

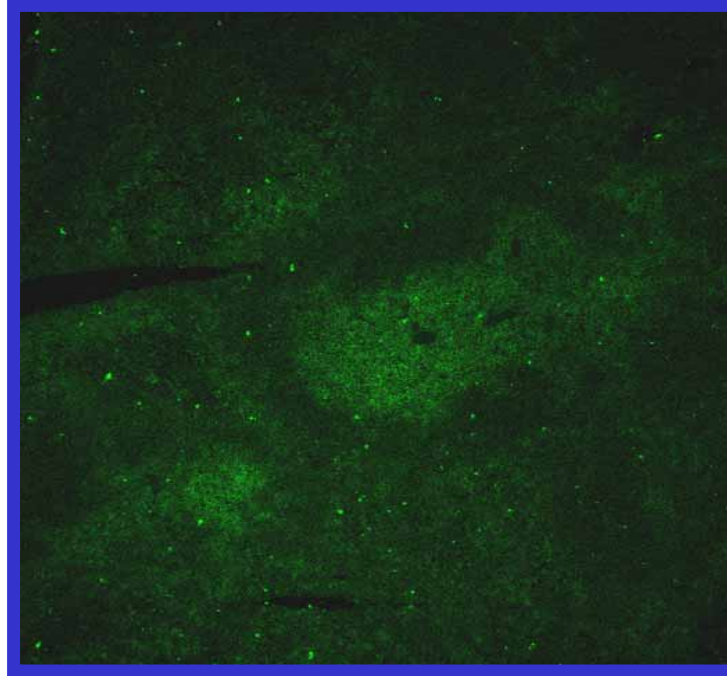
SPP講座レポート
Aコース 免疫応答
- 免疫不全モデルマウスに学ぶ免疫の基本 -

