

プレドニゾロン投与マウスに対する緑膿菌ワクチンの影響について

佐藤平二・上田智之*

(家畜微生物学研究室)

昭和54年8月20日 受理

Effect of *Pseudomonas aeruginosa* Vaccine on Prednisolone Treated Mice

Heiji SATO and Tomoyuki UEDA

(Laboratory of Veterinary Microbiology)

緒 言

近年、抗生物質、免疫抑制剤、制がん剤の使用による病院内感染の増加が問題とされ、その重要な原因菌として緑膿菌が注目されている。先に著者ら²⁸⁾は緑膿菌症の予防を目的として本菌の自家融解ワクチンを試作し、それがマウスに強い感染防禦能を与えることを報告した。しかしながら緑膿菌症の発症は他の病原菌と異なり代表的な日和見感染をおこし、宿主が特異的な状態、すなわち免疫力の低下の状態にある場合の発症が多いのであるから、ワクチンの免疫効果の実際的な評価はそのような状態下で論ぜられなければならない。そのような考えのもとで制がん剤投与マウスでの緑膿菌に対する抵抗性の減弱⁴⁾や免疫の発現に関する研究も見られるが²⁷⁾、我々は、実験的に免疫の低下を起すような処置として副腎皮質ホルモン投与又は、放射線照射マウスによる感染防禦試験を試みた。本報ではプレドニゾロン注射マウスにおけるワクチンの効果および免疫誘導に与えるホルモンの影響についてのべ、放射線照射マウスでの実験は続報²⁹⁾にのべる。

材料および方法

1. 使用動物

日本クレアより購入した JCL-ICR 系雌4週令、体重 17~21 g の SPF マウスを用い、滅菌したケージ、カンナ屑、水道水および固型飼料により open air で可及的に清浄に飼育した。また一部の実験は鹿大医学

部附属動物実験施設で生産された ddY マウスも使用された。使用動物は実験に先立ち各群より無作為に抽出した20%のマウスの口腔、糞便より NAC 寒天培地および普通寒天培地により緑膿菌検索を行い緑膿菌の汚染の有無を調べて使用したがすべて陰性であった。

2. 使用菌株

教室保存の *Pseudomonas aeruginosa* 1300 株を用いた。本菌のマウス病原性は5%ムチン懸濁液9に菌液1の割合に混じてマウス腹腔注射を行った場合、LD₅₀を示す菌数は100個程度の強い病原性をもった菌である。

3. 自家融解ワクチンの調製

ワクチンは佐藤ら²⁸⁾の緑膿菌自家融解ワクチンをやや修飾したもので Minimal medium (K₂HPO₄ 7 g, KH₂PO₄ 3 g, クエン酸ソーダ 0.05 g, (NH₄)₂SO₄ 1 g, MgSO₄·7H₂O 2.4 g, ブドウ糖 20 g) に *Ps. aeruginosa* 1300 を接種し 37°C 24 時間培養した後チメロサルを1:10,000に添加し3週間室温暗所に放置して自家融解せしめたものを5000 rpm 30 分遠沈しミリポアメンブランフィルター (孔径 220 nm) で濾過したものである。(以後 MMAF と略す)。

4. 兎抗血清の作成

MMAF ワクチンを等量の Freund のコンプリートアジュバントと混和して兎皮下に1週間隔で2回のおのおの5mlを2部位(背部、腰部皮下)に分割して接種した。初回注射後3週目に心臓穿刺により採血し分離血清(IRS と略す)は少量ずつ凍結保存した。

5. マウスの免疫

能動免疫は MMAF ワクチン 0.5 ml を ip ルートで2又は4日間隔で1回又は2回行った。攻撃は最後のワクチン注射後2~4日後に行った。受動免疫は前記 IRS 原液 0.2 ml を攻撃直前に腹腔注射により投与した。

本論文の要旨は1977年11月第84回日本獣医学会(宮崎)において発表された。

* 鹿児島大学医学部附属動物実験施設 Institute of Laboratory Animal Science, Faculty of Medicine, Kagoshima University

