

カサゴ *Sebastes marmoratus* の免疫応答(4)

誌名	養殖研究所研究報告 = Bulletin of National Research Institute of Aquaculture
ISSN	03895858
著者	中西, 照幸
巻/号	11号
掲載ページ	p. 1-6
発行年月	1987年3月

カサゴ *Sebastiscus marmoratus* の免疫応答-IV
抗体産生および鱗移植免疫に及ぼす
脾臓摘除の影響について

中西 照 幸

(1987年1月19日受理)

The Immune Response of the Rock Fish, *Sebastiscus marmoratus*-IV.
Effects of Splenectomy on the Antibody Production
and the Scale Allograft Rejection

Teruyuki Nakanishi*

The influence of adult splenectomy on humoral and alloimmune response was investigated in the marine teleost, *S. marmoratus*. Fish were kept at 23 °C and were injected three times with 5 μ l/g body weight of 20 % sheep erythrocytes (SRBC) intraperitoneally. Significant lower titres of antibody were observed in the serum of splenectomized fish when they were splenectomized one month and re-operated one week before antigen administration. However, no difference in the level of antibody response was noted between splenectomized and sham-splenectomized rock fish when they were splenectomized one week before or after antigen injection. In addition, splenectomy had no effect on the allograft rejection when scales were grafted one week or one month after splenectomy. These results indicate that the spleen can not be the only site of antibody induction or formation and does not play a significant role in allograft rejection in this species, though it has an function on maturation of immunocompetent cells to some extent.

Key words: immune response • splenectomy • antibody production
allograft rejection • *Sebastiscus marmoratus*

魚類におけるワクチネーションの研究は、近年著しい進展をみせ、従来の注射、経口投与法に加え、浸漬、噴霧法等種々の方法が開発されてきた。しかし、投与方法により、免疫応答あるいは感染防禦効果が異なる事が明らかにされている (Smith et al. 1980, Lamer 1985)。これには抗原

* 養殖研究所玉城庁舎 (Inland Station, National Research Institute of Aquaculture, Tamaki, Mie 519-04, Japan)

の種類や量及び形状の違いによる事ももちろんではあるが、抗原の侵入経路によって宿主側の抗原の捕捉機構も異なり、また、それに伴って免疫応答にも違いが出てくるものと思われる。

一方、脾臓は抗体産生の主要な部位としてだけではなく、抗原の捕捉器官として、免疫応答において重要な役割を果たしている事が哺乳類をはじめ多くの動物で知られている。魚類においてもこれまでに数種の魚種について脾臓の摘除実験が試みられているが、その影響については異論があり (Ferren 1967, Yu et al. 1970), 魚類の免疫応答における脾臓の役割については十分明らかにされていない。

著者は硬骨魚のカサゴやフナを用い種々の角度から魚類の免疫機構の解明を試みているが、今回、抗体産生及び移植免疫における脾臓の機能について、カサゴを用いて摘除実験を行い検討したのでその結果を報告する。

実験方法

供試魚 ; 三重県英虞湾および五ヶ所湾で採捕した年令, 2~3才, 体重 50~100 g のカサゴを用いた。供試魚の飼育は本研究所旧多徳島実験所のアクアトロンを用いて, $23 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に保った 60 l 水槽にオキアミを投餌して行った。1~2週間の予備飼育後, 1群 5~7尾ずつ実験に供した。

抗原 ; 市販の Alsever 氏液で保存しためん羊血液を 3000 rpm, 5分間の遠心分離により, 3回洗浄後, Ca^{2+} , Mg^{2+} を含まない Dulbecco 氏のリン酸緩衝液に 20% の濃度に浮遊させ, 体重 1 g あたり 5 μl を腹腔内へ 2日おきに 3回投与した。抗体価はマイクロタイター法により凝集素価 (Hemagglutination titer ; HA Titer) を測定した。

