

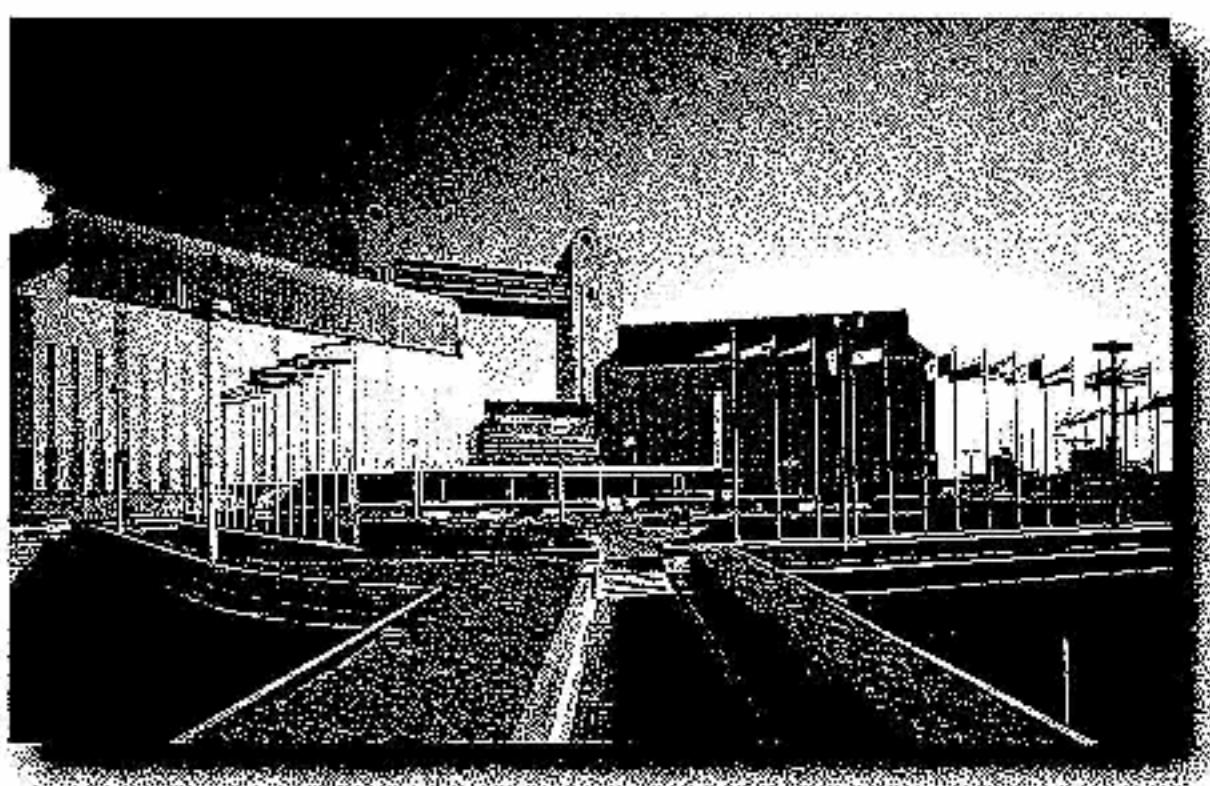
# Cancer Science Proceedings

Sixty-Second Annual Meeting of  
the Japanese Cancer Association

September 25-27, 2003, Nagoya

日本癌学会総会記事

第62回総会(名古屋) 2003年(平成15年)9月25日(木)~27日(土)



日本癌学会

The 62nd Annual Meeting of The Japanese Cancer Association

# 第62回日本がん学会

12 がん免疫の基礎と臨床 (9月26

日) PS 会場 EF 2001 (*Enterococcus·Faecalis*) における総 IgE, IgG, IgM の測定によるアレルギー反応抑制と免疫増強に関する研究

2636-PP Immunisation effect and radioprotection effect by EF 2001 (*Enterococcus·Faecalis*) 具 然和(1)、岩佐広行(2)、岩佐正弘(1) (1)鈴鹿医療科学大・保健衛生、(2)(株)日本ベルム・中央研究所 本研究では、EF2001 (*Enterococcus·Faecalis*) の持つ抗酸化作用、免疫賦活作用に着目した。白血球数、リンパ球数変化は、EF を、ICR マウス体重当たり 360mg/kg 腹腔に 3 週間投与後、2Gy 照射した。抗酸化活性でも、同様に血清中の SOD 活性度の測定を行なった。免疫グロブリン総 IgG, IgM 量の測定についても、C3H マウスを用いて、総 IgG および IgM 量の測定を行なった。T リンパ球サブセットの解析については、C57BL マウスのリンパ球を、フローサイトメトリーの蛍光染色し、CD4 および CD8 の解析を行なった。血球細胞に対する EF の放射線防護効果については、白血球数およびリンパ球数減少抑制効果があった。また、抗酸化効果と IgG, IgM 抗体産生についても量の減少が認められた。また、EF 投与による CD4 および CD8 陽性率の増加があった。EF は、放射線照射により生じたラジカルスカベンジング作用で、白血球数の減少を抑え、免疫力の低下を防ぐと共に、マクロファージの活性や T 細胞活性または INF- $\gamma$ などの増加作用により放射線照射に伴う免疫力低下を抑え、放射線防御することが認められた。

Antioxidants [gu@suzuka-u.ac.jp](mailto:gu@suzuka-u.ac.jp)

# EF 2001 (*Enterococcus·Faecalis*) における 総IgE, IgG, IgMの測定によるアレルギー反応抑 制と免疫増強に関する研究

具 然和<sup>1</sup>、岩佐広行<sup>2</sup>、岩佐正弘<sup>2</sup>、  
1鈴鹿医療科学大学大学院  
2日本BRM Co., LTD.

