

PROCEEDINGS

9th JAPANESE ASSOCIATION FOR DEVELOPMENTAL & COMPARATIVE IMMUNOLOGY

Sendai, Japan

August 20 to 22, 1997

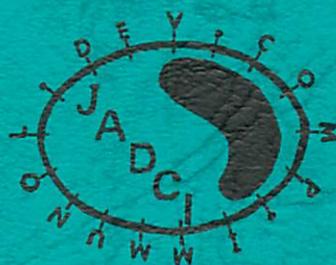
日本比較免疫学会
第9回 学術集会講演要旨

会期：1997年8月20日(水)～22日(金)

会場：仙台市戦災復興記念館5階会議室

学術集会会長：東北大学大学院・森 勝義

学術集会事務局長：東北大学大学院・高橋計介



日本比較免疫学会

—1997—

日本比較免疫学会 第9回学術集会

(1997年度)

会期 : 1997年8月20日(水)、21日(木)、22日(金)

場所 : 仙台市戦災復興記念館5階会議室

学術集會会長 : 東北大学大学院 森 勝義

学術集會事務局長 : 東北大学大学院 高橋 計介

学術集會日程表

第1日目(20日)	11:00	受付開始
	13:00	学会総会
	14:00	一般講演 Session A : 軟体動物 認識・感染防御因子・免疫細胞
	16:00	特別講演 (1) 昆虫と植物の攻防作戦
	17:00	特別講演 (2) 海洋生物毒の生物学的意義とその有効利用
	18:30	歓迎会
第2日目(21日)	09:20	一般講演 Session B : 扁形動物・環形動物 細胞性防御因子・液性防御因子
	10:40	一般講演 Session C : 節足動物 血液細胞・液性防御因子
	12:50	一般講演 Session D 棘皮動物・原索動物 血液細胞・溶解因子
	14:00	シンポジウム 生体防御における活性酸素
	18:10	記念写真撮影
	18:30	懇親会
	第3日目(22日)	09:30
11:20		閉会

目次

学会役員名簿	3
連絡事項	4
講演プログラム	
第1日目	5
第2日目	8
第3日目	13
交通の案内	15
会場の案内図	16
講演要旨	
第1日目	17
第2日目	23
第3日目	35
学会賛助会員	39
学会会則	40
学会 (J A D C I) の英文案内	42
講演発表者名簿 (Author Index)	44

日本比較免疫学会 会長・役員名簿

(1997年度)

会長	-----	村松 繁	(京都大学名誉教授)
副会長	-----	友永 進	(山口大学)
庶務・会計	-----	古田 恵美子	(獨協医科大学)
		(補助役員) -----	中村 弘明 (東京歯科大学)
			山口 恵一郎 (獨協医科大学)
			小林 睦生 (国立感染症研究所)
プログラム委員	-----	和合 治久	(埼玉医科大学短期大学)
			山崎 正利 (帝京大学)
		(補助役員) -----	木村 美智代 (埼玉医科大学短期大学)
抄録委員	-----	田中 邦男	(日本大学)
会計監査	-----	渡邊 浩	(東京家政学院筑波女子大学)
			和氣 朗 (日本大学)

学会事務局：栃木県下都賀郡壬生町北小林880

獨協医科大学第2解剖学教室

(TEL:0282-87-2124 FAX:0282-86-1463)

連絡事項

1. 総会および講演会場

仙台市戦災復興記念館5階会議室（仙台市青葉区大町2-12-1 TEL:022-263-6931）

2. 受付

学術集会関係の受付事務は5階会議室前にて20日午前11時より行います。

ネームプレートを用意致しますので、着用して下さい。なお、学術集会終了後は受付に返却して下さい。

学会への入会手続き、学会費の納入もあわせて受け付けます。

3. 参加費

参加費は5000円です（この中には、DCIアブストラクト掲載費が含まれています）。

4. 懇親会費

第2日目（21日）午後6時30分より懇親会を行います。（場所は戦災復興記念館地下1階展示ホールです）

会費は3500円です（第1日目に行う歓迎会費も含まれています）。

5. 記念撮影

第2日目（21日）のシンポジウム終了後に参加者全員の記念撮影を行います。

6. 一般講演の発表

a) 1講演あたり20分（講演時間16分、質疑応答4分）を厳守して下さい。

b) 図表の説明には、スライド（35mm判、5cm角枠付き）を使用し、1演題につき20枚以内と致します。

スライドを映写させる位置に置き（画面は倒立）、その枠の右上に講演番号、氏名、映写順序番号を必ず記入して

下さい。講演開始40分前までにスライド受付に提出して下さい。講演終了後、受付にて各自お受け取り下さい。

講演プログラム

(PROGRAMME)

第 1 日 目 (8月20日 : August 20)

11:00 受付開始 (Registration)

13:00 学会総会 (General meeting)

— 舟受講演 (GENERAL LECTURE) —

Session A : 軟体動物 (Mollusca)

認識・感染防御因子・免疫細胞 (Recognition, Antimicrobial Elements and Immunocytes)

座長 : 神谷 久男 (北里大学) (Kamiya, H.)

A 1 14:00 ° 山口恵一郎・古田恵美子 (獨協医科大学) 中村弘明 (東京歯科大学)

(Yamaguchi, K., Furuta, E. and Nakamura, H.)

陸棲軟体動物の同種異個体移植片に対する慢性的拒絶反応

(Chronic rejection of allografts from the skin of the terrestrial slug, *Incilaria*

fruhstorferi)

A 2 14:20 ° 飯島亮介・佐藤 晃・來生 淳・山崎正利 (帝京大学)

(Iijima, R., Satoh, A., Kisugi, J. and Yamazaki, M.)

タツナミガイ *Dolabella auricularia* 体表部位の抗微生物物質

(Antimicrobial substances found in the skin and body surface area of *Dolabella*

auricularia)

A 3 14:40 ° 來生 淳・飯島亮介・山崎正利 (帝京大学)

(Kisugi, J., Iijima, R. and Yamazaki, M.)

海洋軟体動物ツツナミガイの体壁に見いだされた抗腫瘍性蛋白質

(Antineoplastic protein from body wall of sea hare, Dolabella auricularia)

座長：山崎 正利 (帝京大学) (Yamazaki, M.)

A 4 15:00 ° 中山光二・丸山 正 (海洋バイオテクノロジー研究所)

(Nakayama, K. and Maruyama, T.)

シャコガイ (Tridacna crocea) 体液細胞の生体防御活性について

(Self-defense activities of hemocytes in the giant clam, Tridacna crocea)

A 5 15:20 ° 石川春彦・高橋計介・尾定 誠・松谷武成・森 勝毅 (東北大学大学院)

(Ishikawa, H., Takahashi, K., Osada, M., Matsutani, T. and Mori, K.)

マガキの生殖にともなう血球の食食活性の変動

(Effect of reproductive cycle on seasonal variation of phagocytosing activity in

the hemocytes of Crassostrea gigas)

15:40 休憩 (Coffee break) (20分間)

牛寺 芳子 講演 (SPECIAL LECTURE)

座長：森 勝義 (東北大学大学院) (Mori, K.)

S L 1 16 : 00 西田律夫 (京都大学) (Nishida, R.)

昆虫と植物の攻防作戦

(Arms race between insects and plants)

S L 2 17 : 00 大泉 康 (東北大学) (Ohizumi, Y.)

海洋生物毒の生物学的意義とその有効利用 --薬理学的研究からのアプローチ

(Biological significance of toxins from marine organisms and their utilization

-- approach from pharmacological studies)

18 : 30 歓迎会 (Welcome dinner)

第 2 日 目 (8 月 2 1 日 : August 21)

— 舟 登 講 義 (GENERAL LECTURE)

Session B : 扁形動物、環形動物 (Plathelminthes and Annelida)

細胞性防御因子・液性防御因子 (Cellular Defense Factors and Humoral Defense Factors)

座長 : 古田 恵美子 (獨協医科大学) (Furuta, E.)

B 1 0 9 : 2 0 ° 和合治久・金澤めぐみ・狩野久美・添野奈央 (埼玉医科大学短期大学)

(Wago, H. , Kanazawa, M. , Kano, K. and Soeno, N.)

ブラナリア原体腔内に構築される生体防御系

(Host defense system in the protocoel of planaria)

B 2 0 9 : 4 0 ° 小宮山一雄・吉村 誠・岡上真裕・岩瀬孝志 (日本大学) Cooper, E. L. (カリフォルニア大学)

奥村 康 (順天堂大学) 茂呂 周 (日本大学)

(Komiyama, K. , Yoshimura, M. , Okaue, M. , Iwase, T. , Cooper, E. L. , Okumura, K. and Moro, I.)

ミミズのcoelomocyte におけるperforinの局在

(Perforin in the earthworm coelomocyte)

B 3 1 0 : 0 0 Kim, Gyong-Mi・ Yu, Kyoung-Hee・Raik, Seung R. °Chang, Chung-Soon (Inha University)

Anticoagulatory effect of an earthworm, Lumbricus rubellus, was due to deoxyribonucleic acid

1 0 : 2 0 休憩 (Coffee break) (20 分間)

Session C : 節足動物 (Arthropoda)

血液細胞・液性防御因子 (Blood Cells and Humoral Defense Factors)

座長 : 和合 治久 (埼玉医科大学短期大学) (Wago, H.)

- C 1 1 0 : 4 0 Moon, Hyun-Joo · Cho, Mi-Young · Lee, Hyun-Seong · Lee, Kang-Moon (Pusan National University)
- Wago, Haruhisa (Saitama Medical School Junior College) ° Lee, Bok Luel (Pusan National University)
- The morphological changes of Tenebrio molitor hemocytes in vitro
- C 2 1 1 : 0 0 Cho, Mi-Young (Pusan National University) Homma, Koichi · Natori, Shunji (University of Tokyo)
- ° Lee, Bok-Luel (Pusan National University)
- Purification and characterization of two kinds of encapsulation-related proteins in coelopteran, Tenebrio molitor larvae
- C 3 1 1 : 2 0 ° 小林睦生 · 佐々木年則 · 安居院宣昭 (国立感染症研究所)
- (Kobayashi, M., Sasaki, T. and Agui, N.)
- 蚊におけるマラリア原虫認識に関わる因子について
- (Recognition factors of mosquitoes to malaria)
- 1 1 : 4 0 昼食 (Lunch time) (70 分間)

Session D : 棘皮動物・原索動物 (Echinodermata and Protocordata)

血液細胞・溶解因子 (Blood Cells and Cytolytic Factors)

座長：田中邦男（日本大学）(Tanaka, K.)

D 1 12:50 ° 桑村淳子・尾定 誠・高橋計介・松谷武成・森 勝義（東北大学大学院）

(Kuwamura, J., Osada, M., Takahashi, K., Matsutani, T. and Mori, K.)

モノクローナル抗体を用いたキタムラサキウニ溶血因子の溶血作用の解析

(The analysis of hemolytic function of hemolysin by monoclonal antibody in the sea

urchin Strongylocentrotus nudus)

D 2 13:10 ° 沢田知夫・徳田信子・王 玉雪・福本哲夫（山口大学）

(Sawada, T., Tokuda, N., Wang, Yu-shu and Fukumoto, T.)

マボヤ血球 (Giant cell) のモノクローナル抗体による解析

(Monoclonal antibody against a hemocyte type (giant cell) of Halocynthia roretzi)

D 3 13:30 ° 阿部健之・大竹伸一・宍倉文夫・田中邦男（日本大学）

(Abe, T., Ohtake, S., Shishikura, F. and Tanaka, K.)

マボヤの in vitro 血球凝集のトリプシンによる増強と 58 kDa プロテアーゼインヒビターに

よる抑制

(The potentiation with trypsin and the suppression with endogenous 58kDa proteinase

inhibitor on the hemocyte aggregation in vitro of Halocynthia roretzi)

13:50 休憩 (Coffee break) (10分間)

シンポジウム (SYMPOSIUM)

生体防御における活性酸素 (ACTIVE OXYGEN IN HOST DEFENSE)

座長：小林睦生 (国立感染症研究所) (Kobayashi, M.)

S 1 14:00 高橋計介・森 勝義 (東北大学大学院) (Takahashi, K. and Mori, K.)

海産二枚貝の生体防御における活性酸素の役割

(Role of reactive oxygen species in defense mechanism of bivalve molluscs)

S 2 14:40 小林綾子 (東京大学) (Kobayashi, A.)

昆虫生体防御因子と活性酸素

(Insect defense molecules and active oxygen)

座長：矢野友紀 (九州大学) (Yano, T.)

S 3 15:20 飯田貴次・伊藤琢也 (宮崎大学) (Iida, T. and Itou, T.)

魚類食細胞による活性酸素の産生とその殺菌作用

(The production and microbicidal action of oxygen radicals from fish phagocytes)

S 4 16:00 村田英雄・高橋秀之 (農林水産省家畜衛生試験場) (Murata, H. and Takahashi, H.)