6. プレドニゾロン処置

マウス背部皮下に酢酸プレドニゾロン注射液（武田薬品工業 KK 製 25 mg/ml）を 0.1 ml ずつ 1 日間隔で 2 回注射した。

7. 緑膿菌による攻撃

各処理群に対して緑膿菌の経口感染又は腹腔内攻撃を試みた。経口感染は菌のブレインハートインフュージョンブロス24時間培養1容に滅菌水道水9容を混じたものを自由給水して行った。腹腔内攻撃は5%ムチン9容に培養菌液希釈を1容の割に加えたもので段階希釈攻撃を行い、LD₅₀ 価を Behrens-Kärber 法で求めた。

結 果

1. プレドニゾロン単味注射 (PP)

まず対照の意味でプレドニゾロンのみ 2.5 mg ずつ 2 回投与したマウスを清浄飼育群と緑膿菌給水群に分けて観察してみたところ、Fig. 1 に示すような累積死亡曲線を示し、清浄飼育群では10匹中7匹 (70%)、菌給与群では10匹中6匹 (60%) の死亡率を示し、プレドニゾロンを投与しないマウスでは緑膿菌水給水で斃死するものはなかった。なおこの試験中の斃死マウスはその心血から NAC 寒天培地による緑膿菌検索が試みられたが何れも陰性に終わった。

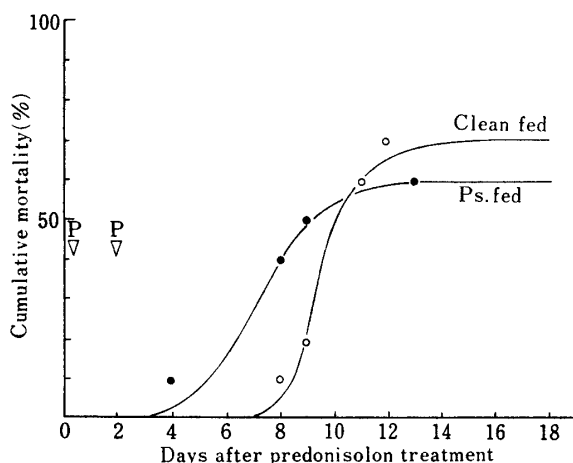


Fig. 1. Comparison of survival of prednisolone treated mice under the different feeding condition.

2. 能動免疫前のプレドニゾロン注射 (PPV)

プレドニゾロンを隔日 2 回注射後 2 日目に MMAF ワクチン 0.5 ml ip 注射して清浄飼育と菌飼育（菌は第 1 回プレドニゾロン注射時より給与）を続けた場合の累積死亡曲線は Fig. 2 に示す如くで、清浄飼育群で

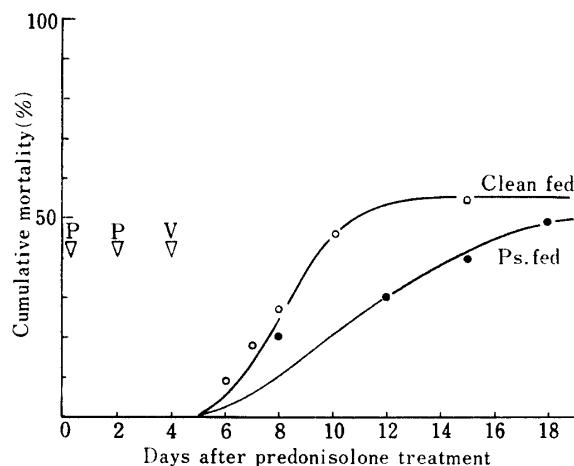


Fig. 2. Effect of prednisolone pretreatment in vaccinated mice.

11 匹中 6 匹 (54.5%)、菌給水群で 10 匹中 5 匹 (50%) の死亡率であった。これらの斃死マウス心血からは緑膿菌は分離されなかった。

3. ワクチン注射後のプレドニゾロン注射 (VPP)

第 1 回プレドニゾロン注射の 2 日前に MMAF ワクチン注射したマウスでは、菌給水群で斃死するものが 10 匹中 6 匹 (60%) であったのに対し、清浄飼育群では 10 匹中 2 匹 (20%) に止まった (Fig. 3) そこで同様の実験を ddY SPF マウスにより試みた所、Fig. 4 に示すようにプレドニゾロン注射前に免疫し清浄飼育を行ったものは 16 匹中 3 匹 (18.7%) の死亡率であったのに対し、プレドニゾロン注射後に免疫したマウスの清浄飼育群は 17 匹中 10 匹 (58.8%) のマウスが死亡し、ICR と同様の傾向を示した。何れの場合においても斃死マウスより緑膿菌の分離は見られなかった。