## ● 実験目的 ●

1. Enterococcus Faecalisによる抗体産生の有無および免疫賦活作用のメカニズムについて免疫グロブリンIgG, IgM測定により調査および検討する。
2. Enterococcus Faecalisによる免疫グロブリンIgE測定により、アレルギー抑制反応について検討する。

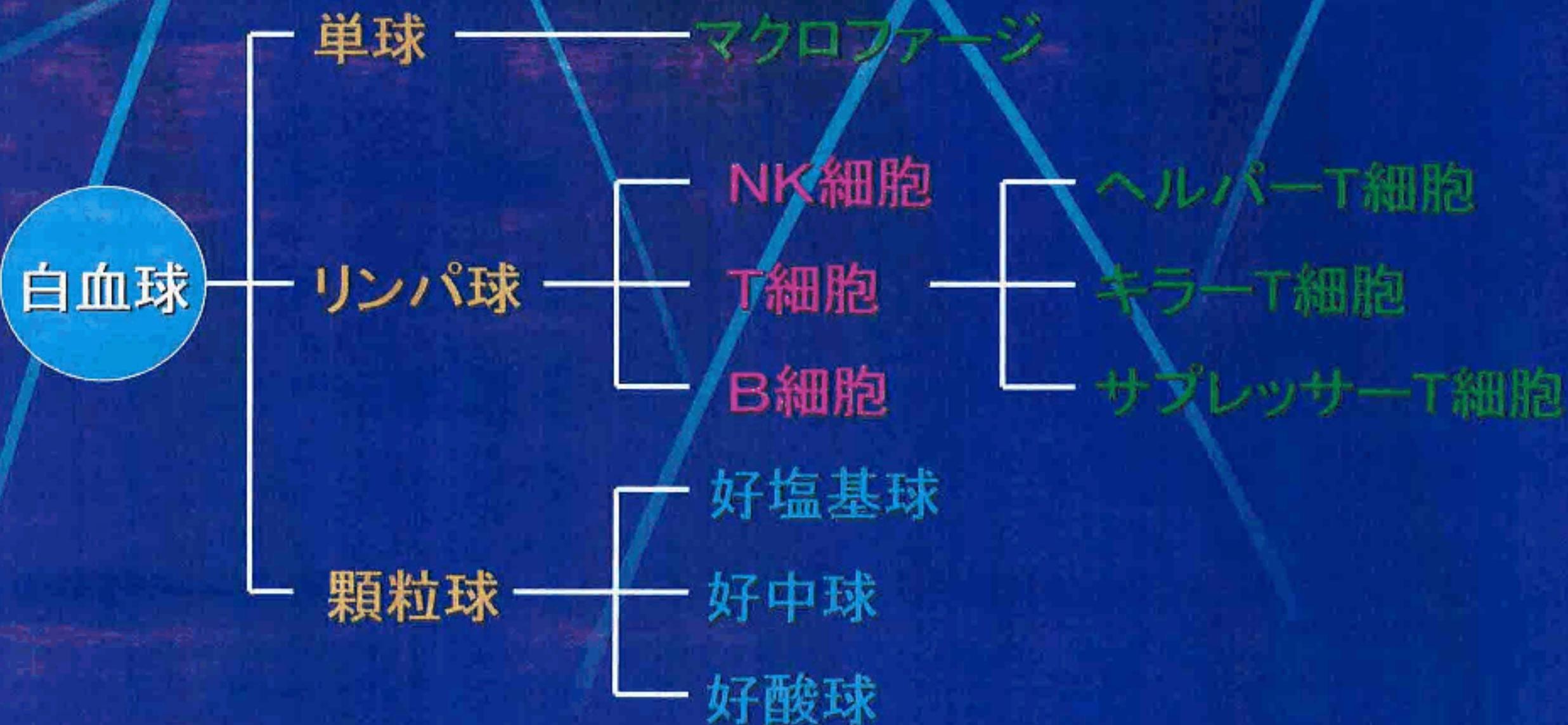
## ● 実験目的 ●

1. Enterococcus Faecalisによる抗体産生の有無および免疫賦活作用のメカニズムについて免疫グロブリンIgG, IgM測定により調査および検討する。
2. Enterococcus Faecalisによる免疫グロブリンIgE測定により、アレルギー抑制反応について検討する。

# 免疫とは

免疫とは、自己と非自己を認識し、  
体外から進入した異物やウイルス  
細胞、ガン細胞のように体内に産  
出された異物を、無毒化、排除、  
攻撃する生体防御システムあり、  
主に白血球を中心となってコント  
ロールされている。

## 免疫細胞の種類



## 免疫

### 細胞性免疫

主として免疫系細胞  
(特にリンパ球)に直接  
関与する反応

マクロファージ  
NK細胞  
T細胞 etc...

