

ニワトリヒナのリンパ組織における B 抗原陽性リンパ球と Ig 陽性リンパ球の分布

近藤康博・田辺 昭・鳥海 徹

(家畜衛生学研究室)

Received July 1, 1983

Distribution of Membrane Antigen and Immunoglobulin Positive Lymphocytes in the Lymphoid Organs of Chicks

Yasuhiro KONDO, Akira TANABE and Tooru TORIUMI

(Laboratory of Animal Hygiene)

The percentages of B antigen, T antigen and surface immunoglobulin positive lymphocytes in the lymphoid organs of chicks were determined by cytotoxicity test using antisera against T and B lymphocyte and γ -globulin of chicken.

The percentage of B antigen positive lymphocyte was higher than those of T antigen positive and immunoglobulin positive lymphocytes in bursa of Fabricius. On the contrary, in thymus, the percentage of T antigen positive lymphocyte was highest.

From the difference between the percentages of B antigen positive lymphocyte and immunoglobulin positive lymphocyte of bursal and splenic lymphocytes, it is suggested that B antigen of bursa appears earlier than surface immunoglobulin during bursal development.

緒 言

鳥類のリンパ組織はファブリシウス嚢 (BF), 胸腺及び脾臓の三者よりなっており, BF 及び胸腺は中枢リンパ組織として, 骨髄に由来する幹細胞を受入れ, それぞれ B リンパ球及び T リンパ球の分化成熟する微少環境を提供する組織であることが知られている. これらの中枢リンパ組織で生産されたリンパ球は, 成熟リンパ球として末梢血中並びに脾臓中に存在し本来の免疫的機能を発揮する.

B リンパ球及び T リンパ球は, それぞれマーカーとして, それらに特異的な膜上の抗原決定基を有しており, これらはニワトリでは B 抗原^{3,6,9,12,13} 及び T 抗原^{3,6,9,13} として知られている. さらに B リンパ球においては, 膜上にイムノグロブリン (Ig) が存在しており^{1,4,7,12,13}, T リンパ球との鑑別において重要なマーカーとなっている.

従来, これらのマーカーの存在はリンパ球抗原あるいは Ig に対する抗血清を用いた免疫蛍光抗体法^{2,7,10} (Immunofluorescent technique) 及び細胞傷害試験^{5,9} (Cytotoxicity test) によって広く研究されている. これらの方法により, ニワトリの BF では, すでに孵化後 12 日から 14 日目には B 抗原及び Ig を持ったリンパ球が出現することが報告されている^{3,7}.

本研究は, 細胞傷害試験によって, 孵化後 1 週目より 16 週令までの間, ヒナの BF, 胸腺及び脾臓中の B 抗原陽性リンパ球, T 抗原陽性リンパ球及び Ig 陽性リンパ球の全リンパ球中に占める割合を経時的に追求し, ニワトリのリンパ球に関する基礎的資料とする目的で行われた.

材 料 と 方 法

1. 抗血清の作成

3週令の白色レグホン種のヒナよりBF、胸腺を採取し、それぞれよりハンクス液によって細胞浮遊液を作った後、フィコールパック (Pharmacia 社) を用いて純粋なリンパ球浮遊液とした。5×10⁷/mlの濃度に調整したこれらのリンパ球浮遊液2mlに同量のフロイント・コンプリートアジュバント (DIFCO 社) を加え、十分に懸濁乳化させて家兔の大腿部に皮下注射して免疫した。さらに1ヶ月後、静脈注射により2次免疫を施し、その1週間後に採血して抗BFリンパ球血清及び抗胸腺リンパ球血清を得た。次いで、抗BFリンパ球血清を胸腺リンパ球で、抗胸腺リンパ球血清をBFリンパ球で十分に吸収して、それぞれ抗Bリンパ球血清 (抗B) 及び抗Tリンパ球血清 (抗T) とした。