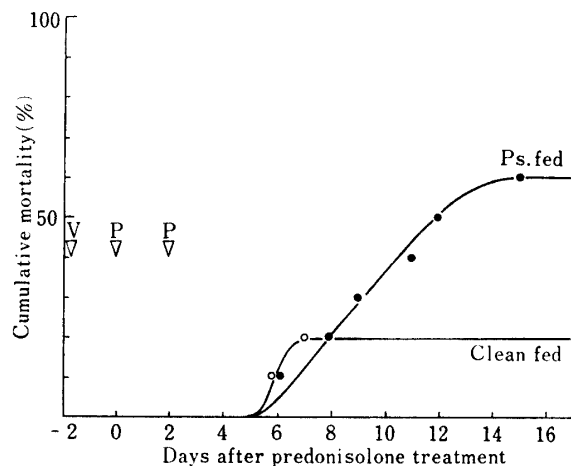


Fig. 3. Effect of prednisolone post-treatment in vaccinated mice.

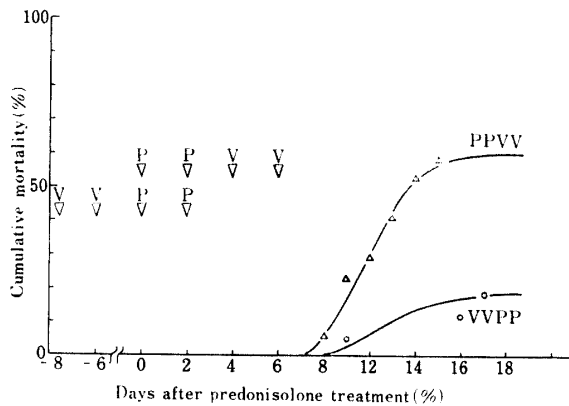


Fig. 4. Effect of prednisolone treatment in pre or post vaccinated mice. (ddY SPF cleanly fed)

4. プレドニゾロン・MMAF 感作マウスに対する攻撃

上記 PP, PPV, VPP の三群のマウスに段階希釈ムチン混合菌液で ip 攻撃を試みた。又同時に PP 清浄飼育群に免疫家兔血清 0.2 ml を攻撃直前に注射してその効果をしらべた。(PPSr と略す)。その結果は Table 1 に示したが、それによれば、PPV, VPP, PPSr 群では攻撃菌量と死亡率の間に規則性がなく LD₅₀ の比較による効果の判定は不可能であった。上記三処置群の菌攻撃で死亡したマウス中で、2日目までに死亡したものは緑膿菌が心血より回収されたが、3日目以降に斃死したマウスではその大多数から菌回収が不可能であった。プレドニゾロン単味処理マウス (PP) および対照群では LD₅₀ は夫々 7×10^1 以下であったのに対し、MMAF ワクチン接種群のそれは $7 \times 10^{7.0}$ であり免疫血清による受動免疫付与マウスでは $7 \times 10^{6.5}$ 以上の LD₅₀ であった。これらの実験群について攻撃量に拘わりなく一括して累積死亡曲線を描くと Fig. 5

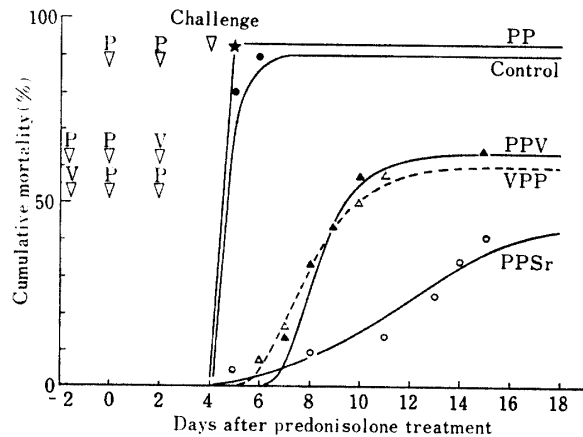


Fig. 5. Effect of prednisolone on the infectivity in actively or passively immunized mice. Immune serum was administered few minutes prior to challenge.

