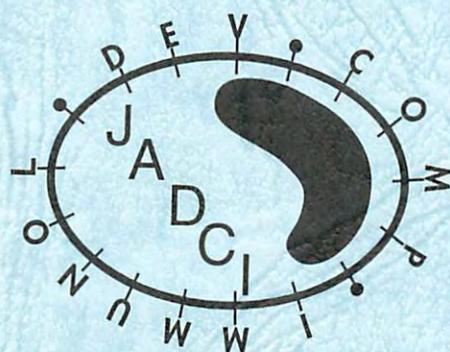


PROCEEDINGS
20th JAPANESE ASSOCIATION FOR
DEVELOPMENTAL & COMPARATIVE IMMUNOLOGY
Tokyo Japan
August 25 to 27, 2008

日本比較免疫学会
第20回 学術集会講演要旨

会期：2008年8月25日（月）～27日（水）
会場：東京医科歯科大学1号館9階講堂
学術集会会長：吉田 彪（臨床パストラルケア教育研修センター）
学術集会 事務局長：中村弘明（東京歯科大学）



日本比較免疫学会

—2008—

Contents

	ページ
目次	1
(Contents)	
日本比較免疫学会学術集会日程	2
(Meeting Schedule of JADCI)	
参加者へのご案内	3
(Information for Participants)	
役員名簿	5
(Officers of JADCI)	
講演プログラム (和文)	6
(Programme in Japanese)	
講演要旨 (Abstract)	
・一般講演 Session A	13
Session B	25
・比較3学会合同シンポジウム	27
・古田賞受賞者講演	33
・特別講演	35
・シンポジウム	37
・一般講演 Session C	43
Session D	49
・会長講演	53
学会会則	55
(Constitution & Bylaws of JADCI)	
英文役員名簿・会則等	57
(Officers, Constitution & Bylaws of JADCI)	
講演発表者名簿	60
(Author Index)	
協賛企業・団体	62
(Contributors)	

日本比較免疫学会 第20回 学術集会

(2008年度)

会期：2008年8月25日(月)～27日(水)

場所：東京医科歯科大学1号館9階講堂

学術集会会長：吉田 彪(臨床パストラルケア教育研修センター)

学術集会日程表

	時間	プログラム内容	
第1日目 (25日)	12:00～	受付	
	13:00～	総会	
	13:45～	開会の辞、一般演題(14演題)	
第2日目 (26日)	9:00～	比較3学会合同シンポジウム 「地球環境問題を考えるー比較生物学からの警鐘ー」 『都市の温暖化と昆虫の生活史』 沼田英治(大阪市大・院) 『磯焼けの原因究明とその対策ー東京の海でいま起きていることー』 黒川 信(首都大学・院)、野原精一(環境研) 駒澤一朗・高瀬智洋(都島しよ農水センター) 『海産腹足類と有機スズ化合物：生殖生理と内分泌攪乱の作用機序』 堀口敏宏(環境研) 『内分泌かく乱物質の作用メカニズム』 井口泰泉(自然科学研究機構・統合バイオ) 『ホヤの大規模トランスクリプトーム解析とその海洋環境科学への応用』 安住 薫(北大・院) 『媒介蚊の分布域拡大とリスク：疾病対策に比較免疫学は貢献するか』 小林睦生(感染研)	
	13:00～	古田賞受賞者講演 「カプトガニに学ぶ自然免疫の分子機構」 川畑俊一郎(九大・理)	
	13:30～	特別講演 『マクロファージの分化、機能と疾患』 内藤 眞(新潟大・医)	
	14:45～	シンポジウム 「マクロファージー生体防御の主役ー」 『陸棲扁形動物及び陸棲軟体動物の生体防御に関わる食細胞』 古田恵美子(比較免疫学研究所) 『昆虫の生体防御を担う食細胞の機能発現』 和合治久(埼玉医大・保健医療) 『ヒト徳幼生間充織細胞の生体防御機能：細胞から分子へ』 古川亮平・金子洋之(慶応大・理) 『ホヤ類の食細胞』 大竹伸一(日大・医) 『魚類好中球の食作用と活性酸素産生能の検討ーアユ好中球の特徴ー』 森友忠昭・世良田 研(日大・生物資源科学) 『ヒト単球由来マクロファージの多様性とその機能』 赤川清子(北里大/感染研)	
		総合討論	
		記念写真撮影	
	19:15～	懇親会	
	第3日目 (27日)	9:00～	一般講演(10演題)
		12:00～	会長講演 『マクロファージ遊走阻止因子(MIF)再訪』 吉田彪(臨床パストラルケア教育研修センター)
		13:00～	閉会の辞

参加者へのご案内

学術集会会場：東京医科歯科大学 1 号館 9 階講堂 （東京都文京区湯島 1-5-45 Tel:03-3813-6111）

連絡先：261-8502 千葉市美浜区真砂 1-2-2 東京歯科大学生物学的研究室 中村弘明
TEL：043-270-3995, FAX：043-270-3996, E-mail：binakamu@tdc.ac.jp

受付：会場にて、8月25日（月）昼の12時00分より開始致します。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、ネームプレートは学術集会終了後に必ずご返却願います。
学会への入会手続き、年会費の納入受付も併せて行います。

参加費：学術集会参加費：5,000円(会員, 非会員)、3,000円(学生)
懇親会参加費：3,500円
(懇親会場は東京ガーデンパレスです。皆様、奮ってご参加ください。)

発表要領：すべて口頭発表（講演時間12分、討論3分）で実施いたします。PC用液晶プロジェクターにより投影して行います。OHP、スライドは使用できません。CDまたはUSBメモリー対応のパソコンを用意しますが（Power Point2003/Win、2001/Mac）、自分のパソコンを接続しても構いません。ファイルのコピー、動作の確認は事前に行ってください。なお、Windows Vista で作成した Power Point ファイルの動作は会場に用意するパソコンでは確認できていません。

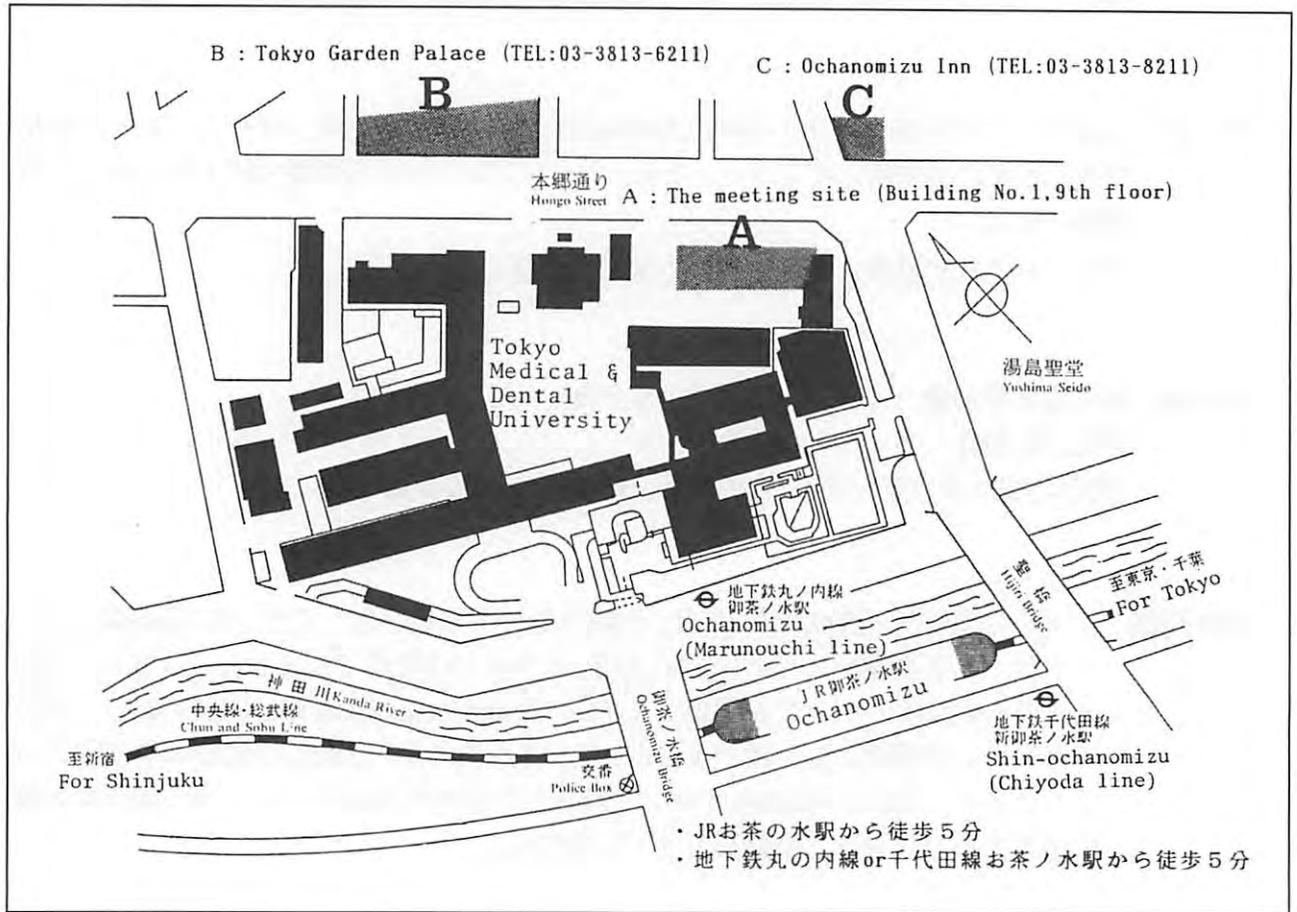
昼食用のお弁当：8月26日（火）は、昼食用の弁当を斡旋します。当日の朝、9時から9時30分までの間、会場内に「弁当受付」を設けますのでご利用下さい。

