

ニワトリの成長過程における胸腺及び Fabricius 嚢切除が 免疫グロブリンに及ぼす影響

七條喜一郎*・竹内 崇*・鈴木 實*

平成元年5月31日受付

Effects of Thymectomy and Bursectomy on the Immunoglobulins in Growing Chickens

Kiitirou SUTIZYO*, Takashi TAKEUCHI* and Minoru SUZUKI*

Effects of thymectomy and bursectomy on the immunoglobulins were studied in chickens.

In the untreated chickens, γ -globulin of embryo was separated into 2 bands, namely, γ_1 -globulin and γ_2 -globulin. Concentration of γ_2 -globulin increased corresponding to the decrease of residual yolk in the embryonic stage, and reached to 0.65 mg/dl on the 4th day after hatching. It became low again in the period from 5 to 10 days of age (0.2 mg/dl), and then once again increased (0.8mg/dl). Concentration of serum IgG gradually increased after 35 days old. Counts of leucocyte and lymphocyte slightly increased from 10 to 100 days of age.

Concentration of γ -globulin and IgG in the bursectomy chickens were similar to those found in untreated chickens. IgG of thymectomy chickens increased significantly. However, γ -globulin and IgG in the chickens ablated both organs decreased at 100 and 150 day of age.

緒 論

鶏胚血清の γ -globulin (γ -glob) は孵卵15日目以降日数が進むにつれて増加し、孵化後一時的に減少した後増加する^{13,14,15)}。このような γ -globの変動は、母鶏より移行した抗体の増加及びその消失並びにヒナ自身の免疫抗体産生によるものと考えられる。この場合、移行抗体は卵黄から吸収され、ヒナ自身の抗体産生には胸腺及び

Fabricius嚢 (F嚢) が関与することが知られている^{1,3,9,10,12,16)}。

そこで本実験では鶏胚及びヒナの成長過程における、遺残卵黄、胸腺及びF嚢の消長と γ -globの推移との関係について検索した。また胸腺及びF嚢が免疫抗体産生機能に及ぼす影響を検討する目的で、ヒナの胸腺並びにF嚢を切除し、その白血球数、リンパ球数、 γ -glob及び γ -G免疫glob (IgG) の推移を検討した。

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜生理学講座

* Department of Veterinary Physiology, Faculty of Agriculture, Tottori University

実験材料及び方法

1. 遺残卵黄, 胸腺及びF囊の重量測定

孵化後2, 4, 6, 10, 20, 50, 100, 150日目のHyline種のニワトリをそれぞれ10例ずつ供試した。腹腔内より取り出した遺残卵黄, 胸腺及びF囊の表面に付着している血液を生理食塩水で洗い, 濾紙で水分を拭き取った後, それぞれの重量を測定した。

2. 胸腺及びF囊の切除試験

ヒナの胸腺及びF囊を孵化後20時間以内に切除し, 胸腺切除, F囊切除, 胸腺とF囊切除及び対照の4群に分け, 測定日ごとに5例宛供試した。

1) 胸腺切除法

Etherで軽麻酔したヒナを仰臥位に保定し, そ囊縁から正中線に沿って頸部の上 $\frac{1}{4}$ まで皮膚を切開する。筋, 気管, 食道を剝離した後, 左右頸静脈に沿って7対存在する胸腺をピンセットで摘出除去した。すべての胸腺を摘出後, 切開創にマイシリン(東洋醸造)を適量散布して3~4針縫合した。

2) F囊切除法

ヒナをEtherで軽麻酔後, 頭部を下にして懸垂保定し, 総排泄腔と尾根部の間を縦に5~6mm切開して, ピンセットでF囊を引き出して伸長させ, 排泄腔への連結部位を挫滅して切り取り, 1針縫合した。

3) 胸腺とF囊切除及び対照群

胸腺とF囊切除群は上記の1), 2)と同様な方法で両組織を切除した。対照群は筋及び組織の剝離だけを行い閉鎖した。

なお供試鶏は採血後解剖し, 胸腺あるいはF囊が完全に除去されていることを確認した。

3. 血清タンパク及びIgG測定法

血清タンパクの分画測定はSeparax膜を用いて前報¹⁴⁾の泳動条件で行い, 血清IgGはニワトリIgG抗血清(Miles Laboratories製)を用いて単純免疫拡散法で測定した。

