

実験用サル類リンパ球のナチュラル・キラー活性について

○山田靖子、矢部美穂子、巽正志(予研)

ナチュラル・キラー(NK)細胞は、ある種の腫瘍細胞やウイルス感染細胞を非特異的に傷害し、生体内の免疫応答のうちで、T細胞やB細胞とは異なる役割を演じている。ヒトとマウスでは研究が進んでいるが、実験用サル類ではいまだNK活性を測定した報告はない。今回、我々は、サル類のNK活性測定法を確立する目的で、条件を検討した。また、NK活性の特徴について若干の検討を加えたので、報告する。

[方法・結果] サル類のNK細胞に傷害される標的細胞を検索するために、数種類のサル由来の培養細胞、ヒトのNK活性測定に使用されているK562、マウスのNK活性測定に使用されているYAC-1を⁵¹Crでラベルし、標的細胞として用いた。野生のカニクイザル、アフリカミドリザル、クチヒゲタマリン、アカハラタマリン及び繁殖・育成したカニクイザルの末梢リンパ球を分離し、標的細胞と混合して、⁵¹Cr-release assayを行った。その結果、すべてのサル類の末梢リンパ球がK562、B95-8 (EBV-transformed common marmoset cell line), RfM26-1 (STLV-1-transformed red-faced monkey cell line)

を傷害した。タマリンのリンパ球は他のサルよりも多種類の培養細胞を傷害した。カニクイザルは耐性差が大きかったが、調べた範囲では野生と育成の間に大きな差はなかった。ヒトのNK細胞の濃縮方法を用いて、カニクイザルのNK細胞濃縮を試みた。カニクイザル末梢リンパ球からプラスチック吸着細胞とナイロン・ウール吸着細胞を取り除き、percollの不連続濃度勾配(37.5%~50.0%, 2.5段階)で細胞を分画し、各分画のNK活性を測定した。その結果、比重の軽い2つの分画(F1,F2)で高い活性を得られたが、比重の重い2つの分画(F4,F5)では全く活性を認めなかつた。ヒトのNK細胞に特異的なモノクローナル抗体(Leu 7)を用いて、蛍光抗体染色を行つたが、Leu 7はサル類のリンパ球に対しては反応しなかつた。

[結論・考察] サル類の末梢リンパ球中のNK活性は、K562, B95-8, RfM26-1を標的細胞に用いて測定できることが今回の実験で判明した。カニクイザルのNK細胞はヒトと同じく比重が軽い細胞群であったが、今後さらにサル類のNK細胞の表面抗原や形態学的特徴を検討していく予定である。

V < 96

ニジマスの免疫グロブリンの精製と性状

○石井 博、横山 英明、池森

豊、児玉 義勝(ゲン・コーポレーション 岐阜ラボ)

魚類の免疫機構については不明な点が多く、免疫グロブリン(Ig)の性状についても詳細な研究は多くない。そこで、ニジマスを用い、血清中からIgの精製を行なった。また、特異抗血清を作製しIgの免疫化学的性状とその分布について検討を行なった。

[材料と方法] ①ニジマス血清からイオン交換クロマトグラフィーとゲル通過法によりIgの精製を行ないSDS-PAGEにより分子量を測定した。②精製Igおよび血清蛋白をウサギに免疫して得た抗血清ならびに精製Igを用いて、体表粘液、腸管内分泌液、胆汁および精液中のIgの有無とその性状について、寒天ゲル内沈降反応(DD)および免疫電気泳動法(IEP)により検討した。③皮膚、腸管およびリンパ球におけるIgの存在と分布について、抗Ig血清を1次抗体として用いた間接蛍光抗体法により検討を行なった。

[結果] ①血清中からカラムクロマトグラフィーによ

りIgが精製された。SDS-PAGEにより分子量を測定したところ、分子量78,000のH鎖と21,000のL鎖が測定された。②抗Ig血清を用いて、体表粘液、腸管内、胆汁、精液中のIgの検出を試みたところ、各分泌液中にIgが検出された。これらはIEPにおいてβ~γ領域に易動度を示した。しかし、抗原性を血清から精製したIgとDDにより比較したところ、精製Igの沈降線とは部分的同一性反応性を示し、抗原性の一部欠陥が認められた。③腸管、皮膚およびリンパ球についてIgの分布を蛍光抗体法により検索を行なった。その結果、腸管においては、粘膜固有層と粘膜下組織に強い蛍光が認められた。皮膚においては、表皮、真皮および皮下組織に特異蛍光が認められた。特に表皮粘液細胞に強い蛍光が観察された。リンパ球においては、ほとんどすべてのリンパ球にIgが証明された。