のようになり、明らかに三つの群に分かれた。即ち PP, 対照の攻撃群は夫々 91.6% と 90% の死亡率を示したのに対し PPV, VPP の攻撃群は夫々 64.2% と 58.3% であり、PPSr 攻撃群では 40% であった。PPV, VPP 群の反応曲線は攻撃を受けない PP 群のそれとよく似たものであった。

5. ワクチン接種前後におけるプレドニゾロン投与の免疫発現に及ぼす影響

ICR マウスを 5 群に分けてそれぞれに約 10^4 個の攻撃を行った。その結果は Table 1 に示した。第 1 群 (PP) はプレドニゾロン 2.5 mg を隔日で 2 回皮下注射を行い、最初の注射から 4 日目、8 日目、12 日目、16 日目、20 日目に攻撃した所 全試験共 100% の死亡率であった。第 2 群 (PPV) はプレドニゾロン注射を 2 回行い、初回注射より 4, 8, 12 日目に MMAF ワクチンを接種し、夫々接種後 4 日目で攻撃を行った。その結果は第 12 日

Table 1. Protection against pseudomonas challenge in variable mouse groups

Challenge dose (CFU)	PP	PPV	VPP	PPSr	V	Sr	Control
7×10^7					1 1 S**S		
7×10^6					S S S S	S S S S S S	1 1 1 1 1
7×10^5			4 6 S		S S S S	1 1 S S S S	1 1 1 1 1
7×10^4		2 3 S	4 7 S	1 10 10 S S S	S S S S S	S S S S S S	1 1 1 1 1
7×10^3	1 1 1 1	1 3 S S	2 6 S	7 S S S S S	S S S S S	S S S S S S	1 1 1 2 2
7×10^2	1 1 1 1	1 3 4 S	3 S	4 9 S S S		S S S S S S	1 1 1 2 S
7×10^1	1 1 1 S	4 9 S		9 11 S S S			1 1 1 S S

* P: 2.5 mg of prednisolone sc administration.

V: 0.5 ml of MMAF vaccine ip administration.

Sr: 0.2 ml of immune rabbit serum ip administration few minutes before challenge.

** Survival on 11th day.

Challenge carried out 10 days after first prednisolone administration.

Table 2. Effect of time interval between vaccination, prednisolone administration and challenge

Groups	-2	0	2	4	8	12	16	20
1		P* ¹	P	C* ² 1	1 1 1 1			
		P	P		C 1 1 1 1 1			
		P	P			C 1 1 1 1 1		
		P	P				C 1 1 1 1 1	
		P	P					C 1 1 1 1 2
2		P	P	V* ³	C 1 1 1 1* ⁴ 11			
		P	P		V	C 1 1 6 9 10		
		P	P			V	C 1 5 5 S* ⁵ S	
3	V	P	P	C 1 1 12 12 S				
	V	P	P		C 1 2 S S S			
	V	P	P			C 1 6 6 7 8		
	V	P	P				C 1 2 3 4 5	
	V	P	P					C 1 1 1 1 S
4		P	P	Sr* ⁶ C 1 8 8 S S				
		P	P		Sr C 1 2 5 9 10			
		P	P			Sr C 1 7 7 7 10		
		P	P				Sr C 2 4 5 6 7	
		P	P					Sr C 1 1 2 S S
Control 1	V			C S S S S S				
Control 2				Sr C S S S S S				

*¹: 2.5 mg of prednisolone administered subcutaneously.

*²: Intra peritoneal challenge with mucin suspended *Pseudomonas aeruginosa* dose of $0.5-2.0 \times 10^4$.

*³: 0.5 ml of MMAF vaccine administered from ip route.

*⁴: Numeral indicates the time of death after challenge, bar shows none of *Pseudomonas aeruginosa* isolation.

*⁵: Survival on 12th day.

*⁶: 0.2 ml of immune rabbit serum ip administration.