4. 白血球数及びリンパ球数の算定

白血球数は, May-Giemsa染色した塗抹標本を用い白血球数5,000個中の白血球数を算定し, 別に測定しておいた白血球数から次式によって求めた。

$$1 \mu l \text{ 中の白血球数} = W \times R / 5,000$$

W: 塗抹標本で算定した白血球5,000個中の白血球数

R: 血球計算盤で測定した $1 \mu l$ 中の白血球数

リンパ球数は塗抹標本から得られたリンパ球百分比に前記の白血球数を乗じて算出した。

実験成績

1. 鶏胚及びヒナの成長に伴う血清 γ -glob, 遺残卵黄, 胸腺及びF囊の消長

Fig. 1に示したように血清 γ -globは卵期7日目から孵化4日目まで急速に増加した後, 10日目まで減少し, 以後ヒナの日齢に伴って増加した。この γ -globの推移と遺残卵黄, 胸腺及びF囊重量の推移をみると, 胚子期から孵化4日目までの γ -globの増加は遺残卵黄減少量にほぼ反比例しており, 孵化後4日目には卵黄の約90%が消失していた。

孵化後4日目から10日目にかけての γ -glob激減期には遺残卵黄はほとんど消失しており, 胸腺及びF囊もまだ小さかった。

20日齢から100日齢にかけての γ -globの増加は胸腺及びF囊の重量増大と平行しており, これらの組織による免疫Glob産生との関係が示唆された。

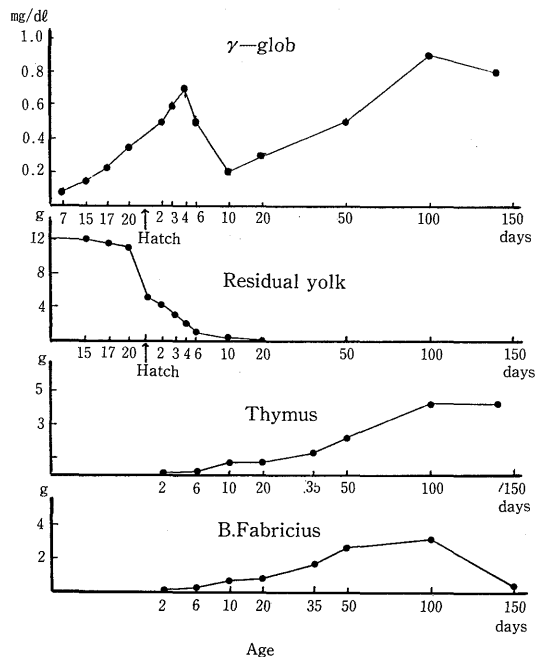


Fig.1 Changes of concentration of γ -globulin and weight of residual yolk, thymus, bursa of Fabricius with age. Mean of 10 animals.

2. 胸腺及びF囊切除ヒナの白血球数, リンパ球数, γ -glob及びIgGの変動

Fig. 2及びFig. 3は胸腺及びF囊切除実験における白血球数とリンパ球数の変動を示したものである。対照群の白血球数は35日齢まで増加した後、わずかに減少するが、その変動は有意でなかった($P < 0.05$)。また対照群のリン

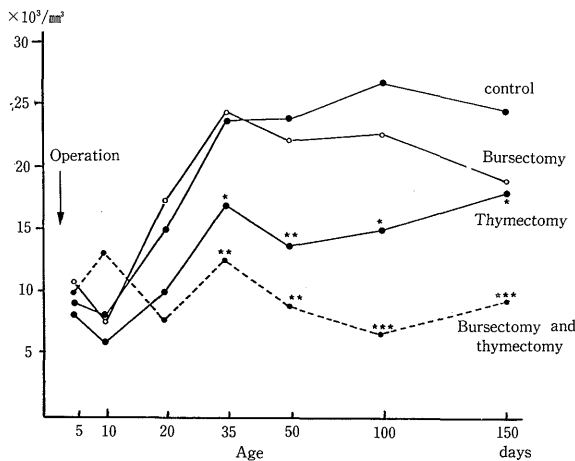


Fig.2 Effects of bursectomy and thymectomy on the leucocytes counts in fowls. The asterisk shows a significant difference from control

(★ $P < 0.10$, ★★ $P < 0.05$, ★★★ $P < 0.01$)
Mean of 5 animals.

