

H18 SPP連携講座 免疫の驚異を学ぶ実験講座

# 私たちと科学の融合



福井県立三国高等学校

稲葉大樹 友田龍佑

長谷川喬之 山本義人

# 免疫応答

## ～ 免疫不全モデルマウスに学ぶ免疫の基本 ～

### ■ 免疫のあるマウスと免疫のないマウスの抗体反応の実験

→ もし免疫を持っていなかったらどうなるのか？  
そこに胸腺を移植した場合に免疫機能は正常に働くのか？

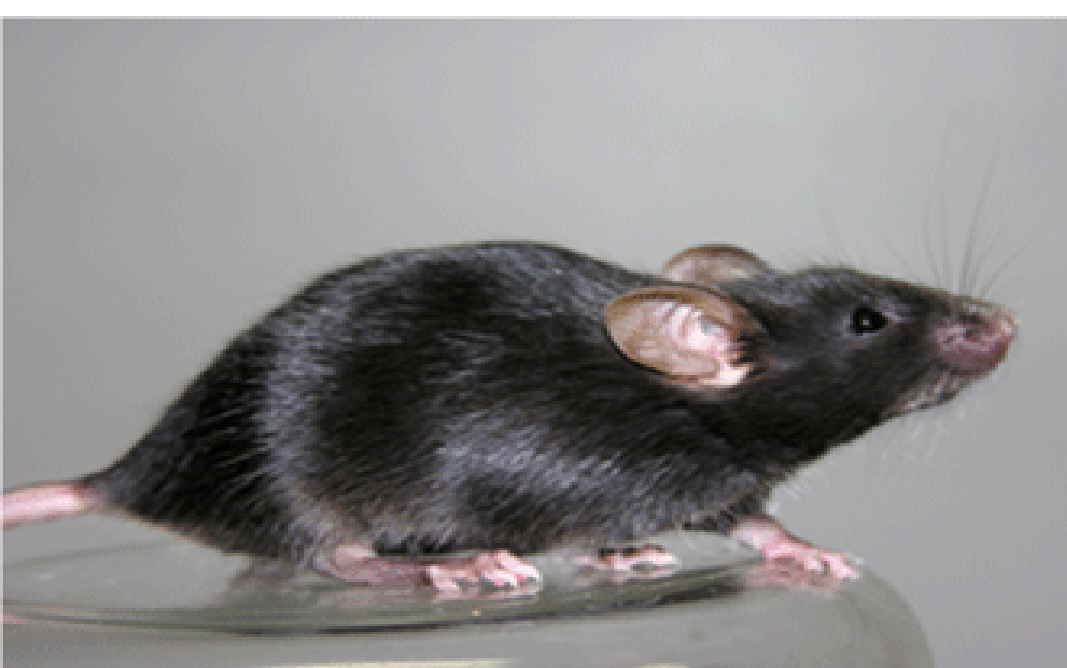
今回の実験では、〔正常マウス〕〔ヌードマウス(先天的に胸腺がない)〕〔移植マウス(Nudeに胸腺移植したもの)〕の3種類について免疫機能の比較を行い、その変化について調べた。



方法【 】 PFC測定  
(Cunningham法)



方法【 】 赤血球凝集反応



↑ 正常マウス (Wild)