宿泊案内：ご予約の斡旋はいたしておりません。申し訳ございませんが、各自でご予約ください。会場付近には、東京ガーデンパレス（懇親会場）、御茶ノ水インなどのホテルがあります。

会場へのアクセス

会場および交通案内図

(Meeting Site and Transportation)



日本比較免疫学会・役員名簿

(2008年度)

会 長	吉田 彪	臨床パストラルケア 教育研修センター
副 会 長	川畑 俊一郎	九州大学
庶務・会計 【補助役員】	中尾 実樹	九州大学
	杉本 智軌	九州大学
学術集会担当	中村 弘明	東京歯科大学
	山口 恵一郎	獨協医科大学
抄録委員	飯島 亮介	帝京大学
会計監査	友永 進	昇陽学院
	和合 治久	埼玉医科大学
ホームページ委員	広瀬 裕一	琉球大学

学会事務局：〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

九州大学大学院農学研究院

水族生化学研究室内

TEL:092-642-2894

FAX:092-642-2897

E-mail: jadci2office@gmail.com

jadci2@agr.kyushu-u.ac.jp

第20回学術集会プログラム

第1日目 8月25日(月)

【一般演題】

学会総会 13:00~13:45

Session A 魚類の生体防御機構

座長：中西照幸(日大)

- A 1 13:45~ 補体レクチン経路に關与するコイ血清レクチンの多様性
○一木昭土、畑中大作、杣本智軌、中尾実樹(九州大学大学院 農学研究院)
- A 2 14:00~ コイおよびゼブラフィッシュの膜型補体制御因子
辻倉正和、杣本智軌、鶴木陽子、○中尾実樹(九州大学大学院 農学研究院)
- A 3 14:15~ ギンブナ由来細胞株における4種のMHCクラスI遺伝子のクローニング
および、CHNV感染後の発現動態
○占部慎二¹、鮫島史朗¹、杣本智軌¹、中西照幸²、中尾実樹¹
(¹九州大学大学院 農学研究院、²日本大学生物資源科学部)

座長：中尾実樹(九大)

- A 4 14:30~ オキタナゴ血中のClq様タンパク質
○和田侑士、生井史代、筒井繁行、中村 修(北里大学 海洋生命科学部)
- A 5 14:45~ Major histocompatibility complex (MHC) linkage groups and disease resistance in salmonid fishes; a review
○Johannes Martinus Dijkstra¹, Teruo Azuma², Akiyuki Ozaki³, Ikunari Kiryu⁴, Teruyuki Nakanishi⁵, Mitsuru Ototake⁴, Keiichiro Hashimoto¹ (¹Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University, ²Nikko Branch, National Research Institute of Aquaculture, ³Aquaculture Biology Division, National Research Institute of Aquaculture, ⁴Aquatic Animal Health Division, National Research Institute of Aquaculture, ⁵Laboratory of Fish Pathology, College of Bioresource Sciences, Nihon University)
- A 6 15:00~ 組織特異的に発現するトラフグケモカイン
○末武弘章¹、恩田紀代子²、菊池 潔¹、村山 司²、鈴木 謙¹
(¹東京大学・水産実験所、²東海大学・海洋学部)

休憩 15:15~15:30

座長：中村 修（北里大）

A 7 15:30～ 魚類 IL-4/13 遺伝子の同定および発現解析

○大谷真紀¹、林 宣宏²、橋本敬一郎²、J. M. Dijkstra²、中西照幸¹
(¹ 日本大学・生物資源科学部、² 藤田保健衛生大学・総合医科学研究所)

A 8 15:45～ ギンブナ IL-12 遺伝子のクローニング及び機能解析

○清水裕介¹、吉浦康寿²、瀧澤文雄¹、大谷真紀¹、森友忠昭¹、中西照幸¹
(¹ 日本大学・生物資源科学部・獣医学科 ² 養殖研究所・玉城庁舎)

A 9 16:00～ ニジマス脳における免疫関連遺伝子の発現解析

○相原俊介¹、望月万美子²、J. M. Dijkstra³、森友忠昭¹、中西照幸¹
(¹ 日本大学・生物資源科学部、² 静岡県水産技術研究所・富士養鱒場、
³ 藤田保健衛生大学・総合医科学研究所)

座長：杉本智軌（九大）

**A10 16:15～ ニジマス食細胞NADPH オキシダーゼの性状
-p67^{phox} スプライシングバリエーションの解析-**

○村田学博、世良田研、眞弓雅行、瀧澤文雄、大谷真紀、森友忠昭、中西照幸
(日本大学・獣医学科・魚病学研究室)

A11 16:30～ コイ造血細胞コロニーアッセイ法の検討

○吉田美幸、片倉文彦、山口卓哉、森友忠昭、中西照幸
(日本大学・獣医学科・魚病学研究室)

A12 16:45～ 魚類の皮膚における獲得免疫系

○皆川佳名子、渋谷紀史、吉野由有子、筒井繁行、中村 修、渡邊 翼
(北里大学・海洋生命科学部)

Session B 哺乳類・鳥類の感染防御

座長：中村弘明（東京歯科大）

**B 1 17:00～ 海棲哺乳類のモービリウイルスレセプターSLAMの高次構造モデルによる
宿主特異性の考察**

○大石和恵¹、安藤暁子^{1,2}、鈴木倫太郎³、瀧下清貴¹、河戸勝¹、勝俣悦子⁴、
大津大⁵、奥津健司⁵、徳武浩司⁵、宮原弘和⁶、中村浩隆⁷、村山司²、丸山正¹
(¹ 独立行政法人海洋研究開発機構、² 東海大学海洋学部、³ 農業生物資源研究所、
⁴ 鴨川シーワールド、⁵ 横浜・八景島シーパラダイス、⁶ 沖縄美ら海水族館、⁷ 金沢動物園)

B 2 17:15～ 牛および鶏のB細胞一次リンパ器官内に存在する二次リンパ組織の比較解析

○小塚 祐利子¹、保田 昌宏¹、高梨 資子¹、那須 哲夫¹、村上 隆之¹
(¹ 宮崎大学・獣医解剖学)

第2日目 8月26日(火)

第9回日本比較3学会合同シンポジウム 「地球環境問題を考えるー比較生物学からの警鐘ー」

【日本比較生理生化学会】座長：吉村建二郎（筑波大学・院）

CS1 9:00～「都市の温暖化と昆虫の生活史」

沼田英治（大阪市大・院）

CS2 9:25～「磯焼けの原因究明とその対策ー東京の海でいま起きていることー」

黒川 信（首都大・院）、野原精一（環境研）

駒澤一朗・高瀬智洋（都島しよ農水センター）

休憩 10分間

【日本比較内分泌学会】座長：服部淳彦（東京医科歯科大学）

CS3 10:00～「海産腹足類と有機スズ化合物：生殖生理と内分泌攪乱の作用機序」

堀口敏宏（環境研）

CS4 10:25～「内分泌かく乱物質の作用メカニズム」井口泰泉（自然科学研究機構・統合バイオ）

休憩 10分間

【日本比較免疫学会】座長：吉田彪（臨床パストラルケア教育研修センター）

CS5 11:00～「ホヤの大規模トランスクリプトーム解析とその海洋環境科学への応用」

安住 薫（北大・院）

CS6 11:25～「媒介蚊の分布域拡大とリスク：疾病対策に比較免疫学は貢献するか」

小林睦生（感染研）

昼食 11:50～

古田賞受賞者講演 (座長：吉田 彪)

