

# Aコース

## 免疫応答

(免疫不全マウスに学ぶ免疫の基本)

大野高等学校 3年

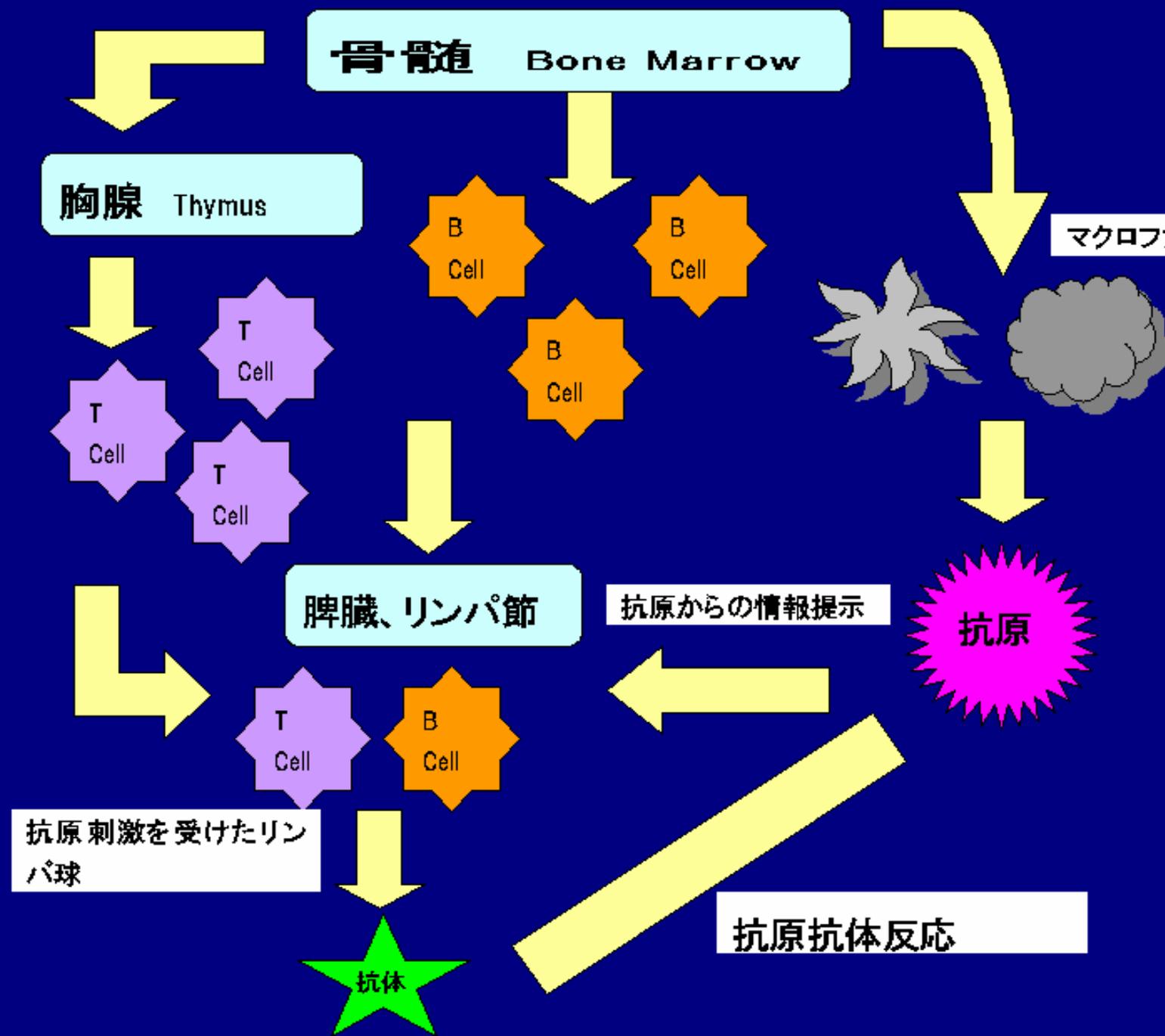
北川敦子

佐澤優香里

反保沙由実

廣田苑美

宗信佳那子



☆ヌードマウス  
胸腺が生まれつき存在しないマウスである。抗体を持たない。

☆普通マウス  
胸腺があり、抗原抗体反応も正確に反応する。

☆移植マウス  
ヌードマウスに別の胸腺を移植したもの。抗原抗体反応が徐々に回復しつつある。

# 実験内容

ヌードマウス、普通マウス、胸腺移植ヌードマウスにおける脾臓における免疫組織染色を利用したT細胞の観察

## 目的

胸腺をもたないヌードマウスではT細胞は存在するのか。またヌードマウスに普通マウスの胸腺を移植した胸腺移植ヌードマウスではT細胞の分布はどのように変化するのかを観察する。