↓ Nude-Mouse



↑ 胸腺(Green-Mouse由来)が生着した腎臓

↓ 胸腺を移植したNude-Mouseマウス



# 【 】PFC測定(Cunningham法)

## マウスの免疫

SRBC(羊赤血球)を各マウス腹腔内に注射。

## 血清採取

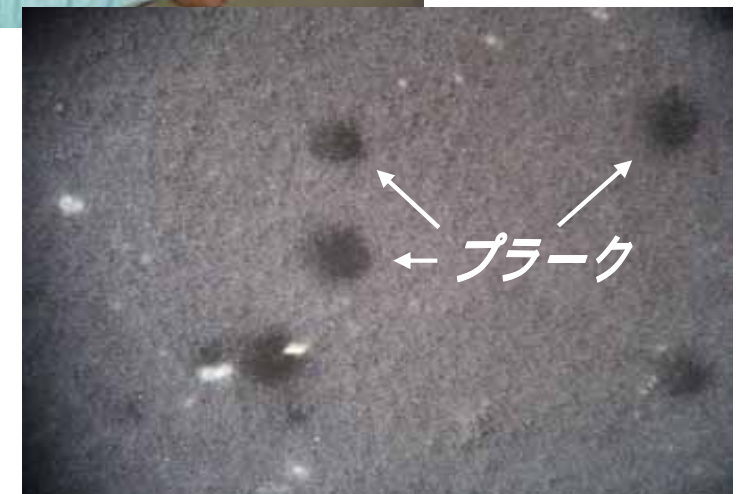
SRBC注射4日目のマウスから採血し,血清分離。

## 脾臓細胞の調整

各マウスから脾臓を摘出し,培養液中で細胞を遊離させ,適当濃度に希釈。(→脾細胞サスペンション)

## PFC測定

SRBC混液(10%SRBC + モルモット血清 + 5%FBS-MEM 培地)に脾細胞サスペンションを加え,スライドチャンバーに流し込む。37℃で1時間培養したのち,実体顕微鏡下で観察し,プラーク数(溶血箇所)を数える。



# 【 】赤血球凝集反応

## 血清採取

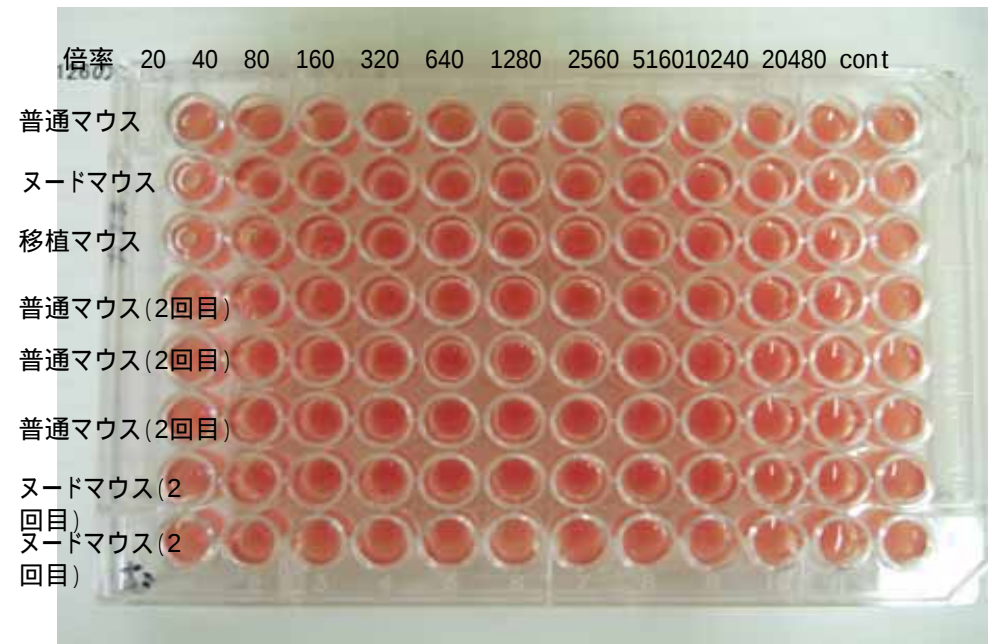
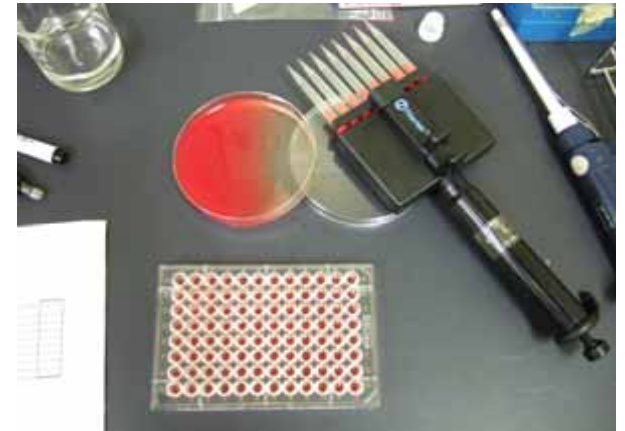
【 】で用いたSRBC注射4日後のマウスから採血し、血清分離する。なお、あらかじめ4週間前に1回目を注射してあった個体からも、同様に採取する。

