. Total numbers of discharged oocysts in splenectomized bird and control bird after infection

試験 Test	処 理 区 Treatment of birds	供 試 羽 数 No. of birds	免 疫 感 染 Immune infection			攻 撃 感 染 Challenge infection		
			接種オーシスト数(万) No. of inoculated oocysts($\times 10^4$)	排出オーシスト数(万) No. of discharged oocysts($\times 10^4$)	増殖指数 Reproduced index	接種オーシスト数(万) No. of inoculated oocysts($\times 10^4$)	排出オーシスト数(万) No. of discharged oocysts($\times 10^4$)	増殖指数 Reproduced index
試験 1 Test 1	対 照† Controls	4	10	33332	3333.2	100	2076	20.8
	脾臓除去 Splenectomized	4	10	33919	3391.9	100	2287	22.9
試験 2 Test 2	対 照† Controls	4	25	72913	2916.5	250	8651	34.6
	脾臓除去 Splenectomized	4	25	50693	2027.7	250	11712	46.8

† 偽手術鶏
Sham-operated bird

†† 1羽当たりのオーシスト数
Number of oocysts per bird

果は、脾臓除去鶏と対照鶏との間には排出オーシスト数の差はほとんどみられなかった。WOLFE *et al*⁽¹⁰⁾、ROSENQUIST AND WOLFE⁽¹¹⁾、KEILY AND ABRAMOFF⁽¹²⁾ は、鶏の脾臓を除去することにより抗原注入後に非除去鶏に比べて、血中抗体価の低いことや上昇が遅延することを認めている。これに対して、ROSE⁽⁴⁾ は、4～10 週齢時の鶏に脾臓除去を行ない、4 度にわたって *E. tenella* を感染させた結果、その後に排出されたオーシスト数には、除去鶏と非除去鶏との間に差がなかったことを認め、こ

のことから、脾臓がコクシジウムに対する感染防御において重要な役割を果しているものとは思われないと報告している。本実験においては、実験 I の結果で感染により脾臓の比体重量が増加する傾向が観察されたことから、脾臓もまた、*E. acervulina* に対する免疫獲得においてなんらかの役割を果しているのではないかと推察されたが、除去試験の結果からは、除去による影響は排出オーシスト数のかぎりでは、ほとんど観察されなかった。しかし、脾臓の除去手術を実施した時期が胸腺や F 囊の除

図 1. F 囊除去鶏および胸腺除去鶏における感染後の排出オーシスト数の日変動
Fig. 1. Daily variation in number of discharged oocysts in bursectomized bird and thymectomized bird after infection

図 2. 脾臓除去鶏における感染後の排出オーシスト数の日変動 (試験 1)
Fig. 2. Daily variation in number of discharged oocysts in splenectomized bird after infection (test 1)

図 3. 脾臓除去鶏における感染後の排出オーシスト数の日変動 (試験 2)
Fig. 3. Daily variation in number of discharged oocysts in splenectomized bird after infection (test 2)

去時期に比較して、ふ化後比較的遅い時期であったことを考慮すると、免疫獲得における脾臓の果たす役割については、今後の詳細な検討が必要であろう。

以上、実験Ⅰにおいて、*E. acervulina* の感染により胸腺が大きくなることが認められ、実験Ⅱでは、胸腺除去鶏で再感染時に多くの排出オーシスト数が観察されたことから、*E. acervulina* の感染後に獲得する免疫に関して胸腺がなんらかの役割を果たしているものと考えられる。

要 約

鶏の脾臓、胸腺およびファブリシウス嚢が鶏コクシジウム症に対する免疫獲得において果たす役割について検討を行なった。コクシジウムとしては *E. acervulina* を用い、供試鶏は抗生物質や抗コクシジウム剤の添加されていない飼料で飼育した雄雛を用いた。また、感染は成熟オーシストを直接嚢内に注入する方法で行ない、免疫の獲得は 24 時間ごとに測定した攻撃感染後における排出オーシスト数によって判定した。

E. acervulina の感染によって、感染鶏の脾臓および胸腺の重量が増加するのが認められた。

胸腺除去鶏は、感染後に体重の減少を示したが、ファブリシウス嚢除去鶏ではそのような現象は観察されなかった。

攻撃感染後に、胸腺除去鶏で、ファブリシウス嚢除去鶏や対照鶏に比較して多くの排出オーシスト数が観察された。

これらの結果から、*E. acervulina* に対する免疫の獲得には、胸腺がなんらかの役割を果たしているものと推察された。

参 考 文 献

- 1) PANDA, B. AND G.F. COMBS: Avian Disease, VIII, 7, 1964.
- 2) PIERCE, A.E. AND P.L. LONG: Immunol., 9, 427, 1965.
- 3) LONG, P.L. AND A.E. PIERCE: Nature, 200, 426, 1963.
- 4) ROSE, M.E.: Parasitol., 58, 481, 1968.
- 5) LONG, P.L. AND J.G. ROWELL: Lab. Pract., 7, 515, 1958.
- 6) ASPINAL, R.L., MEYER, R. K., GRAETZER, M.A. AND H.R. WOLFE: J. Immunol., 90, 872, 1963.
- 7) CHANG, T.S., RHEINS, M.S. AND A.R. WINTER: Poultry Sci., 37, 735, 1958.
- 8) CHANG, T.S., RHEINS, M.S. AND A.R. WINTER: Poultry Sci., 38, 1091, 1959.
- 9) 奥山信一: 最新医学, 22, 1965, 1967.
- 10) WOLFE, H.R., NORTON, S., SPRINGER, E., GOODMAN, M. AND C. HERRICK: J. Immunol., 64, 179, 1950.
- 11) ROSENQUIST, G.L. AND H.R. WOLFE: Immunol., 5, 211, 1962.
- 12) KELLY, S.D. AND P. ABRAMOFF: J. Immunol., 102, 1058, 1969.

Effect of Removal of Lymphoid Organ on the Acquired Immunity to Coccidiosis in Chickens

Hideaki TOJO and Seikan OKAMOTO

Faculty of Agriculture, Kyushu University

Summary

Studies on the role of spleen, thymus and bursa of Fabricius in the acquired immunity to *E. acervulina* were conducted. Male chicks used were fed a ration which contained neither antibiotics nor coccidiostats. Infection was performed by introduction of sporulated oocysts directly into the crop and the acquisition of immunity was determined by daily measurements of discharged oocysts after challenge infection.

E. acervulina infection for normal birds increased thymus and spleen weights.

Thymectomized birds resulted in decreased body weights following infection, while it was not observed in bursectomized birds.

An increase in number of discharged oocysts was observed in thymectomized birds, compared with bursectomized, splenectomized and control birds after challenge infection.

The results here suggested that thymus might play some role for the acquisition of immunity to *E. acervulina*.

(Japan. Poultly Sci., 7, 195, 1970)