一方、硫酸塩析法⁸⁾ によってニワトリ血清中の γ グロブリンを分画し、同様の免疫計画に従って家兔に免疫し、抗Ig血清 (抗Ig) を作成した。

2. 細胞傷害試験

供試鶏として、1から16週令の白色レグホン種のヒナを用いた。これらのBF、胸腺及び脾臓よりリンパ球浮遊液を作った。これらのリンパ球浮遊液0.1mlに、非働化後ハンクス液で40倍に希釈した抗B、抗T及び抗Igを0.2ml、さらに補体として10倍に希釈したモルモット乾燥血清 (極東製薬社) を0.2ml加え、37°Cで90分間、振とうしつつインキュベートした。インキュベーション終了後、0.025%のトリパンブルー染色液を用いて染色リンパ球 (死リンパ球) と非染色リンパ球 (生リンパ球) を数え、全リンパ球中に占める死細胞の割合を求めた。各被験材料につき、抗血清無添加の対照を設け、同様の方法で死細胞の割合を求めた。対照で得られた死亡率を100として試験材料中の死亡率を換算し、それぞれB抗原陽性率、T抗原陽性率及びIg陽性率とした。

結 果

1. BF中のB抗原、T抗原及びIg陽性リンパ球の比率

BFのリンパ球では、1週令から16週令の間のすべての週令で、B抗原陽性リンパ球の比率が最も高かった (Fig. 1)。B抗原陽性リンパ球の比率は1週令より上昇し4週令で最高値の61.9%に達した。5週令以降減少し、かなりの増減を示したが16週令まで比較的一定の値 (40~50%) で推移した。

Ig陽性リンパ球の比率は1週令から16週令の間かなりの変動を示したが、推移に一定の傾向は認められず、全期間にわたりほぼ25から45%の範囲で推移した (Fig. 1)。BF中のB抗原陽性リンパ球比率とIg陽性リンパ球比率の間の差は1週令及び2週令で大きく、2週令では39.8%と最大値を示したが、3週令以降は低下し、20%を越えなかった。

T抗原陽性リンパ球の比率において一定の傾向は認められず、全期間を通してかなりの変動を示したが、ほぼ20から35%の範囲で推移した (Fig. 1)。

2. 胸腺中のT抗原、B抗原及びIg陽性リンパ球の比率

胸腺のリンパ球では、1週令から16週令の間のすべての週令で、T抗原陽性リンパ球の比率が最も高かった (Fig. 2)。T抗原陽性リンパ球の比率は1週令から3週令で高値を示し、2週令で最高値の63.1%を示した。この値は4週令で減少し、以後14週令まで50%前後の値で推移した。14週令以降はさらに減少傾向を示した (Fig. 2)。

Ig陽性リンパ球は1週令以降4週令まで上昇を示した。その後14週令で一過性の上昇が認められた以外は5週令以降16週令まで30%前後の値で推移した (Fig. 2)。

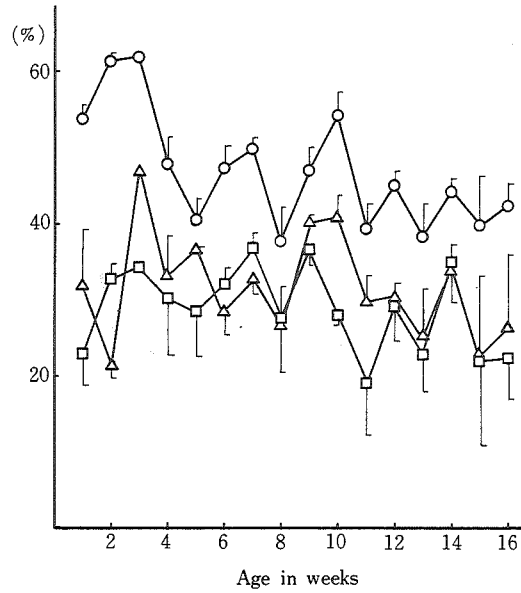


Fig. 1 Percentages of B antigen, T antigen and immunoglobulin positive cells in lymphocytes collected from bursa of Fabricius of chicks (B antigen ○, T antigen □, immunoglobulin △). Vertical bars represent standard error.

