ニホンザルにおけるアルザス反応モデルの
作製及びその反応機構の解析
今村陸寿 (熊本大・院・医学研究科・分子病理)

フィブリン沈着は様々な炎症巣で見られる所見であるが、その機序や意義は未だ十分には解明されていない。以前の共同利用研究で、顕著なフィブリン沈着がみられる細胞性免疫応答の遅延型過敏反応では、マクロファージが発現する tissue factor によって引き起される血液凝固反応がこの IV 型アレルギー反応の進展に重要な働きを果たすことをサルモデルで明らかにした。アルザス反応は免疫複合体による補体系の活性化によって誘導される即時型の液性免疫応答であり、自己免疫病である SLE や糸球体腎炎等の発病と深く関わっている。遅延型過敏反応とは機序の異なる炎症であるアルザス反応で血液凝固反応を調べることにより、その機序や意義について新たな情報を得ることが期待される。そこで、ヒトに対する抗体が応用できるサルでアルザス反応モデルを作製し、免疫組織学的手法による検討を行った。3頭のアカゲザルに完全フロイントアジュバントで乳化したウシ血清アルブミン(BSA)10mg を皮下注射して感作し、2週間後に血清を採取して Ouchterlony 法で抗体価を定量したところ、1頭にのみ抗体産生が認められ他の2頭は再感作によっても抗体産生がみられなかった。それで、感作が成立した1頭にBSAを皮内注射するとアルザス反応と考えられる浮腫と軽度の硬結が認められた。炎症部には好中球の強い浸潤がみられ、免疫染色によってエラスターゼを産生する好中球にも tissue factor の発現が認められた。さらに、フィブリン沈着もみられたが、これはエラスターゼによって分解されたフィブリンであることが明らかになった。今後は、抗体が産生されたサルの血清を用いて、受身アルザス反応モデルの作製を試みる。これによって、感作が成立しないサルでもアルザス反応誘導が可能になると考えられる。

霊長類の生体防御機構に関する研究
恵美宜彦、斎藤英彦 (名古屋大・医・一内)

研究の目的は、霊長類へのワクチン用マテリアルの開発とワクチン後の免疫能の解析である。このような新しいワクチンベクターを作成することは広い応用性があり霊長類の生体防御機構を理解する上でも意味がある。

私たちは、生体免疫能を賦活する方法として Naked DNA法を検討している。Moloney murine leukemia virus 由来の発現ベクター、pLRNLのPstI siteにヒト遺伝子のcDNAを組み込み、pL9RNLを作製した。negative control用にpLRNLの同部位にlacZ geneを組み込んだpLBZLを作製した。ワクチン用マテリアルとして精製を行ったDNAを用いて以下のような検査を行った。

純度検定、大腸菌DNA : 96%、0.04 $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ pDNA
エンドトキシン定量 : <0.1EU/ μg pDNA (投与量
100 μg で、10EU (5ng) 以下)

蛋白含有量測定 : 4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ pDNA

sterility test : 37°C 14日培養にて陰性)

実際の投与に耐える精製度であった。

免疫スケジュールは、100 μg のplasmidを、マウス大腿四頭筋ならびに皮内組織に注射した。negative controlとして生理食塩水を、同様の部位に注射した。採血は、直前と1時間後、24時間後におこない血液中のサイトカインの定量、血液データの解析を行った。

白血球数は、6300-9500であり経過中に有意の変化はおこらなかった。血小板、赤血球についても変化はなかった。血清中のTNF α の量は、10ng/ml以下で異常値を示さなかった。