

モルモット免疫グロブリンGサブクラスの  
分離、同定とその生物学的意義について

〔 論 文 要 旨 〕

杉 浦 勉

## モルモット免疫グロブリンGサブクラスの分離、 同定とその生物学的意義について

杉 浦 勉

モルモットを蛋白質抗原で免疫した場合には、主として IgG クラスの抗体が産生され、IgE 抗体は、さらにサブクラス IgG1、IgG2 に分類される。両者は、生物学的な機能に関して著しく異った性質を示し、特に IgG1 抗体は IgE クラスの抗体と同様に、自己組織感作能を持つアレルギー性抗体であることが知られている。生体防禦の立場から、この種の抗体が実際に果している役割、あるいは、免疫応答におけるこれらサブクラス抗体相互の関係は非常に重要な問題と思われるが、まだ十分な知見が得られていない。

本論文は、これらの問題へのアプローチとして、自己組織感作性抗体 IgG1 を中心に、IgG2 抗体と比較しつつ、免疫応答における血中抗体の産生の様子、特異抗体としての抗原との反応性、IgG1 抗体産生の時期とアレルギー性反応との関係について分子論的立場から研究を行った結果である。

この研究における第一の問題点は、同じ抗原に対して血液中に産生される特異抗体のみについてそのサブクラスを分離定量しなければならないことである。このためには、免疫原との抗原-抗体反応による特異抗体の定量を行うのと同時に、これらサブクラスを定量的に分離同定する必要があり、そのためには試薬としてモルモットサブクラス IgG にそれぞれに特異的な抗体を用いるほかに方法がない。しかも生物学的活性のみを示標とした解析と異り、物質的な分離を基盤とする本研究では、これらの試薬が完全なものでなければならない。こうした理由のもとに、まずモルモット IgG1, IgG2 を同定するための基準として用いる高純度標品の精製と、これらのサブクラス抗体をそれぞれ分離定量するための試薬として、それぞれに特異的な抗血清の調製を行った。

B S A で高度に免疫したモルモット血清から、物理化学的方法によって Ig



素価の変動は、これらのサブクラス抗体の相対量によるものであることを明らかにすることができた。また *in vivo* における中和反応では、サブクラス間に明らかな差が認められ、IgG1 のもつ自己組織感作能との関連が推論された。

第Ⅲ章においては、BSA を抗原としたモルモット抗体について、免疫の極めて初期に観察される皮フおよび全身性アナフィラキシー反応に IgG1 抗体が実際に関与していることの証明であり、得られた結果から、この種の抗体の持つ生体防禦上での役割り、および、抗体産生におけるサブクラス抗体間の関連について考察を行った。

この研究を進めるに当たっての第一の問題点は、従来の研究では生物学的活性が、各サブクラス抗体の実際量として求められていない点であり、第二の問題点は、もう一つの自己組織親和性抗体である IgE の混入である。

最後の問題点は、生物学的反応が検出できる前後での微量抗体量の測定をしかもサブクラスごとに定量する方法の選択であった。

このため第Ⅰ章で得られた精製標品を用いて PCA 反応、受動全身性アナフィラキシー反応を惹起するのに必要な IgG1 抗体の最小量の決定を行い従来示されていた値よりはるかに少量であること、IgG2 抗体の共存の影響は、IgG1 抗体の約 20 倍量でも無視し得ること、また感作時間についても明らかな延長が見られることなどを明らかにした、これらのデータをもとに、能動感作条件を抗原量を変えて求めた結果、BSA 100  $\mu$ g、アルミニウムアジュバントと共に腹腔内注射後 10～15 日の間に皮膚アナフィラキシー反応の感作が成立し、全身性ショックはこれよりも 2～3 日間おくれてあらわれる結果が得られ、これらの様相は、受動性感作において観察されたと同じであった。この時期における血中抗体の測定は、放射免疫定量法を基本とした IgG1, IgG2 抗体をそれぞれ分離定量できる間接法を用いて行い、その定量範囲は IgG1, IgG2 の重量にして 1～20 ng ( $10^{-9}$  グラム)であることを確認した。測定結果は、アナフィラキシー反応の出現する時期においてすでに両サブクラス抗体の産生が認められ、個体により異なるが、血清の ml 当りに換算して 1～4  $\mu$ g

の抗体を含んでおり、この濃度は、精製 IgG1 抗体による受動感作最少量と同じレベルであった。

また、IgE 抗体の関与を除外するために、加熱処理、持続時間、あるいはブドウ球菌の膜成分である Protein A によるアナフィラキシー反応の阻害などの効果等を検討し、免疫初期の反応が IgG1 抗体によるものであることを証明することができた。

以上の実験結果は、免疫の極めて初期において、IgG1, IgG2 サブクラス抗体が平行して産生されていることを示すもので、これらの抗体産生を担当する細胞が、一つの抗原物質に対し独立に応答していることを意味している。したがってモルモットの高度免疫血清中に見られる IgG1 抗体の選択的産生は、制禦機構をも含めた、免疫応答の二次的効果によるものと考えられ、またクラス間の抗体産生で知られているような継次的な関係は、サブクラス間には存在しないことを示すものと考えられる。

上記 3 章にわたる研究結果は、主として齧歯類に特徴的である自己組織親和性 IgG1 サブクラス抗体を中心に IgG2 抗体と比較しつつ、分子性状と生物学的機能についての基礎を明らかにしてきたものであるが、これらをもとに、その生体防禦上の意義および免疫応答の遺伝的背景についても考察を加えた。