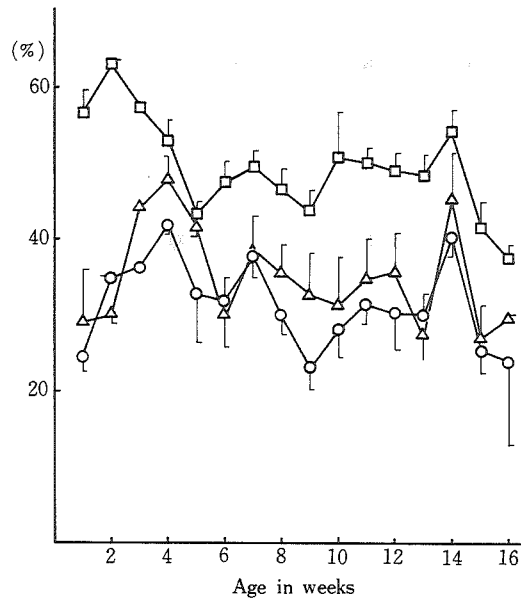


Fig. 2 Percentages of B antigen, T antigen and immunoglobulin positive cells in lymphocytes collected from thymus of chicks (B antigen ○, T antigen □, immunoglobulin △). Vertical bars represent standard error.

B抗原陽性リンパ球の比率はIg陽性リンパ球とほぼ同様の傾向で推移したが、各週令における陽性率は全体的にIg陽性リンパ球よりも低い傾向にあった (Fig. 2).

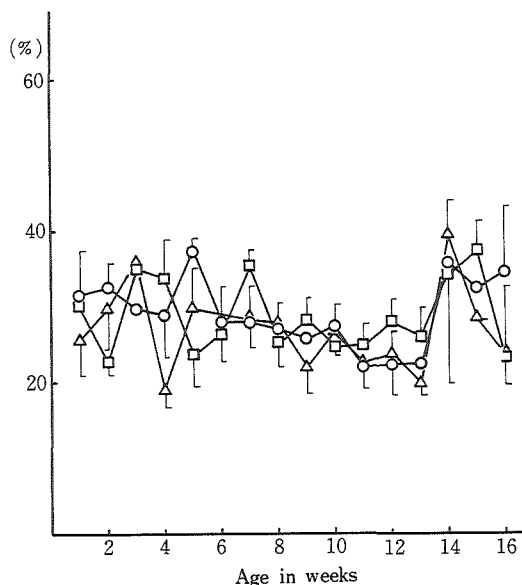


Fig. 3 Percentages of B antigen, T antigen and immunoglobulin positive cells in lymphocytes collected from thymus of chicks (B antigen ○, T antigen □, immunoglobulin △). Vertical bars represent standard error.

3. 脾臓中のB抗原, T抗原及びIg陽性リンパ球の比率

脾臓のリンパ球では, B抗原陽性リンパ球, T抗原陽性リンパ球並びにIg陽性リンパ球の比率は各週令で同様の値を示した. 推移の傾向も同様であり, 1週令より16週令までの間, 3者とも30%前後の比較的一定の値で推移した (Fig. 3).

考 察

鳥類において, BFはBリンパ球を, 一方胸腺はTリンパ球を産生する組織であることが知られており, 本試験において, BFでBリンパ球特有の膜抗原を担うリンパ球が他のリンパ球に比較して高率に存在すること, また逆に, 胸腺にTリンパ球に特有なT抗原を持つリンパ球が高率に認められたことはこの事と一致している.