### 液性免疫

主として血清抗体が  
関与する抗原抗体反応

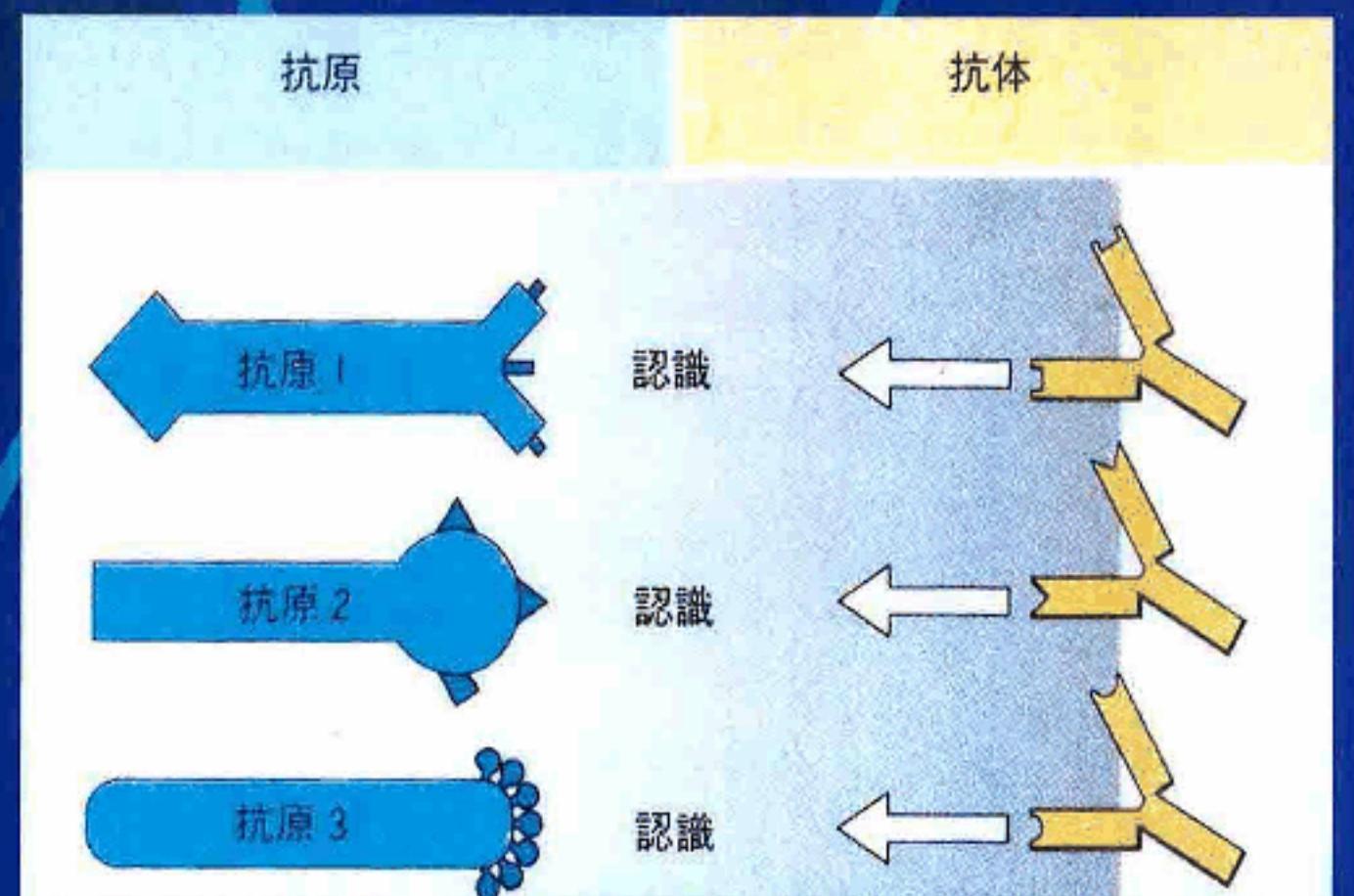
免疫グロブリン  
補体  
サイトカイン etc...

# 抗原抗体反応

生体の中に特定の異物(抗原)が入ると、これを認識したB細胞から分化した形質細胞より認識された抗原とのみ結合する抗体が産生され、その抗体は抗原と特異的に反応し無毒化・不活化する。