## 実験方法

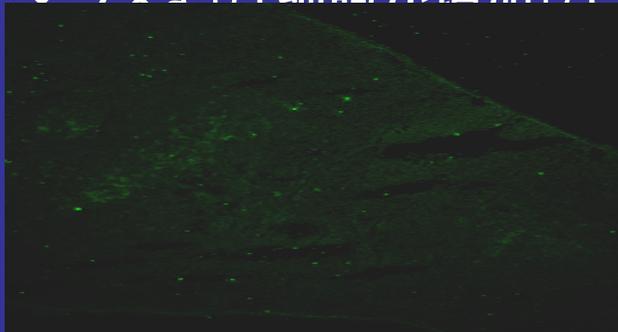
ヘルパーT細胞とキラーT細胞の特定のタンパク質を抗原として認識する標識蛍光物質がついた抗体を反応させ、免疫組織染色を行う。

CD4分子:ヘルパーT細胞にみられる

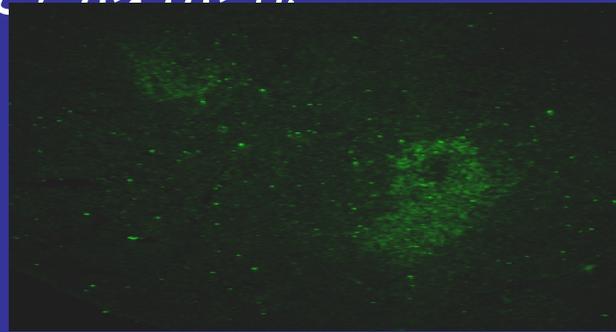
CD8分子:ヒト末梢血リンパ球のキラーT細胞サブセットにみられる

## 結果

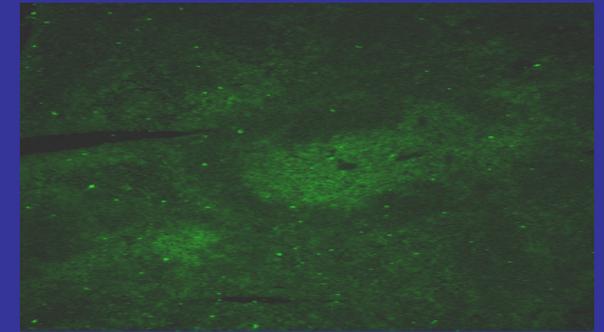
普通マウスでは脾臓全体にT細胞が観察できた。またヌードマウスではT細胞がほとんど観察されなかったのに対して胸腺移植ヌードマウスでは胸腺を移植されたことによって普通のヌードマウスよりT細胞が増加していることがわかった



