



Title	マウスの免疫応答における系統株差とその遺伝的解析
Author(s)	宮本, 秀樹
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30743
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【6】

氏名・（本籍）	宮 本 秀 樹
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 2 7 5 4 号
学位授与の日付	昭 和 48 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 生 理 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	マウスの免疫応答における系統株差とその遺伝的解析
論文審査委員	(主査) 教 授 萩 原 文 二 (副査) 教 授 北 川 正 保 教 授 坂 本 幸 哉

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

最近マウスやモルモットで或る種の合成抗原に対する免疫応答に系統株差の存在することが知られている。本研究は日本で近交系化された DDD と BTK/O_sを含む strain を用いて天然蛋白に対する免疫応答の系統株差を遺伝学的に探究することを目的とした。

〔方 法〕

- ① マウス：10±2週令のものを1群7匹として、closed colony の ddO、inbred の DDD、BTK/O_s、C 3 H/He、C57BL/6 及び BALB/c を使用した。遺伝学的解析には ddO、(又は DDD) と BTKとを交配させた F₁、F₂ hybrid、backcross BC₁の系を用いた。
- ② 免疫抗原：細菌性α-Amylase (BαA)、ウシ肺由来のペプチド Trasytol (Tra)、Dinitrophenyl (DNP) 基を BαA に結合させた DNP₅-BαA、及びヒツジ赤血球 (SRBC) を用いた。
- ③ 免疫方法：BαA 100μg、DNP₅-BαA 100μg、Tra 5μgを Freund's Incomplete Adjuvant (FICA) と共に腹腔内及び背部皮下に投与し、15、30日目に採血した。31日目に1次免疫と同量の抗原をFICAと共に腹腔内に2次免疫し、10、17、32日目に採血した。SRBCは2×10⁸又は2×10⁷個を腹腔内投与し、5日目に脾臓と血液を採った。
- ④ 抗体価の測定法：抗 BαA 抗体は BαA酵素活性の中和活性 (unit/ml plasma) と BαA-ウサギ赤血球を用いた受身赤血球凝集反応 PHA (log₂)で測った。抗 DNP抗体は I¹³¹-DNP₁₃-BSA を用いた2抗体法による抗原結合能 ABC (μg/ml plasma) 及び DNP₁₃-BSA-赤血球による PHAで測定した。抗 Tra 抗体は I¹³¹-Tra を用いて ABCを測定した。SRBCに対しては Cunninghamの方法による脾臓細胞中の溶血斑形成細胞数 (PFC/spleen) 及び抗血清の HA で測定した。各抗血清は56℃、60分間非働化して用いた。