環境・管理ストレスが牛のリンパ球、好中球に与える影響

(Effects of environmental and management stressors on bovine lymphocyte and

neutrophil parameters)

16:40 休憩 (Coffee break) (10分間)

座長：茂呂 周（日本大学）(Moro, I.)

S 5 16:50 斧 康雄（帝京大学）(Ono, Y.)

感染症におけるヒト食細胞由来活性酸素の意義

(Role of reactive oxygen species from human phagocytes in infectious diseases)

S 6 17:30 金ヶ崎史朗（東京大学）(Kanegasaki, S.)

感染防御における活性酸素

(Oxygen dependent defense against microbial infections)

18:10 記念写真撮影 (Memorial photographing)

18:30 懇親会 (Reception)

第 3 日 目 (8 月 2 2 日 : August 22)

— 舟 役 講 演 (GENERAL LECTURE)

Session E : 魚類・哺乳類 (Fishes and Mammals)

食細胞・補体・抗体・サイトカイン (Phagocyte, Complement, Antibody and Cytokine)

座長 : 渡辺 翼 (北里大学) (Watanabe, T.)

E 1 09 : 30 ° 藤井 保・國定里美 (広島女子大学)

(Fujii, T. and Kunisada, S.)

円口類ヌタウナギの補体第 3 成分 (C 3) の不安定な分子構造に関する研究

(The association of the subunits of component C3 of hagfish complement is unstable and leads to novel degradation during electrophoresis)

E 2 09 : 50 中尾実樹・寶来直人・藤木和浩・° 矢野友紀 (九州大学)

(Nakao, M., Hohrai, N., Fujiki, K. and Yano, T.)

β -1,3- グルカンの投与がコイ食細胞の C 3- レセプター発現に及ぼす影響

(Effect of β -1,3-glucan on the expression of C3-receptors on carp phagocytes)

E 3 10 : 10 侯 亜義・° 鈴木譲・会田勝美 (東京大学)

(Yi, H. Y., Suzuki, Y. and Aida, K.)

ステロイドホルモンのニジマスにおける抗体産生能に及ぼす影響

(Effect of steroid hormones on antibody producing activity in rainbow trout)

10 : 30 休憩 (Coffee break) (10 分間)

座長：友永 進（山口大学）(Tomonaga, S.)

E 4 1 0 : 4 0 厚田 静男・渡辺 翼（北里大学）

(Atsuta, S. and Watanabe, T.)

サケ科魚類の常在腹腔細胞—予報

(Resident peritoneal cells of salmonid fish - Preliminary work)

E 5 1 1 : 0 0 ° 寺井 瑞枝・安田 理恵・蓮見 賢一郎（蓮見癌研究所）和合 治久（埼玉医科大学短期大学）

(Terai, M., Yasuda, R., Hasumi, K. and Wago, H.)

ウシ脾臓アルコール抽出物による担癌マウス免疫細胞機能の活性化

(Activation of immunocytes of cancer-bearing mice by bovine splenic alcohol extract)

E 6 1 1 : 2 0 ° 西村 仁志（名古屋大学）鈴木 操（熊本大学）吉開 泰信（名古屋大学）

(Nishimura, H., Suzuki, M. and Yoshikai, Y.)

インターロイキン 15mRNA の選択的スプライシング産物の翻訳効率

(Translational efficiency is upregulated by alternative splicing of IL-15mRNA)

1 1 : 4 0 閉会 (Closing)

交通の案内

学術集会の会場となる仙台市戦災復興記念館は、仙台市の中心部、市街地の東西を走るケヤキ並木の美しい青葉通り、広瀬通りと仙台が生んだ著名な詩人、土井晩翠の名を冠した晩翠通りが交わる一角にあります。

東京都内からは、JR東北新幹線を利用されると便利で、約2時間で仙台駅に到着します。広いペDESTリアンデッキ（歩行者用高架）のある正面口（西口）を出ますと、1階にバスプールがあります。乗り場番号15番（南吉成団地線、女子商・国見ヶ丘線）、16番（広瀬通り経由の交通公園線）から仙台市営バスを利用して、「東北公済病院・戦災復興記念館前」でお降り下さい。バスの所要時間は、約15分、停留所から会場までは、徒歩2分です。仙台駅からタクシーを利用すると約10分です。

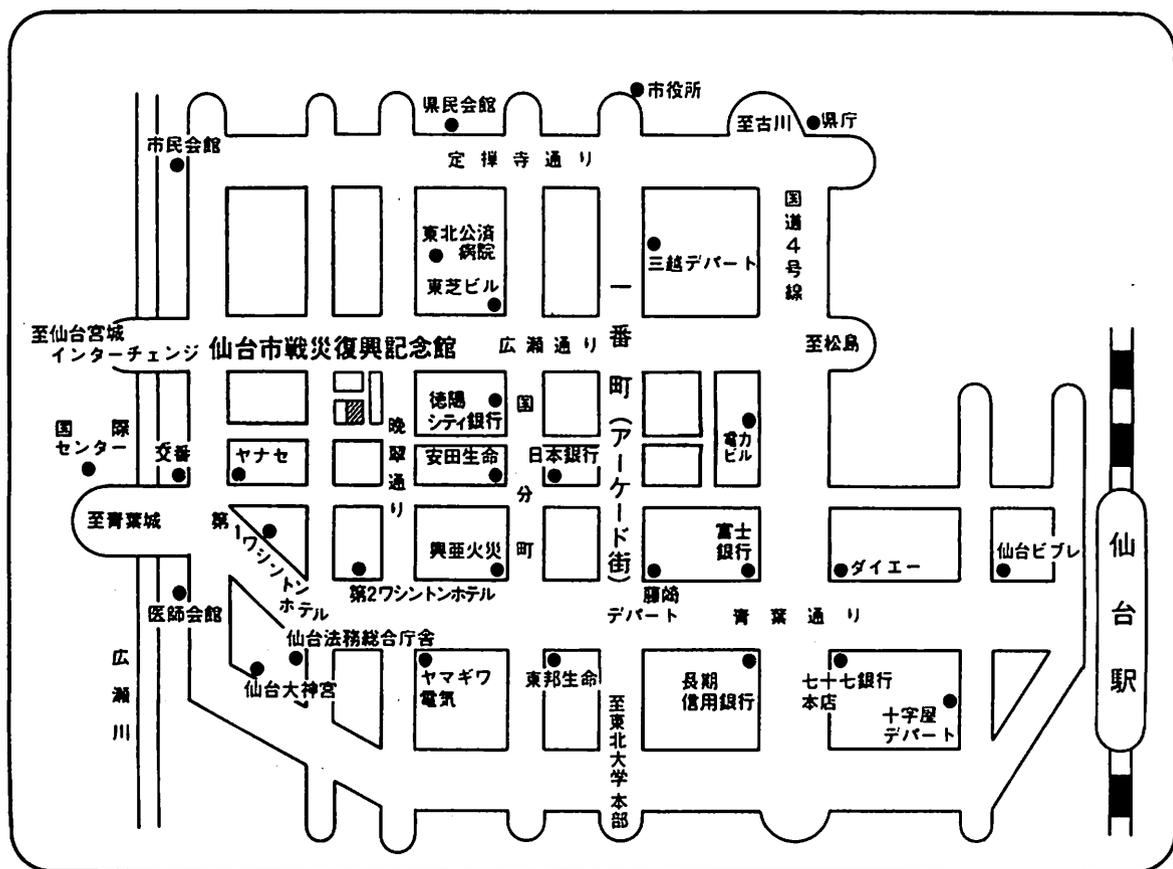
飛行機を利用される場合は、仙台空港からリムジンバスに乗りますと、約40分で仙台駅に到着します。そこからは、バス・タクシーを御利用ください。

Information for overseas participants

The 9th meeting of Japanese Association for Developmental and Comparative Immunology(JADCI) will be held at “Sendai-shi Sensai-fukkou Kinenkan”(Sendai civic memorial hall for rehabilitation of war-damage) located at Sendai from August 20 to 22, 1997. Participants can reach the meeting place by train from Tokyo. It is convenient to ride on JR Tohoku-shinkansen(super express) from Tokyo to Sendai station, being about 2-hours ride. From “Nishiguchi”(West entrance) of Sendai station, it will take about 25 min on foot or about 10 min by taxi to get to the meeting place. You will have another way to come to Sendai. It is to take plane from Osaka international airport to Sendai airport. From here, it will take about 40 min by bus to get to Sendai station.

施設の概要

規 模	敷地面積	2,444㎡	建築面積	1,781㎡
	建築延面積	6,551㎡		
構 造	鉄骨鉄筋コンクリート造り 地下1階、地上5階			
記念ホール	客席	300席	楽屋	3
資料展示室	400㎡	展示約	600点	
そ の 他	展示ホール	1	会議室	6
	研修室	1	和 室	3



- 仙台駅からタクシーで5分
- 地下鉄広瀬通駅から徒歩10分
- 電力ビルから徒歩8分
- 市バス、東北公済病院・戦災復興記念館前下車、徒歩2分

◎ 駐車場がありませんので車での来館はご遠慮ください。

第 1 日 目

一般講演 : A 1 ~ A 5

特別講演 : S L 1 , S L 2

A 1 陸棲軟体動物の同種異個体移植片に対する慢性的拒絶反応

○ 山口恵一郎¹⁾・古田恵美子²⁾・中村弘明³⁾

獨協医大総研¹⁾・Ⅱ解剖²⁾、東京歯科大生物³⁾

脊椎動物での移植片拒絶は、移植組織が宿主の特異的な液性および細胞性免疫応答によって引き金が引かれ、続いて非特異的な炎症反応によって移植片は破壊される。軟体動物では、技術的な困難さもさることながら、移植される部位が orthotopic であれ、heterotopic であれ、明確な拒絶の機構がまだ示されていない。我々はヤマナメクジを用いて、orthotopic な背部皮膚移植を試み、20週間継続して光顕および電顕観察を行った。移植後8週までは、異個体移植および自己移植共に供与側組織と宿主結合組織に多数のマクロファージによる貪食像が見られた。この現象は初期創傷治癒過程と考えられる。8週以降は、異個体移植の場合にのみ、実験期間を通して、多数の貪食マクロファージが観察された。自己移植の場合には、移植後8週以降、マクロファージは減少し、逆に再生現象が観察され、20週目で再生はほぼ完了した。この観察結果から、陸棲軟体動物にはアロ認識機構が存在し、同種異個体移植片拒絶は慢性的炎症を伴って引き起こされるものと推察される。

Chronic Rejection of Allografts from the Skin of the Terrestrial Slug, *Incilaria fruhstorferi*

Keiichiro Yamaguchi¹⁾, Emiko Furuta²⁾ and Hiroaki Nakamura³⁾

The Lab. Med. Sci.¹⁾ and Dept. Anat.²⁾, Dokkyo Univ. Sch. Med. and Tokyo Dent. Col.³⁾

A 2 タツナミガイ *Dolabella auricularia* 体表部位の抗微生物物質

○ 飯島亮介・佐藤晃・来生淳・山崎正利

帝京大学薬学部薬品化学教室

生物個体の外界との境界をなす部位、体表は感染防御の要所である。外骨格、鱗、粘性の分泌物などは、微生物の体内への侵入を防ぐ物理的障壁としての役割を果たす最も基本的な感染防御機構である。そして体表の損傷などによって病原微生物の侵入を許した場合にも、微生物の体内深部への移行、増殖を未然に防ぐためには体表近傍での殺菌が望ましいと考えられる。体表部位での殺菌機構としては、体液細胞による捕食や損傷部位補修を兼ねる体液凝固系の他に、抗微生物ペプチドの傷害部での誘導などが知られている。

我々が研究対象としている複数種の海洋生物には、生体防御因子と考えられる多くの抗菌・抗腫瘍蛋白質が見られるが、いずれも高分子蛋白質であり、アメフラシ、タツナミガイの体液液に含まれるものを除くと、体表部位での防御に直接関与するものはなかった。このようなことから、我々は微生物密度が高い海洋中に棲息する生物、ことに強固な外骨格を持たない生物種では体表付近に抗微生物物質を持つことの重要性が特に大きいものと考え、タツナミガイ体表、体壁部分から既知 dolabellin とは異なる抗微生物因子の検索を試みてきた。今回は、抗真菌・抗バクテリアペプチドとしてタツナミガイ体表部分から精製した dolabellin B2 の配列を決定したところ、新規ペプチドであったこと、及び、同一材料に見いだした新たな抗微生物活性物質について報告する。

Antimicrobial substances found in the skin and body surface area of *Dolabella auricularia*

Ryosuke Iijima, Akira Satoh, Jun Kisugi and Masatoshi Yamazaki

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

A 3 海洋軟体動物タツナミガイの体壁に見いだされた抗腫瘍性蛋白質

○來生淳, 飯島亮介, 山崎正利

帝京大学薬学部薬品化学教室

私達は、海洋無脊椎動物由来の生体防御物質を検索し、海洋軟体動物後鰓類であるアメフラシ(*Aplysia kurodai*)やタツナミガイ(*Dolabella auricularia*)に7種類の抗腫瘍性物質を見いだしてきた。今回、最も外界にさらされている体壁について検討した。