## プレート作成

マイクロタイタープレートを用い、各マウス血清のSRBCに対する凝集反応について、1:20から1:20480までの段階希釈としたサンプルを作成する。

## 血液凝集反応の観察

プレートをミキサーで振とうした後、サランラップで覆って恒温器に入れ、室温にて1日放置する。



## ところで・・・

各タイプのマウスから脾臓を摘出するために、今回はじめて解剖に挑戦しました。移植マウスについては腎臓も取り出し、しっかり胸腺が移植されていることを確認しました(中には片方しか生着していないものもありましたが)。しかしながら、「解剖」やら「移植」が身近にあるなんて・・・やはり医学部は楽しそうです。

今回、私たちの実験のために、その尊い命を犠牲にしてくれたマウスたちに感謝 m(\_ \_)m



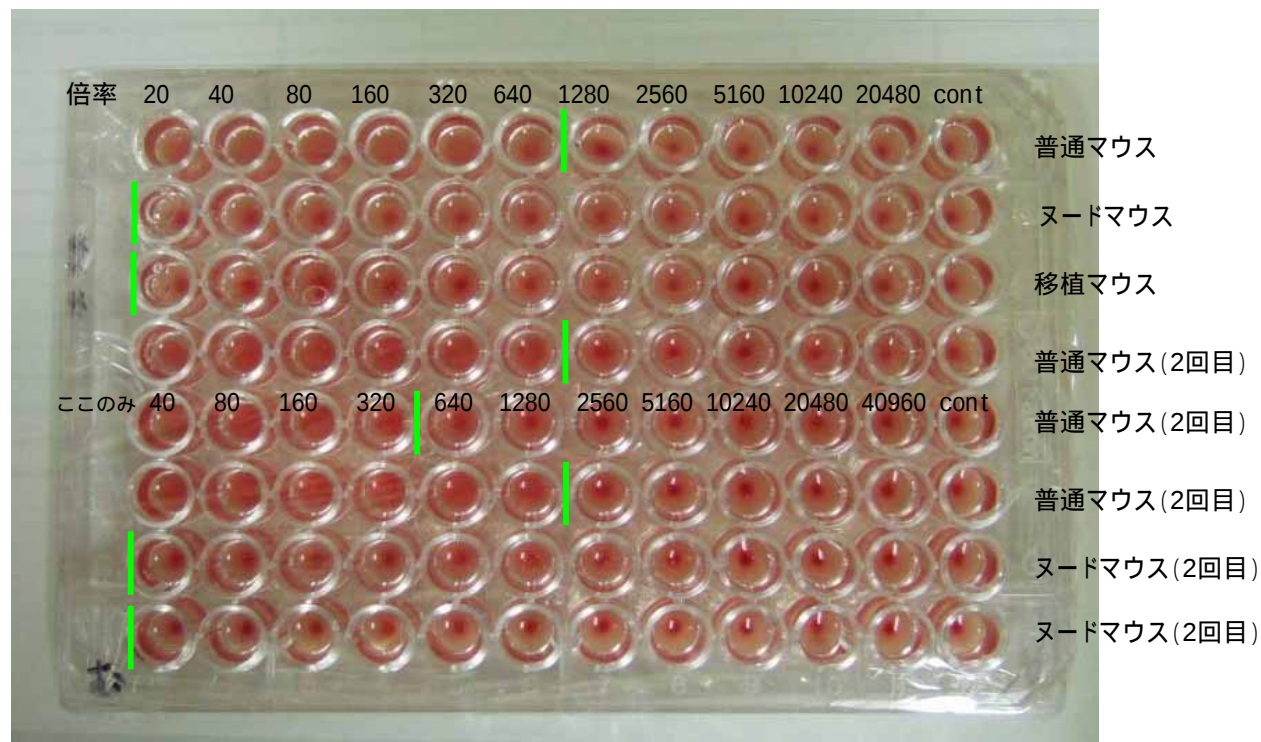
Nude-Mouse腎臓



← **しっかり胸腺が移植・生着しているのが確認できました。**

## 一方、【 】赤血球凝集反応の方は・・・

**見た目ではなかなか判断が  
難しいところです (-\_-;)**



# 実験【 】 & 【 】 DATA 結果まとめ

| Sample No. | Type | 注射   | PFC数<br>(脾臓毎) | 凝集反応<br>(抗体価) | 腎臓左<br>(胸腺) | 腎臓右<br>(胸腺) |
|------------|------|------|---------------|---------------|-------------|-------------|
| 101        | ワイルド | SRBC | 18750         | 1280          | -           | -           |
| 102        | ワイルド | SRBC | 15750         | 1280          | -           | -           |
| 103        | ワイルド | SRBC | 50000         | 640           | -           | -           |
| 104        | ワイルド | SRBC | 52500         | 640           | -           | -           |
| 105        | ワイルド | SRBC | 10000         | 640           | -           | -           |
| 106        | ヌード  | SRBC | 450           | 20<           | 126         | 110         |
| 107        | ヌード  | SRBC | 350           | 20<           | 156         | 127         |
| 108        | ヌード  | SRBC | 1500          | 320           | 114         | 145         |
| 109        | ヌード  | SRBC | 1700          | 20<           | 154         | 155         |
| 110        | ヌード  | SRBC | 1000          | 160           | 162         | 185         |