免疫第16日攻撃群で5匹中2匹の生残マウスがあった以外はすべて斃死したが緑膿菌敗血症死は13匹中6匹であり、残りは敗血症死とは考えられず免疫の成立があったと考えられた。

第3群 (VPP) は第1回プレドニゾロン注射の2日前に免疫を行い第1回プレドニゾロン注射後4日目から20日目まで4日毎に攻撃を行った。その成績では25匹中斃死20匹うち菌回収可能だったものは5匹に止まった。すなわな比較的強い免疫が成立したがプレドニゾロンによる死を防止することは出来なかった。

第4群は第1回プレドニゾロン注射後4日目から20日目まで4日毎に攻撃し、攻撃の直前に免疫血清を腹腔に注射した。その成績は斃死率84% (21/25), うち敗血症死8匹でやはり受動免疫とプレドニゾロン効果が独立して存在しているように推測された。この実験群はプレドニゾロンの効果がより強く現われたがその原因については不明であった。

考 察

副腎皮質ホルモンが感染を増強することは広く知られている²⁴⁾。その理由としてその抗炎症性反応^{14, 23, 24)}、RESの機能の低下^{8, 9)}、液性免疫の抑制^{5, 6, 15, 20, 23)}、細胞性免疫の抑制^{2, 7, 13, 16, 34)}などに関する報告が多く、特に近年は免疫抑制の機構に関する研究がふえている^{1, 7, 15, 16, 17, 20, 31, 33)}。緑膿菌ワクチン又は高度免疫プラズマは動物実験において強い感染防禦能を与えることが明らかにされており^{11, 18, 19, 20, 28)}免疫の研究には有利であるので、本報では先ずプレドニゾロン投与マウスについて実験を行った。プレドニゾロンを2回計5mg投与されたマウス (PP) は清浄に飼育されても緑膿菌水で飼育されても、その累積死亡曲線は類似するが、PP処理後ワクチン接種したもの (PPV) とPP処理前に免疫を行ったもの (VPP) について夫々清浄飼育又は菌飼育を行い死亡率を比較するとVPPの清浄飼育群が明らかに死亡率が低いことがわかった。この傾向は ddY マウスにおいても認められた。Beck⁴⁾ は

抗腫瘍剤投与マウスに緑膿菌を経口的に与えて正常マウスの LD_{50} 値の300分の1近い菌量で50%致死させ、斃死マウスから菌を証明しているが我々の実験では正常マウスの菌飼育では全例生残し、PP 群の死亡例からは緑膿菌を証明出来なかった。然るに VPP 群のうち清浄飼育したもののみが低い死亡率を示したが、斃死マウスの死因が判然としないので、ワクチンによる特異的免疫の結果とは考えられない。副腎皮質ホルモンはエンドトキシンに対して毒素抵抗性を示すことが知られているので^{30,32)} toxemia による死亡をワクチンが防禦したことも考えにくい。副腎皮質ホルモンは生体に複雑な作用を及ぼす事が知られているので、この実験のみから MMAF ワクチンの作用について推測することは困難であった。しかし Fukui ら²²⁾ も緑膿菌の成分が非特異的防禦能を与えるという報告を行っているので、同様の効果があったことも考えられる。

PPV, VPP 群の夫々について菌の段階希釈攻撃を行った結果では、攻撃菌量と斃死率の間に正規の S 字曲線を描くことが出来ず、大量菌による攻撃をうけたマウスでも生残するものがある一方少量菌攻撃群で斃死するものもあった。通常の感染防禦試験ではワクチンは極めて効果的で大量菌攻撃マウスの斃死は72時間以内に起こるのに対して本実験では攻撃後3日以降に斃死するのが多いうえに3日以降の斃死マウスからは殆んど菌が分離されず、その限りでは PPV, VPP 群は緑膿菌症に対してはかなり強く防禦されていたと考えられた。同様の結果は免疫血清を攻撃直前に腹腔に注射した試験でも見られ、PP 投与後であっても免疫血清による感染防禦が強く行われる事が明らかであった。感染防禦試験を行った各処理群毎にマウスを攻撃量にかかわらずプールして累積死亡曲線をかいてみると三つのパターンがあることが明らかであり、PP 群は著しく急激且高い死亡パターンを示したのに対し免疫血清投与群は緩く、且低い曲線を描いた。PPV, VPP は互いに類似し各群の菌飼育の曲線と同様のものであり、PP 以外の群における斃死マウスの大部分は緑膿菌感染によるものではない事が裏付けられた。副腎皮質ホルモンの免疫抑制作用についての文献は枚挙に暇がないが、緑膿菌の免疫のメカニズムとしてはオプソニゼーションの亢進による体液免疫説を支持するものが多いので^{5,10,35)} 主として抗体産生の抑制について考えてみると、ホルモン投与は抗原投与前に行われると抑制作用が強くおこるという報告が殆んどであるが^{3,5,6,15,20,23)}、逆に抗体産生を刺激する報告もある¹⁾。Petrinyl²⁶⁾ はマウスにハイドロコチゾン (HC) 処理