タツナミガイ体壁由来の抗腫瘍性物質・ドラベラニンB1は、42 kDaの熱・酸・アルカリに不安定な蛋白性の物質であった。また、癌細胞傷害活性は30分という短時間から認められたが、赤血球は傷害されず、単なる界面活性剂的な作用ではないと考えられた。また、ドラベラニンB1には、抗菌・抗真菌活性は認められなかった。

私達が見いだしているアメフラシやタツナミガイ由来の生体防御物質、アプリアニン、ドラベラニンは、分子量が60 kDa以上の高分子であり、それらのほとんどが核酸合成を阻害し傷害活性を示すのに対し、今回見いだしたドラベラニンB1は、傷害時間の短さから既知のドラベラニンとは作用機序も異なることが推定された。

以上、タツナミガイ体壁由来の抗腫瘍性物質・ドラベラニンB1は、私達が既に報告してきた抗腫瘍性物質とは異なる新規の物質であると考えられる。

Antineoplastic Protein from Body Wall of Sea Hare, *Dolabella auricularia*

Jun Kisugi, Ryosuke Iijima, Masatoshi Yamazaki

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

A 4 シャコガイ (*Tridacna crocea*) 体液細胞の生体防御活性について

○中山 光二、丸山 正

海洋バイオテクノロジー研究所、釜石研究所第4研究室

【目的】我々は共生二枚貝の一種であるシャコガイの生体防御機構について研究を行っている。昨年の本会でシャコガイ体液中に見出される体液細胞について報告した。今回体液細胞の生体防御反応の中で殺菌作用に関わる活性酸素の産生及びフェノールオキシダーゼ活性について検討したので報告する。【方法】シャコガイ (*Tridacna crocea*)、トリガイ (*Fulvia mutica*)及びカキ (*Crassostrea gigas*)を実験に用いた。活性酸素の内、特に重要なスーパーオキシドアニオンの産生はMCLAを用いた化学発光法で測定した。活性酸素産生刺激剤としてはLPS、ZymosanA及びPMAを用いた。

【結果】カキの場合、PMAによる刺激で顕著なスーパーオキシドアニオンの産生が観察された。それに対してトリガイではPMA刺激を受けても微弱な産生しか観察されなかった。シャコガイでは全く産生が観察されなかった。また、フェノールオキシダーゼ活性染色の結果ではトリガイ液胞細胞 (vacuolated cell)中に顕著な活性が観察されたが、シャコガイではどの体液細胞中にも活性が認められなかった。以上の結果はシャコガイにおいては食食能以外の顕著な生体防御反応が欠如していることを示している。【謝辞】本研究開発は産業科学技術研究開発の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構から依頼を受けて実施したものである。

Self-defense activities of hemocytes in the giant clam, *Tridacna crocea*

Koji Nakayama, Tadashi Maruyama

Marine Biotechnology Institute, Kamaishi Laboratories

A 5

マガキの生殖にともなう血球の食食活性の変動

° 石川春彦・高橋計介・尾定 誠・松谷武成・森 勝義

東北大学大学院農学研究科水圏生物生産科学講座

マガキは顕著な生殖周期をもっており、この進行にともなう生殖素の形成、放出、そしてその後の回復に費やされる時間とエネルギーは多大なものであり、血球の食食能をはじめとする生体防御活性は、大きな影響を受けていると考えられる。本研究では、宮城県女川湾の同一場所に垂下したマガキを1996年5月から毎月サンプリングして、組織標本を作成し、各月・各個体の性成熟段階を把握した上で、FITCイーストに対する血球の食食率・食食指数および単位血リンバあたりの異物排除能を示すクリアランス指数を算出し、それらの生殖周期の進行にともなう挙動を調べた。

血球の食食活性は、性成熟の進行にともなって高くなる傾向にあり、生殖巣が成熟期に達した個体の血球が最も高い食食率、食食指数を示し、血リンバのクリアランス指数も最高になったことから、このときの個体が最も高い生体内異物の排除能を示すと考えられた。また、放卵・放精後の個体では放卵・放精前と比べて食食活性が大きく低下した。また、水温が10℃以下になり、生殖巣の発達が休止状態にある個体では血球の食食活性および血リンバの異物排除能は低くなる傾向にあった。以上のことから、血球の食食活性は、水温などの環境因子の影響とともに、性成熟にともなう体成分の変化や放卵・放精にも大きな影響を受けていることが考えられた。

Effect of reproductive cycle on seasonal variation of phagocytosing activity in the hemocytes of *Crassostrea gigas*

° Haruhiko Ishikawa, Keisuke Takahashi, Makoto Osada, Takeshige Matsutani and Katsuyoshi Mori

Laboratory of Aquacultural Biology, Division of Agriculture, Graduate School, Tohoku University

昆虫と植物の攻防作戦

西田 律夫

京都大学農学研究科化学生態学研究室

地球上に繁茂する植物は20万種、それらの植物と密接に関わりながら生存する昆虫は100万種を上まわるといわれている。3億年に及ぶ両者の相互作用のなかで、植物は一次代謝物として豊富な食物資源を提供すると同時に、有毒のアルカロイド・テルペノイドなど多様な二次代謝物を生産して食害に抵抗してきた。昆虫は、それらの有害物質を回避あるいは克服する能力を発達させ、自らの適応範囲を確保・拡大してきた。果てしなく繰り返される植物-植食者間の攻防は軍拡競争 (Arms race) に例えられ、植物が装備する無数の二次代謝物はその中で「共進化的」に発達してきた産物であると考えられている。ここに昆虫と植物の間で繰り返されるさまざまな相互作用を化学生態学の立場から解析し、特に両者の界面に働く情報化学物質 (Semiocemicals) に注目し、相互の適応メカニズムを考察してみたい。

昆虫の攻撃-カイロモン：植食性昆虫は、カイコと桑の関係のように単一の植物しか食べないもの (単食性) あるいはアゲハチョウのように柑橘類・サンショウ (ミカン科) など近縁の植物のみを食べるもの (狭食性)、そしてかなり広範囲の植物群を食うバッタやヨトウガなど (広食性) に大別される。大部分の昆虫は狭食性であり、これらの種に食草以外の植物を無理やり与えても餓死あるいは中毒死する場合が多い。多くの植物は、植食者にとって有害な物質をパックした危険な食べ物であり、昆虫は先祖が代謝能力を獲得してくれたごく限られた植物にのみ適応している。そのため、自らの食草を的確に認知する優れた能力を発達させている。たとえば、アゲハチョウの母蝶は、ミカン科植物の葉に含まれる特有の物質群を前肢で触れることによって知覚し正確に産卵する。これら産卵刺激物質の中にはもともと植物が化学障壁として産生したと思われる物質 (フラボノイド・アルカロイドなど、後述) も含まれている。このように、特定の化学シグナルの発信者 (植物) に不利、受信者 (昆虫) に有利に働く情報物質をカイロモン (kairomone) と呼んでいる。

植物の防衛-アロモン：バッタの大群は有史以来、人類を飢餓の苦しみに陥れてきた。「飛蝗」のあとの草原は地肌がむき出して緑はほとんど残っていないという。移動相のバッタは極めて解毒能力が高く、植物の化学兵器はあまり効力が無いらしい。バッタの通過したあとにかろうじて残された緑色植物の多くは強力な摂食阻害物質を含んでいることが知られている。このように発信者側に有利、受信者に不利に作用するアロモン (Allomone) は植物の防御物質として広く生産されている。このほか昆虫の代謝系やホルモン系に作用して生理攪乱させる物質もある。このような情報物質は、草食者の強い淘汰圧の中で共進的に産み出されてきたものと考えられている。

昆虫と植物の協調-シノモン：高等植物の多くは、美しい花の色素や甘い蜜と香りを創造し、受粉をとおして種族の運命を昆虫に託している。ある種のミバエの雄は特定の花の香を集めてきて雌の前でこれを放散し誘惑する。この場合、昆虫の性選択を介して植物との間に特異的な共生関係が成立している。このように生物種間で相利的に働く情報物質シノモン (Synomone) は協調的共進化の産物と見なされる。

昆虫と植物の相互関係の中で産み出された情報化学物質は幾重にも機能をもち複雑多岐である。このような生態系のネットワークの暗号を体系的に解きほぐしてゆくことは両者の適応進化の過程を理解する上に極めて重要な意味をもっていると考えられる。

Arms Race between Plants and Insects

Ritsuo Nishida

(Chemical Ecology Laboratory, Faculty of Agriculture, Kyoto University)

有毒海洋生物の毒の存在意義については、古くから議論されてきたにもかかわらず、その意義が不明なものも数多く存在している。しかし、有毒生物の生態を観察することにより、毒の存在意義が明らかになったものもある。まず、餌生物の捕食のために毒を積極的に利用している例として、クラゲ類の刺胞毒、タコの唾液腺の成分セファロトキシン、イモ貝類の刺毒をあげることができる。次に、魚の毒棘の毒および皮膚毒あるいは巻貝類の皮膚毒のように、毒が捕食から免れる防御物質として機能しているケースも知られている。さらに、サンゴや海綿などの定着性生物のように、他の生物が自分の体表に着生しないようにするために毒を活用している例も少なからず知られている。一方、毒がその生物の体内で何らかの生理的役割を果たしていると推察される場合もあるが、この問題を解明するアプローチのひとつとして、毒の生理作用あるいは薬理作用を明らかにする研究が重要であると考えられる。このような研究成果は、ただ単に生物毒の存在意義の解明だけではなく、生体の生理機構解明の研究の飛躍的な進歩に貢献するとともに、創薬研究の新しいアプローチを可能にする。

イオン動態を直接制御して細胞の機能を調節している部位（蛋白質）をイオンチャンネルと呼ぶ。このイオンチャンネルに選択的に作用する物質はチャンネル蛋白質に特異的に結合するため、その分子の実体や開閉機構の解明になくはならぬ薬理試薬として多くの研究者に汎用されている。魚貝類による食中毒の原因となる毒のなかには、 Na^+ チャンネルに特異的に結合して毒性を発現するものがある。その代表的な例として、フグ毒、イガイやホタテガイなどの二枚貝の麻痺性貝毒、シガテラ魚毒が知られている。最近、これらの毒の起源として海洋細菌やプランクトンなどの海洋微小生物が注目されている。なお、一種のシガテラ魚毒のマイトトキシンが、新しいメカニズムによって細胞内 Ca 流入を引き起こし、しかもその効力は最強であることが演者らの研究によって初めて明らかにされた。

イモ貝類は、毒矢を用いて餌生物を麻痺させて捕食するが、その食性により、魚食性、貝食性および虫食性の三つに大別される。演者らは、アンボイナの毒腺からペプチド性の毒（ジェオグラフトキシン類）を単離してその薬理作用を検討した結果、骨格筋の Na チャンネルを特異的に阻害することが明らかとなった。また、アンボイナには神経の Ca チャンネルを特異的に阻害するペプチド性毒 ω -コノトキシン類も含有されており、これらのペプチド毒が毒性発現に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。一方、演者らは、カリブ海産ホヤから抗ウイルス性物質として単離されたユージストミン類に Ca 遊離チャンネルから強い Ca 遊離を引き起こすことを見出した。その誘導体の、9-メチル-7-プロモユージストミン D (MBED) がカフェインの 1000 倍も強い Ca 遊離活性を示すことが明らかとなった。MBED の ^3H -標識化合物を合成し、その結合蛋白質の精製を進めている。

Biological significance of toxins from marine organisms and their utilization – approach from pharmacological studies

Yasushi Ohizumi

(Department of Pharmaceutical Molecular Biology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University)

第 2 日 目

一般講演 : B 1 ~ B 3

C 1 ~ C 3

D 1 ~ D 3

シンポジウム : S 1 ~ S 6

B 1

ブラナリア原体腔内に構築される生体防御系
°和合 治久・金澤 めぐみ・狩野 久美・添野 奈央
埼玉医科大学短期大学臨床検査学科免疫学

ブラナリアの体表粘液にはヒトA型赤血球を強く凝集するレクチンが存在し、体表の生体防御反応に役割を果たしている。しかし、ブラナリアの原体腔中の細胞性および液性の防御因子については未知である。そこで本研究では、血液細胞の観察と食細胞の同定ならびに液性の細胞障害因子の検討を行った。冷却したブラナリアを中央部で切断し流出してくる体液細胞を経時的に観察した結果、数種類の血液細胞が存在し、特に顆粒細胞系の細胞は1分以内に崩壊すること、大型の表面が滑らかな細胞や透明な無顆粒細胞は10分以上安定であることがわかった。一方、細胞性防御反応を調べるためヒツジ赤血球やラテックス粒子を異物として実体顕微鏡下で原体腔内に注入した結果、顆粒細胞系の細胞が異物を食食しているのが観察された。加えて、体表粘液レクチンを結合した赤血球への食作用も調べた結果、わずかに食作用が上昇することが判明した。次に体液中の細胞障害因子を溶血および溶菌現象から検討した結果、ヒトA、B、O、AB型の赤血球を溶血したり大腸菌を溶菌する障害因子が存在することが判明した。この細胞障害因子の生化学的性状を調べると、56℃あるいは100℃の熱処理で不活化すること、活性の発現にCa²⁺が必要であること、トリプシンに抵抗すること、などがわかった。SDS-PAGEによりこの細胞障害因子を解析したところ、体液中の分子量125kd蛋白質が赤血球に吸着することがわかった。以上の結果から、ブラナリア原体腔中には食細胞による血球反応と異物に障害を与える液性反応が存在することが示唆された。