| 111        | 移植   | SRBC | 5000          | 160           | 255         | 265         |
| 112        | 移植   | SRBC | 750           | 160           | 240         | 252         |
| 113        | 移植   | SRBC | 5500          | 320           | 228         | 210         |
| 114        | 移植   | SRBC | 12000         | 320           | 239         | 238         |
| 115        | 移植   | SRBC | 1600          | 160           | 209         | 225         |

## 【 】PFC測定(Cunningham法)

5個体のサンプルに個体差は見られるが、相対的に見た場合、Wildに対し、Nudeは明らかに免疫不全の傾向が見られる。一方、Nude+胸腺移植個体は、Wildには及ばないとは言え、Nudeに比べ、免疫の向上が見られる。

## 【 】赤血球凝集反応

PFC同様、個体差は見られるが、相対的に見た場合、その抗体価は、Wild > Nude+移植個体 > Nude の傾向にある。ただし、Nude+移植個体とNudeとの比較では、若干ではあるが、免疫の向上が見られる。

# 考 察

---

先のDataより, 先天的に胸腺を持っていないNude-Mouse (BALB/c) にGreen-Mouse (C57BL/6) の胸腺を移植した場合, H-2ハプロタイプが異なるにも関わらず, 免疫力の回復が見られた。このことは, 移植胸腺が, ある程度, 正常に機能していることを示しているといえる。

**つまり・・・移植によって免疫機能は正常に機能する。**

ただしこれは, もともと胸腺が無い = 非自己細胞を認識できないNude-Mouseを用いた結果であり, 組織適合性が無いWildに移植した場合や, 後天的に免疫を失った場合などは, 自身がもともと有する免疫機能のために, 胸腺は排除(拒絶反応)されるであろう。つまり, 白血病患者が骨髄移植を受ける際, X線照射により自身の抗体をすべて破壊せねばならないのも, この理由からである。

今回の実験で個体による差異があったのは, 移植片が片方の腎臓にしか生着していないものや, 生着している場合でも, その成長度合いが異なることに起因するものと思われる。

# 実験を終えて・・

---

## ・山本 義人・

免疫機能について実験を通してわかりやすく理解できたと思う。特にマウスの解剖は気持ち悪かった。貴重な体験ができてよかった。また機会があったら顔を出してみたいです。

## ・長谷川 喬之・

去年に続きSPPに参加でき、今回は免疫実験やマウスの解剖という大変貴重な体験ができてよかった。解剖では移植された腎臓や、かすかに鼓動する心臓が見れた。また参加したい。

## ・友田 龍佑・

昨年は残念ながら参加できなかったので今回参加できてよかった。意味不明なところもありましたが大体理解できたかな!?と思う。これがいつの日か人間でも適応される明るい未来をまっています。

## ・稲葉 大樹・

今回2回目となるSPPですが、免疫の実験ということでこれが実用されれば免疫のない患者が助かると思います。去年のsi-RNA、今年の免疫と、その講義の中で私たちの生活に癌、白血病などの病気が増えてきたということがわかります。将来、医療の現場に立って患者を治していきたいので今回の実験は良かったです。