また、この反応により、抗体が抗原に結合することで、病原体を攻撃する免疫細胞が異物として認識する目印ともなる。

## 抗原抗体反応の模式図

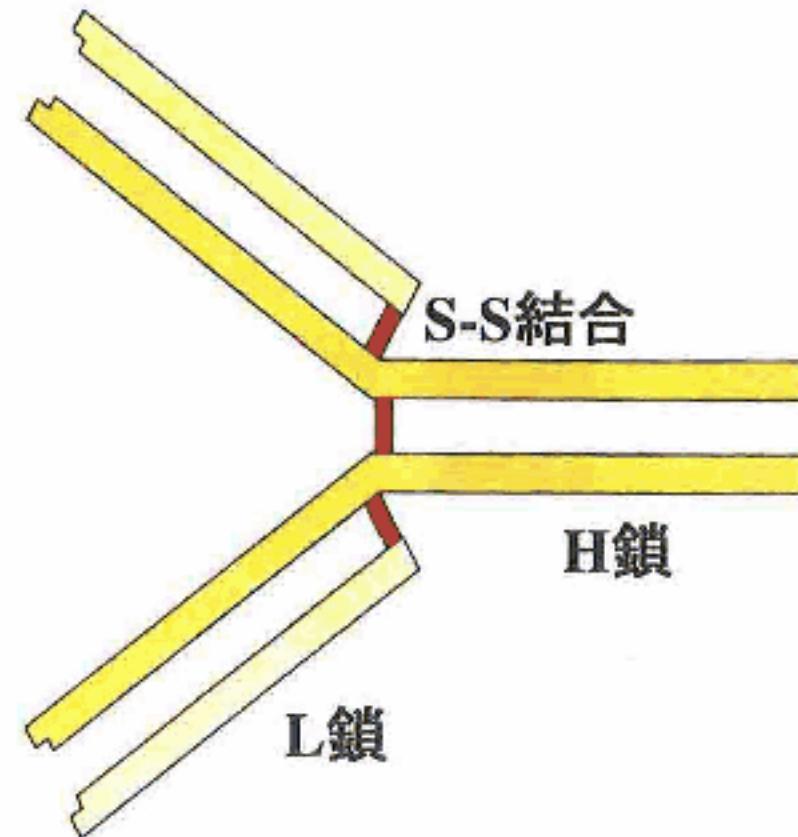


南江堂 免疫学イラストレイテッドより

## 抗体とは

- ・抗体は、免疫グロブリン(Immunoglobulin:Ig)とも呼ばれ、血清や組織体液中に存在する糖蛋白質である。
- ・その基本構造は長・短2種類のポリペプチド鎖がS-S結合で結ばれた4本鎖構造からできている。
- ・免疫グロブリンはIgG, IgM, IgA, IgE, IgDの5種類があり、それぞれ生物学的活性は異なる。

## 免疫グロブリンの基本構造



南江堂 免疫学イラストレイテッドより

# 免疫グロブリンの種類と特徴

IgG	IgM	IgA	IgE	IgD
●免疫グロブリンの約80%	●免疫グロブリンの約10%	●免疫グロブリンの10~20%	●免疫グロブリンの0.004%	●免疫グロブリンの約0.2%
●貪食作用の促進、ウイルスや細菌の毒素を無毒化	●病原菌やウイルスなどの抗原の破壊、貪食作用の促進 ●免疫の初期応答	●病原菌やウイルスなどの抗原(アレルゲン)の侵入を抑制 ●血清型と分泌型の2種類がある	●抗原と結合しヒスタミンなどの化学伝達物質を放出 ●I型アレルギーの原因	●ヒトの生理的役割不明 マウスでは免疫記憶機構に関与 ●B細胞の分化過程でIgM出現後に一過性に現れる

# ● 実験方法 ●

C3HとBALCマウス（♂・6週齢）で導入し、1週間の予備飼育後、生理食塩水に懸濁した*Enterococcus Faecalis*を、腹腔に隔日間隔で250mg/kg投与し、投与開始から3週間後のマウス血清を採取し、ELISA法により血清中の総IgE、IgGおよびIgMの測定を行った。

実験動物：C3HとBALCマウス（♂）6週令 予備飼育1週間

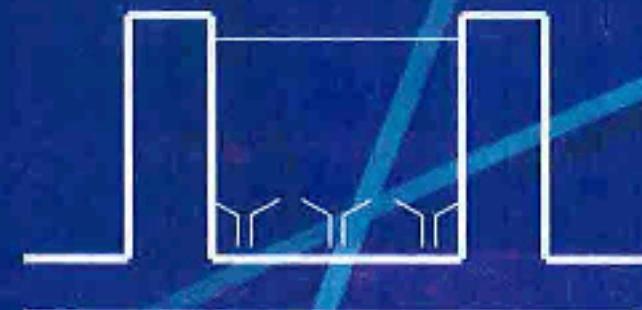
実験グループ：各群10匹

- Control群（生理食塩水投与）
- IgE群（*Enterococcus Faecalis*投与）
- IgG群（*Enterococcus Faecalis*投与）
- IgM群（*Enterococcus Faecalis*投与）

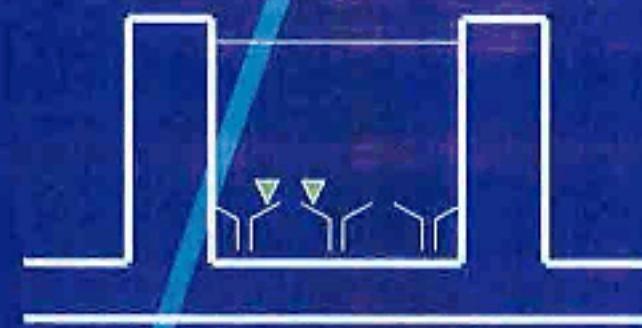
## 免疫化学的測定方法

- ゲル内沈降反応  
(single radial immunodiffusion法, 免疫電気泳動法など)
- 免疫比濁法
- 固相免疫測定法 {
  - 放射免疫測定法(RIA法)
  - 酵素免疫定量法(EIA法)