FP: 13:00～『カブトガニに学ぶ自然免疫の分子機構』

川畑 俊一郎 (九州大・理)

特別講演 (司会：藤田 恒夫)

SL: 13:30～『マクロファージの分化、機能と疾患』

内藤 眞 (新潟大・医)

休憩 14:30～14:45

シンポジウム『マクロファージー生体防御の主役ー』

(司会：友永 進・吉田 彪)

S1 14:45～ 陸棲扁形動物及び陸棲軟体動物の生体防御に関わる食細胞
古田恵美子 (比較免疫学研究所)

S2 15:15～ 昆虫の生体防御を担う食細胞の機能発現 和合治久 (埼玉医大・保健医療)

S3 15:45～ ヒトデ幼生間充織細胞の生体防御機能：細胞から分子へ
古川亮平・金子洋之 (慶応大・理)

休憩 15分

S4 16:30～ ホヤ類の食細胞 大竹伸一 (日大・医)

S5 17:00～ 魚類好中球の食作用と活性酸素産生能の検討ーアユ好中球の特徴ー
森友忠昭・世良田 研 (日大・生物資源科学)

S6 17:30～ ヒト単球由来マクロファージの多様性とその機能 赤川清子 (北里大/感染研)

総合討論 18:00～ (18:15 終了予定)

18:15～ 写真撮影

19:15～ 懇親会 (東京ガーデンパレス)

第3日目 8月27日(水)

【一般演題】

Session C 無脊椎動物の感染防御因子

座長：飯島亮介（帝京大）

- C 1 9:00～ 細胞内寄生リステリア菌感染によるショウジョウバエ新規遺伝子CG90800の
発現誘導
○後藤 彰¹、矢野 環¹、寺島 潤¹、倉田祥一郎¹（¹東北大学大学院・薬学研究科）
- C 2 9:15～ ショウジョウバエPGRP-LEの細胞内認識依存的なオートファジー誘導による
リステリア菌の増殖抑制
○矢野 環¹、三田静香¹、大森弘子^{2,3}、大島吉輝¹、上田 龍⁴、吉森 保^{2,3}、
倉田祥一郎¹（¹東北大・院・薬、²阪大・微研、³CREST、⁴遺伝研）
- C 3 9:30～ モンシロチョウ免疫機能におけるピエリシン-1の役割
○中口(高橋) 梓¹、松本恭子¹、山本真史¹、岩淵喜久男²、戸塚ゆ加里¹、
杉村 隆¹、若林 敬二¹（¹国立がんセンター研究所・がん予防基礎研究プロジェクト、
²東京農工大学・応用昆虫学研究室）

座長：佐々木年則（感染研）

- C 4 9:45～ リポ多糖受容体として機能するカプトガニ Factor C の構造機能解明
○小柴琢己、川畑俊一郎（九州大学大学院・理学研究院・生物科学部門）
- C 5 10:00～ プラナリア創傷治癒反応に関与するレクチン
—既知レクチンおよびレクチン阻害糖を用いた解析—
○木村美智代¹、浅香優子²、塩田祥子²、関根のぞみ²、和合治久¹
（¹埼玉医科大学・保健医療学部、²埼玉医科大学短期大学・臨床検査学科）
- C 6 10:15～ ウニ幼生に感染する細菌の特定と免疫関連遺伝子の発現解析
○日比野 拓¹、Jonathan Rast²（¹埼玉大学・教育学部、²トロント大学・
サニーブルック健康科学センター&医学生物物理学科）

休憩 15分

Session D 無脊椎動物の食細胞

座長：石井照久（秋田大）

D1 10:45～ イトマキヒトデ幼生間充織細胞における食食作用関連タンパク質の探索

○船橋宏美¹、古川亮平²、金子洋之²、森山英明³（¹慶應義塾大学大学院・生命システム情報、²慶應義塾大学・生物学教室、³ネブラスカ州立大学・化学科）

D2 11:00～ 細菌感染魚の食食性顆粒球

○近藤昌和¹、高橋幸則¹、菅原和宏²
（¹水産大学校・生物生産学科、²滋賀県水産試験場）

座長：川畑俊一郎（九大）

D3 11:15～ 貝形虫甲殻類の血球

○近藤昌和¹、友永 進²、高橋幸則¹（¹水産大学校・生物生産学科、²昇陽学院）

D4 11:30～ マボヤの血リンパに対する低温処理の影響

○石井照久¹、澤田知夫²、大竹伸一³（¹秋田大学・教文・生物、²山口大学・医学研究科・器官解剖、³日本大学・医学部・生物）

休憩 15分

会長講演（座長：古田恵美子）12:00～13:00

PL：『マクロファージ遊走阻止因子(MIF) 再訪』

吉田 彪（臨床パストラルケア教育研修センター）

閉会の辞：13:00

一般演題 : A1 ~ A12

B1 ~ B2

A1 補体レクチン経路に関与するコイ血清レクチンの多様性

一木昭土、畑中大作、杣本智軌、中尾実樹
九州大学大学院 農学研究院

Diversity of carp serum lectins involved in the lectin pathway of the complement activation

Akito Ichiki, Daisaku Hatanaka, Tomonori Somamoto, Miki Nakao
Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University

【目的】

哺乳類のレクチン経路においては Mannose-binding lectin (MBL) と Ficolin がそれぞれペプチドグリカンと β -1,3-グルカンを認識し、補体成分の活性化を開始させる^[1]。一方、コイなどの硬骨魚類には、MBL とそのホモログである Galactose-binding lectin (GalBL) が存在し、両者が補体活性化に関与すると報告されている^[2]ものの、Ficolin に相当する補体活性化レクチンの存在は明らかでない。そこで本研究では、コイの補体レクチン経路がどのようなレクチンで構成されているかを解明するために、コイ血清中の Ficolin 様レクチンを単離し、その性状を解析した。また、MBL、GalBL、および Ficolin 様レクチンのオリゴマー構造についても解析した。

【方法】

コイ血清から、7%PEG 沈殿、GlcNAc アガロースおよび Lactose アガロースおよび抗コイ IgM アガロースによるアフィニティークロマトグラフィーによって MBL、Ficolin 様レクチンおよび GalBL を精製した。また、これらレクチンの非変性状態での分子量を、Superdex 200 ゲルろ過カラム法によって測定した。

さらに、Ficolin 様レクチンと GlcNAc アガロース、zymosan、*E. coli*、または *Micrococcus lysodeikticus* をインキュベート後、遠心し、上清を SDS-PAGE にかけて Ficolin 様分子を検出し、異物

との結合特異性を調べた。

【結果】

コイ血清から単離した Ficolin 様レクチンはヒト Ficolin やカブトガニ Tachylectin 5 と同じく、 Ca^{2+} 非依存的に Acetyl 基を認識するレクチンであることが判明したが、N 末端アミノ酸配列を用いたデータベース検索により、Microfibrillar-associated protein 4 (MFAP4) のホモログであると同定された。また、コイ MFAP4 は GlcNAc アガロースには結合したが、今回試験したその他の天然リガンドにはまったく結合しなかった。ゲルろ過法によって、精製コイ MBL、GalBL および MFAP4 の分子量は、それぞれ >700kDa、194kDa および 96kDa と見積もられた。

【結論】

コイ血清から、哺乳類の Ficolin を精製する方法で単離されたレクチンは、MFAP4 であったことから、魚類血清には Ficolin が存在しないことが示唆された。また、MBL、GalBL、MFAP4 の天然リガンドに対する結合特異性には不明な点が多いので、今後解析を続けたい。

【参考文献】

1. Ma YG et al. (2004) J Biol Chem, 279: 25307-25312
2. Nakao M et al. (2006) J Immunol, 177: 5471-5479

辻倉正和・杣本智軌・鶴木陽子・中尾実樹

九州大学大学院 農学研究院

Identification of a novel membrane-bound regulator of complement activation in carp and zebrafish

Masakazu Tsujikura, Tomonori Somamoto, Yoko Kato-Unoki, Miki Nakao

Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University

【目的】

補体はオプソニン化、細胞傷害、炎暑惹起など、強力な異物排除活性を示すが、その過剰な活性化や自己細胞上での活性化は宿主にとって深刻な障害をもたらす。それ故、補体の活性化は様々な反応段階で制御されている。特に膜結合型の補体制御因子は、自己細胞上での補体中心成分 C3 の活性化を抑制するのに重要であり、補体系にとって必須の構成要素であると考えられるが、これまで魚類を含む下等脊椎動物および無脊椎動物では同定されていない。そこで本研究は、コイおよびゼブラフィッシュから、SCR ドメインから成る膜型補体制御タンパク質 (Regulator of complement activation; RCA) の cDNA をクローニングすることを目的とした。