ヌードマウス



胸腺移植ヌードマウス



普通マウス

# 実験内容

ヒツジの赤血球(SRBC)を抗原として投与したときの、正常マウス・ヌードマウス・胸腺移植マウスで抗体を作る能力は同じだろうか？

免疫が記憶されていることを見るにはどうすればいいか？

## 目的

抗原としてSRBCを用いたとき正常マウス・ヌードマウス・胸腺移植マウスで抗体の強さを血液凝集反応を用いて比較する。

同じ抗原を2回注射し、免疫が記憶されていることを見る。

## 方法

A: 普通マウス  
B: ヌードマウス  
C: 移植マウス

} 5日前にSRBCを注射し、抗体を脾臓中の血清より取り出した。

D  
E } 1週間前に1回目、5日前に2回目のSRBCを注射して抗体を脾臓より取り出した。  
F } Fのみが同じ条件のヌードマウス

G  
H } 1ヶ月前に1回目、5日前に2回目のSRBCを注射して抗体を脾臓より取り出した。

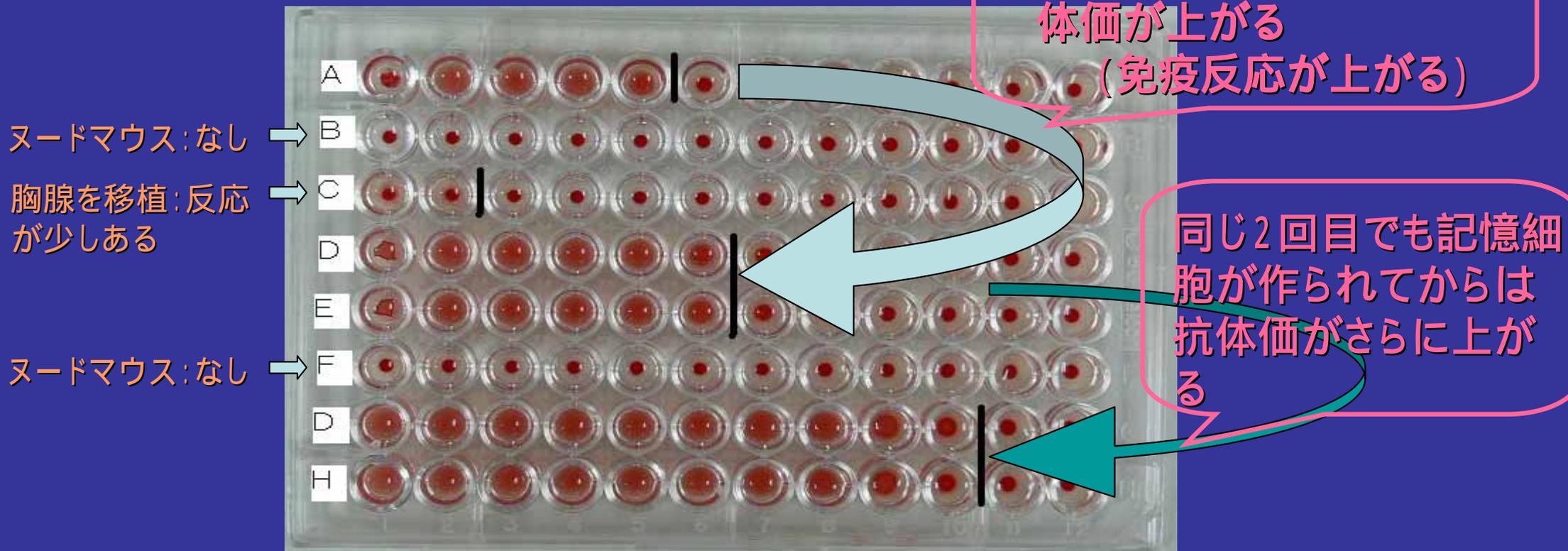
A～Hまでの抗体(血清)を段階的に希釈した後、SRBC浮遊物を加える。抗原抗体反応が見られるならば凝集が見られる。血液の凝集が見られる各血清の希釈倍率を抗体価とする。抗体価の線が右にある方が抗原抗体反応が強いことがわかる。

# 結果

ヌードマウス(B)では胸腺がないために、全く抗原抗体反応がない。しかし、胸腺を移植したマウス(C)では、少し抗原抗体反応が見られ免疫の回復がみられる。

また、抗原を2回目注射したD, Eのマウスを正常マウス(A)と比較すると、わずかに抗体価が右へ移動している(抗原抗体反応が上がっている)。さらに、2回の注射の期間を約1ヶ月としたD, Hのマウスでは、さらに抗体価が上がっており、記憶細胞による免疫の記憶をみることができる。

Fは2回の抗原注射をおこなったが、ヌードマウスであるため血液の凝集反応は全くなかった。



# 実験 皮膚移植

目的・・・自分の皮膚は移植されても拒絶されないが、他人の皮膚は移植すると拒絶される。ではヌードマウスに他のマウスの組織を移植した場合、どうなるだろうか？

免疫の基本は、自己と非自己を区別し、非自己を排除することにある。したがって他人の皮膚を移植した場合は、細胞性免疫応答により通常2週間以内に、移植した組織は攻撃され脱落してしまう。(移植拒絶反応)

細胞免疫応答にも免疫学的記憶があり、同じヒトからの移植片は、2回目は、数日で攻撃され破壊されてしまう。

実験・・・ヌードマウスに他の遺伝背景を持つグリーンマウスの皮膚を移植する(下の表より)