金津高校 （村内朝海、花木このみ、野内陽菜、山田佳代、渡邊 唯）

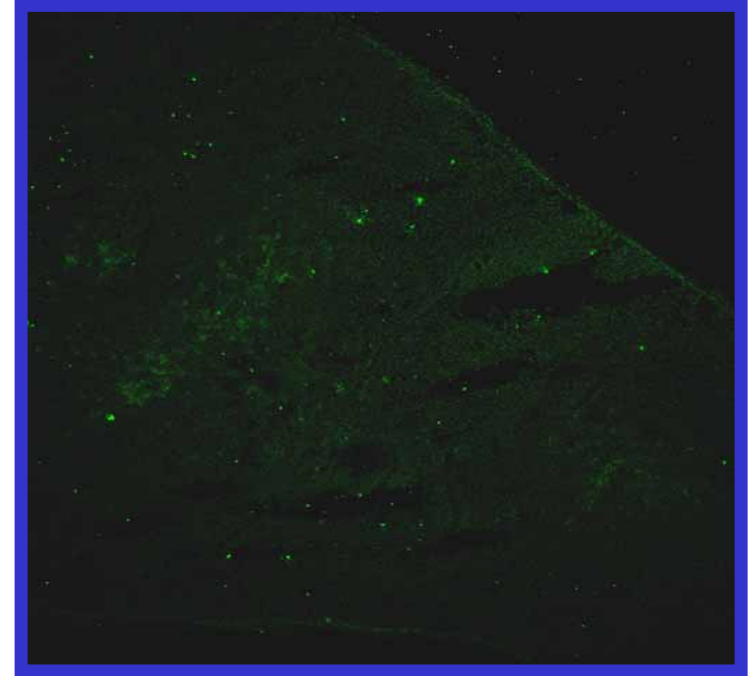
実験1 ヌードマウスには胸腺もT細胞もなかった！



ヌードマウスは毛がないだけでなく、胸腺がない！



普通マウス
T細胞が多数



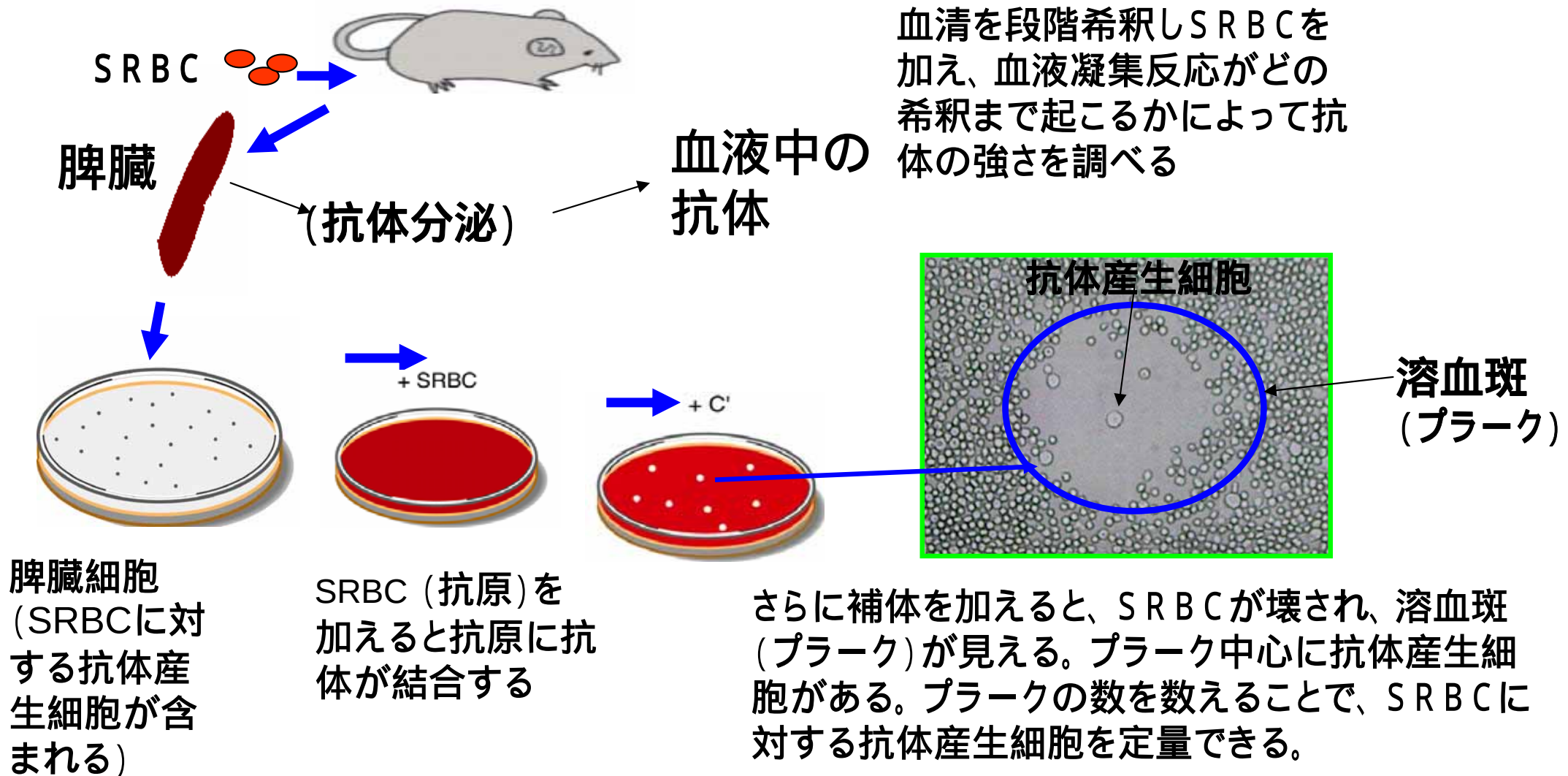
ヌードマウス
T細胞がない

CD4 (ヘルパーT細胞) に対する抗体を蛍光色素でラベルして、脾臓の組織標本と反応させ、共焦点レーザー顕微鏡でT細胞を観察した。

T細胞が分化増殖する場が胸腺である。T細胞は、リンパ管や血液で2次リンパ器官(リンパ節や脾臓)に運ばれる。したがって、胸腺のないヌードマウスの脾臓には、T細胞がないことになる。