脾臓摘除実験 ; 70% エタノールで体表を消毒した後, 開腹し, 出入する主な血管を予め縫合糸で結縛した上で, 摘出した。開腹部は 2~3ヶ所縫合した後, オーレオマイシン (クロルテトラサイクリン含有) 塗布した。偽手術群は開腹縫合のみとした。実験 1 では先ず, 抗原の捕捉と脾臓の機能との関連を検討するために, 第 1 回目の抗原投与 1週間前と後に摘除し, 抗体産生に及ぼす影響を検討した。さらに, 再生の有無を確認するために 6週後に再度開腹し, 再生の認められたものについては摘除した。実験 2 では摘除を完全なものとするために, 抗原投与 1ヶ月前に摘除し, さらに 1週間前に再生部分を摘除した場合について検討した。なお, 脾臓の摘出による死亡は実験 1 および 2 とも, 実験終了時まで約 20% であった。

鱗移植実験 ; 前報 (中西 1985) の手法に従い, 最初の抗原投与時に, 軀幹中央下部に 5枚ずつ移植し, 黒色素胞の崩壊を指標として拒絶の程度を判定した。

結果

抗体産生への影響 ; 実験 1 については Fig. 1 に示す通り, 抗原投与前摘除群, 抗原投与後摘除群および偽手術群 3群間に差異は認められなかった。なお, 抗原投与 6週間後に開腹して再生の有無を観察したところ, いずれの個体にも摘除前と比較して 1/5~1/20 の再生が認められた。そこで再生した部分を再度摘除し, その後の抗体価の推移をみたところ, 摘除群は偽手術群より低い状態が続き, 特に抗原投与 1週間前に摘除した群は偽手術群に比べ, 再摘除 1週間後には有意に低い値を示した ($P < 0.05$, Fig. 1)。実験 2 においては, Fig. 2 に示す通り, 脾臓摘除群は偽手術群に比べ 5週後を除き, 最初の抗原投与より 3~12週後のいずれの時期においても有意に低い値

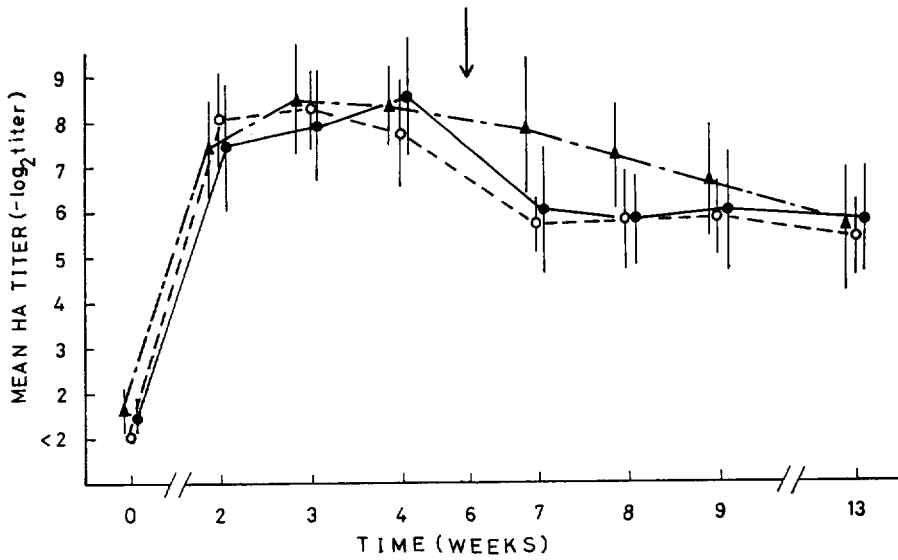


Fig. 1. Short term effect of splenectomy on antibody production to SRBC at 23°C

●—● : Splenectomized one week after antigen injection

○—○ : Splenectomized one week before antigen injection

▲—▲ : Sham-operated control

Arrow indicates the time of re-operation. Vertical bars represent the standard deviation.