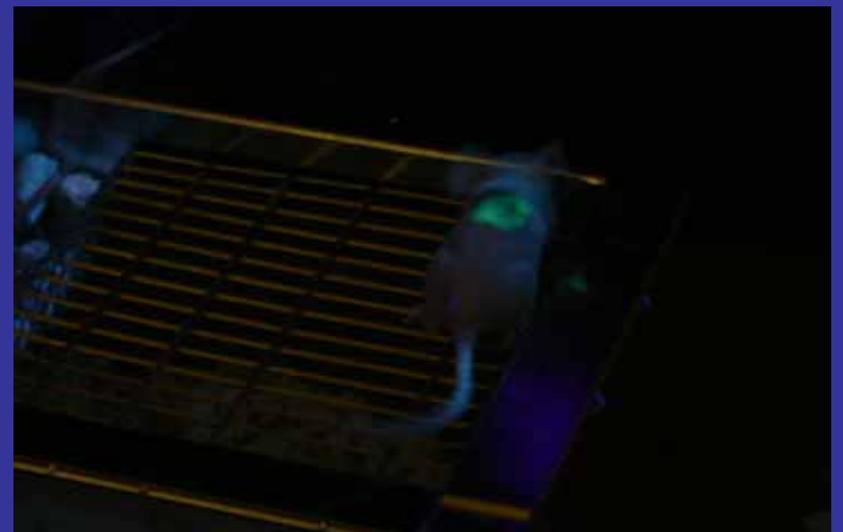
ブラックライト(長波長UVライト)をあてると、ドナーのグリーンマウス皮膚は緑の蛍光を発することでグリーンマウスの皮膚をはっきりと区別できる

マウス	遺伝背景
nude	BALB/c
Green	C57BL/6

結果・・・ヌードマウスには胸腺がないため、遺伝背景が違うマウス同士でも皮膚移植は成功し皮膚は生着することが分かる(図1)。さらに、ブラックライトを当てると、移植された皮膚が分かる(図2)



(写真1)

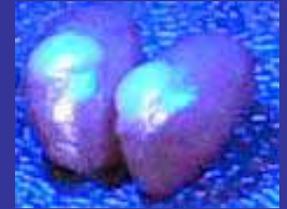


(写真2)