実験2 T細胞のないマウスは抗体を作れる？

マウスにヒツジ赤血球 (SRBC) を投与し、4日目に脾臓のSRBCに対する抗体産生細胞と、血液中の抗体の強さをヌードマウスと普通のマウスで比較した。



血中の抗体

普通マウス

ヌードマウス

胸腺移植ヌードマウス

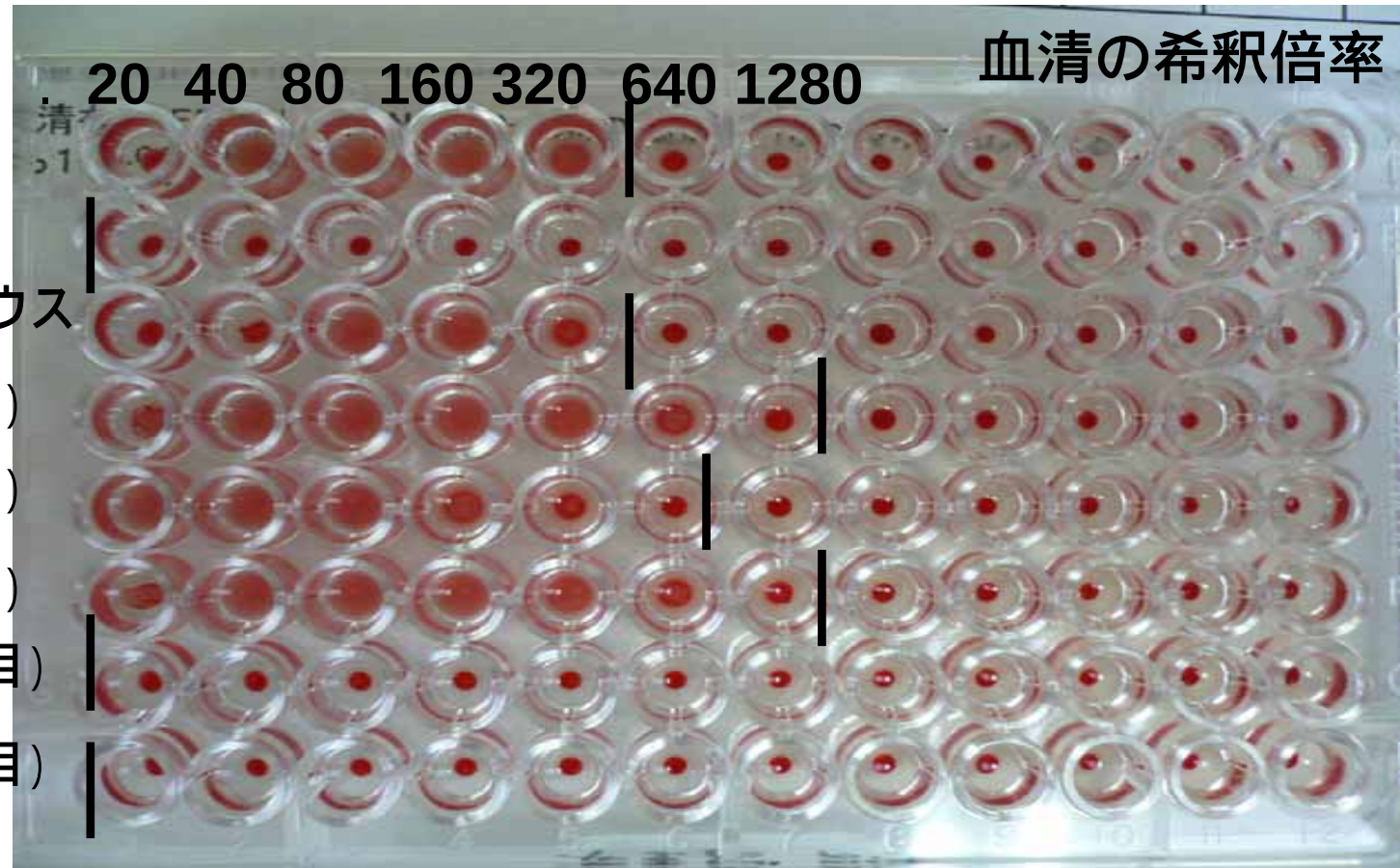
普通マウス(2回目)

普通マウス(2回目)

普通マウス(2回目)