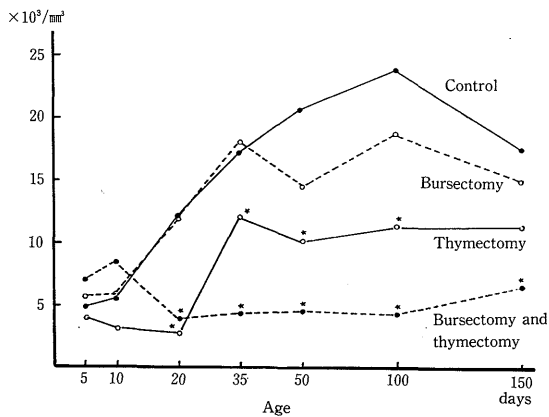


Fig.3 Effects of bursectomy and thymectomy on the lymphocytes counts in fowls. The asterisk shows a significant difference from control (★ $P < 0.01$)

Values are mean of 5 animals.

パ球数は孵化後100日齢まで成長に伴って増加した。

F囊切除ヒナの白血球数及びリンパ球数も日齢に伴って増加し、いずれの測定値とも対照群と有意差がみられなかった($P < 0.05$)。胸腺切除ヒナでは、白血球数及びリンパ球数が35日齢まで増加したが、その値は対照群の約 $\frac{2}{3}$ であり、その後もほぼ一定の値で推移し、100日齢では対照群の約 $\frac{1}{2}$ であった。胸腺とF囊を切除したヒナでは白血球数及びリンパ球数の減少が更に著明で、特に20日齢以降のリンパ球数は対照群の $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{1}{5}$ となった。

Fig. 4には胸腺及びF囊切除が血清タンパク値(g/dl)に及ぼす影響を示した。どの日齢の血清TP量も、処置群

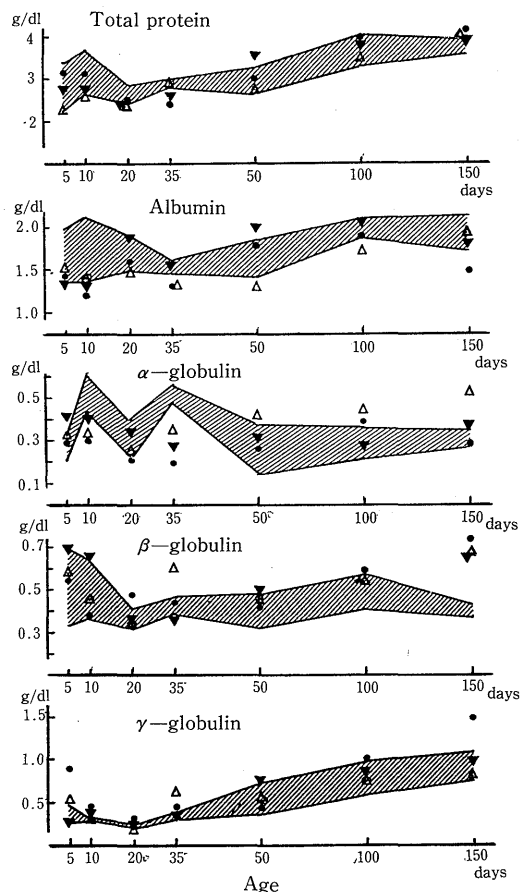


Fig.4 Effects of bursectomy and thymectomy on the serum proteins in fowls. Shadows show mean \pm standard deviation of control.

▼bursectomy, ●thymectomy, ▲bursectomy and thymectomy. Values are mean of 5 animals.