# 実験

目的・・・ヌードマウスに胸腺を移植したら免疫機能が回復するか？

↳ わかりやすいようにグリーンマウスの胸腺を利用



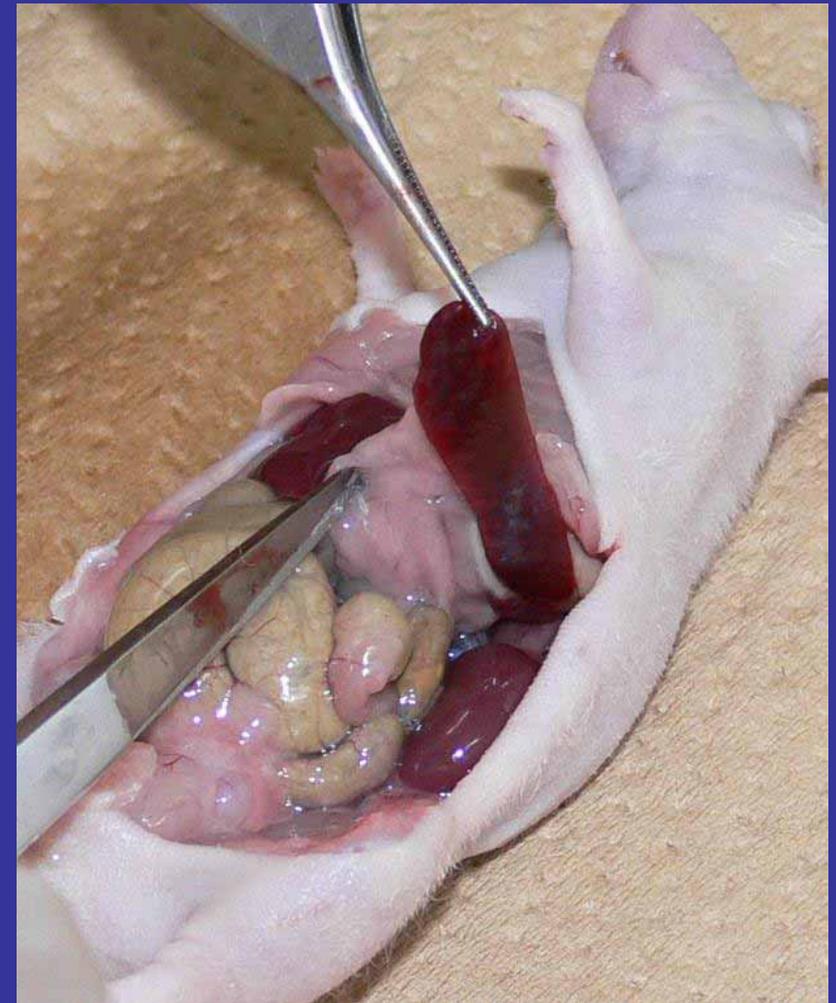
## 簡単な手順

普通マウス、ヌードマウス、胸腺を移植したヌードマウスの脾臓を摘出し、シャーレにとって、培養液にひたす。

脾臓をつぶし、細胞浮遊液を回収する。それぞれを希釈して、ヒツジの赤血球 (SRBC) を加える。

スリットグラスに、 の操作で作った溶液を流し込み、短時間、インキュベートする。(抗原抗体反応をさせる)

インキュベーションがすんだら、スリットグラス内の黒い斑点の数をかぞえる。



# 実験結果

マウス	抗原	PFC数	希釈	PFC数	希釈	平均PFC数	脾臓あたりのPFC数
正常	SRBC	28	125	22	125	25	31250
正常	SRBC	36	125	31	125	34	42500
ヌード	SRBC	20	5	5	5	12.5	625
ヌード	SRBC	15	5	14	5	14.5	725
胸腺移植	SRBC	67	25	62	25	64.5	16125
胸腺移植	SRBC	58	25	52	25	55	13750

PFC数・・・スライドグラス内の溶血班の数。溶血班とは、赤血球が破壊されてできたもので、抗体が、抗原に反応しているのを確認できる。

上の表より、正常マウスの脾臓あたりのPFC数は、約36000であるのに対し、ヌードマウスは、約670しかない。だが、胸腺を移植したヌードマウスのPFC数は、約14900と、極端に回復しているのがわかる。



実験の結果、胸腺を移植したヌードマウスの免疫機能が回復していることがわかる。

# 感想

- ・ 普段高校ではできないことを、このSPPに参加して体験することができ、とても満足しています。慣れない大学の実験室で、使ったこともない器具をいろいろと使い、2日間新鮮な気持ちで取り組みました。  
(北川)
- ・ 高度な電子顕微鏡を使って、高校では体験できないような像をみることができました。胸腺の中に多く存在するTリンパ球や筋細胞のミトコンドリアを実際に目にしたときはとても感動しました。身近に感じられて勉強になりました。他にも、驚いてしまうような実験が多く、とても有意義な講座でした。  
(反保)
- ・ この貴重な体験のおかげで、自分の進路についても深く考えることができました。とても感謝しています。  
ネズミの解剖は初めての経験で最初は戸惑いましたが、やってみると意外にも抵抗なく取り組んでいる自分がいました。胸腺が移植されている腎臓を発見したときは、気持ち悪いというよりは感動でした。その後のひ臓をつぶして希釈する実験で私は失敗してしまいましたが、また機会があれば是非再チャレンジしたいです。貴重な体験をありがとうございました。  
(宗信)
- ・ 私は普段は生物の授業を受けていないので、ついていけるかどうか心配でした。しかし、大学の先生方はとても親切に丁寧に教えてくださったので、免疫についての知識を実験を通して身につけることができました。また、どの実験も高校の授業では体験できないようなものばかりで、とても興味深いものでした。中でも、衝撃的だったものがマウスの解剖です。私にとって人生最初の解剖だったのでとても緊張しました。しかし、先生方のおかげで1つ1つ理解しながら解剖することができました。また、取り出した細胞からマウスの免疫を調べていく実験を通して、実際に自分の目で見て学ぶことの大切さを実感しました。  
(佐澤)
- ・ 今回の実験講座では、マウスの解剖実験をしました。最新の機器にさわることができ、貴重な体験になったと思います。実験の内容では血液凝集反応の実験で凝集の理由や仕組みなど理解できない点が多くありましたが、レポートを作っていくうちに少しずつ理解できたように思います。  
(廣田)