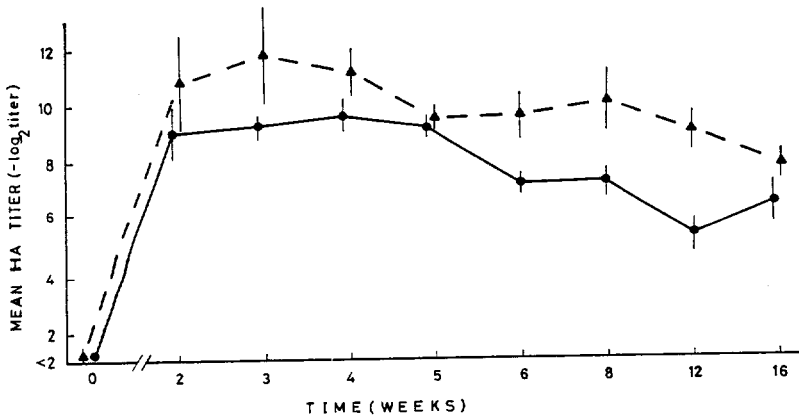


Fig. 2. Long term effects of splenectomy on antibody production to SRBC at 23°C

●—● : Splenectomized one month before antigen injection

▲—▲ : Sham-operated control

Vertical bars represent the standard deviation.

を示した ($P < 0.05$)。

鱗移植免疫への影響：脾臓摘除1週間後および1ヶ月後に各個体間で鱗の交換移植を試みたが、摘除群、偽手術群間で差異は認められなかった (Table 1)。

Table 1. Effects of splenectomy on scale allograft rejection of rock fish at 23°C

	Individuals					R. T.* ³ ± S. D.
	1	2	3	4	5	
Splenectomized* ¹	5.0* ⁴	5.8	6.0	7.5	5.3	5.9 ± 1.0
Splenectomized* ²	5.4	6.5	7.1	5.8	6.6	6.3 ± 0.7
Sham-operated Control	6.0	5.4	5.7	6.2	6.7	6.0 ± 0.5

*1 Splenectomized one week before scale grafting

*2 Splenectomized one month before scale grafting

*3 Rejection time (days)

*4 Mean of five scales measured by the time of complete breaking down of melanophores (days)

考 察

哺乳類においては脾臓は抗原の捕捉器官としてだけでなく、リンパ節と共に抗体産生の主要な部位として知られている。ところが、脾臓摘除による影響については、抗体産生を低下させるという報告と、一方では全く影響を及ぼさないという報告もあり、相異なる結果が出されている。このような矛盾については、取り扱った実験動物の違い、抗原の種類、量、投与経路、投与時期及び摘除時期等の面から検討がなされ、血液のろ過器官としての脾臓の機能そのものと深く関連していることが明らかにされてきた (Taliaferro 1956, Draper 1957, Uhr と Finkelstein 1967)。すなわち、投与された抗原はまず脾臓に行き、捕捉されるが、静脈内 (種によっては皮下) に少量投与した時には脾臓にのみ捕捉され、他の器官には分散しない。従って、この時に摘除すると抗体産生は完全に抑制されることになる。ところが、多量にあるいは他の経路から投与された時は他の器官にも‘播種’され、そこで抗原の認識、抗体の産生が起こる。そして、この時期に摘除しても、もはや他の器官の補償作用により摘除の効果はなくなるわけである。同様な事は両棲類のアフリカツメガエル, *Xenopus laevis* においても認められており (Turner 1973), 下等脊椎動物においても該当すると考えられる。一般に、脊椎動物の中でも下等な程、抗体産生に及ぼす脾臓摘除の影響は少ない傾向が認められる。これは、下等になるにつれて、これらの機能的な分化が未発達な為に、他の器官による補償作用がより強く働くためと考えられる。

今回のカサゴにおける結果についても、比較的多量の抗原を腹腔内に投与したことから、他の器官による補償作用が働き、それ程顕著な影響が出なかったものと思われる。さらに、両棲類やそれ以上の高等脊椎動物では脾臓が抗体産生の主要部位となっているが、魚類においてはニジマス等を

除き、むしろ、頭腎あるいは体腎が主要な抗体産生器官となっており、カサゴにおいても脾臓は全体の抗体産生細胞数の10%を占めるにすぎず、脾臓は腎臓に比べ抗体産生の場としての役割は小さい(Nakanishi 1986)。従って、こうした事も脾臓摘除の影響を小さくしていると考えられる。

なお、抗原投与1週間前後に脾臓を摘除した場合にはその影響は全く認められなかったが、脾臓摘除後1ヶ月後に抗原を投与した場合には抗体産生の有意な低下が認められた。この点については、ニワトリにおいて再生脾から抗体産生細胞が検出されており(Keily and Abramoff 1969)、前者においては、こうした再生脾が抗体産生に関与した事も考えられる。しかし、摘除後1週間ぐらいではそれ程再生が起きているとは考えにくいことから、摘除による影響が認められないのは、むしろ、先に述べたように抗原量、投与経路あるいは摘除時期と抗原の投与時期との間隔等に起因すると考えられる。