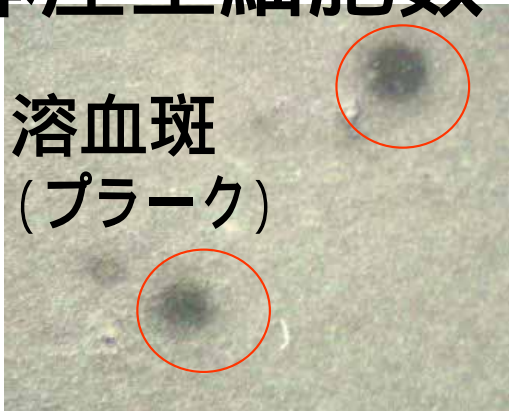
ヌードマウス(2回目)

ヌードマウス(2回目)



抗体産生細胞数

溶血斑
(プラーク)



脾臓の抗体産生細胞数

普通マウス 21,938 (4)

ヌードマウス 1,020 (5)

胸腺移植
マウス 11,875 (2)

()マウス匹数

ついでに、「体液性免疫の記憶」について確かめた

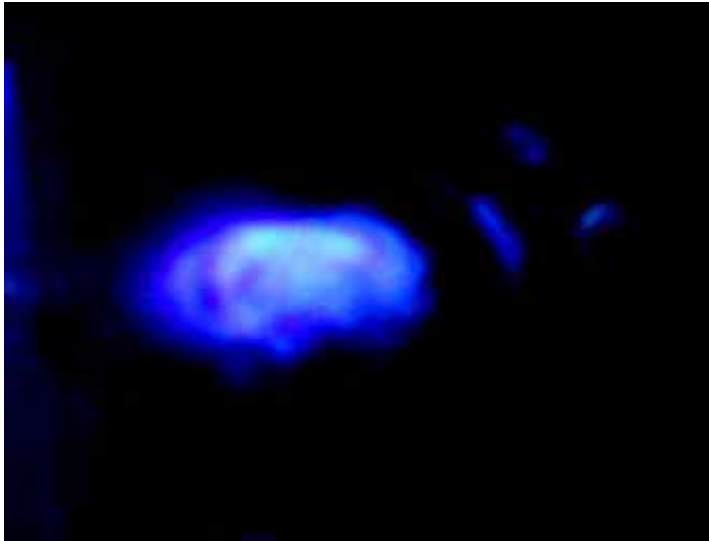
マウスに抗原(SRBC)を投与すると抗原(SRBC)に対する抗体が作られる。その際、免疫が記憶されるなら、2度目のSRBC投与では、SRBC1度の投与よりも多くの抗体が作られることになる。

結果

1. 普通マウスではSRBCに対する抗体が作られたが(320倍)、ヌードマウスでは、抗体は検出できなかった(20倍以下)。
2. 脾臓でのSRBCに対する抗体産生細胞数は普通マウスでは、22,000個/脾臓であったが、ヌードマウスでは1,000個/脾臓と普通マウスの5%以下であった。
3. SRBCを2回投与(1回目から、5週後に再投与)した場合は、より多くの抗体が作られた(640 - 1280倍)。ヌードマウスでは2回投与でも抗体は産生されなかった。

抗体はB細胞で作られるが、抗体産生にはT細胞の働きが必要なこと、そして抗体産生は記憶されることも分かった。

実験3 ヌードマウスは他マウスの移植組織を拒絶しない



同系統のマウスの皮膚を移植した
(自家移植に相当する)

移植ドナーのグリーンマウスとレシピエントである免疫能が正常なマウスは共に組織適合抗原がまったく同じなため、移植拒絶反応が起こらないが、また、皮膚や毛で識別できない。しかしながらグリーンマウスの皮膚はブライトを当てると、緑の蛍光を発するので、移植された皮膚であることが分かる。