しその前後に羊赤血球を注射して抗体の 19S, 7S 分画を調べた成績は多くの報告とはやや異り、ホルモン前処理は3~1日前であれば7S抗体は全く出現しないが19Sは数日おくらせて無処置マウスにおけるより高いタイターを示してゆっくり下降して行き、之に対して抗原投与後にHCを注射した場合は3日後までは7Sが19Sを超えることは出来ず、5日目以降にHCを注射した時にのみ19Sから7Sへの移行がみられると述べている。彼はこの事からHCはIgM前駆細胞からIgG前駆細胞への変換に関わるT細胞機能を抑制していると考えている。前述のように本実験ではPPVでもVPPでも防禦のパターンはよく似ており、P投与後の免疫が強く抑制されているとは思われないが、免疫後のP投与でいくらかの免疫抑制があった事や免疫血清が強い防禦能を与えた事などから、PPVで見られる免疫は体液性免疫なのか、緑膿菌の免疫には19Sのみでも或程度の免疫があり、19S, 7Sの協同があればもっと強い免疫を与えるのか、P処理後につくられる抗体に比べ無処置動物で作られた免疫血清はマクロファージ賦活性又はオプソニン作用がより強いのかなどの疑問点、さらに Fauvel⁷⁾ とは異なりマクロファージの食菌能はP処理によりそれ程影響を受けないのかなどことが今後明らかにされなければならない点と考えられる。P, V投与の時間的推移と効果との関係についての実験でもVPPがより強く敗血症死を防止する傾向はあるが、Pの効果は20日まで残存し、その期間における時間的要因は有意とは思われなかった。この事は同様に免疫抑制的である放射線照射の効果と大きく異なる点であってそれについては続報²⁹⁾ にのべる。

本研究の成績から勘案するに、Pierson²⁶⁾ らが免疫抑制剤投与マウスで緑膿菌に対する能動免疫と抗血清による受動免疫に成功したように、副腎皮質ホルモン投与マウスにおいても免疫が可能でありワクチン又は抗血清は十分に緑膿菌感染を防止することが考えられた。しかし実際に免疫に用いる免疫原の血清型別の相異による特異性²¹⁾ の巾又は厳密性については更に追究される必要がある。

要 約

マウスにプレドニゾン 2.5 mg 2回皮下注射し、その前または後に免疫を行い免疫の影響を追究したところ次のような結論を得た。

1. プレドニゾン注射前に MMAF ワクチン注射を行ったマウスを清浄飼育するとプレドニゾンによ

る死亡が減少する。

2. プレドニゾロン注射前 MMAF ワクチネーションを行ったマウスでも緑膿菌水飼育を行うとプレドニゾロンによる死亡は減少しない。

3. プレドニゾロン注射の前又は後に MMAF ワクチネーションを行い、菌の腹腔攻撃により免疫の有無を調べると予めプレドニゾロン処理したマウスにおける免疫の誘導はやや抑制される。しかし、プレドニゾロン投与前に免疫されたマウスでの免疫抑制は極めて弱い。

4. プレドニゾロン注射をうけたマウスは攻撃時の抗血清との同時注射により強い感染防禦を示し、マクロファージを主とすると考えられる感染防禦はプレドニゾロンにより影響されないことが推測された。

5 以上の事実から副腎皮質ホルモンによる免疫抑制マウスに対するワクチン接種は有効であろうと考えられた。

謝辞 本研究は文部省科学研究費(特定研究「実験動物の純化と開発」課題番号 50年 012202, 51年 111502, 52年 210703)により行われたものである。ここに記して謝意を表します。またマウスの分与、飼育について多大の協力を頂いた鹿児島大学医学部付属動物実験施設山内忠平助教および施設員各位に謝意を表します。