【方法】

ゼブラフィッシュのゲノムデータベースを用いて膜結合型 RCA タンパク質の配列を予測した。さらに、5'- および 3'-RACE により、全塩基配列を決定した。この配列を用いてコイの EST データベースを BLAST 検索し、膜結合型 RCA タンパク質の部分配列を得た後、5' -, 3' -RACE により全長の塩基配列を決定した。

【結果】

ゼブラフィッシュからは、404 残基のアミノ酸をコードする、2248 bp の cDNA がクローニング

された。この分子は 5 個の SCR ドメイン、膜貫通領域および細胞質領域を含んでいたため、Teleost Complement Regulatory Membrane protein (Tecrem) と名付けた。また、この分子の splicing variant も同定された。コイからも Tecrem をコードする 2353 bp の cDNA がクローニングされた。コイ Tecrem (362 アミノ酸) はゼブラフィッシュの Tecrem と約 60% のホモロジーを示し、4 つの SCR ドメイン、膜貫通領域および細胞質領域を有していた。Tecrem の配列を用いて分子系統樹を Neighbor-Joining 法を用いて作成したところ、ゼブラフィッシュとコイの Tecrem は哺乳類のいずれの RCA や既報の魚類可溶性 RCA とクラスターを形成せず、新規の膜型 RCA であると示唆された。

コイにおける Tecrem の発現臓器を RT-PCR で解析したところ、mRNA の広い組織分布が認められた。また、サザンハイブリダイゼーションにより、コイでは Tecrem 遺伝子が重複していることが示唆された。

【結論】

ゼブラフィッシュおよびコイから新規 RCA (Tecrem) を同定した。Tecrem は新規の膜型補体制御因子であると考えられるが、その補体制御活性については、今後タンパク質レベルでの機能解析によって解明する必要がある。

A3 ギンブナ由来細胞株における4種のMHCクラスI遺伝子の

クローニングおよび、CHNV感染後の発現動態

占部慎二¹、鮫島史朗¹、杉本智軌¹、中西照幸²、中尾実樹¹
(¹九州大学大学院 農学研究院、²日本大学生物資源科学部)

**cDNA cloning of four lineages of MHC class I genes in a cell line from clonal ginbuna crucian carp,
and their expression in the cell line infected with CHNV**

Shinji Urabe¹, Shiro Sameshima¹, Tomonori Somamoto¹, Teruyuki Nakanishi², Miki Nakao¹

¹Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University,

²Department of Veterinary medicine, Nihon University

【目的】

ギンブナには自然界に3倍体魚が存在し、それらは第一減数分裂を省略した形での雌性発生を行い、クローン繁殖をしている。この特性によりクローン系統の確立が容易であり、細胞性免疫応答の研究に非常に適している。そのギンブナでは、哺乳類と同じように、細胞傷害性T細胞(CTL)が自己と同じ遺伝子型を持つウイルス感染細胞しか傷害しないことが既に証明されているが、MHC class Iによる抗原提示機構の関与は示されていない[1, 2]。そこで、魚類においてCTLによる細胞傷害にMHC class Iが関与していることを証明するため、ギンブナ鱒由来細胞株から、4種のMHC class I遺伝子のクローニングと、Crucian hematopoietic necrosis virus (CHNV)感染によるMHC class I遺伝子の発現動態を比較検討した。

【方法】

魚類で既知のMHC class Iのアミノ酸配列をもとに縮重プライマーを設計した。また、諏訪湖産ギンブナ(S3n系統)由来のESTクローンで得られたMHC class Iの配列をもとに特異プライマーを作製した。S3n系統ギンブナ由来鱒細胞株(CFS)からtotal RNAを抽出し、1st strand cDNAを合成した。得られたcDNAをテンプレートとし、RACE法により4種のMHC class IのcDNAを増幅した。増幅産物をサブクローニングし、塩基配列を決定した。同定した4種のMHC class Iのアミノ酸配列から、古典的MHC class Iの特徴を有するかを推測した。また、CFSにCHNVを感染させ、3, 6, 12, 24時間ごとにtotal RNAを抽出し、cDNAを合成した。得られたcDNAをテンプレートとし、半定量的RT-PCR

によって、各MHC class I mRNAの発現量を比較した。

【結果】

コイ科のMHC class I-UA, -UFA, -ZE, -ZAと高い相同性を持つ4種類のギンブナMHC class I (Caau-UA-S3n, Caau-UFA-S3n, Caau-ZE-S3n, Caau-ZA-S3n)の塩基配列を解読した。これら4種のMHC class Iの中で、特にCaau-UA-S3n, Caau-ZE-S3nに、抗原提示に関わるとされている9つのアミノ酸が保存されており、古典的MHC class Iの機能を有すると推測した。また、CHNV感染による発現動態を比較した結果、Caau-UA-S3nの発現量はCHNV感染後3時間でピークに達し、Caau-ZE-S3nの発現量は感染3時間後から上昇し6時間でピークに達した。Caau-UFA-S3nの発現量は感染6時間後から24時間後まで緩やかな上昇が確認できた。Caau-ZA-S3nの発現量は感染12時間後から緩やかに上昇した。培養上清中におけるCHNVの濃度は、感染6時間後から顕著な上昇が見られた。

【結論】

Caau-UA-S3n, Caau-ZE-S3nに関しては、CFS細胞内でCHNVが顕著に増殖する前に発現量が上昇したことから、CHNV抗原をCTLに提示していることが示唆された。このことから、塩基配列を決定した4種のMHC class Iの中でも特にCaau-UA-S3n, Caau-ZE-S3nの2種が古典的MHC class Iとしての機能を有していると考えられる。

【参考文献】

- 1 Somamoto et al. (2002) Virology 297:120-7.
2. Somamoto et al. (2006) Virology 348:370-7.

和田 侑士 生井 史代 筒井 繁行 中村 修
北里大学 海洋生命科学部

A C1q-like protein in the plasma of surfperch, *Neoditrema ransonneti*.

Yukihito Wada, Fumiyo Namai, Shigeyuki Tsutsui, Osamu Nakamura
School of Marine Biosciences, Kitasato University

【目的】

スズキ目ウミタナゴ科の胎生魚、オキタナゴの卵巣腔液には、ラムノース及びフコースによって阻害されるレクチン活性が見られる。そこで卵巣腔液及び血漿からフコースに結合するレクチンを精製したところ、分子量 32k と 23k の 2 種類のタンパク質が得られた。そこでこれらのタンパク質の一次構造と性状について調べた。

【材料と方法】

オキタナゴ血漿を市販のフコース結合アガロース（生化学工業）に加え、反応させた。非吸着分子を洗い流した後、0.2M フコース溶液を加え、溶出画分を回収した。SDS-PAGE で得られた 23k と 32k の二つのバンドをプロテインシーケンサーに供した。

23k タンパク質の N 末端アミノ酸配列をもとに縮重プライマーを合成し、RACE-PCR によって cDNA をクローニングした。さらに各組織における 23k タンパク質の発現を RT-PCR で調べた。

【結果】

32k タンパク質の N 末端アミノ酸配列はいくつかのスズキ目魚で報告されているフコレクチンのそれとよく一致した。分子量もほぼ等しいことから、同族の分子であると思われる。

一方、23k タンパク質の cDNA は 20 残基のシグ

ナルペプチドを含む、212 残基のアミノ酸をコードしていた。このタンパク質は C 末端側に gC1q ドメインを持つ C1q ファミリータンパク質であった。しかし N 末端側にはコラーゲンドメインは認められなかったことから、補体系活性化作用はないと考えられる。系統解析の結果、ニジマス、コイなどで報告されている魚類 C1q ファミリータンパク質とクラスターを形成し、哺乳類で報告されている他の C1q ファミリータンパク質とは別のクラスターに分かれた。

非還元条件下の SDS-PAGE では 46k、109k、214k、さらに 250k 超のバンドが見られたことから、共有結合により多量体を形成することがわかった。

RT-PCR の結果、23k タンパク質は肝臓でのみ発現が見られた。

【結論】

魚類 C1q ファミリータンパク質の機能については、ニジマス血中のタンパク質が急性期応答を示すことが報告されていること以外、まったくわかっていない。本研究で発見された 23kC1q ファミリータンパク質は共有結合で多量体を形成するという特徴を持ち、またフコースアガロースへの結合画分から 32k フコレクチンとともに見出されたという点で興味深い。

A5 Major histocompatibility complex (MHC) linkage groups and disease resistance in salmonid fishes; a review

Johannes Martinus Dijkstra¹, Teruo Azuma², Akiyuki Ozaki³, Ikunari Kiryu⁴, Teruyuki Nakanishi⁵, M. Ototake⁴, Keiichiro Hashimoto¹

¹Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

²Nikko Branch, National Research Institute of Aquaculture

³Aquaculture Biology Division, National Research Institute of Aquaculture

⁴Aquatic Animal Health Division, National Research Institute of Aquaculture

⁵Laboratory of Fish Pathology, College of Bioresource Sciences, Nihon University

【Introduction】

Association between genetic markers and disease resistance is a growing field of interest. Such associations may be very pathogen-specific (e.g. mutation of a receptor) or relate to broader immune differences between individuals (e.g. strength of inflammation response). MHC genomic regions show extensive allelic and haplotype variation in genes involved in the immune system, probably with the evolutionary intent to create differences in immune responses between individuals of the same species (balancing selection). Salmonid fishes are prime candidates for MHC/disease-resistance research because they are top-models in fish immunology science.