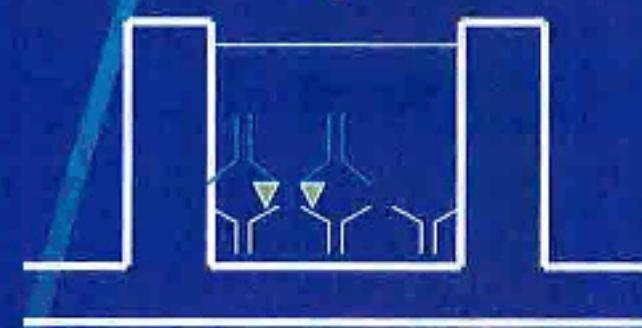
# ELISA法の測定原理



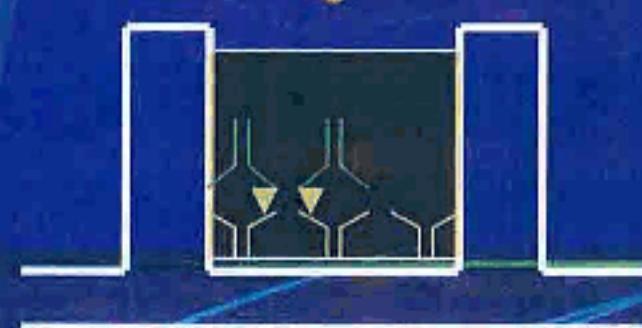
プラスチックなどの固相に検出したい物質に対する一次抗体を付着させる。



検出したい物質(▼)を含む検体を加えて、一次抗体に結合させる。