文 献

- 1) Ambrose, C. T.: Symposium on invitro studies of the immune response. III. Biochemical agents affecting the inductive phase of the secondary antibody response initiated in vitro. *Bact. Rev.*, **30**, 408-417 (1966)
- 2) Balow, J. E. and Rosenthal, A. S.: Glucocorticoid suppression of macrophage migration inhibitory factor *J. Exp. Med.*, 1031-1041 (1973)
- 3) Berglund, K.: Studies on factors which condition the effect of cortisone on antibody production. 1. The significance of time of hormone administration in primary hemolysin response. *Acta Path. Microb. Scand.*, 311-328 (1956)
- 4) Berk, R. S.: Experimental mouse infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 169-172 (1977)
- 5) Bjornson, A. B. and Michael, J. G.: Biological activities of rabbit immunoglobulin M and immunoglobulin G antibodies to *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.*, **2**, 453-461 (1970)
- 6) Bjorneboe, M., Fishel, E. E. and Stoerk, H. C.: The effect of cortisone and adrenocorticotrophic hormone on the concentration of circulating antibody. *J. Exp. Med.*, **93**, 37-48 (1951)
- 7) Cohen, I. R., Stavy, L. and Feldman, M.: Glucocorticoids and cellular immunity in vitro. *J. Exp. Med.*, **132**, 1055-1070 (1970)
- 8) Claman, H. N.: Corticosteroids and lymphoid cells. *New England J. Med.*, **287**, 388-397 (1972)
- 9) Clawson, B. J. and Nerensberg, S. T.: The effect of large doses of cortisone upon the ability of the reticulo-endothelial cells to phagocytose streptococci. *J. Lab. Clin. Med.*, **42**, 746-748 (1953)
- 10) Crowder, J. G., Fisher, M. W. and White, A.: Type-specific immunity in pseudomonas disease. *J. Lab. Clin. Med.*, **79**, 47-54 (1972)
- 11) DeFajardo, C. L. and Laborde, H. F.: *Pseudomonas* vaccine. III. Evaluation of a polyvalent vaccine. *J. Bact.*, **95**, 1967-1969 (1968)
- 12) DeSousa, M. and Fachel, J.: The cellular basis of the mechanism of action of cortisone acetate on contact sensitivity to oxazolone in the mouse. *Clin. Exp. Immunol.*, **10**, 673-684 (1972)
- 13) Dougherty, T. F. and Schneebell, A. L.: Role of cortisone in regulation of inflammation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **75**, 854-859 (1950)
- 14) Ebert, R. H. and Barclay, W. R.: Changes in connective reaction induced by cortisone. *Ann. Intern. Med.*, **37**, 507-518 (1952)
- 15) Elliot, E. V. and Sinclair, N. R. St C.: Effect of cortisone acetate on 19S and 7S hemolysin antibody. *Immunol.*, **15**, 643-652 (1968)
- 16) Fauci, A. S.: Effect of hydrocortisone (OHC) on guinea pig peripheral blood lymphocyte subpopulations. *Fed. Proc.*, **33**, 750 (1974)
- 17) Fauve, R. M. and Pierce-Chase, C. H.: Comparative effects of corticosteroids on host resistance to infection in relation to chemical structure. *J. Exp. Med.*, **125**, 807-821 (1967)
- 18) Feingold, D. S. and Oski, F.: *Pseudomonas* infection. Treatment with immune human plasma. *Arch. Intern. Med.*, **116**, 326-328 (1965)
- 19) Feller, I. and Pierson, C.: *Pseudomonas* vaccine and hyperimmune plasma for burned patients. *Arch. Surg. (Chicago)*, **97**, 225-229 (1968)
- 20) Fishel, E. E., Vaughan, J. H. and Photopoulos, C.: Inhibition of rapid production of antibody by cortisone. Study of secondary response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **81**, 344-348 (1952)
- 21) Fisher, M. W., Devlin, H. B. and Gnabasik, F. J.: New immunotype schema for *Pseudomonas aeruginosa* based on protective antigens. *J. Bact.*, **98**, 835-836 (1969)
- 22) Fukui, G. M., Homma, J. Y. and Abe, C.: Non-specific protective properties of *Pseudomonas aeruginosa* endotoxin and its components. *Jap. J. Exp. Med.*, **41**, 489-492 (1971)
- 23) Germuth, F. G., Jr., and Ottinger, B. and Oyama, J.: Influence of cortisone on experimental hypersensitivity and circulating antibody in the guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **80**, 188-191 (1952)
- 24) Glaser, R. J., Berry, J. W., Loeb, L. H. and Wood, W. B., Jr.: The effect of cortisone in streptococcal lymphadenitis and pneumonia. *J. Lab. Clin. Med.*, **38**, 363-373 (1951)