Host defense system in the protocoel of planaria

°Haruhisa Wago, Megumi Kanazawa, Kumi Kano and Mao Soeno

Department of Medical Technology, Saitama Medical School Junior College

B 2

ミミズの coelomocyte における perforin の局在

°小宮山一雄¹⁾、吉村誠¹⁾、岡上真裕¹⁾、岩瀬孝志¹⁾、Edwin Cooper²⁾、奥村康³⁾、茂呂周¹⁾
日本大学歯学部病理¹⁾、カルフォルニア大学神経生物²⁾、順天堂医学部免疫³⁾

目的：ミミズの coelomocyte にヒトやマウスと同様に、natural killing activity があることが明かにされ、下等動物の細胞性免疫機能として注目されている。しかし、killing のメカニズムの詳細は未だ明かでない。ヒトおよびマウスでは、killing factor の一つとして perforin が重要な役割を果たしている。我々は coelomocyte の電顕的観察から、下等動物においても perforin 様の蛋白の存在を想定し、coelomocyte における perforin 様の蛋白の局在を免疫組織学および mRNA のレベルで検討した。

材料：coelomocyte は、ミミズ (*Lumbricus terrestris*) から、Cooper らの方法に準じて、電気的刺激により分離した。coelomocyte の同定には Thy-1, Lyt2, L3T4, Ia, CD3, CD11, CD45 および CD68 を用いて行い、Natural killing factor の検索に perforin 抗体を用いた。natural killing activity は K562 を target cell として ⁵¹Cr release 法により測定した。Perforin mRNA の検出には、primer をマウスとヒトでホモロジーの高い場所から選び、マウス perforin cDNA を probe とした RT-PCR および southern blot 法を行った。また PCR products について sequence をおこないヒトおよびマウス perforin cDNA と比較した。

結果：ミミズの coelomocyte のうち、killing 活性があるとされる small granular type は Thy-1 陽性で、それらの内約 30% が perforin 陽性であった。さらにわずかながら Lyt2 陽性細胞を認めたが、L3T4 は陰性であった。細胞内顆粒はヒト NK 細胞より大型で killing 活性が強かった。PCR product について sequence を行ったところ、southern blot で hybridize したミミズ perforin mRNA はヒトおよびマウスと約 50% のホモロジーを示した。

Perforin in earthworm coelomocyte.

Kazuo Komiyama¹⁾, Makoto Yosimura¹⁾, Masahiro Okawa¹⁾, Takasi Iwase¹⁾, Edwin L Cooper²⁾, Ko Okumura³⁾, Itaru Moro¹⁾.
Dept. of Pathol. Nihon University Sch. of Dent., Dept. of Neurobiol. Univ. of California, Dept. of Immunol. Juntendo Univ. Sch. of Med.

B 3 **Anticoagulatory effect of an earthworm, *Lumbricus rubellus*, was due to deoxyribonucleic acid**

Gyoung-Mi Kim, Kyoung-Hee Yu, Seung R. Paik, and Chung-Soon Chang*

Department of Biochemistry, College of Medicine, Inha University, Incheon 402-751, Korea

An earthworm known for its anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, and anticancer effects has been recognized for its facilitatory effect on blood circulation as a folk remedy. After complete heat inactivation of endogenous proteases in an earthworm, *L. rubellus*, an anticoagulant was purified to 2,800-fold through ammonium sulfate fractionation, gel permeation chromatography (Sephacryl S-300, Sephadex G-75 and G-150), and C4 reversed-phase HPLC. This water-extractable and hydrophilic activity was stable under heat (100 °C for 30 min.) and acidic conditions (0.4N HCl), which could make the anticoagulant be survived from hostile environments during its way to blood circulation from oral administration. In order to uncover the biochemical nature of the molecule, the anticoagulant was processed with various hydrolases such as trypsin, DNase, RNase, and lysozyme and the resulted samples were analyzed with an in vitro coagulation test and agarose gel electrophoresis. This anticoagulant was turned out to be a relatively homogeneous DNA fragment with a relative size of around 72 base pairs. Since this DNA from the earthworm exhibited moderate acceleration of the antithrombin III inhibition of thrombin compared to heparin, we expect that the DNA could be used as an alternative antithrombotic agent.

C 1 **The morphological changes of *Tenebrio molitor* hemocytes *in vitro***

Hyun Joo Moon^{*}, Mi Young Cho^{*}, Hyun Seong Lee^{*}, Kang Moon Lee^{*}, Haruhisa Wago[#] and Bok Luel Lee^{*}

^{*}College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea

[#]Laboratory of Immunology, Department of Medical Technology, Saitama Medical School Junior College, Moroyama, Saitama 350-04, Japan

Hemocytes play an essential role in defending insects and other invertebrates against invading parasites and pathogens. We have been studying the biochemical properties of antimicrobial proteins and pro-phenoloxidase in coleopteran insects, *Holotrichia diomphalia* and *Tenebrio molitor*. In order to determine the localization of these insect defense proteins, we have to classify and characterize hemocytes in detail. In this study, we have examined the morphological changes and features of *T. molitor* hemocytes in both light and scanning electron microscopy. Six kinds of hemocytes (prohemocyte, plasmatocyte, granulocyte, spherulocyte, podocyte and oenocytoid) have been observed *in vitro* in the presence of insect saline, triggering the formation of filopodia and lamellipodia from granulocyte and plasmatocyte, respectively. Interestingly, oenocytoids lysed and induced a rapid morphological transformation. The proportion of adhesive plasmatocyte, granulocyte and podocyte was 8%, 88% and 4% in insect saline, respectively. The anti-coagulant buffer inhibited the formation of filopodia and lamellipodia in granulocyte and plasmatocyte, but induced adhesion of prohemocytes. The proportion of attached prohemocyte, granulocyte and plasmatocyte was 89%, 9% and 2%, respectively. Finally, we have observed the effects of β -1,3-glucan on total hemocytes by SDS-PAGE. We purified new induced protein band by the incubation of hemocytes with β -1,3-glucan and characterized its biochemical character.

C 2 **Purification and characterization of two kinds of encapsulation-related proteins in coleopteran, *Tenebrio molitor* larvae**

Mi Young Cho^{*}, Koichi Homma[#], Shunji Natori[#] and Bok Luel Lee^{*}

^{*}College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea

[#]Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

One of the well-known cellular immune responses in insects is encapsulation, in which insect haemocytes attach to the foreign target, eventually forming a smooth capsule comprised of overlapping layers of cells. Nevertheless, there are only few studies in the molecular mechanism on capsule formation. In this study, to regain the capsule materials attached to the resins, we have injected three kinds of Sepharose resins into the *Tenebrio molitor* larvae. Compared to the uncharged or negatively charged resins, positively charged ones were the strongest provocator for capsule formation. We purified two specific proteins concerned with the initial phase of the encapsulation from injected weak anionic exchange resin and determined their partial amino acid sequences and NH₂-terminal amino acid sequence. The molecular weights of purified two proteins on SDS-PAGE were 50kDa and 43kDa, respectively. Additionally, we examined the possibility of the melanizable components concerned with the initial step of encapsulation. The recovered resins were specifically stained by *L*-DOPA. On these bases of our study, we suggest that the components of the initiation step of encapsulation include phenoloxidase-like molecule which is able to melanize the foreign target.

C 3

蚊におけるマラリア原虫認識に関わる因子について

小林陸生・佐々木年則・安居院宣昭

国立感染症研究所・昆虫医科学部

マラリア媒介蚊を含む昆虫類の生体防御機構には脊椎動物の免疫機構と異なりアミノ酸配列を認識する機構が存在しない。Collinsら (1986)はガンビエハマダラカ (*Anopheles gambiae*)のサルマラリア (*Plasmodium cynomolgi*)に対する非感受性系統の選抜淘汰に成功し、選抜系統はネズミマラリア、トリマラリア、ヒトマラリアなど多くマラリア原虫に対して非感受性を示した。直接のマラリア原虫殺滅機構はオーキニートの周囲にメラニンが沈着する蚊の生体防御機構 (メラニン化) である。昆虫体内における異物のメラニン化はProPO活性化系が関わり、この反応系はLPS, β -1,3グルカン, ペプチドグリカンなどによってスタートすることは分かっているがその他の機構は未だ不明である。我々はヤブカ体液中にシアル酸特異的なレクチンが存在し、この分子が異物のメラニン化に関わっていることを既に報告している。ネズミマラリア感染カの中腸とヤブカ体液とを反応させると中腸上のオーシスト (Os) がメラニン化されることから、Os表面にシアル酸が存在することが想像された。そこで、蛍光ラベルのレクチンを用いてレザ一顕微鏡で観察したところ、シアル酸特異的なレクチン (LFA) がOs表面に付着することが明らかとなった。これは蚊体液レクチンがマラリア原虫の認識に関わる可能性を示唆しており、異物認識機構をマラリア対策に応用する可能性を秘めている。

Recognition factors of mosquitoes to malaria

Mutsuo Kobayashi, Toshinori Sasaki, Noriaki Agui

National Institute of Infectious Diseases

D1 モノクローナル抗体を用いたキタムラサキウニ溶血因子の溶血作用の解析

○桑村 淳子・尾定 誠・高橋 計介・松谷 武成・森勝 義

東北大学大学院農学研究科水圏動物生産科学講座

キタムラサキウニの生体防御機能解析の一環として、体腔液に存在するオプソニンであることが示唆された溶血因子の機能を調べる目的で、溶血因子に対するモノクローナル抗体を作製し、その溶血作用の解析を試みた。抗原には最も溶血の比活性が高い60-70%飽和硫酸塩析画分を用い、ハイブリドーマ細胞の選択は、ウサギ赤血球溶血阻害と抗マウスIgG抗体吸収操作による溶血阻害の解除を指標としたスクリーニングによった。その結果、D11C6 (IgM), A2E9 (IgG1), E6F6 (IgG1)の3株の確立に成功した。培養上清の抗体価はELISAでIgMが1024, IgG1はともに4096, 溶血阻害では3種とも2だった。固定ウサギ赤血球への溶血因子の結合はIgMによってのみ阻害されたことから、IgMは溶血因子の異物結合領域を、IgG1は溶血作用もしくはそれに関連する領域を認識することが判った。また、溶血因子は白色桑実細胞にのみ局在していた。ゲルろ過上での溶血因子の分子量は約90kDa, ウェスタンブロッティングではサブユニットが48kDaと推測され、体腔細胞溶解質にも同じバンドが検出された。さらに、3種の抗体はすべてこのサブユニットを認識した。ゲルろ過溶出画分のELISA分析では、溶血因子画分に対する抗体の反応性がIgG1に比べIgMで顕著に高かった。これらの事実から、溶血因子は非共有結合でホモ2量体からなる分子で、異物結合領域を持ち、それとは別にサブユニットの会合域に分布すると思われる溶血作用領域も持つと推測された。

The analysis of hemolytic function of hemolysin by monoclonal antibody in the sea urchin *Strongylocentrotus nudus*.