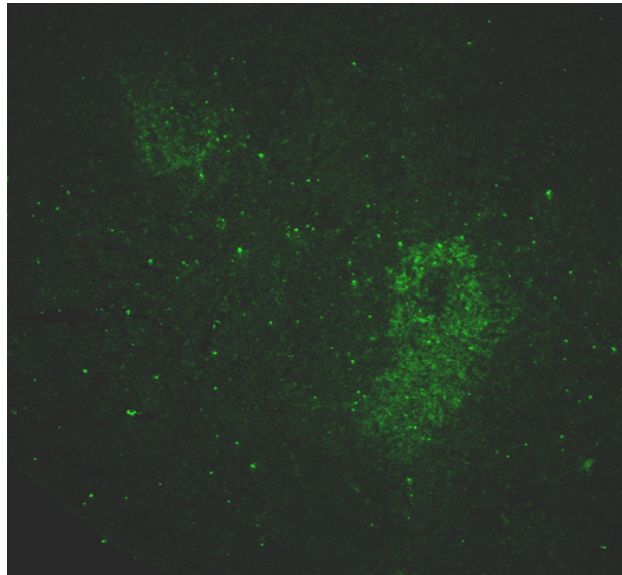


他の系統マウスの皮膚を移植したヌードマウス：移植皮膚は紫外線を当てると緑の蛍光を発すること、また、皮膚の色や黒い毛が生えていることでレシピエントの皮膚と識別できる。

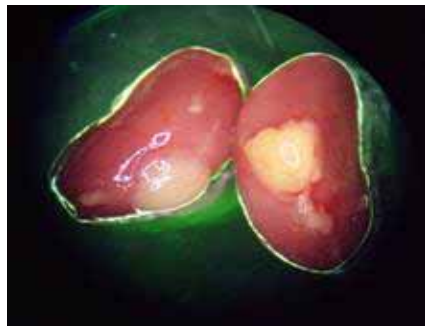
**拒絶反応にはT細胞が
欠かせない！**

実験4 胸腺移植で免疫機能は回復する

1) 脾臓のT細胞



胸腺移植したヌードマウスでは、T細胞が見られた。



腎臓の被膜下に移植された胸腺

2) 抗体産生

	血中抗体
普通マウス	320倍
ヌードマウス	20倍以下
胸腺移植ヌードマウス	320倍

脾臓の抗体産生細胞数：5匹中、2匹に普通マウスの50%ほどの抗体産生細胞が検出できた。

胸腺移植によってヌードマウスの抗体産生能は回復できることが分かった。

さらに次の実験(胸腺を移植したヌードマウスに別系統のマウスの皮膚を移植します。)で拒絶反応が起きれば細胞性免疫機能の回復が証明されます。

実験講座を終えて



今回、私たちはSPP講座に参加して、今後体験できないようなこともでき、とても貴重な時間を過ごすことができました。最初は、上手く実験が成功するかという不安もありましたが、先生の話の聞いたり、わからない所は丁寧に教えていただいた甲斐もあり、乗りきることができました。難しいとも思いましたが、実験の楽しさや、このような実験がどのように医学に貢献しているかがわかりました。

電子顕微鏡は、今までに一度も見たこともなく、その上、まさか自分で操作できるとは思いませんでした。また、画像がとてもきれいで驚きました。いろいろな細胞の拡大がみれて、よかったです。

マウスの解剖は、一番印象に残っています。脾臓をとるのには少し苦労しましたが、周りの脂肪をきりとり、きれいに取り出せました。内部は、人間とほとんど変わらないことに驚きました。

命を扱う実験は、酷なことのようにはおもいますが、やはり私たちが生きていく上で必要だと思います。今日の医療の発達は、このような実験の上から成り立っています。命に感謝したいと思います。



このSPP講座を通して右の写真のようなヌードマウスを初めて知りました。毛がなく、普通マウスの皮膚を移植したときには、比較がされやすいです。さらに、このマウスは、胸腺がないため免疫反応がなく、そのためよく移植実験使用され医学の進歩に日々貢献しています。



今回、抗体産生細胞を、Cunningham法により検出しようとしたが、実験結果が予想していたものと違い、うまくいかなかった。実験の難しさを実感することができ、自分たちの実験の問題点をしっかりと見直した上で、理解を深めようと思います。

今回のSPP講座では、医学や生物学の最先端の研究を体験することでいろいろなことを学ぶことができ、自分たちに役立ちました。また、このような研究・実験を初めて行った研究者のアイディアのすばらしさにとても驚きました。難しい内容もありましたが、指導していただいた先生方のおかげで実験がとても楽しく感じられました。また、このような機会があったらぜひ参加したいです。