と対照群との間で有意な差を認めなかった ($P < 0.05$)。血清タンパク分画値も100日齢までは処置群と対照群との間で明らかな相違がなかった。しかし150日齢における各処置群の β -globは、対照群に比べて有意に高く ($P < 0.05$)、約2倍となった。また150日齢における胸腺切除群の γ -globは、対照群及びほかの処置群のそれよりも有意に高かった ($P < 0.05$)。

血清IgGの変動をFig. 5に示した。20日齢以降の胸腺切除群には、対照群と比べて明らかに高い値を示す例がみられ、とくに150日齢では5例中3例が対照群の平均値の約2倍となった。

F囊切除群のIgGは35日齢まで対照群との間に明らかな差がなかった ($P < 0.05$)。しかし50日齢及び100日齢のそれは個体差が大きく、50日齢の2例は対照群の平均値の約2倍の値であり、100日齢では1例が明らかに低値を示した。胸腺とF囊切除群は、35日齢で5例中4例が対照群に比べて明らかに高値を示したが、50日齢及び100日齢では5例中4例が、150日齢では5例中2例が明らかに低値であった。

考 察

鳥類では、中枢リンパ組織としてのF囊が体液性免疫に、胸腺が細胞性免疫にそれぞれ中心的な役割を果たすことが知られている^{1,9)}。このように鳥類ではリンパ系の機能が分化していることから、免疫学の基礎的研究にニワトリがしばしば用いられている^{6-8,12)}。また、ニワトリの抗体産生機能に関しては疫学的な立場からも多数の報告があり、血清IgG産生能の種特異性^{11,17)}、Marek's Disease^{5,5,19)}、Plasmodium⁹⁾、Mycoplasma¹⁰⁾などの感染実験及びビタミンE欠乏ヒナ¹⁸⁾の免疫産生能などについて多くの報告がなされている。

これらの報告において、ニワトリの抗体産生機能は胚子期に最も低く、孵化後3週齢頃から急速に発達し、5~12週齢でほぼ免疫的成熟に達すると考えられている^{10,12)}。

今回の実験によれば孵化初期の γ -globは微量の γ_1 -globのみであり、孵卵日数が進むにつれて増加した。また17日目以降 γ_2 -globが認められた。一方、本実験の孵卵初期の卵黄減少量は極めてわずかであり、15日目以降減少量が多くなり、孵卵直前から孵化当日にかけて急激に減少し、孵化後4日目にその90%が消失した。胚子期のこのような γ -globの変動と卵黄減少量の推移から考えると、やはり、先人^{3,12)}が述べたように胚子期の γ -globは卵黄より移行した抗体であり、この時期にはヒナ自身による抗

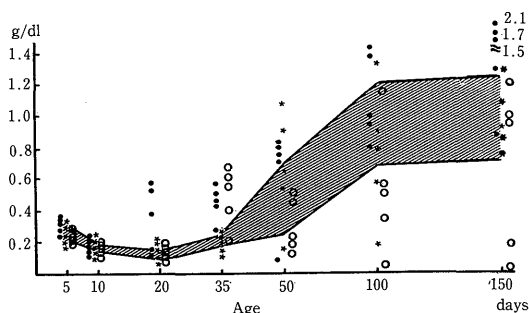


Fig.5 Effects of bursectomy and thymectomy on the serum immunoglobulin G in fowls. Shadows show mean \pm standard deviation of control.

★ bursectomy, ● thymectomy, ○ bursectomy and thymectomy. Values are mean of 5 animals.

体産生はほとんどなされていないものと思われる。

孵化後、ヒナの γ -globが一過性に減少することは古くから知られており、移行抗体の消失によると報告されている^{4,12)}。本実験においても4日齢から10日齢にかけて γ -globの急速な減少がみられ、その後20日目まで低値を示した。しかし、この時期の血清タンパク量をみると、 γ_2 -globは初生ヒナのそれに比べて明らかに増加しており、 γ_1 -globの減少がみられた。このような胚子期から新生子期にかけての γ_1 -globの推移は佐藤¹²⁾が述べたニワトリの移行抗体の変動に一致していた。また、本実験の遺残卵黄の減少量と γ_1 -globの消長から推察すると胚子及び新生子にみられる γ_1 -globは卵黄由来の移行抗体であると思われる。一方、孵卵17日目移行に認められた γ_2 -globは孵化後日齢が進むにつれて増加し、この成分はヒナ自身が産生した自然抗体であろうと推察された。