○Junko Kuwamura, Makoto Osada, Keisuke Takahashi, Takeshige Matsutani, Katsuyoshi Mori

Laboratory of Aquacultural Biology, Division of Agriculture, Graduate School of Tohoku University

D2 マボヤ血球 (Giant cell) のモノクローナル抗体による解析

○沢田知夫・徳田信子・王玉雪・福本哲夫

山口大学医学部解剖学第一講座

これまで、主に形態学的特徴によりマボヤの血球を分類・解析してきたが、さらにいろいろな実験系において解析を進めるためには、それぞれの血球の種類を識別するためのマーカーとしてのモノクローナル抗体の作成が望まれる。今回、我々はGiant cells (Granular cells type 2: by Sawada et al. 1991)に対する抗体98Rを作成し、その特異性などに関する解析を行った。

Ca²⁺・Mg²⁺-free (0.5M NaCl, 5mM EDTA) 溶液中の生細胞を98R抗体で染色すると、Giant cellsが染色された。血球を海水に浮遊しスライドグラス上で10~15分静置して付着伸展させた標本(メタノール固定)では、視野全体に拡散した分泌物と思われる細胞外物質が染色され、さらにGiant cellsが強く染色された。マボヤ体壁の組織切片(メタノール固定・凍結切片)では結合組織のマトリックスが一様に染色され、その他に一部の細胞が強く染色された。このように98RがGiant cellの膜表面抗原を認識することが、陽性細胞の位相差顕微鏡像とガラスに付着・伸展した時の形態的特徴から確認され、切片中の陽性細胞はGiant cellsであると考えられた。しかし、陽性細胞の一部に小型の細胞が含まれており、これらの細胞はこれまでのGiant cellsの定義と合わない。これらが分化・成熟途中のGiant cellsである可能性に関してはさらに検討中である。

Monoclonal antibody against a hemocyte type (giant cells) of *Halocynthia roretzi*

Tomoo Sawada, Nobuko Tokuda, Yu-shu Wang, and Tetsuo Fukumoto

Department of Anatomy, Yamaguchi University School of Medicine

D3

マボヤの *in vitro* 血球凝集のトリプシンによる増強と
58kDaプロテアーゼインヒビターによる抑制

阿部健之・大竹伸一・宍倉文夫・田中邦男

日本大学医学部生物学

原索動物マボヤ (*Halocynthia roretzi*) の血漿58kDaプロテアーゼインヒビター (58kインヒビター) はトリプシン等のセリン酵素の活性を阻害する。その阻害様式は、slow-binding inhibitionと、トリプシンと1:1のSDS-stable複合体を形成するものであった。また、酵素によって分解される2経路が判明した。一方、Pantinの人工海水に懸濁した洗浄血球は、放置するとゆっくりと凝集する。96穴プレートのウェルに200 μ lの洗浄血球懸濁液 (約 1×10^7 cells/ml) を入れ、波長415nmで測定すると、凝集の進行に従い吸光度は減少し、開始10分後に約5~10%、30分後に約20~30%減少した。トリプシンを最終濃度0.1 μ g/mlで添加すると、その凝集は30分で約10%増強された。凝集に対する58kインヒビターの効果を調べると、トリプシンによる増強を抑えるばかりでなく、放置による血球凝集も抑制することが認められた。マボヤ58kインヒビターはトリプシンの酵素活性を抑制するとともに、血球凝集に対しても抑制的に作用することが確かめられ、生体内での凝集のコントロールにかかわっている可能性が示唆された。

The potentiation with trypsin and the suppression with endogenous 58 kDa proteinase inhibitor on the hemocyte aggregation *in vitro* of *Halocynthia roretzi*

Takeyuki Abe, Shin-Ichi Ohtake, Fumio Shishikura, and Kunio Tanaka

Department of Biology, Nihon University School of Medicine

S 1

海産二枚貝の生体防御における活性酸素の役割

○高橋計介・森 勝義

東北大学大学院農学研究科水圏生物生産科学講座

海産二枚貝の血球は、いわゆる食細胞であり、生体防御機構においてその食食・殺菌機構は重要な位置を占めていると考えられる。しかし、血球が細菌を取り込んだ後の細胞内殺菌に関して、どの因子が機能しているかについては不明な点が多い。二枚貝の多くの種において、異物を食食させた血球で活性酸素の生成が認められること、原生動物の寄生を受けている個体では活性酸素の生成能が亢進していることなどから、防御的な反応の場に活性酸素が関与し、酸素依存的な殺菌が行われている可能性が示唆されている。しかし、活性酸素の生成と殺菌を直接結び付ける研究結果はほとんどない。今回は、マガキ*Crassostrea gigas*の血球を用いた我々の研究を中心に、海産二枚貝の生体防御における活性酸素の役割を考察する。

哺乳類の好中球などでは、異物の食食時に呼吸バーストがみられ、NADPH oxidaseの活性化によるスーパーオキシドアニオンの大量生成が起こることが知られている。マガキの血球には大別して顆粒球と無顆粒球の2種類の血球種があるが、無顆粒球において明確な呼吸バーストとそれに続くスーパーオキシドの生成が確認されている。また、この反応が哺乳類のNADPH oxidase系のような酵素反応系によるものかについては、無顆粒球で機能的にみるとNADPH oxidase様の酵素活性を示すタンパク質を見出ししている。しかし、分子としての同定性については明らかではない。

細胞内殺菌への活性酸素の関与について明らかにする目的で、我々は低酸素条件下でマガキ血球に細菌を食食させて、好気条件下での殺菌率と比較した。供試した14種類の細菌のうち、6種類で殺菌率が有意に低下したが、殺菌が大きく抑えられるものはみられなかった。2つの条件間で殺菌率に違いがみられない細菌種、例えば*Micrococcus luteus*でも抗酸化力の強いカロテノイド色素の欠損株では好気条件下で非常に強く殺菌され、一方低酸素条件下では殺菌率は有意に低下することから、異物との接触あるいは食食によってマガキ血球が生成する活性酸素が殺菌反応に関与している（一部ではあっても）ことは十分考えられる。多くの細菌種で活性酸素による殺菌効果が認められないのは、活性酸素に対する細菌のエスケープ機構の存在、また血球自身の活性酸素に対する防御反応によるものと考えられる。

活性酸素による殺菌活性は、カタラーゼの添加によって大きく阻害される。無顆粒球では過酸化水素の生成も認められていることから、殺菌反応において過酸化水素が重要な役割を担っていることが考えられる。しかし、過酸化水素自身が殺菌に関与するかどうかは明らかではない。マガキの血球ではペルオキシダーゼと過酸化水素の反応によって次亜塩素酸が生成することが確認されている。また、反応性の高いヒドロキシルラジカルの生成も認められている。実際に殺菌を行っているのはこれらの分子種かもしれない。

ヒドロキシルラジカルは、金属と反応した形で検出されることが多く、マガキ血球に多量に含まれる遷移金属が一連のラジカル反応に強く関わっていることが考えられる。血球のうち1つの細胞種である顆粒球では酵素反応によるスーパーオキシドの生成は認められないが、蛍光プローブを用いた実験によって、強い細胞内oxidantの生成が確認され、阻害実験などからその一部は過酸化水素であることが明らかとなっている。このような非酵素的な活性酸素の生成は、遷移金属の介在による可能性が高い。

Role of reactive oxygen species in defense mechanism of bivalve molluscs

Keisuke Takahashi and Katsuyoshi Mori

Laboratory of Aquacultural biology, Division of Agriculture, Graduate School, Tohoku University

昆虫生体防御因子と活性酸素
小林綾子
東京大学薬学部発生細胞化学教室

昆虫においても、活性酸素は生体防御に重要な機能を有していることが考えられる。ここでは、センチニクバエから見出された新既生体防御因子を紹介し、昆虫生体防御における活性酸素の役割を捉え直してみたい。

1) 活性酸素を介した殺菌作用を示す抗菌ペプチド性化合物

昆虫では、体液中に様々な抗菌物質やレクチンを分泌して、侵入した異物を排除する液性生体防御機構が知られている。異物を注入したセンチニクバエより新たに単離された化合物 5-S-GAD は、活性酸素を産生して抗菌活性を示すことがあきらかになった。5-S-GAD は生体防御時にグルタチオンと β アラニルドーパとの結合により合成される低分子化合物で、細菌膜上に存在する酸化酵素の働きを利用して過酸化水素を生じ、抗菌作用を示す機構が現在考えられている。

2) 血球内での活性酸素産生を促す生体防御因子

体内に侵入した異物をマクロファージ、好中球などの細胞が食食する防御機構は昆虫にも存在する。一般にファゴライソゾーム内では、酵素に依存した活性酸素による殺菌に加え、リゾチーム、カテプシン、ディフェンシン等による殺菌が行われていると考えられている。昆虫においても抗菌蛋白やプロテアーゼが体液細胞に検出されているが、活性酸素種による殺菌作用がどのように血液細胞内に誘導されるのか、その活性化機構については未明である。ザーベシンBという昆虫ディフェンシンの抗菌活性を担う α ヘリックス領域のアミノ酸配列を元に合成された KLKLLLLLKLK というペプチドが、ヒト好中球を活性化し、活性酸素の産生を促すことが示された。このことから、抗菌物質が異物に直接作用するだけでなく、体液細胞にも作用して活性酸素の産生など細胞の活性化を行う可能性が考えられる。

3) 活性酸素により活性化される遺伝子群の転写制御因子

活性酸素は直接異物に作用するだけでなく、生体防御機構の活性化における情報伝達因子としても機能することが考えられる。これまでの研究から、昆虫生体防御蛋白の遺伝子は体液細胞や脂肪体（肝臓に相当する組織）において生体防御時に転写レベルで活性化され、その制御に NF κ B 様の転写因子の結合配列が重要であることが示された。脊椎動物で NF κ B は酸化還元により制御され免疫系遺伝子を活性化する転写因子であるが、その細胞内活性化機構には過酸化水素を含む幾つかの経路が存在し、複雑な制御が予想されている。センチニクバエ生体防御遺伝子の転写制御領域に結合する 59kDa 蛋白は rel ホモロジー領域を有する新たな転写因子であることが最近明らかになった。今後この因子がどのように他の転写制御因子と相互作用し遺伝子発現に関与するのかを解析して行く過程で、活性酸素との関連も明らかになると考えている。

Insect defense molecules and reactive oxygen

Ayako Kobayashi

Faculty of Pharmaceutical science, University of Tokyo

魚類の食細胞でも異物を貪食する過程で活性酸素を産生することが化学発光を測定することで以前から示されており、魚類食細胞においても酸素依存性殺菌活性が生体防御に重要な役割をしているものと考えられている。しかし、その詳細についての検討は比較的少ない。今回は、我々の研究結果を中心に、これまでの魚類食細胞における研究成果を紹介する。

食細胞が異物を貪食する際にまず、酸素消費の増大 (respiratory burst) がみられるが、魚類食細胞における respiratory burst を正確に測定した報告は、ニジマスおよび我々の行ったウナギのみである。ウナギ食細胞の respiratory burst は KCN の阻害を全く受けないが、ニジマス食細胞の respiratory burst は NaN_3 の阻害をある程度受け、魚類食細胞の respiratory burst は哺乳類のそれとは少々異なる活性化経路を有するのかもしれない。

魚類食細胞も respiratory burst 時に活性酸素、すなわち、スーパーオキシドおよび過酸化水素を産生することは多くの魚種で報告されている。さらに、ヒラメの1種 plaice ではヒドロキシラジカルが産生されている可能性が示唆された。魚類好中球にはミエロペルオキシダーゼが存在することから、次亜塩素酸も生成されているものと考えられている。ウナギ好中球を使用し、respiratory burst 時の酸素消費量、スーパーオキシド産生量および過酸化水素産生量を測定したところ、その量比がほぼ 2 : 2 : 1 となり、哺乳類での知見と一致した。また、好中球採集前にカゼインやホルマリン死菌を接種しておく、それぞれの産生量が未処理のものと比較し有意に高くなり、異物の侵入に反応し、活性の上昇した好中球が造血組織から供給されるものと考えられた。

食細胞の活性酸素産生は NADPH 酸化酵素によるが、酸化-還元差スペクトルにより魚類食細胞にもチトクローム b_{558} が存在することが示唆されている。我々は哺乳類で知られているチトクローム b_{558} のラージサブユニットの C 末端アミノ酸残基を合成、このアミノ酸に対する抗体を作製し、ウエスタンブロットによりウナギ好中球での検出を試みたが、ヒト好中球とほぼ同じ分子量領域に反応がみられ、魚類食細胞にもチトクローム b_{558} が存在することが直接的に証明された。さらに、この抗体の反応部位は細胞質内に存在することも示され、構造的にも哺乳類のそれと同様である可能性が示唆された。

産生された活性酸素のうち、魚病細菌に対してはスーパーオキシドよりも過酸化水素が有効であるとの報告が多い。ウナギ好中球においても、SOD による殺菌の阻害は認められず、カタラーゼによる阻害が認められたことから、やはり殺菌には過酸化水素が重要な役割を果たしているものと考えられた。特にウナギ好中球にはミエロペルオキシダーゼがほとんど存在しないことから、過酸化水素への依存は高いものと推察される。サイトカラシン B により食胞の形成を阻害すると、ウナギ好中球の殺菌活性は低下し、さらにカタラーゼによる阻害が認められなくなることから、酸素依存性殺菌活性には食胞の形成が必須であることが明らかとなった。理論的には、食胞内の過酸化水素は数分以内に殺菌に十分な濃度になるものと計算された。

The production and microbicidal action of oxygen radicals from fish phagocytes

Takaji Iida and Takuya Itou

Faculty of Agriculture, Miyazaki University

近年ストレスの概念は獣医畜産領域でも一般化し、経済家畜の生産阻害や疾病発生の要因として重要視され始めている。Fraser(1975)によると、ストレスとは「家畜が環境や管理上の諸因子に対処するために生じる、生理学的に異常あるいは極端な適応」と定義され、またそれらの諸因子をストレスという。それらの中で、寒冷感作と輸送はその後に発生し易い呼吸器病や消化器病との、また去勢は最近関心が高まっている動物福祉との関わりから、それぞれ主要なストレスとして位置づけられている。我々はこれら3種のストレスが牛の代謝、免疫系の各種指標に及ぼす影響について検討したのでその概要を報告する。