【Materials & Methods】

Salmonid MHC genes and their polymorphism were intensively investigated at the cDNA and the genomic level. Resistance to a variety of pathogens was determined by typing MHC-linked microsatellites in dead and surviving fish after experimental challenge.

【Results】

Salmonid fishes have classical MHC class I (or Ia), nonclassical MHC class I (or Ib), and MHC class II, each on different chromosomes (e.g. ^[1]). The MHC class Ia and class II loci are characterized by extensive allelic polymorphism, with the Ia alleles further diversified than

known in any other species (e.g. ^[2]). In contrast, salmonid MHC class Ib variation is characterized by haplotype variation in the number of bona fide genes^[3]. Currently, salmonids are the only fishes for which MHC genes have been so well clarified. Objective QTL studies in rainbow trout found that the MHC class II and Ib linkage groups were the major determinants for resistance against IHN virus ^[4] and IPN virus ^[5], respectively. Salmonid MHC class II and Ib linkages groups were also associated with resistance to a number of other pathogens (studies by various research groups).

【Conclusion】

Salmonid MHC gene variation suggests an effect on diseases resistance, and for MHC class IIa and Ib linkage groups this was found indeed.

【References】

1. Shiina T, Dijkstra JM, Shimizu S, et al. (2005) *Immunogenetics* 56:878-893
2. Kiryu I, Dijkstra JM, Sarder RI, et al. (2005) *Fish Shellfish Immunol* 18:243-254
3. Dijkstra JM, Kiryu I, Yoshiura Y, et al. (2006) *Immunogenetics* 58:152-167
4. Khoo SK, Ozaki A, Nakamura F et al. (2004) *Fish Pathology* 39:95-101
5. Ozaki A, Khoo S-K, Yoshiura Y, et al. (2007) *Fish Pathol* 42:131-140

組織特異的に発現するトラフグケモカイン

末武弘章¹、恩田紀代子²、菊池潔¹、村山司²、鈴木譲¹¹東京大学・水産実験所、²東海大学・海洋学部

Fugu chemokines

Hiroaki Suetake¹, Kiyoko Onda², Kiyoshi Kikuchi¹, Tsukasa Murayama²,Yuzuru Suzuki¹¹Fisheries Lab. The Univ. of Tokyo, ²School of Marine Science and Technology, Tokai Univ.

【目的】

トラフグでは腸への抗原刺激により、腸だけではなく皮膚にも特異的免疫応答が誘導される。この現象は魚類においても白血球のホーミングにより説明できると考えた。そこでまず、白血球のホーミングに関わることが予想されるケモカインについて調べた。

【材料と方法】

白血球ホーミングへの関与が予想されるケモカインとその受容体について、トラフグを材料として RACE 法による cDNA クローニングを行った。次に様々な組織や細胞におけるこれら遺伝子の発現を RT-PCR で調べた。また、ゲノム上でのこれら遺伝子の構造と位置を解析した。

【結果】

トラフグではゲノム上に CCL19 様の遺伝子がタンデムに3つ見いだされた。これらのうちの1つが2次リンパ器官で発現していたことから、このケモカインが2次リンパ器官への白血球のホーミングに関わるケモカインであることが強く示唆された。一方、これらケモカインの受容体であることが予想される CCR7 遺伝子をシンテニー解析などにより同定した。

こうした結果は、魚類においてもケモカインを介した2次リンパ器官への白血球のホーミング機構が存在することを示唆している。

また、末梢組織へのホーミングに関連するケモカインである CCL25 様の遺伝子が2つと CCL28 遺伝子がシンテニー解析などにより見いだされた。2つの CCL25 様遺伝子のうちの1つは腸管での強い発現が認められた。一方、CCL28 は皮膚で強く発現していた。これらのことから、CCL25 と CCL28 が腸と皮膚への白血球のホーミングにおいてそれぞれ中心的な役割を果たしていることが推測された。また、CCL25 の受容体であると予想される2つの CCR9 様遺伝子と CCL28 の受容体候補である CCR10 遺伝子を同定した。こうした結果は、魚類においてもケモカインを介した末梢への白血球ホーミング機構が存在することを示唆している。

【結論】

魚類においてもケモカインによる白血球のホーミング機構が存在する可能性が示された。

大谷 真紀¹、林 宣宏²、橋本 敬一郎²、J. M. Dijkstra²、中西 照幸¹

¹ 日本大学・生物資源科学部、² 藤田保健衛生大学・総合医科学研究所

Identification and expression analysis of teleost fish IL-4/13 genes.

Maki Ohtani¹, Nobuhiro Hayashi², Keiichiro Hashimoto², J. M. Dijkstra², Teruyuki Nakanishi¹

¹Laboratory of Fish Pathology, Nihon University, ²Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

【目的】

近年、多くの魚類サイトカイン遺伝子が同定されている。魚類のサイトカイン遺伝子は四肢脊椎動物との相同性が低いにも関わらず、遺伝子の数や近傍の遺伝子のシンテニーは保存されていることが多い。そこで、液性免疫の誘導や Th2 細胞分化に重要なインターロイキン 4(IL-4)を見出すべく、データベースを利用した魚類 Th2 サイトカイン遺伝子のゲノム解析を行った。

【材料と方法】

魚類サイトカイン遺伝子の探索には Ensembl ゲノムデータベース (stickleback, release 1; tetraodon, release 7; medaka, release 1; zebrafish, version Zv7)を利用した。アミノ酸配列の解析には NCBI BLAST, GenScan 等の Web サイトを利用した。さらに、正常なゼブラフィッシュの各臓器 (腎臓、脾臓、腸、鰓、脳、精巢、心臓、筋肉)、および種々のマイトジェン (LPS, 2µg/fish; FCA, 10µl/fish; ConA, 2µg/fish; PolyI:C, 2µg/fish; PHA, 2µg/fish)刺激後の腎臓、脾臓から RNA を抽出し、cDNA を作製して RT-PCR による zeIL-4/13A, zeIL-4/13B 遺伝子の発現解析を行った。

【結果】

ヒト第 5 染色体(hChr5)にコードされている IL-4 遺伝子近傍のシンテニーが相同である領域をゲノムデータベース上で探索した結果、stChrVII, teChr7,

meChr14, zeChr9, zeChr21 において hChr5 に相当する領域が存在した。さらに、同様の領域が stChrIV, teChr20, meChr10, zeChr14 にも存在した。そこで、stChrVII, teChr7, meChr14, zeChr9, zeChr21 を IL-4/13 ブロック A、stChrIV, teChr20, meChr10, zeChr14 を IL-4/13 ブロック B とし、その領域で見出された IL-4/13 遺伝子をそれぞれ IL-4/13A, IL-4/13B とした。さらに、両遺伝子のプロモーター領域には GATA3 結合配列が保存されていたことから、共に Th2 細胞分化に関与することが考えられた。

RT-PCR による zeIL-4/13A, zeIL-4/13B 遺伝子の発現解析の結果、未刺激個体の腎臓、脾臓では弱く、腸や鰓で高発現を示した。しかし、LPS, FCA, PolyI:C, PHA 刺激後の腎臓および脾臓では発現量が有意に増加した。

【結論】

本研究により、魚類 IL-4/13 は 2ヶ所の Th2 サイトカイン遺伝子座と少なくとも 2個の IL-4/13 遺伝子を持ち、両遺伝子とも何らかの免疫応答に関与することが推測された。