また、抗原投与1週間後と1ヶ月後に摘除した場合で影響が異なる点については、哺乳類において脾臓はT細胞の成熟(Fletcher et al. 1977)あるいはB細胞の成熟(Storber 1976)にとって重要な役割を果たしていることが明らかにされており、魚類においても、免疫担当細胞の成熟等に一定の役割を果たしていることが考えられ、摘除後の時間的経過に伴い、影響が出て来るものと思われる。以上のことから、脾臓は抗原の捕捉から抗体の産生に至る液性免疫応答において、主要な、唯一の器官とは考えられないが、細胞の成熟等においてなんらかの役割を果たしている事が示唆される。今後、抗原の投与条件や摘除時期等についてさらに詳しく検討すると共に細胞レベルで検討していく必要があろう。

なお、移植免疫に対しては全く影響は認められなかったが、同様な事はメダカ、*Oryzias latipes* (Kikuti and Kambayashi 1984) や *Fundulus heteroclitus* (Goss 1961) においても報告されており、脾臓は移植免疫においては直接的な関連がないと考えられる。

文 献

- Draper, L. R. and D. H. Sussdorf 1957. The serum hemolysin in intact and splenectomized rabbits following immunization by various routes. *J. Infect. Dis.*, **100**: 147-161.
- Ferren, F. A. 1967. Role of the spleen in the immune response of teleosts and elasmobranchs. *J. Florida M. A.* **54**: 434-437.
- Fletcher, M. P., R. M. Ikeda and M. E. Gershwin 1977. Splenic influence of T cell function: the immunobiology of the inbred hereditarily asplenic mouse. *J. Immunol.*, **119**: 110-117.
- Goss, R. J. 1961. Metabolic antagonists and prolonged survival of scale homografts in *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.* **121**: 162-172.
- Keily, S. D. and P. Abramoff 1969. Studies of the chicken immune response III. Cellular and humoral antibody production in the splenectomized chicken. *J. Immunol.*, **102**: 1058-1063.
- Kikuchi, S. and S. Kambayashi 1984. Effects of thymectomy and splenectomy on the allograft rejection in *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.* **1**: 901.
- Lamers, C. H. J. 1985. The reaction of the immune system of fish to vaccination. Ph. D. Thesis. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- 中西照幸 1985. カサゴ *Sebastiscus marmoratus* の免疫応答-III. 鱗移植免疫における水温の影響および眼球の移植実験について. *養殖研報* **8**: 43-50.

- Nakanishi, T. 1986. Antibody producing cells in the marine teleost, *Sebastes marmoratus*. Organ distribution and morphology. In: Pathology in Marine Aquaculture (Eds. by C. P. Vivares, J. R. Bonami and E. Jaspers). pp. 333-342. European Aquaculture Society, Special Publication No. 9. Bredene, Belgium.
- Smith, P. D., D. H. McCarthy and W. D. Paterson 1980. Further studies on furunculosis vaccination. In: Fish diseases, Third COPRAQ Session (Ed. by W. Ahne). Springer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York p. 113-119.
- Storber, S. 1976. Role of the spleen in the maturation of B lymphocytes. In: Immuno-aspects of the spleen (ed. by J. R. Battisto and J. W. Strelein), p. 129. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, The Netherlands.
- Taliaferro, W. H. 1956. Functions of the spleen in immunity. Am. J. Trop. Med., 5: 391-410
- Turner, R. J. 1973. Response of the toad, *Xenopus laevis*, to circulating antigens. II. Response after splenectomy. J. Exp. Zool., 183: 35-46.
- Uhr, J. W. and M. S. Finkelstein 1967. The kinetics of antibody formation. Progr. Allergy, 10: 37-83.
- Yu M. L., D. A. Sarot, R. J. Filazzola and A. Perlmutter 1970. Effects of splenectomy on the immune response of the blue gourami *Trichogaster trichopterus*, to infectious pancreatic necrosis (IPN) virus. Life Sciences (Part II) 9: 749-755.