〔成績〕

- (I) 免疫応答の系統株差：①抗 B α A 抗体価の系統株差は 1 次応答 (30 日目) では差がある時でも僅かであったが、2 次応答 (17 日目) で著明な差が認められ、ddO (DDD) > C3H > BALB、BTK、C57BL の順に高値を示した。ddO で $3826 \pm 830 (366 \sim 7104) \text{ u/ml}$; $22 \log_2$ 、DDD で $4091 \pm 1237 (576 \sim 10176) \text{ u/ml}$ 、BTK で $204 \pm 45 (12 \sim 708) \text{ u/ml}$; $16 \log_2$ の平均値 (分布範囲) を示した。②B α A を carrier としたときの抗 DNP 抗体価は平均の ABC ($\mu\text{g/ml}$) で ddO165、BTK16 であった。C3H、BALB は BTK よりも低値であった。即ち B α A、DNP_s-B α A に対して ddO (DDD) は high responder(h) で、BTK は low responder(l) である。③ 2×10^8 個の SRBC に対する 1 次応答は direct PFC/spleen の平均値が ddO 129380 ± 31270 、BTK 18990 ± 4890 で著明な差が見られた。④一方抗 Tra 抗体価は $5 \mu\text{g}$ を FICA と共に投与した時、1 次応答 (30 日目) で C57BL、BTK、C3H、ddO (DDD) のうち前 2 者だけが応答を示し、2 次応答 (32 日目) の ABC ($\mu\text{g/ml}$) は C57BL760 > BTK140 > C3H10 > ddO (DDD) の順で、ddO (DDD) では抗 Tra 抗体は検出できなかった。即ち BTK が (h) で、ddO (DDD) が (l) となり、B α A、DNP_s-B α A に対する応答の時とは逆になる。なお Tra $5 \mu\text{g}$ を Freund's Complete Adjuvant と共に投与すると 2 次応答 (17 日目) の ABC は BTK110、ddO54 となる。Tra の量を増して $50 \mu\text{g}$ を FICA と共に投与した時にも BTK450、ddO550 で ABC に差が見られなかった。よって ddO (DDD) は non-responder ではない。
- (II) 免疫応答の遺伝学的解析：①ddO $\times$ BTKF₁ hybrid の抗 B α A 抗体価 (u/ml) は 2 次応答 (17 日目) の平均値 (分布範囲) が $1810 \pm 190 (700 \sim 3000)$ で、(h) の ddO のそれよりもむしろ高い傾向を示し、ddO と BTK の平均値の中間に入らない。DDD $\times$ BTKF₁ でも同様の結果を得た。更に 700 u/ml 以上を (h)、それ以下を (l) と仮に定めると、ddO $\times$ BTKF₂ 23 匹では (h) : (l) = 17 : 6 $\approx$ 3 : 1 に、(ddO $\times$ BTK)F₁ $\times$ BTKBC₁ 17 匹では (h) : (l) = 8 : 9 $\approx$ 1 : 1 に分離した。又抗 B α A 抗体価に性差はなかった。従って B α A に対して (h) の遺伝子は常染色体性、完全優性に遺伝し、(h) と (l) の遺伝子は古典的な Mendel の法則で呼ばれている単純対立遺伝子をなすと考えられる。②BTK は背部黒色 B・腹部褐色 t⁺、ddO (DDD) は白色 W の体毛を有し、その F₁ hybrid は野性色 At⁺ となる。F₂ hybrid では At⁻、At⁺、W、Bt⁺ が生じ、背部毛色 (A : B) 及び腹部毛色 (t⁺ : t⁻) の各分離比はほぼ 3 : 1 であった。ddO $\times$ BTKF₂ 23 匹で抗 B α A 応答と毛色との関係は (i) A/h : A/l : B/h : B/l = 16 : 4 : 1 : 2、(ii) t⁻/h : t⁻/l : t⁺/h : t⁺/l = 5 : 2 : 12 : 4 の如くであった。(i) と (ii) について Yates の修正による χ^2 -test を行なったところ、B α A 応答 (h) と毛色 A とは互いに独立で、連関をなしていないと考えられる。F₁ $\times$ BTKBC₁ でも同様の結果を得た。③一方 Tra $5 \mu\text{g}$ を FICA と共に投与した時、(h) の BTK と (l) の ddO との F₁ hybrid は 2 次応答 (10 日目) の ABC が 16 で、BTK の ABC13 よりも高値を示した。BTK $\times$ DDDF₁ でも同様であった。BTK $\times$ ddOF₂ 20 匹では (h) : (l) = 15 : 5 = 3 : 1 に、(BTK $\times$ ddO)F₁ $\times$ ddOBC₁ 10 匹では (h) : (l) = 7 : 3 に分離し、ABC に性差は認められなかった。従って Tra に対して (h) の遺伝子は常染色体性、単純完全優性に遺伝すると考えられる。なお Tra 応答 (h) と毛色 A とは連関していないと考えられる結果を得た。

〔総括〕

①マウスに天然蛋白 B α A100 μ g、Tra 5 μ g を FICA と共に免疫すると各々 2 次免疫応答で著明な系統株差が認められた。②B α A、Tra に対して各々 high responder の遺伝子は常染色体性、単純完全優性に遺伝するが、体毛色遺伝子 A とは連関していないと考えられ、故に A と連関してマウス赤血球抗原 Ea-1^{a,b} に対する免疫応答遺伝子 Ir-2 が存在する V linkage group には含まれないと思われる。

論文の審査結果の要旨

免疫応答が遺伝的支配を受けることが明らかになりつつあるが、その実験的証拠は必ずしも多くない。特に天然蛋白質を抗原とする成績は極めて乏しい。本論文は我が国で広く使用されている dd(DD) 系マウスや、本学で近交系化された BTK 株を中心として種々の系統株のマウスを用い、細菌性 α -アミラーゼ等の我が国でもかなり一般的に使用されている天然蛋白質に対する免疫応答を調べ、系統株差のあることを明らかにし、またその知見に基いて遺伝的解析を試み、その遺伝的支配の形式を明らかにしたものである。

免疫応答に関連する諸過程の解析を進めて行く上に有用な基礎的知見をもたらしたものであり、すぐれた研究成果として評価される。