トラック輸送：輸送は家畜の運搬手段として必要であるが、一方で輸送後に別名輸送熱とも呼ばれている呼吸器感染症の発生が多いことが従来から知られている。輸送は物理的(急加減速、振動、温度変化、換気不良など)や精神的(閉空間内の行動制限、先行き不可知など)諸因子を含む複合ストレスである。そこで、子牛をトラックで数時間輸送し、輸送前後の血中コルチゾール濃度、白血球数・分画、T・Bリンパ球数の推移やリンパ球幼若化能、好中球殺菌能の変化を観察した。輸送開始によりコルチゾールは著増し、その後好中球増多を伴った白血球数の増加が認められた。T細胞数の減少に対応したリンパ球数の減少が見られた。B細胞数には著変がなかった。リンパ球幼若化能もTリンパ球減少とともに低下したが、時間経過とともに回復した。一方、色素(NBT)還元法あるいは化学発光法で測定した好中球の殺菌能は輸送によって有意に上昇したが、輸送終了に伴い輸送前値に回復した。

去勢：若齢雄牛の去勢は生産性向上や安全管理上不可欠であるが、反面この措置は家畜に一時的とはいえ強い疼痛を生じさせる。そこで、非観血的に挫滅去勢した子牛において、その措置前後の血液諸指標の変化を観察した。コルチゾール濃度は去勢後急速に数倍に上昇したが、2時間後には措置前の水準に回復した。一方、白血球指標に関しては、Tリンパ球の減少が去勢当日に観察され、翌日には好中球増多とリンパ球幼若化能の低下が認められた。輸送事例の変化と比較すると、コルチゾール上昇に伴う血中Tリンパ球の減少は共通していたが、去勢事例の場合、好中球の反応やリンパ球幼若化能については処置当日の反応は微弱で、むしろ翌日に明らかになった。これは局所の炎症が顕著になった時期に対応していた。

寒冷感作：秋から冬にかけて、あるいは気温の急変時に子牛の下痢や肺炎が発生しやすいことが知られている。そこで、環境制御装置(ゾートロン)内で予め常温(22℃)に適応させ、その後急速に低温(2℃)に曝した子牛について白血球数や好中球の化学発光能の推移を観察した。寒冷感作により子牛の白血球数や好中球の発光能は、そのまま常温下で継続飼育した群(常温群)に比べ、上昇する傾向を示した。また健康状態も良好であった。一方、寒冷負荷とともに大腸菌由来リポポリサッカライド(LPS)を投与した実験では、子牛は激しい下痢を示した。また、常温下でのLPS投与時とは異なり、LPS刺激に対する好中球の化学発光能の亢進が見られず、寒冷経過とともにむしろ低下した。すなわち、寒冷とLPSの同時負荷により好中球の殺菌能が抑制されるという結果が得られた。

輸送や去勢時の変化は急性のストレス反応と推察される。また、寒冷感作時の変化は今後の検討を要するが、ストレスと家畜の免疫、疾病との関連を調べる上で興味深い現象である。

Effects of environmental and management stressors on bovine lymphocyte and neutrophil parameters

Hideo MURATA and Hideyuki TAKAHASHI

(Shichinohe Research Unit, National Institute of Animal Health)

芹 康雄

帝京大学医学部内科学講座

ヒトの細菌感染症において、好中球を中心とした食細胞の病巣への動員やその機能の活性化は感染に対する生体防御機構として必要不可欠である。Compromised host において、食細胞の数的・機能的障害が見られる場合は易感染性となる。しかし、現在1つの検査法で食細胞機能を包括的に評価できる臨床上実用的な検査法は数少ない。全血chemiluminescence(CL)法は極微量の血液検体を用いて、顆粒球の活性酸素生成能と血清オプソニン活性を同時に評価することが可能である。今回、本法を用いて感染に伴う顆粒球の活性化の動態や、compromised hostにおけるCL活性の低下と易感染性、および感染症の難治化・重篤化などとの関連性について解析した成績を報告する。

肝硬変、腎不全、糖尿病、SLE、70歳以上の高齢者、担癌患者、重症熱傷患者など約180名の compromised host における全血及び好中球CL活性や血清オプソニン活性を測定し、健常成人のそれと比較した。全血CLの測定はMEM培養液で10倍希釈した試料 1 ml にルミノールを加え、10分間保温後非オプソニン化 zymosan, PMA, 黄色ブドウ菌や肺炎球菌を刺激物としてCLを測定した。病原菌や zymosan などの食作用に付随した全血CL活性は肝硬変、SLE、重症熱傷患者などで低下していた。単位顆粒球あたりのCLや血清オプソニン活性も同患者において低下がみられた。細菌感染症が発症しても全血CL活性が十分に増強しない場合は感染が遷延化し難治性であった。特に重症熱傷患者に発症した敗血症や重症肺炎併発時において全血CL活性が低下している場合は予後不良であった。逆に、全血CL活性が過剰に高値を示す場合には、多臓器障害を併発した症例もみられた。感染の場において好中球を活性化するメディエーターは、エンドトキシン(LPS)などの菌体成分や炎症性サイトカインであるが、これらに対する好中球の応答性がcompromised hostの食細胞において変化がみられるかどうかについても検討した。その結果、AIDSや肝硬変患者の食細胞ではLPSやTNF- α に対する食細胞の応答性(priming効果)が低下していることが明らかとなった。従って、これらの患者においては細菌感染発症時に食細胞の活性化が十分に起こらず感染が難治化する可能性があると思われる。

Role of reactive oxygen species from human phagocytes in infectious diseases.

Yasuo Ono

(Department of Internal Medicine, Teikyo University school of Medicine)

活性酸素とは狭義には酸素分子が4電子還元されて水に至る過程で生じるスーパーオキシドアニオン、過酸化水素、ヒドロオキシラジカルと、酸素分子(三重項)の電子のスピン状態が変わって励起状態になった酸素(一重項)を指す。細胞の中では、これらの活性酸素は出来るだけ生じない仕組みになっているが、酸素代謝の中心であるミトコンドリアの周辺や金属フラビン蛋白質などからはしばしばスーパーオキシドが生ずる。この為細胞内ではSODが働きこれを過酸化水素にし、さらにGSHペルオキシダーゼが働いて水にして解毒している。生体はこの毒性ある活性酸素を利用して、感染防御に役立っている。ヒト末梢血中の好中球、好酸球、単球、組織のマクロファージは異物と接触時に多量のスーパーオキシドを産生するが、我々はこのスーパーオキシドは総て細胞外やファゴソーム内に向かって放出される事を示した。スーパーオキシドは、そこで非酵素的不均化反応により過酸化水素に変わり、好中球では顆粒から放出されたMPOの働きで次亜塩素酸になり殺菌が行われる。遺伝的にこの系を欠損している慢性肉芽腫症(CGD)などの患者は生命に関わる重篤な感染をくり返すことから、感染防御における活性酸素の重要性がはっきりと認識されている。

スーパーオキシドは、刺激により形質膜に形成される産生系により、細胞内のNADPHから電子が運ばれ細胞表面近くで酸素に渡されることにより生じる。この系に関与するのは、大小のサブユニット(gp91、p22と呼ばれそれぞれX及び第16染色体にコード)からなるb型シトクロムと、刺激以前には細胞質に検出される3種の蛋白質(第1および第7染色体にコードされているp67、p47および小分子GTP結合蛋白質のRac)である。CGDではRac以外の4種の蛋白質の何れかに欠損がある。本邦では20ないし25万人に一人の割合で出生していると推定され、現在200名を上回る患者が把握されているが、その大部分(83%)はシトクロムの欠損で、大鎖の欠損は78%にもものほる。他の欠損はそれぞれ5-10%を占める。シトクロムの大小鎖ではありとあらゆる変異が見られるが、p47の欠損は総てGTの欠失で、その上流のintron-exon領域にいわゆるホットスポットがあることを見いだしている。なお、p67については我々が報告した2例(ATの挿入変異と、exon 8,9の欠失)の他は2例(点変異とexon 3の欠失)が報告されているに過ぎない。CGDの根治的治療としては遺伝子治療が考えられる。現在in vivoで薬剤選択の可能なレトロウイルスベクターを開発し、その基礎研究を進めている。

なお、我々はBリンパ球にもこの系が発現しているのを見だし報告している。Bリンパ球はその細胞表層の抗原を抗体などで架橋すると、スーパーオキシドを産生する。しかしその産生量は好中球の百分の1程度であり、各構成蛋白質の量も少ない。Bリンパ球におけるスーパーオキシド産生の意義が注目されるが、現在の所は不明である。

Oxygen dependent defense against microbial infections

Shiro KANEGASAKI

(The Institute of Medical Science, the University of Tokyo)

第 3 日 目

一般講演 : E 1 ~ E 6

E1 円口類ヌタウナギの補体第3成分(C3)の不安定な分子構造に関する研究

°藤井保・國定里美

広島女子大学 生活科学部 健康科学科

我々は、既に、ヌタウナギ (*Eptatretus burgeri*) の血清中に哺乳類C3に相同の原始的補体成分(ヌタウナギC3と呼ぶ)が存在すること、また、同分子が、C3前駆体の不完全なプロセシングにより、変則的2本鎖($\alpha + \gamma$ 鎖と β 鎖)構造を有していることを報告している。ヌタウナギC3は、非還元下でのディスク型SDS-PAGE(Weber and Osborn法)により、分子量約190kDaの単一のバンドを示した。一方、非還元下で、スラブ型SDS-PAGE(Laemmli法)により泳動されたヌタウナギC3は、単一のバンドを示さず、再現性のある複雑なパターンを示した。すなわち、後者の泳動条件では、2本の主要なバンド(>205kDa及び190kDa)の他に、低分子域に達する2種類のスメアー状成分の存在が認められた。そこで、これら成分の構成鎖の実体を明らかにするため、対角線SDS-PAGE(二次元)法による解析を試みた。その結果、>205kDa域のC3はインタクトな分子ではなく、 α 鎖上の一ヵ所において切断が認められた。一方、190kDa域の分子は $\alpha + \gamma$ 鎖と β 鎖からなるインタクトな分子構造を示した。さらに、スメアーの形成は、泳動中に連続的に起こる $\alpha + \gamma$ 鎖の限定分解、及びこの分解により生じた断片の分子からの離脱に起因することが示唆された。これらの分子崩壊は、メチルアミンで前処理されたヌタウナギC3では起こらなかった。また、カワヤツメC3では、泳動中の分子崩壊は認められなかった。

The association of the subunits of component C3 of hagfish complement is unstable and leads to novel degradation during electrophoresis.

°Tamotsu Fujii and Satomi Kunisada

Department of Health Science, Hiroshima Women's University

E2 β -1,3-グルカンの投与がコイ食細胞のC3-レセプター発現に及ぼす影響

中尾実樹・齋来直人・藤木和浩・°矢野友紀

九州大学農学部水産学科

【目的】 演者らは先に、真菌(3種)由来の β -1,3-グルカンをコイの腹腔内に投与すると、頭腎食細胞の食食活性が著しく高まること、およびこれらのグルカンは *in vitro* で補体第二経路を強く活性化することを明らかにした。本報では、食食活性向上のメカニズムを解明するために、グルカンの投与が頭腎食細胞のC3-レセプター発現に及ぼす影響を調べた。

【方法】 1) スクレログルカン投与および非投与コイから採取した頭腎細胞をPercoll不連続密度勾配遠心法によって分画し顆粒球画分とマクロファージ画分を得た。2) 両画分にEAC(コイの抗体と補体で感作したグルタルアルデヒド固定ヒツジ赤血球)を加えてロゼット形成の有無を倒立顕微鏡下で観察した。3) マウスをスクレログルカン投与魚の顆粒球で免疫してロゼット形成を阻害する3種のモノクローナル抗体を得た。4) スクレログルカン投与魚および非投与魚の顆粒球とマクロファージのC3-レセプター発現量をフローサイトメーターで分析して比較した。

【結果】 1) スクレログルカン投与魚の顆粒球とマクロファージは、非投与魚のそれらと比べて高いロゼット形成を示した。2) ロゼット形成は Mg^{2+} 依存性で、抗コイIgMによっては阻害されなかったが、抗コイC3によって阻害された。3) フローサイトメトリー分析の結果、スクレログルカン投与魚では、食細胞上のC3-レセプターの発現量が増大していることが分かった。このレセプターは2)の結果から哺乳類のCR3(IC3b-レセプター)に相当するレセプターと推定された。

Effect of β -1,3-glucan on the expression of C3-receptors on carp phagocytes

Nakao M., Hohrai N., Fujiki K. and Yano T.