三浦ら¹⁰⁾はF囊重量の加齢に伴う変動を検索し、初生ヒナのF囊は70mgであるが1週齢で167mgになり、2週齢頃より更に急速に増加して、6週齢以後は2,800~3,000mgになり、その成長速度は増体量に比べて速いと述べている。今回の観察によれば、F囊は50日齢まで急速に増加し、50日齢から100日齢にかけて増加速度が遅くなり、以後減少し、150日齢ではほとんど消失して痕跡程度になった。また胸腺重量はヒナの成長に伴って増加し100日齢で約3,800mgになった後、150日齢でもこの値を維持した。

遺残卵黄及びF囊重量のこのような推移と、ニワトリの発育に伴う γ -glob量の変動を比較すると、10日齢以降の γ -globの増加は胸腺及びF囊の増量時期に一致してい

た。

胸腺及びF嚢が免疫産生能に関与することは前述のとおりであり、胚子期あるいは初生ヒナのできるだけ早い時期に胸腺及びF嚢を切除すると、抗体の産生が抑制される。Longeneckerら⁹⁾は孵卵5日目に、Testosterone処理によってF嚢の発生を抑制したヒナ及び孵化当日に外科的方法でF嚢あるいは胸腺切除を行ったヒナ並びに胸腺とF嚢の両者を切除したヒナにPlasmodium lophuraeを感染させ、血清タンパク分画の変動を観察している。対照群では感染後4～5日以降に γ -globが増加したが、F嚢と胸腺を切除した群では明らかな γ -globの増加はみられなかったと述べている。

著者の胸腺切除群ではリンパ球数に減少がみられたものの、血清IgGは20日齢以後対照群のそれよりも有意に高値を示す例が多かった。このことは胸腺細胞が胚子期にすでに末梢組織へ賦与されており、胸腺切除手術がIgG産生の刺激になったのかも知れない。また、F嚢切除群ではリンパ球数、 γ -globのいずれも100日齢まで対照群と有意差を示さなかった。したがって胸腺及びF嚢を孵化当日に単独切除した場合には自然抗体の産生にはあまり影響を及ぼさないものと考えられる。しかし、胸腺とF嚢の両者を切除したヒナではリンパ球数の著明な減少が起こり、50日齢以降にIgGが有意に低値を示す例がみられた。このことからニワトリの自然抗体産生には胸腺とF嚢が相互的に作用しているものと思われる。しかし胸腺とF嚢切除群においても、IgGの著明な減少を示さない例がみられたことは胸腺及びF嚢が胚子期にすでにその機能を遂行しており、孵化時に胸腺、F嚢由来細胞が末梢組織へ賦与されていて、その機能を発揮していることが推察される。またニワトリでは胸腺及びF嚢系以外の抗体産生系も存在するものと思われる。

結 論

鶏胚及びヒナの成長過程における γ -globの変動には孵卵期に卵黄より移行した抗体及びヒナ自身が産生した免疫globが関与しているものと思われる。このことから鶏胚及びヒナの成長に伴う γ -globの推移と遺残卵黄、胸腺、F嚢の消長を比較した。また胸腺及びF嚢を切除したヒナの白血球数、リンパ球数、血清タンパク分画並びに血清IgGの変動について検索した。

1. 血清 γ -globは孵卵7日目から孵化後4日齢まで急速に増加し、その後10日齢まで減少し10～20日齢で最も低値を示した後、ヒナの成長に伴って増加した。この孵卵期から新生子期の γ -globの増加は遺残卵黄の減少率に

反比例し、4日齢で卵黄の90%が減少した。 γ -globが最も低値を示した10～20日齢で遺残卵黄は消失し、この時期の胸腺及びF嚢はいまだ小さかった。50日齢以降 γ -globが漸増し、この時期に胸腺及びF嚢も急速に発達した。

2. 対照群の白血球数は35日齢まで、リンパ球数は100日齢までそれぞれ増加し以後一定の値で推移した。F嚢切除ヒナの白血球数及びリンパ球数は対照群とほぼ同様な変動を示し、F嚢切除による影響は認められなかった。これに対し、胸腺切除ヒナの白血球数は35日齢以降、リンパ球数は20日齢以降明らかに低値を示した($P < 0.05$)。また胸腺とF嚢切除ヒナのそれらは更に低値であった。