清水 裕介¹、吉浦 康寿²、瀧澤 文雄¹、大谷 真紀¹、森友 忠昭¹、中西 照幸¹¹ 日本大学・生物資源科学部・獣医学科 ² 養殖研究所・玉城庁舎

**Identification and functional analysis of interleukin-12 in ginbuna crucian carp
(*Carassius auratus langsdorffii*)**

Yusuke Shimizu¹, Yasutoshi Yoshiura², Fumio Takizawa¹, Maki Ohtani¹, Tadaaki Moritomo¹, Teruyuki Nakanishi¹¹Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Sciences, Nihon University²Tamaki station, Natl. Res. Inst. of Aquaculture, FRA

【目的】

哺乳類では細胞障害性 T 細胞の誘導に IL-12 が重要な役割を果たすことが知られている。本研究では魚類における CTL の誘導機構を解明するため、IL-12 を構成する 2 つのサブユニットである IL-12p35、IL-12p40 の遺伝子クローニング及び IL-12 の機能解析を行った。

【材料と方法】

遺伝子クローニングのための鑄型 DNA には PHA で 4 時間刺激した諏訪湖産クローンギンブナ(S3N)の頭腎細胞、胸腺細胞から得られた cDNA を用い、5'RACE 法および 3'RACE 法を行い、全長 cDNA を得た。推定アミノ酸配列を用い相同性解析を行った。S3N の各組織における発現解析に加え、腎臓白血球を *in vitro* において PHA, PolyI:C, LPS で 4 時間刺激し、RT-PCR による発現解析を行った。

また、pMIB ベクターにギンブナの IL-12p35 と IL-12p40a 遺伝子を組み込み、昆虫細胞株に導入し、組み換えギンブナ IL-12 を作製した。パーコール法により分離したリンパ球分画に組み換えギンブナ IL-12 を加え 4 時間刺激した。陰性対照として組み換えフグ IL-12 を用いた。刺激後のリンパ球分画より RNA を回収し RT-PCR 法により IFN- γ の発現解析を行った。

【結果】

ギンブナ IL-12p35 の全長は 827bp の塩基であった。相同性解析の結果、ギンブナとコイの IL-12p35 の相同性は 81%と高く、哺乳類とは 22-24%と低いが、IL-12p40 とヘテロダイマーを形成するためのアミノ酸残基は種間で保存されていた。ギンブナ IL-12p40 には 3 つのアイソ

フォーム(a, b, c)が存在した(IL-12p40a, 1,400bp; IL-12p40b, 1,156bp; IL-12p40c, 1,162bp)。ギンブナとコイの IL-12p40a の相同性は 92%と高く、哺乳類とは 24-25%と低かった。IL-12p40b と IL-12p40c にも同様の傾向が認められた。IL-12p40a と IL-12p40c には I 型サイトカインレセプターに特徴的な WSXWS モチーフが存在したが、IL-12p40b では一塩基の置換が認められた。いずれのアイソフォームにも IL-12p35 とヘテロダイマーを形成するためのアミノ酸残基は保存されていた。

RT-PCR による発現解析の結果、ギンブナ IL-12p35 は脳で強く発現し、IL-12p40 はいずれのアイソフォームも頭腎、体腎などの組織で発現していた。マイトジェン刺激後の腎臓白血球において、IL-12p35 は PHA 刺激で顕著に発現が増強し、IL-12p40 も僅かに発現の増強が認められた。また、IL-12p35、IL-12p40 ともに PolyI:C では発現は抑制され、LPS 刺激では変化しなかった。

リンパ球分画を組み換えギンブナ IL-12 で刺激した結果、IL-12 の用量依存性に IFN- γ の発現が増強した。一方、フグの組み換え IL-12 で刺激した場合には、用量依存性の IFN- γ の発現は認められなかった。

【結論】

今回得られたギンブナ IL-12 の配列は他種の IL-12 と比較し、立体構造を構築する上で重要なアミノ酸残基やシステインが保存されていた。組み換えギンブナ IL-12 は IFN- γ の産生を誘導した。

このことから今回得られた遺伝子は哺乳類の IL-12 のホモログであり、哺乳類と同様の機能を有すると思われる。

相原 俊介¹、望月 万美子²、J. M. Dijkstra³、森友 忠昭¹、中西 照幸¹

¹ 日本大学・生物資源科学部 ² 静岡県水産技術研究所・富士養鱒場

³ 藤田保健衛生大学・総合医科学研究所

Expression analysis of immune genes in the brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Shunsuke Aihara¹, Mamiko Motizuki², J. M. Dijkstra³, Tadaaki Moritomo¹, Teruyuki Nakanishi¹

¹ College of Bioresource sciences, Nihon University, ² Fuji Trout Hatchery, Shizuoka Prefectural Fisheries Experiment

Station, ³ Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

【目的】

哺乳類においてMHCクラス Iは脳において発現し、神経回路形成において重要な役割を果たしていることが最近明らかとなってきた。しかし、脳におけるMHC I リガンドの受容体まだ見つかっておらず、TCR β についても mRNA の発現が報告されているものの機能については全く不明である。そこで本研究では、脳におけるMHCクラス I 及びTCR β の機能解明の一環として、ニジマスの個体発生に伴うこれら遺伝子の発現について解析した。

【材料と方法】

受精 8 日後から 46 日後のニジマス胚及び仔魚 (10°Cにて飼育) より 3~4 日おきに RNA を抽出し cDNA を合成した。これらをテンプレートとして、古典的 MHC クラス I (MHC Ia: Onmy-UBA)、非古典的 MHC クラス I (MHC Ib: Onmy-UCA, -UDA)、TCR β 特異的プライマーを用いて、RT-PCR により発現解析を行った。受精後 8, 12, 15 日目においては胚全体を用い、19 日目以降の胚及び仔魚については脳、胸腺を含む脳以外の頭部(以下胸腺と呼ぶ)及び尾部に分離した。なお、各発育段階の卵あるいは仔魚 10~60 個(尾)をプールして用いた。

【結果】

MHC Ib は脳・胸腺・尾部において、すべての発育段階で恒常的に発現し、発現量に変化が認められなかった。一方、MHC Ia は受精後 8 日目に発現が認め

られたが 12・15 日目に発現量が低下し、受精後 19 日目に最も発現が弱くなった。しかし、受精後 22 日目より発現の増加が認められ、発育・成長に伴い発現量が漸増した。また、組織による発現パターンの違いは認められなかった。

TCR β の発現は、8 日目の胚に発現が認められなかったが、12 から 15 日目にかけて発現が増加した。19 日目以降の胚においては MHC Ia と同様な発現パターンを示した。

【結論】

MHC Ia と Ib の発現パターンが全く異なることから、Ia と Ib は異なる機能を有することが示唆された。また、ニジマスにおいては孵化 5 日前に胸腺の原基が出現することが報告されているが、MHC Ia および TCR β は、それぞれ受精後 8, 12 日目に発現を示したことから、これらの免疫関連遺伝子は免疫系以外の機能、即ち発生初期の形態形成に関与することが示唆された。さらに、受精後 8 日目において MHC Ia の発現は認められるが、TCR β の発現が認められないことから、この時期の TCR β は MHC Ia と相互作用していないと推定された。

現在、発生の初期と後期及び成魚において発現している MHC Ia 対立遺伝子の差異について検討している。また、脳における TCR β 遺伝子の再構成の有無についても解析を進めている。

ニジマス食細胞 NADPH オキシダーゼの性状

-p67^{phox} スプライシングバリエーションの解析-

村田 学博、世良田 研、眞弓 雅行、瀧澤 文雄、大谷 真紀、森友 忠昭、中西 照幸
 日本大学 獣医学科 魚病学研究室

Characterization of rainbow trout phagocyte NADPH oxidase
 - Structure and expression of p67^{phox} splicing variant -

Michihiro Murata, Ken Serada, Masayuki Mayumi, Fumio Takizawa, Maki Ootani, Tadaaki Moritomo,
 Teruyuki Nakanishi
 Laboratory of Fish Pathology, Department of Veterinary Medicine, Nihon University

【目的】

我々は以前、食細胞の活性酸素生成酵素(NADPH オキシダーゼ)を構成する5つのコンポーネント(gp91^{phox}, p22^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox})の遺伝子クローニングを数魚種で行った。その結果、いずれの魚種でも哺乳類と同様なドメイン構造やモチーフ配列が保存されていたが、ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)では、他魚種には無いp67^{phox}のスプライシングバリエーションが認められた。今回、このバリエーションの機能を検討するため、そのドメイン構造及び発現を調べた。

【材料と方法】

造血臓器であるニジマスの腎臓からcDNAを合成し、それを用いてp67^{phox}とバリエーションの遺伝子の全長をクローニングした。また、得られた推定アミノ酸配列をSMARTにてドメイン・モチーフ解析した。さらに各組織(頭腎、体腎、脾臓、腸、筋肉)からtotal RNAを抽出し、RT-PCR法を用いてp67^{phox}とバリエーションの発現を比較した。