一次抗体に結合させた▼に、酵素標識した二次抗体(△)をさらに結合させる。

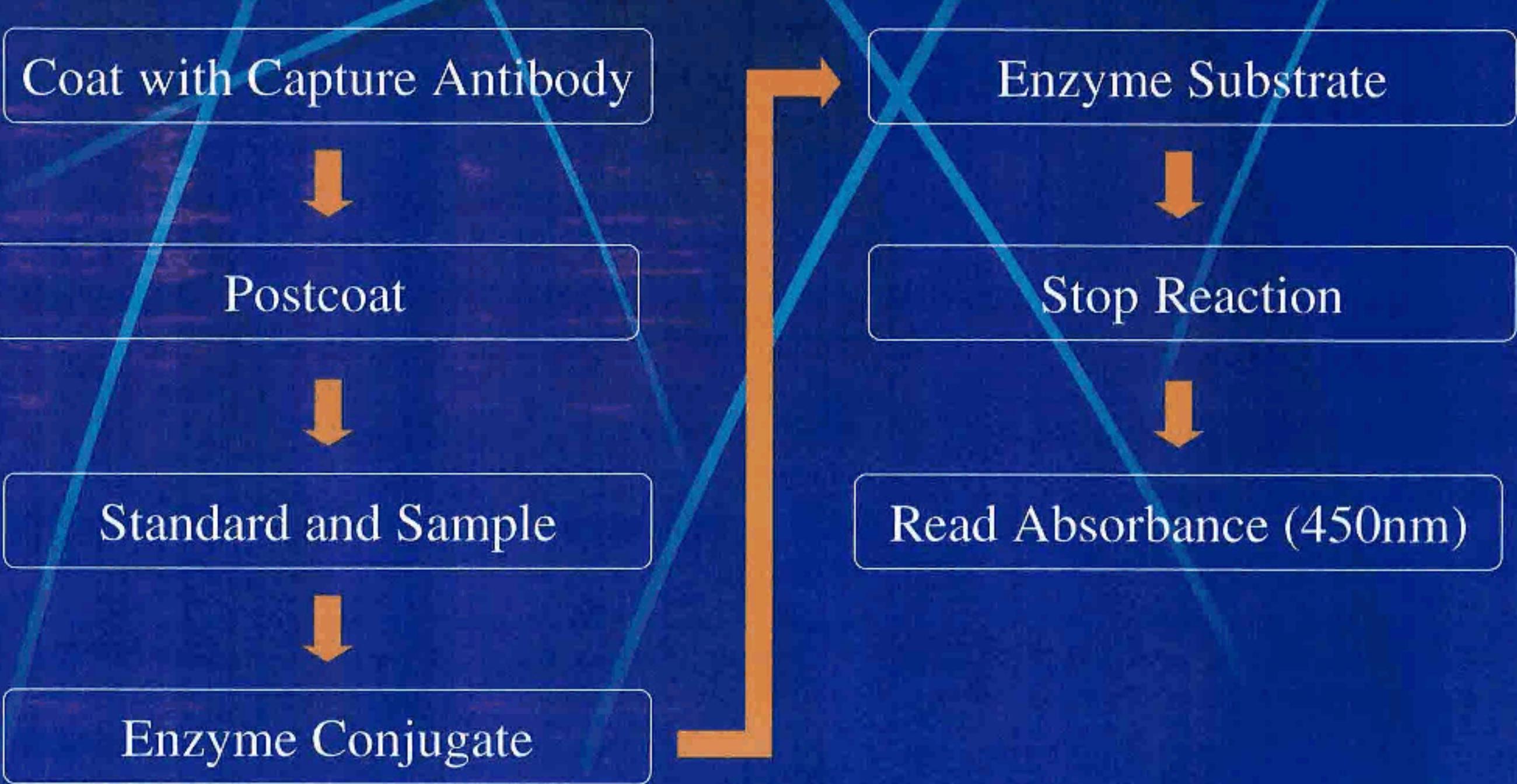


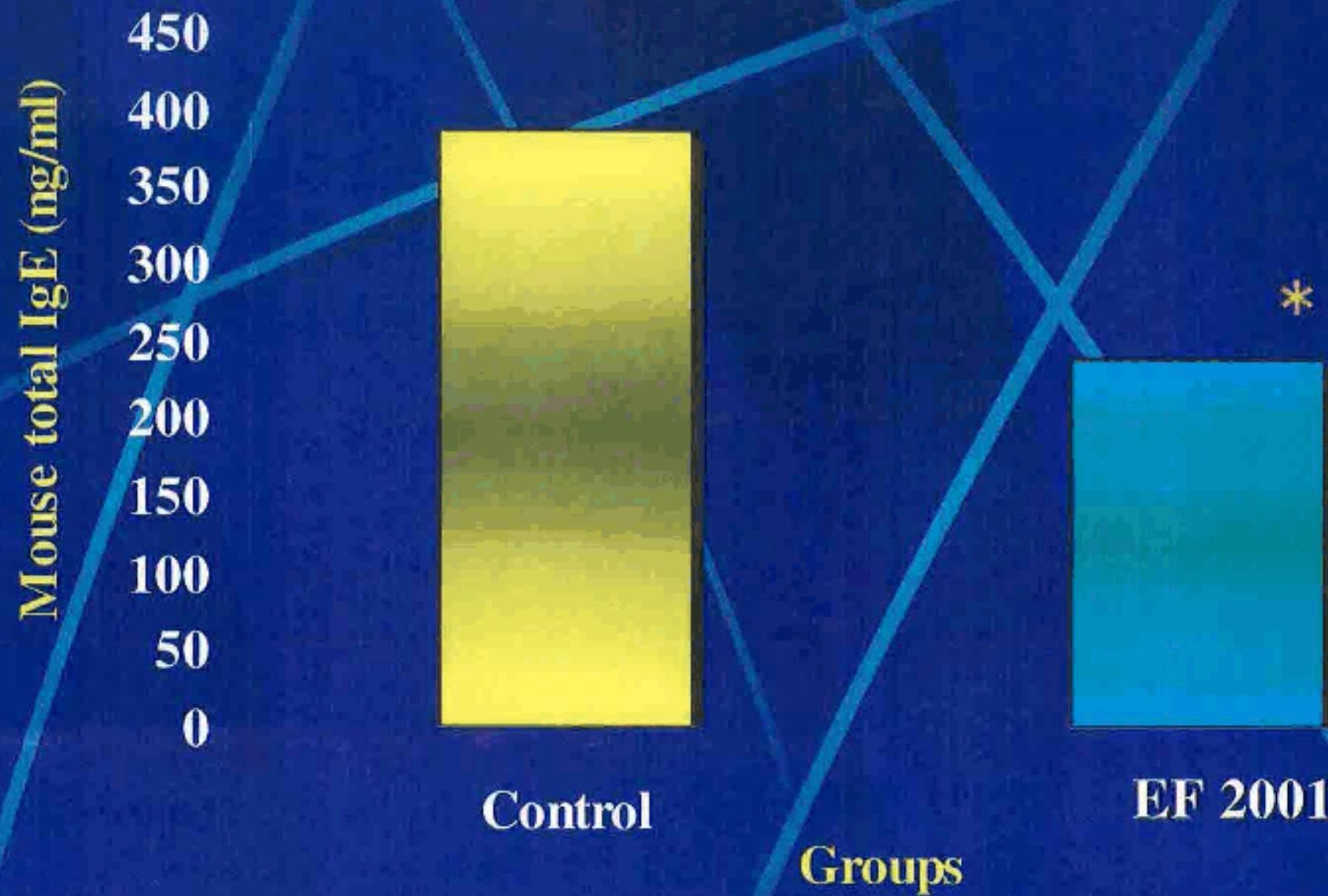
酵素分解により発色する基質を加え、発色させ  
発色強度(吸光度)で検体中の▼濃度を定量する。