Bリンパ球はそのマーカーとして, 膜にB抗原とIgをあわせ持つとされている^{3,9,11)}. 本試験においてBFより採取したリンパ球では, B抗原陽性リンパ球は常にIg陽性リンパ球よりも高率に認められた. 一方, 脾臓より採取したリンパ球では, B抗原陽性リンパ球とIg陽性リンパ球の存在率は常にほぼ同様の値を示した. これらの実験結果は, BFに存在するリンパ球にはB抗原は持つがIgは持たないリンパ球が存在すること並びにBFより放出され脾臓等の末梢中に存在する成熟型Bリンパ球のすべては, B抗原とIgの両方を持つことを示しており, Bリンパ球のマーカーのうち, 膜IgはB抗原よりも遅れて出現することが推定され得る. また, BF中のB抗原を持ったリンパ球は50から60%の範囲で推移しており, 末梢より血流を介してBFに移行したと考えられるT抗原陽性リンパ球の比率(約30%)を加えても, BF中の膜抗原陽性リンパ球比率は100%に満たないことより, BF中のBリンパ球中には, マーカーをまったく持たないいわゆる null cell が存在しているものと考えられる.

胸腺より採取したリンパ球では, T抗原陽性リンパ球以外にB抗原およびIg陽性リンパ

球がかなり高率に認められた。これらはBF中のT抗原陽性リンパ球と同様、末梢Bリンパ球の胸腺への移行を反映しているものと考えられる。しかしながら、B抗原陽性率に比較して軽度ではあるがIg陽性率が高値であることから、胸腺リンパ球中のIg陽性リンパ球の一部は、Tリンパ球に吸着されたIg¹⁰に起因する可能性も存在している。またT抗原陽性率とB抗原陽性率から、胸腺リンパ球中には、BFのそれと同様、マーカーを持たないnull cellが多く存在しているものと考えられる。

本試験は、ニワトリのリンパ球に関する免疫現象解明のための基礎的資料を得る目的で行われたものであるが、今後さらに、蛍光抗体法等のより感度の高い方法で追求していく必要がある。

摘 要

ニワトリのファブリシウス嚢、胸腺および脾臓リンパ球中のB抗原陽性リンパ球、T抗原陽性リンパ球及びIg陽性リンパ球比率の加齢に伴う変化を経時的に追求した。

B抗原陽性率はBFリンパ球で、T抗原陽性率は胸腺リンパ球においてそれぞれ高率に認められたが、週齢が増すに従い減少する傾向を示した。

BFリンパ球ではB抗原を持つがIgを持たないBリンパ球が存在する一方、脾臓Bリンパ球のすべてはB抗原と膜Igの両方を持つことから、Bリンパ球の分化過程において、B抗原は膜Igよりも早期に現れることが推察された。

膜抗原の存在率から、BFと胸腺のリンパ球内には、膜抗原マーカーを持たないnull cellがかなり多く存在していると考えられた。

文 献

- 1) AITKEN, R. M., W. J. PENHALE and R. R. A. COOMBS: *Int. Arch. Allergy* **43**, 469—480 (1972)
- 2) ALBINI, B. and G. WICK: *Int. Arch. Allergy* **44**, 804—822 (1973)
- 3) ALBINI, B. and G. WICK: *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* **48**, 513—529 (1975)
- 4) BANKHURST, A. D., B. T. ROUSE and N. L. WARNER: *Int. Arch. Allergy* **42**, 187—195 (1972)
- 5) 張 元昭・西岡久寿弥: *移植* **5** (4), 278—280
- 6) FORGET, A., E. F. POTWOROWSKI, G. RICHER and A. G. BORDUAS: *Immunology* **19**, 465—468 (1970)
- 7) KINCADE, P. W. and M. D. COOPER: *J. Immunol.* **106** (2), 371—382 (1971)
- 8) 国安主税: *免疫の概念と術式* (第5版), 89—92, 日本獣医師会編 (1980)
- 9) MCARTHUR, W. P., J. CHAPMAN and G. J. THORBECKE: *J. Exp. Med.* **134**, 1036—1045 (1971)
- 10) RABELLINO, E. and H. M. GREY: *J. Immunol.* **106** (5), 1418—1420 (1971)
- 11) ROITT, I: *Essential Immunology* (3rd Ed.), **60**, Blackwell Scientific Publication (1977)
- 12) ROSE, M. E., L. N. PAYNE and B. M. FREEMAN: *Avian Immunology*, 65—101, British Poultry Science Ltd. (1981)
- 13) WICK, G., B. ALBINI and W. JOHNSON: *Immunology* **28**, 305—313 (1974)