ニジマス p67^{phox} を認識する抗 p67^{phox} ペプチド抗体を作製し、ニジマスの頭腎サンプルを用いてウェスタンブロットを行った。

【結果】

今回、新たにニジマス p67^{phox} 遺伝子の全長をクローニングしたところ、既知の p67^{phox} (p67^{phox} A) と、そのスプライシングバリエーション (p67^{phox} A-vari) に加え p67^{phox} A と塩基配列で 92% アミノ酸配列で 90%

の相同性を示す p67^{phox} (p67^{phox} B) の 3 つの配列が得られた。p67^{phox} A-vari は細胞質コンポーネントである p47^{phox} や p40^{phox} との結合に重要なドメイン(SH3 と PB1)が欠損していたが、活性酸素の産生に重要なドメイン(AD)は保存されていた。p67^{phox} B は、p67^{phox} A で見られる全てのドメイン・モチーフが保存されていた。また発現解析の結果、p67^{phox} A と p67^{phox} A-vari は頭腎、体腎、脾臓など造血系の組織に発現していた。p67^{phox} B は頭腎及び体腎に弱く発現するのみで、その他の組織では発現は見られなかった。

頭腎サンプルを用いてウェスタンブロットを行ったところ、p67^{phox} A と p67^{phox} A-vari 及び p67^{phox} B のそれぞれのタンパク質の推定分子量の位置でバンドが見られた。

【結論】

今回、3つの p67^{phox} (p67^{phox} A、p67^{phox} A-vari、p67^{phox} B)の配列と、それぞれに対応すると思われるタンパク質が確認された。p67^{phox} A-variの構造では、p47^{phox} や p40^{phox} との結合に重要なドメインが欠損してはいたが、活性酸素の産生に重要なドメインは保存されていた。また、その発現は p67^{phox} A と同様に造血組織で見られた。以上より p67^{phox} A-vari は、p67^{phox} A とは異なり、p47^{phox} や p40^{phox} と複合体を形成せずに活性酸素の産生を促進している可能性が考えられる。現在、炎症部位に遊走した活性酸素産生能の高い好中球を用い、3つの p67^{phox} の発現を調べて更なる解析を進めている。

吉田美幸、片倉文彦、山口卓哉、森友忠昭、中西照幸

日本大学・獣医学科・魚病学研究室

Colony forming assay for carp (*Cyprinus carpio*) hematopoietic cells

Miyuki Yoshida, Fumihiko Katakura, Takuya Yamaguchi, Tadaaki Moritomo and Teruyuki Nakanishi

Laboratory of Fish Pathology, Department of Veterinary Medicine, Nihon University

【目的】

魚類造血機構の解明には造血幹・前駆細胞の分化や増殖能を測定できるコロニーアッセイ法が必要である。我々はフィーダー細胞を用いてコイ造血細胞を長期間にわたって継代・維持できる培養法を確立しており、培養初期において *myeloperoxidase* (好中球)、*IgH* (B 細胞)、*Lck* (T 細胞) などの様々な系統の血球マーカー遺伝子を発現することが分かっている。本研究ではこの培養法を用いて、コロニーアッセイ法の検討を行った。

【材料および方法】

- 造血細胞培養法 (馴らし培地の作製)

ギンブナヒレ由来細胞株 (CFS) を 25cm² フラスコに confluent になるまで増やした。この細胞層上にコイの主な造血器官である頭腎および体腎の細胞のうち単球・リンパ球分画の細胞を、パーコール密度勾配遠心法により分離・回収し、1×10⁶ 個播種した。培養液として 20% FBS および 2.5% コイ血清加 E-RDF 培地を用い、30°C、5%CO₂ 存在下で培養した。4-6 日後、培養上清を回収し、馴らし培地として用いた。

- コロニーアッセイ法

上記の培養法に倣い、24 穴プレートで単層培養した CFS 細胞株上にコイ造血細胞を 1 well あたり 50 個ずつ播種した。上記培養液に 30% 馴らし培地を添加したものを用いた。数日後、形成されたコロニーを回収し、塗抹後、メイグリュンワルド・ギムザ染色により細胞の形態を観察した。

- 遺伝子発現解析

RT-PCR 法により各種造血細胞マーカー遺伝子の発現解析を行い、コロニーの性状を調べた。マーカー遺伝子として、*β-globin* (赤血球)、*gatal* (骨髄球系前駆細胞)、*gata2* (造血幹細胞)、*gata3* (T 細胞系前駆

細胞)、*myeloperoxidase* (好中球)、*IgH* (B 細胞)、*Lck*、*TCRβ* (T 細胞)、*coro1a*、*L-Plastin* (マクロファージ) を使用した。

【結果】

造血細胞を 50 個播種したところ、7 日から 10 日で細胞の集塊が観察されはじめ、14 日目までに 50% の well で明瞭なコロニーが形成された。コロニーの形態は、大型の細胞がいくつか密集して塊を形成するものと、小型の細胞が well 中に散在するものと 2 種類が観察された。前者のコロニーは、大型で空胞を多く含む円形または紡錘形の細胞で形成され、一方、後者のコロニーは核が偏在し、細胞質内に顆粒がある円形の細胞から構成されていた。また、コロニー細胞の遺伝子発現を調べたところ、前者のコロニーでは、マクロファージマーカーである *coro1a*、*L-Plastin* 遺伝子が発現しており、後者では *coro1a*、*L-Plastin* の他に T 細胞系統のマーカーである *gata3* 遺伝子が発現していた。

【結論】

コロニー細胞の遺伝子発現解析の結果から、空胞を含む大型の細胞は、*coro1a*、*L-Plastin* 遺伝子の発現が見られたため、マクロファージ系の細胞と考えられた。一方、顆粒を持つ小型の細胞は、*coro1a*、*L-Plastin* 遺伝子の他に *gata3* 遺伝子の発現が見られたが、*Lck* や *TCRβ* 遺伝子の発現は見られなかったことから、T 細胞系統の初期前駆細胞と考えられた。また、コロニーを形成する細胞の形態はそれぞれ均一であることから、各コロニーは同一の細胞集団からなると考えられた。

以上のことから、本培養法により上記 2 種類の造血細胞コロニーアッセイが可能であることが示唆された。

皆川 佳名子, 渋谷 紀史, 吉野 由有子, 筒井 繁行, 中村 修, 渡邊 翼
北里大学 海洋生命科学部

Acquired immunity in conger eel (*Conger myriaster*) skin

Kanako Minagawa, Norifumi Shibuya, Yuko Yoshino, Shigeyuki Tsutsui,
Osamu Nakamura, Tasuku Watanabe
School of Marine Biosciences, Kitasato University

【目的】

水中に生息する魚類の皮膚は粘液で覆われている。この粘液からレクチンや抗体などの防御因子が見出されていることから、魚類の皮膚は感染に対する防御ラインとして機能していると考えられる。しかしながら、実際の異物侵入時に、個々の防御因子がどのように連携して感染を防いでいるかは明らかにされていない。そこで本研究は、真骨魚類の中でも最も原始的であり、レクチンやプロテアーゼといった自然免疫系体表防御因子についての知見が豊富なウナギ目魚類に注目し、マアナゴの皮膚細胞を用いて、LPS により発現量が増加する遺伝子を網羅的に検出した。

【材料と方法】

分離したマアナゴの皮膚細胞を二群に分け、LPS 存在下および非存在下でそれぞれ6時間培養した。RNA を抽出した後、サブトラクション法を用いて、LPS 刺激によって発現量が増加した RNA 由来の cDNA テンプレートを作製した。PCR を行い、増幅した遺伝子をシーケンサーに供し、塩基配列を解析した。免疫関連因子と高い相同性を示したものについては、RACE 法による全塩基配列の決定を目指した。

【結果】

解析を行った 135 クローンのうち、3 クローンが他の生物の T-cell receptor、MHC class II、および ILF-2 (IL-2 転写因子) と高い相同性を示した。

これらのうち TCR の cDNA に関しては全塩基配列を決定した。現在のところ異なる可変領域を持つ 4 クローンの全塩基配列を得ている。これらは 1340 ~1393bp から成り、247~252 残基のアミノ酸をコードしていた。4 クローンの定常領域を比較したところ、約 93%の同一性を示す 2 種類の配列が存在した。これらの配列を BLAST 解析した結果、いずれもミドリフグの TCR α 鎖と高い相同性を示し、その同一性はそれぞれ 36、38%であった。また系統樹解析に供した結果、2 タイプともに TCR α 鎖のクレードに分類された。以上のことから、単離された 4 クローンの TCR 遺伝子は α 鎖であることが明らかとなった。