# 使用機器および試薬

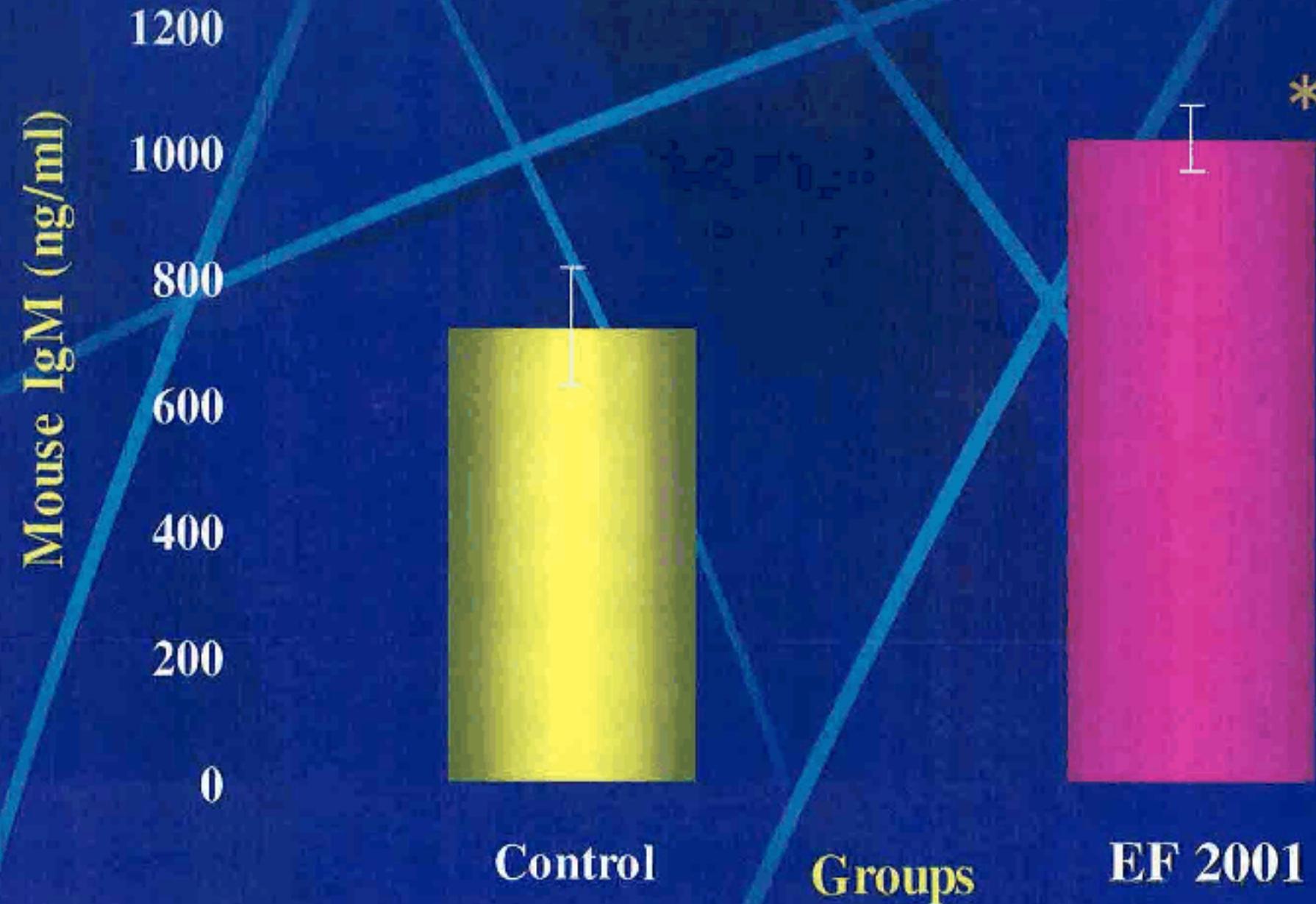
- ファルマシアのBIOTAKのELISA(Enzyme-linked immunoassay)キット(抗マウスIgE抗体)
- ベッセル社製マウスIgG ELISA 定量キット
  - 抗マウスIgG固相抗体, マウスIgG標準血清(7.3mg/ml)
  - HRP標識抗マウスIgG抗体
- ベッセル社製マウスIgM ELISA 定量キット
  - 抗マウスIgM固相抗体, マウスIgM標準血清(0.21mg/ml )
  - HRP標識抗マウスIgM抗体
- Coating Buffer: 0.05M Sodium Carbonate, pH 9.6
- Wash Solution: 50mM Tris, 0.14M N<sub>a</sub>Cl, 0.05% Tween 20, pH 8.0
- Postcoat Solution: 50mM Tris, 0.14M N<sub>a</sub>Cl, 1% BSA, pH 8.0
- Sample/Conjugate Diluent: 50mM Tris, 0.14M N<sub>a</sub>Cl, 1% BSA, 0.05% Tween, pH 8.0
- Enzyme Substrate: TMB
- Stopping Solution: 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- マイクロプレート(ベッセル社製)
- 東洋曹達社製マイクロプレートリーダー MPR A4(450nm)

## 測定手順





**Fig. 1. BLB/C mice of IgE in the blood. Each histogram represents the mean value  $\pm$ SE for 10 mice IgE (M). Significantly different \* $p<0.05$  Control vs. EF 2001.**



**Fig. 2. C3H mice of IgM in the blood. Each histogram represents the mean value  $\pm$ SE for 10 mice IgM (M) Significantly different \* $p<0.05$  Control vs. EF 2001.**