Laboratory of Marine Biochemistry, Faculty of Agriculture, Kyushu University

E 3 ステロイドホルモンのニジマスにおける抗体産生能におよぼす影響

侯亜義, °鈴木 譲, 会田勝美 (東大農)

東大大学院農学生命科学研究科 水族生理学研究室

ニジマスが成熟すると、ステロイドホルモンレベルの上昇と免疫グロブリン(IgM)量の低下が起こり、カビ病に罹患しやすくなる。成熟に関わるステロイドホルモンの免疫機能に対する作用を明らかにするため、未成熟魚に各種ステロイドホルモンを投与し、IgM量、抗体産生能への影響を調べた。

ステロイドの *in vivo* での作用を見るために、テストステロン(T)、コルチゾール(F)、11-ケトテストステロン(11-KT)、エストラジオール-17 β (E₂)を投与した。その結果、体表粘液IgM濃度の急速な減少が認められたが、血漿IgMの変動は明確でなかった。

in vitro でのステロイドの作用を見るために、未熟ニジマスの頭腎、脾臓、血液、表皮から得た白血球を、抗原(TNP-LSP)の存在下または非存在下でF、T、11-KT、E₂と共に18℃で6日間培養後、抗原または抗IgM抗体を吸着させた96穴プレート中に移しELISPOT法によりIgM産生細胞数および特異抗体産生細胞数を計測した。各ステロイドの作用により、IgM分泌細胞数、特異抗体産生細胞数のいずれも濃度依存的に減少した。これらの結果は、リンパ球に対するステロイドホルモンの直接作用が引き起こす免疫能の低下が、成熟ニジマスにおける耐病性低下の原因となっていることを示唆している。

Effect of Steroid Hormones on Antibody Producing Activity in Rainbow Trout

Hou Ya Yi, °Yuzuru Suzuki and Katsumi Aida

Laboratory of Aquatic Animal Physiology, Graduate School of Agricultural and Life Science, The University of Tokyo.

E 4

サケ科魚類の常在腹腔細胞—予報

厚田 静男, °渡辺翼

北里大学水産学部

海水魚の常在腹腔細胞は、その魚種によって著しく異なっており、マクロファージ(M ϕ)のみよりなる魚、M ϕ と顆粒球よりなる魚、M ϕ 、顆粒球、血液細胞でないので分類できない大型細胞よりなる魚、および上記3種の細胞の他リンパ球が存在する魚、の4タイプに分類できる。演者らは、それらの内、3種の細胞を持つマダイを用いて、常在腹腔細胞の分布と由来について第8回学術集会で報告した。さらに、我々は、海水魚と淡水魚の常在腹腔細胞を比較し、魚類の免疫学の研究に用いられる事多いサケ科魚類を用いて、腹腔細胞の利用を検討している。その内、淡水で飼育されているギンザケ *Oncorhynchus kisutch* の腹腔細胞が、哺乳類や今まで報告した海水魚とは異なっていることを見いだしたので報告する。

ギンザケは約15℃で飼育した3年魚を用い、マダイの場合と同様にして腹腔細胞を採取した。採取には5%馬血清添加 Eagle's MEMを用いた。得られた腹腔細胞は、細胞数を計測した後、サイトスピン(Tomy Seiko, SC-2)し、各種染色を行った。

ギンザケでは、4-7x10³cells/g B.W.の腹腔細胞が存在した。多くは、M ϕ で、その他に顆粒球(好中球)、リンパ球、未分化な骨髄球に類似した大型の細胞があった。海産魚でしばしば見られた大型細胞は観察されなかった。現在、これらの細胞の特徴を、酵素活性、微細形態等の面から検討中である。

Resident peritoneal cells of salmonid fish -Preliminary work

S. Atsuta and T. Watanabe

Laboratory of Fish Pathology, Faculty of Fisheries Sciences, Kitasato University.

E5 ウシ脾臓アルコール抽出物による担癌マウス免疫細胞機能の活性化

○寺井瑞枝¹⁾・安田理恵¹⁾・蓮見賢一郎¹⁾・和合治久²⁾

蓮見癌研究所¹⁾・埼玉医科大学短期大学臨床検査学科免疫学²⁾

リン脂質から構成されるウシ脾臓アルコール抽出物(BSAE)は非特異的免疫療法剤として各種悪性腫瘍の治療に応用されている。我々はこのBSAEの連続的接種が正常マウスのマクロファージ機能を活性化し、食食能、遊走能並びにTNF- α 産生能などを高めることを報告した。そこで本研究では、BSAEの連続的接種が担癌状態のマウスの腹腔マクロファージ及び脾臓細胞の免疫機能にいかなる影響を及ぼすのかを知るため、予めBSAEを1日1回皮下に14日間連続接種し、担癌状態にした後もBSAE接種を行って免疫担当細胞の機能を調べた。マクロファージについては、C3H/Heマウスを使用し、MM2癌細胞を接種して、食食能、遊走能、IL1 α 、IL12及びTNF- α などのサイトカイン産生能を追求した。その結果、正常マウスへの影響と同様に、食食能、遊走能並びにTNF- α 産生能が高まることが判明した。一方、脾臓細胞については、BALB/cマウスを用い、Meth-A癌細胞を接種して、CD3、CD4、CD8、asia10GM1などの表面マーカーの発現並びにIL2、IL4、IFN- γ などのサイトカイン産生能について追求した。その結果、検討した表面マーカーの発現はほとんど影響されないこと、IL2及びIFN- γ の産生は促進するがIL4産生は抑制されること、などがわかった。以上の結果から、BSAEの連続的接種で担癌マウスにおいてもマクロファージ機能が活性化すると同時に、脾臓細胞の機能も高まり細胞性免疫が亢進していると示唆された。

Activation of immunocytes of cancer-bearing mice by bovine splenic alcohol extract

○Mizue Terai¹⁾・Rie Yasuda¹⁾・Ken-ichiro Hasumi¹⁾・Haruhisa Wago²⁾

Electro-Chemical & Cancer Institute¹⁾ and Saitama Medical School Junior College²⁾

E6 インターロイキン 15mRNA の選択的スプライシング産物の翻訳効率

○西村仁志¹⁾・鈴木操²⁾・吉開泰信¹⁾

名古屋大学医学部病態制御研究施設¹⁾、熊本大学医学部附属遺伝発生医学研究施設²⁾

【目的】我々は、マウスマクロファージ内におけるインターロイキン(IL)-15のmRNA発現がサルモネラ感染によって高まることを報告した。一方、様々なサイトカインの5'非翻訳領域にはAUGコドンが複数存在し、それらによって翻訳効率が低下することが報告されている。今回、活性化マクロファージに誘導されるIL-15mRNAの塩基配列を詳細に調べ、IL-15タンパク質への翻訳の調節について検討した。【方法】マクロファージにはJ774A.1マクロファージ細胞株を用い、LPSで刺激して1,3,6時間目にmRNAを抽出し、cDNAを作製した。各IL-15エクソンに特異的なプライマーを用いてPCRを行った。さらに、PCR産物の塩基配列を決定した。得られたcDNAをほ乳類発現ベクターpCR3に組み込み、ウサギのレティキュロサイトを用いてin vitroでの転写と翻訳の効率を調べた。さらに、それぞれのcDNAをトランスジェニックベクターpHSE-3'に組み込み、トランスジェニックマウスを作製した。【結果および考察】エクソン1とエクソン8のプライマーを用いてPCRを行ったところ2つのバンドが認められた。それらのDNA塩基配列を決定したところ、エクソン1-2-3-4の組み合わせ以外に、エクソン2を含まないエクソン1-3-4の選択的スプライシング産物が認められた。また、翻訳領域中のエクソン5に未知の遺伝子 ϕ の挿入が認められ、この挿入部位に停止コドンが存在した。それぞれのcDNAの転写効率に差は認められなかった。一方、既報のcDNAの翻訳効率は著しく低く、AUGが3つ存在するエクソン2が欠損しても翻訳効率には差が認められなかった。しかし、エクソン5における ϕ の挿入によって、翻訳効率は著しく高まった。さらに、この翻訳産物のリーダー配列を解析したところ、シグナル配列が存在せず、翻訳されたタンパク質は細胞内に蓄積されることが示唆された。現在、これらのcDNAをトランスジェニックマウスを用いて、細胞内に蓄積されるIL-15タンパク質の意義を解析している。

Translational efficiency is upregulated by alternative splicing of IL-15 mRNA.

○H. Nishimura¹⁾, M. Suzuki²⁾, and Y. Yoshikai¹⁾

Res. Inst. Dis. Mech. & Cont., Nagoya Univ. Sch. Med.¹⁾, Inst. Mol. Embryol. & Genet., Kumamoto Univ. Sch. Med.²⁾

賛助会員・会則・学会の英文案内

および講演発表者名簿

賛助会員

1)白井松新薬株式会社：〒528 滋賀県甲賀郡水口町大字宇川字稻場37-1

TEL:0748-62-3258, FAX:0748-62-9061

2)和研薬株式会社：〒606 京都市左京区北白川西伊織町25

TEL:075-721-8111, FAX:075-721-8189

3)ミツワ理化学工業株式会社：〒755 宇部市朝日町2番21号

宇部支店 TEL:0836-21-4146

4)ミドリ十字中央研究所：〒573 大阪府枚方市招提大谷2丁目1180番地の1

TEL:0720-50-0100, FAX:0720-57-5020

日本比較免疫学会・会則

I. 名称

1. 本会は、日本比較免疫学会(The Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology; JADCI) と称する。

II. 目的

1. 本会は、比較免疫学に関する研究の進歩をはかることを目的とする。

III. 事業

1. 本会は、その目的を達成するため、次の事業を行う。
 - 1) 学術集会の開催
 - 2) 学術集会Abstract集の発行
 - 3) Newsの発行
 - 4) 国際比較免疫学会との交流
 - 5) アジア・オセアニア地区研究者との交流
 - 6) その他、本会の目的に必要と認められる事業
2. 学術集会は役員会が委嘱した学術集会会長が企画・運営する。また、学術集会会長の任期は1年とする。

IV. 会員

1. 本会の会員は、その趣旨に賛同し所定の入会手続きを経たものとする。
 - 1) 個人会員：個人会費を納める者。
 - 2) 賛助会員：本会の趣旨に賛同し賛助会費を毎年継続的に納める者。
 - 3) 2年以上会費を滞納し、催告に応じないときは会員の資格を失う。

V. 役員

1. 本会に、会長1名、副会長1名、庶務・会計1名、会計監査2名、プログラム役員2名、抄録役員1名の役員をおく。
2. 会長は本会を代表する。会長は役員会を主催する。
3. 会長は全個人会員の投票によって、得票数の最も多かった者に決定する。また、役員会は候補者を推薦することができる。
4. 会長を除く他の役員は会長が委嘱する。
5. 役員任期は2年とし、重任、再任を妨げない。但し、会計監査は他と重任できない。

VI. 会議

1. 総会は議決機関であり、会長は原則として年1回学術集会時にこれを招集し、出席会員を以て構成する。
2. 役員会は会長が主催し、原則として年1回開く。

VII. 会計

1. 本会の経費は会費その他の収入をもってあてる。会費は事務局に納める。
2. 会計年度は毎年4月1日より始まり翌年3月31日に終わる。
3. 会計監査役員は、会計年度の終わりにその年度の決算を審査承認し、総会に報告する。

VIII. 会則改正

1. 本会則の改廃は、総会において出席者の2/3以上の賛成を必要とする。

附則

1. 個人会員の会費は、年額3000円とする。
2. 賛助会員の会費は、1口20000円とする。
3. 本会の事務局は、庶務・会計役員が所属する機関の施設におく。
4. 事務局には役員に準ずる補助役員を置くことができる。

THE JAPANESE ASSOCIATION FOR DEVELOPMENTAL AND COMPARATIVE IMMUNOLOGY (JADCI)

OFFICERS

April 1996 - March 1998

PRESIDENT

Shigeru Muramatsu
Kyoto University
Kyoto 606

VICE PRESIDENT

Susumu Tomosaga
School of Allied Health
Sciences
Yamaguchi University
Ube 755

SECRETARY/TREASURER

Emiko Furuta
Department of Anatomy
Dokkyo University
School of Medicine
Mibu
Tochigi 321-02

PROGRAMME OFFICERS

Haruhisa Wago
Laboratory of Immunology
Department of Medical
Technology
Saitama Medical School
Junior College
Saitama 350-04

Masatoshi Yamazaki
Faculty of Pharmaceutical
Sciences
Teikyo University
Sagamiko
Kanagawa 199-01

ABSTRACT OFFICER

Kunio Tanaka
Department of Biology
Nihon University
School of Medicine
Itabashi-ku
Tokyo 173

TRUSTEES

Hiroshi Watanabe
Tokyo Kaseigakuin
Tsukuba Women's University
Tsukuba 305

Akira Wake
Department of Applied
Biological Science
College of Bioresource Sciences
Nihon University
Fujisawa 252

CONSTITUTION

Article I. Name

1. The name of the Association shall be The Japanese Association for Developmental and Comparative Immunology (JADCI).

Article II. Object

1. The Association shall be an organization to advance studies on developmental and comparative immunology.

Article III. Business

1. The Association shall conduct business described below to achieve the Object of the Association.

- 1) Scientific meeting.
- 2) Publication of Abstracts of papers read in the Scientific meeting.
- 3) Publication of a News Letter.
- 4) Communications with International Society for Developmental and Comparative Immunology (ISDCI).
- 5) Communications with scientists in the Asia-Pacific Area.
- 6) Other business which considered essential to achieve the Object of the Association.