胸腺及びF嚢切除がT P量に及ぼす影響はみられなかった。また血清タンパク分画値においても、100日齢まではその影響は認められなかった。しかし胸腺とF嚢切除群において、50日齢以降にIgGが著明に低下する例がみられた。

文 献

- 1) Glick, B., Chang, J. S. and Jaap, R. G. : The bursa of Fabricius and antibody production. *Poultry Sci.*, **35** 224-225 (1956)
- 2) Higgins, D. A. and Calnek, B. W. : Fowl immunoglobulins : Quantitation and antibody activity during Marek's disease in genetically resistant and susceptible birds. *Infection and Immunity.*, **11** 33-41 (1975)
- 3) 細田達雄, 金子忠恒, 茂木一重, 阿部恒夫 : 産卵ニワトリから卵及びヒナへの抗体の移動について。農技研報告 (G. 畜産), **10** 125-129 (1955)
- 4) 石原勝也 : 鶏の血清蛋白質とくにリポ蛋白質の変動に関する血清学的研究。岐阜大農研報, **37** 1-44 (1974)
- 5) Jurajda, V. and Napravnik, A. : Electrophoretic analysis of plasma proteins in chickens infected with Marek's disease. *Acta. Vet. Brno.*, **43** 355-366 (1974)
- 6) Kincade, P. W. and Cooper, M. D. : Development and distribution of immuno-globulin-containing cells in the chicken. An immunofluorescent analysis using purified antibodies to μ , γ and light chains. *J. Immunology*, **106** 371-382 (1971)
- 7) Lebacqz-verheyden, A. M., Vaerman, J. P. and Heremans, J. F. : Quantification and distribution of chicken immunoglobulins IgA, IgM and IgG in

- serum and secretions. *Immunology*, 27 683-692 (1974)
- 8) Leslie, G. A. Crandall, R. B. and Crandall, C. A. : Studies on the secretory immunological system of fowl. II. Immunoglobulin-producing cells associated with mucous membranes. *Immunology*, 21 983-987 (1971)
- 9) Longenecker, B. M., Breitenbach, R. P. and Farmer, J. N. : Plasma protein changes in normal, thymectomized and bursectomized chickens during a Plasmodium lophurae infection. *Experimental parasitology*, 21 292-309 (1967)
- 10) 三浦克洋, 勝野正則 : ニワトリにおけるファブリシウス囊の成長と自然抗体および免疫抗体産生との関係. 成長, 15 17-24 (1976)
- 11) Pink, J. R. L., McNally, M. P. and Jatou, J. C. : Paraproteinaemia in inbred chickens. *Immunology*, 29 945-949 (1975)
- 12) 佐藤考二 : 家禽における抗体産生とその特長. 日本家禽誌, 10 139-146 (1973)
- 13) 島田保昭 : セルローズアセテート膜電気泳動法によるにわたりの血清蛋白質の分析について. 日獣会誌, 27 293-296 (1978)
- 14) 七條喜一郎, 大坪多佳子, 川井由香里, 豊澤敬一郎, 鈴木 實 : 鶏胚の発育過程における血球および血清タンパク質に関する研究. 鳥大農研報, 41 131-138 (1988)
- 15) 鈴木 實, 豊澤敬一郎, 七條喜一郎, 吉田好正 : ニワトリの成長過程における血球動態及び血清タンパクに関する研究. II. 血清タンパクの変動について. 鳥大農研報, 30 66-72 (1978)
- 16) 高木知道 : ファブリシウス囊 その発生物学的問題点. 動物学雑誌, 79 191-198 (1970)
- 17) 玉置禎紀, 姫野健太郎, 秋田富士 : 鶏の血清免疫グロブリンG (IgG) 値の品種差および成長ともなう変化. 日畜会報, 43 691-695 (1972)
- 18) Tureen, L. L., Warecka, K. and Young, P. A. : Immunophoretic evaluation of blood serum proteins in chickens. II. Patterns in vitamin E deficiency encephalomalacia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 122 733-737 (1966)
- 19) Washburn, K. W. and Eidson, C. S. : Changes in concentration of plasma proteins associated with Marek's disease. *Poultry Sci.*, 49 784-793 (1970)