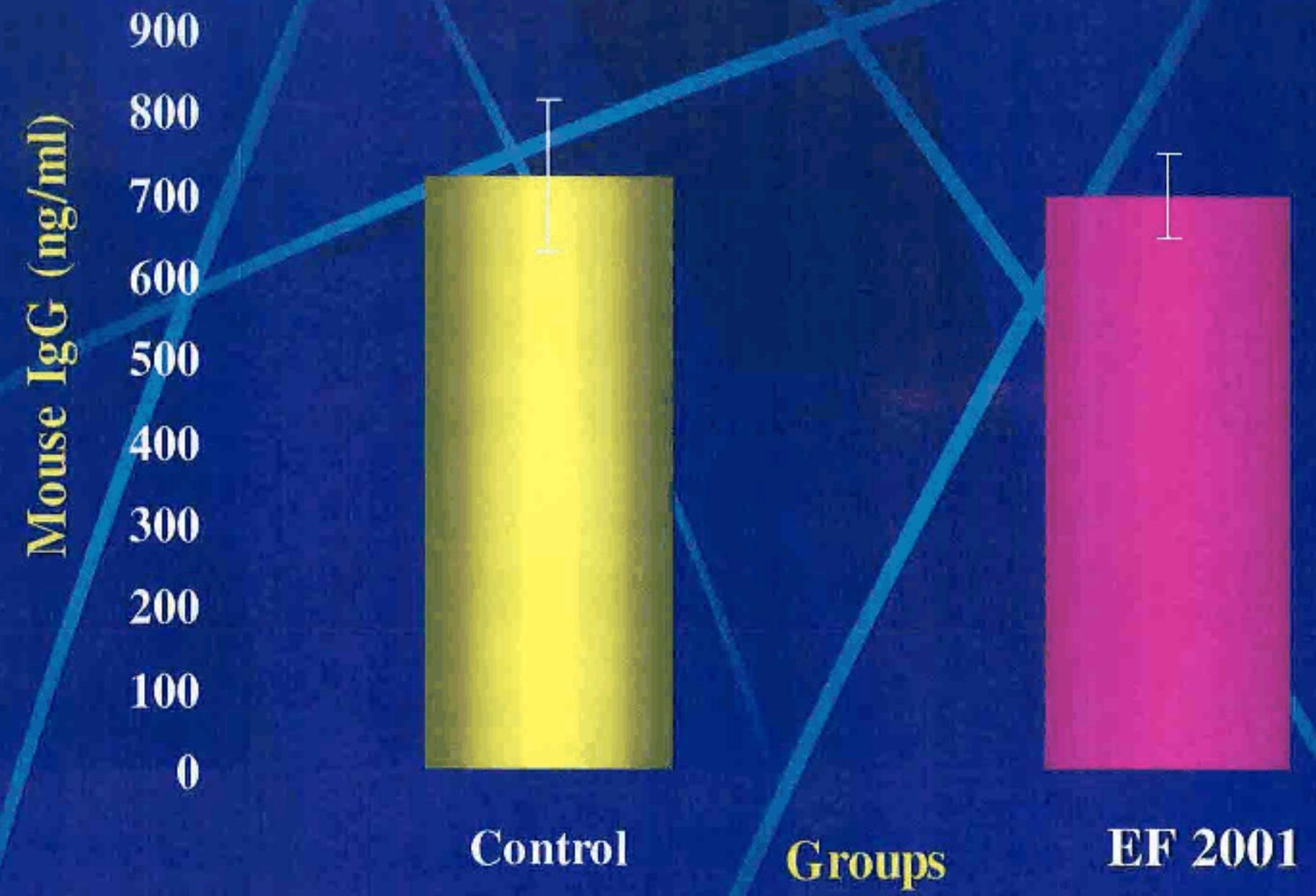
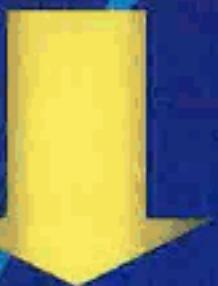


Fig.3. C3H mice of IgG in the blood. Each histogram represents the mean value  $\pm$ SE for 10 mice IgG (M). Significantly different \* $p<0.05$  Control vs. EF 2001.

## 考察および検討 (IgG, IgMの測定)

Enterococcus Faecalis 投与における抗体の產生があり、Control群に比べ、Enterococcus Faecalis投与群のほうが血清中の総IgMの濃度は増加した。しかし、血清中の総IgGの濃度はむしろ若干、低下した。



Enterococcus Faecalisの持つ免疫賦活作用が、マクロファージやNK細胞、T細胞などの細胞性免疫を活性化させるのみならず、液性免疫抗作用の促進も考えられる。

## 考察および検討（IgEの測定）

*Enterococcus Faecalis* 投与における抗体の產生があり、Control群に比べ、*Enterococcus Faecalis*投与群のほうが血清中の総IgEの濃度は低下した。



*Enterococcus Faecalis*の投与により、血中IL-2レベルが上昇し、脾臓のサイトカイン産生がTh2型からTh1型へと変化したと考えられる。従って、IgG及びIgEレベルを低下させ、アレルギー抑制効果を示したと示唆される。