2. The Scientific Meeting shall be organized and conducted by a Scientific Meeting Organizer. Term of the organizer shall be one year.

Article IV. Membership

1. Membership in the Association shall be open to scientists who share the stated purpose of the Association. The membership shall be authorized by registration.

- 1) Active (individual) members shall pay yearly dues.
- 2) Corporate Affiliate. Any individual, company, agency, or organization interested in accomplishing the purposes of the Association may become a Corporate Affiliate on the payment of a fee for annual dues to be set at the Business Meeting.
- 3) Members whose annual dues remain unpaid for 2 fiscal years or more are to be notified in writing by the Treasurer, and if still unpaid such a member shall forfeit membership.

Article V. Officers

1. Officers of the Association shall be a President, a Vice-President, a Secretary-Treasurer, two Trustees, two Program Officers, and an Abstract Officer.
2. The President will always serve as a Chairperson. The President will preside over the Council composed of Officers of the Association.
3. Candidates of the President shall be recommended in the Council, and then the President shall be elected by a majority vote of all Active (Individual) members of the Association.
The Council can recommend candidates for the office of President.
4. All Officers except the President shall be asked and nominated by the President.
5. Terms of all Officers shall be 2 years, however, they can be reappointed. Officers except two Trustees can assume two or more appointments.

Article VI. Meeting

1. Business Meeting shall be the most authorized body which will be opened by the President's call. The Business Meeting, consisting of attended members, shall be held once a year as a rule, in conjunction with a Scientific Meeting.
2. The Council composed of the Officers and presided over by the President shall be held annually as a rule.

Article VII. Financial

1. Financial expense of the Association is based on annual dues of members and the other sources of income.
Annual dues are payable to the Business Office.
2. Fiscal calendar shall start April 1 and end on March 31.
3. Trustees shall examine annual accounting by the end of fiscal calendar and report it at the Business Meeting.

Article VIII. Amendments

1. This constitution may be amended at any business meeting of members. More than 2/3 of the votes of active (Individual) members present at the Business Meetings shall be necessary for Amendments.

APPENDIX

1. Annual dues of the active (individual) members are 3000 Japanese yen a head.
2. Annual dues of the corporate affiliate are 20000 Japanese yen an affiliate.
3. Secretary-Treasurer shall be in charge of the Business Office of the Association. The secretary-Treasurer can nominate his/her assistant(s).

Approved: November 28, 1989; Revised: August 28, 1991

** The JADCI is a national organization, but we open our membership to scientists all over the world. If one would like to join the JADCI as an active member, please send your membership dues (3,000 yen) to the bank account described below.*

Name of Bank: The Ashikaga Bank, Omochanomachi Branch
Address of the Bank: Mibu, Tochigi 321-02, Japan
Account Name: Dr. Emiko Furuta, JADCI
Account Number: 430653

講演発表者名簿 (AUTHOR INDEX)

A

Abe, T. D3
 Agui, N. C3
 Aida, K. E3
 Atsuta, S. E4

C

Chang, C. - S. B3
 Cho, M. - Y. C1, C2
 Cooper, E. L. B2

F

Fujii, T. E1
 Fujiki, K. E2
 Fukumoto, T. D2
 Furuta, E. A1

H

Hasumi, K. E5
 Hohrai, N. E2
 Homma, K. C2

I

Iida, T. S3
 Iijima, R. A2, A3
 Ishikawa, H. A5
 Itou, T. S3
 Iwase, T. B2

K

Kanazawa, M. B1
 Kanegasaki, S. S6
 Kano, K. B1
 Kim, G. - M. B3
 Kisugi, J. A2, A3
 Kobayashi, A. S2
 Kobayashi, M. C3
 Komiyama, K. B2
 Kunisada, S. E1
 Kuwamura, J. D1

L

Lee, B. - L. C1, C2
 Lee, H. - S. C1
 Lee, K. - M. C1

M

Maruyama, T. A4
 Matsutani, T. A5, D1
 Moon, H. - J. C1
 Mori, K. A5, D1
 S1
 Moro, I. B2
 Murata, H. S4

N

Nakamura, H. A1
 Nakao, M. E2
 Nakayama, K. A4
 Natori, S. C2

Nishida, R.	SL1	W	
Nishimura, H.	E6		
			Wang, Y. - S. D2
O			Wago, H. B1, C1, E5
Ohizumi, Y.	SL2		Watanabe, T. E4
Ohtake, S.	D3		
Okaue, M.	B2	Y	
Okumura, K.	B2		
Ono, Y.	S5		Yamaguchi, K. A1
Osada, M.	A5, D1		Yamazaki, M. A2, A3
			Yano, T. E2
R			Yasuda, R. E5
			Yi, H. Y. E3
Raik, S. R.	B3		Yoshikai, Y. E6
			Yoshimura, M. B2
S			Yu, K. - H. B3
Sasaki, T.	C3		
Satoh, A.	A2		
Sawada, T.	D2		
Shishikura, F.	D3		
Soeno, N.	B1		
Suzuki, M.	E6		
Suzuki, Y.	E3		
T			
Takahashi, H.	S4		
Takahashi, K.	A5, D1, S1		
Tanaka, K.	D3		
Terai, M.	E5		
Tokuda, N.	D2		

日本比較免疫学会

第9回学術集会講演要旨

原稿受付 1997年6月7日

発行日 1997年7月10日

発行者 日本比較免疫学会

編集者 学術集会プログラム委員
(責任者：和合治久)

印刷所 ヨーコー印刷株式会社

(埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷52-1)

科学者たらんが如くキオ爺やんに見えてくる

知る者の責務は重たい

科学者の良心と能力だけが地球を救える

科学者たらん神の代理を托す

生きとし生けるものは

祈りつけようか 未来のぞく

大学書房 金田英雄

生きていくには それだけが奇跡である

その奇跡のドラマの舞台 地球

今 その地球が危ぶない

科学と文明の世紀と言われた二十世紀

その終章に皮肉な結末を見せられて

人は絶句し 生きとし 生けるものは沈黙する

人のために創られたものが人を教やめ

斬割された価値があらけり 存在に懸いの

私たちは
 養殖事業経営のコンサルティング活動
 栄養剤・医薬品の研究開発
 そして養殖ドクターとして
 幅広いフィールドに取り組む養殖専門集団です。

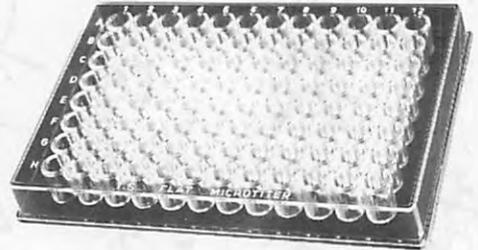


株式会社 **ゴトー養殖研究所**

本社 〒350-13 埼玉県狭山市下奥富 8 8 3
 TEL 0429-55-0555 FAX 0429-52-0027
 営業所 垂水・東町・天草・北松・五島・佐伯・南予

T S マイクロプレート

- | | |
|----------------|-----------------|
| 組織培養用フラット型 | (γ 線滅菌) |
| U型、V型プレート | (γ) |
| フタ上記用 | (γ) |
| ELISA用フラットプレート | |
| U型、V型プレート | (滅菌ナシ) |
| ディスポU型プレート | (γ) |



〒130 東京都墨田区太平1-25-4 株式会社 **豊島製作所** 電話 東京(3624)6461代

LIFE SCIENCE

研究・検査用試薬・機器

仙台和光純薬株式会社

仙台市若林区卸町東二丁目2番32号

TEL (022) 239-2700

FAX (022) 239-2705

理化学機械・医療器械・公害測定機器・各種分析器械・試薬

株式会社 **帝 国 理 化**

〒103 東京都中央区日本橋本町3-2-14

電話 03(3270)4541(代表)

FAX. 03(3270)4544

バイオ機器

マイコン制御による 3ステッププログラム機能

低温インキュベータ

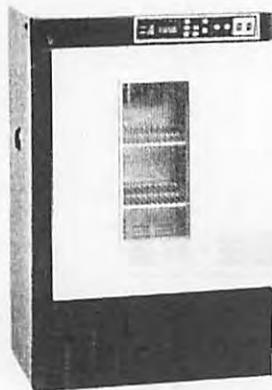
-10°C~+50°Cまで、幅広い温度をマイクロコンピュータでPID制御。さらに3ステップのプログラム運転と、きめ細かい操作を可能にしました。

微生物培養から恒温試験まで幅広く対応し、さまざまな用途にお応えできます。

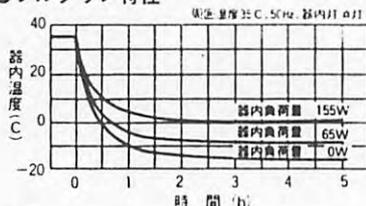
ヒータと冷凍機をともに装備していますから、周囲温度(0°C~+35°C)にかかわらず、器内温度を-10°C~50°Cの間で任意に設定することができます。

1台で培養・保存という機能が可能、たとえば、20°Cの培養後、5°Cにて培養を停止して保存するBOD検査などにも最適です。

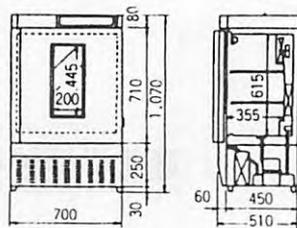
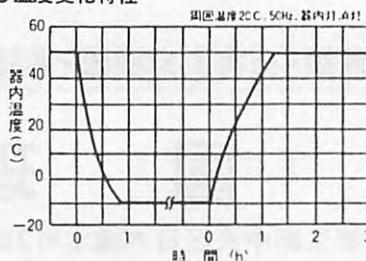
VRB13・130Q



●ブルダウン特性



●温度変化特性



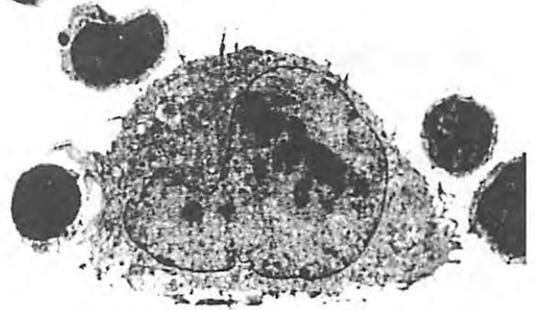
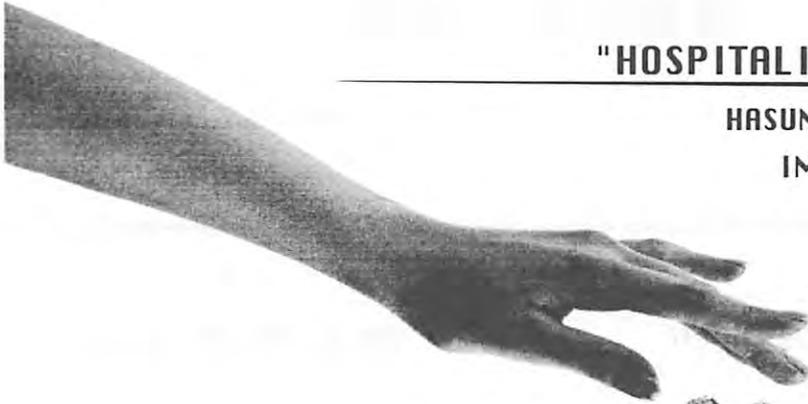
株式会社 **加藤萬製作所**

本社 〒113 東京都文京区本郷3-41-10 TEL.03(3811)7353(代)
TLX.272-3074 KATMAN J FAX.03(3815)6751

埼玉工場 〒322 埼玉県川口市東領家2-37-3 TEL.0482(23)4515(代)

"HOSPITALITY" IS OUR WORD

HASUMI VACCINE
IMMUNOTHERAPY
TERMINALCARE



蓮見癌研究所

〒182 東京都調布市国領町5-45-6

TEL: 0424-82-2037

FAX: 0424-86-6452

DESIGN
&
PRINTING



ヨコ印刷株式会社

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷52-1
TEL 0492-94-3872
FAX 0492-95-1360

協賛団体・企業

平成9年7月10日現在



ゴトー養殖研究所

蓮見癌研究所

豊島製作所

メド城取

三共

財)かき研究所

仙台和光純薬

ヨーカー印刷

ゼオエンタープライズ

浜野顕微鏡店

(代表 浜野一郎)

加藤萬製作所

大学書房

(代表 金田英雄)

池本理化工業

帝国理化



本学術集会を開催するに当たり、上記団体・企業より多大なご援助を賜りました。

ここに、芳名を記して感謝の意を表します。

平成9年7月

日本比較免疫学会事務局 古田 恵美子