- 25) Kass, E. H. and Finland, M.: Adrenocortical hormones in infection and immunity. *Ann. Rev. Microb.*, **7**, 361-388 (1953)
- 26) Petrányl, G. Y., Jr.: The effect of single large dose hydrocortisone treatment on IgM and IgG antibody production, morphological distribution of antibody producing cells and immunological memory. *Immunol.*, **21**, 151-158 (1971)
- 27) Pierson, C. L., Johnson, A. G. and Feller, I.: Effect of cyclophosphamide on the immune response to *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Infect. Immun.*, **14**, 168-177 (1976)
- 28) Sato, H. and Diena, B. B.: A polyvalent pseudomonas vaccine. *Rev. Can. Biol.*, **3**, 93-97 (1974)
- 29) 佐藤平二・上田智之: ガンマ線照射マウスに対する緑膿菌ワクチンの影響について. 鹿大農学術報告 **No. 30**, 139-145 (1980)
- 30) Smith, R. T. and Thomas, L.: The lethal effect of endotoxins on the chick embryo. *J. Exp. Med.*, **104**, 217-231 (1956)
- 31) Stern, K. and Davidson, I.: Effect of steroid hormones on immune hemoantibodies in mice of inbred strains. *Fed. Proc.*, **13**, 513 (1954)
- 32) Ueda, K., Diena, B. B., Sato, H. and Greenberg, L.: The chick embryo neutralization test in the assay of meningococcal antibody. 2. Response of the embryo to meningococcal endotoxin and to infection. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, **40**, 241-244 (1969)
- 33) Vischer, L. L.: Effect of hydrocortisone on the reactivity of thymus and spleen cells of mice to in vitro stimulation. *Immunol.*, **23**, 777-784 (1972)
- 34) Weston, W. L., Claman, H. N. and Krueger, G. G.: Site of action of cortisol in cellular immunity. *J. Immunol.*, **110**, 880-883 (1973)
- 35) Young, L.: Human immunity to *Pseudomonas aeruginosa*. II. Relationship between heat stable opsonin and type-specific lipopolysaccharides. *J. Inf. Dis.*, **126**, 277-287 (1972)

Summary

Reciprocal actions between prednisolone and *Pseudomonas aeruginosa* autolysed vaccine was investigated in mice with a view to study the usefulness of vaccine under the conditions of so called immuno-suppression. Four groups of SPF mice were prepared for experiments. These groups were (1) PP given totally 5 mg of prednisolone via subcutaneous route, (2) PPV vaccinated after prednisolone treatment, (3) VPP vaccinated in advance of prednisolone treatment and (4) PPSr treated with prednisolone and given immune rabbit serum just before bacterial challenge. Groups PP, PPV and VPP were divided into two groups respectively, namely clean fed (sterile water and pellets in sterile cage) and pseudomonas fed groups, then cumulative mortality was followed in these groups. VPP clean fed mice showed less mortality than the other five groups, however, this protection in VPP did not seem to be attributed to any immunological defense, since *Pseudomonas aeruginosa* were not isolated from any of the dead mice. The reason for the induction of this non-specific resistance remains to be elucidated. Induction of anti-pseudomonas immunity which was elicited by vaccination, and before or after prednisolone treatment, was investigated in the above mentioned four groups. As far as mortality is concerned, the mice which belonged to both PVV and VPP were not well protected, however, most of the mice died, after three days, from the challenge rid of pseudomonas septicemia, since no *Pseudomonas aeruginosa* were isolated. In spite of a high mortality rate, as high as 60%, our results suggested that induction of immunity was not strongly disturbed by the prednisolone treatment but was rather considerably well developed. Durability of prednisolone effects on the induction of immunity studied in terms of the time response in immunity-development and the results demonstrated that the drug afforded only prednisolone death, while the induction of immunity was not strongly affected through the experimental period.