MHC class II、ILF-2 については現在全長の決定を目指している。

【結論】

マアナゴの皮膚細胞より TCR α 、MHC class II および ILF-2 の遺伝子配列を得た。これらの発見は、原始的な魚類であるマアナゴの皮膚防御機構においても、獲得免疫系が関与していることを示している。

B1 海棲哺乳類のモービリウイルスレセプターSLAMの 高次構造モデルによる宿主特異性の考察

大石和恵¹、安藤暁子^{1,2}、鈴木倫太郎³、瀧下清貴¹、河戸勝¹、勝俣悦子¹、大津大⁵、奥津健司⁵、
徳武浩司⁵、宮原弘和⁶、中村浩隆⁷、村山司²、丸山正¹

¹独立行政法人海洋研究開発機構、²東海大学海洋学部、³農業生物資源研究所、¹鴨川シーワールド、
⁵横浜・八景島シーパラダイス、⁶沖縄美ら海水族館、⁷金沢動物園

Prediction of host specificity from three-dimensional structure of morbillivirus receptor SLAM

Kazue Ohishi^{1*}, Akiko Ando^{1,2}, Rintaro Suzuki³, Kiyotaka Takishita¹, Masaru Kawato¹, Etsuko Katsumata⁴, Dai
Ohtsu⁵, Kenji Okutsu⁵, Koji Tokutake⁵, Hirokazu Miyahara⁶, Hiroataka Nakamura⁷,
Tsukasa Murayama², Tadashi Maruyama¹

¹Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), ²Tokai University, ³National Institute of
Agrobiological Sciences, ⁴Kamogawa SeaWorld, ⁵Yokohama Hakkeijima Sea Paradise,
⁶Okinawa Churaumi Aquarium, ⁷Kanazawa Zoo

【目的】

モービリウイルスはパラミクソウイルス科に属するRNAウイルスで、陸棲哺乳類では4種類のウイルスが同定されている。また、近年、大量死を起こしたアザラシやクジラから、2種類のウイルスが新たに分離された。モービリウイルスは高い宿主特異性を有しており、宿主細胞上のレセプター分子はこの特異性を決定する重要な因子であると考えられる。最近、Signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) がヒトモービリウイルスである麻疹ウイルスのレセプターとして働くことが示された^[1]。本研究では、海棲哺乳類のSLAMの遺伝子配列を決定して高次構造のモデリングを行い、ウイルスとの結合と宿主特異性に関与するアミノ酸を予想した。

【材料と方法】

鯨類のカマイルカ、シャチ、鰭脚類のゴマフアザラシ、セイウチ、海牛類のアメリマナティー、海牛類との近縁性が指摘されている鼻長類のインドゾウの血液から白血球を分離した。Phytohemagglutinin (PHA) で3時間免疫刺激をした白血球からRNAを抽出し、特異的プライマーを用いたRT-PCRにより遺伝子配列を決定した。高次構造は既に結晶解析がなされているSLAM family分子のひとつであるNTB-A分子

の立体構造をテンプレートにして構築した^[2]。

【結果】

海棲哺乳類のSLAMは、336-339個のアミノ酸からなる、細胞内にチロシンキナーゼ領域を有する膜蛋白質であることが明らかになった。シャチ、アザラシ、マナティーのSLAMの高次構造のモデリングにより、細胞外に存在するIgV、IgC2様領域のうち、IgVドメインのfront β -sheetがウイルスとの結合面になり、この面上に存在して側鎖が突出する21個のアミノ酸がウイルスとの結合部位になりうると考えられた。これらのアミノ酸の中に、海棲哺乳類の3種間で、さらには陸棲動物をも含めたウイルス感受性に差が認められる動物種間で、異なる8個のアミノ酸セットが見出された。

【結論】

SLAMのIgVドメイン上の21個のアミノ酸がウイルス結合に、そのうちの8個のアミノ酸セットが宿主特異性に関与する可能性が示された。

【参考文献】

1. Tatsuo H. et al. (2000) Nature, 406:893-897.
2. Cao E. et al. (2006) Immunity, 25:559-570.

牛および鶏のB細胞一次リンパ器官内に存在する二次リンパ組織の比較解析

小塚 祐利子¹, 保田 昌宏¹, 高梨 資子¹, 那須 哲夫¹, 村上 隆之¹¹宮崎大学・獣医解剖学

Comparative studies on the secondary lymphoid tissue in calf and chicken B-cell primary lymphoid organs

Yuriko Kozuka¹, Masahiro Yasuda¹, Motoko Takanashi¹, Testuo Nasu¹, Takayuki Murakami¹¹Department of Veterinary Anatomy, University of Miyazaki

【目的】

鶏ファブリキウス嚢はB細胞一次リンパ器官であるが、嚢管が連絡する背側壁には孵化後胚中心が形成される。この領域はT細胞領域と呼ばれる二次リンパ組織である^[1]。さらに、反芻動物の回腸パイエル板は全長が約1.5~2mにおよぶ強大なB細胞一次リンパ器官である。演者らはこれまでに、反芻動物の回腸パイエル板を用いて形態と機能の解析を行ってきた^[2]。本研究では、牛回腸パイエル板の全長を肉眼的および組織学的に解析し、回腸パイエル板の近位端で二次リンパ組織形成を発見するとともに^[3]、鶏T細胞領域と牛回腸パイエル板近位端の個体発生を比較解析した。

【材料と方法】

孵卵20日胚、孵化直後、7日、21日および35日齢のチャンキー種の鶏ヒナからファブリキウス嚢、T細胞領域および盲腸扁桃を採材した。また、新生子~180日齢の黒毛和種牛の回腸パイエル板を肉眼的に観察するとともに、約30cm間隔で組織を採材した。さらに、二次リンパ組織である空腸パイエル板も採材した。組織は凍結切片とし、免疫組織化学染色によって構成細胞の局在を比較観察した。

【結果】

鶏20日胚ではファブリキウス嚢にはリンパ濾胞が形成されていたが、T細胞領域にはT細胞とB細胞は認められなかった。孵化直後からT細胞領域に

はCD4⁺細胞およびCD8⁺細胞が浸潤し、21日齢になると胚中心が観察された。盲腸扁桃の発生はT細胞領域のそれと同様であった。牛の回腸パイエル板は長楕円形のリンパ濾胞と狭小なT細胞領域で構成されていた。一方、空腸パイエル板は瓜実形のリンパ濾胞と広い濾胞間T細胞領域で構成されていた。回腸パイエル板の近位端は空腸パイエル板と類似の構造であった。さらに30日齢以降では、空腸パイエル板と回腸パイエル板の近位端を構成するリンパ濾胞にCD4⁺細胞が多数観察されたが、回腸パイエル板リンパ濾胞にはほとんど認められなかった。

【結論】

胚中心などの二次リンパ濾胞内にはCD4⁺細胞が多数観察され、B細胞の成熟に関与している^[2]。一次リンパ器官であるファブリキウス嚢や近位端以外の回腸パイエル板のリンパ濾胞にはCD4⁺細胞がほとんど観察されず、一次および二次リンパ器官の機能差を示すものであると考えられた^[3]。

【参考文献】

1. Odend'hal S. and Breazile J. E. *Am J Vet Res* 41; 255-258, 1980.
2. Yasuda M., Jenne C. N., Kennedy L. J. and Reynolds J. D. *Vet Res* 37; 401-415, 2006
3. Takanashi M., Nasu T., Murakami T. and Yasuda M. *J Vet Med Sci*. 2008 *in press*

第9回比較3学会合同シンポジウム

地球環境問題を考える

—比較生物学からの警鐘—

CS1 ~ CS6

沼田 英治

大阪市立大学・大学院理学研究科

Insect life cycle and recent warming in urban areas.

Hideharu Numata

Graduate School of Science, Osaka City University

地球温暖化に加えて都市のヒートアイランド現象により、都市部の気温は著しく上昇している。この都市の温暖化がそこにすむ昆虫の分布や生活史に与えた影響について、いくつかの例を紹介したい。

1) ミナミアオカメムシ *Nezara viridula*

ミナミアオカメムシは世界中の熱帯、亜熱帯地域に広く分布しており、さまざまな農作物の害虫として知られている。1960年代には宮崎県や高知県、和歌山県の南部などの暖かい地域にのみすんでいた。そして、それよりも冷涼な地域には近縁なアオクサカメムシ *Nezara antennata* がすんでいた。当時の近畿地方におけるミナミアオカメムシの分布北限は、和歌山県有田市付近であり、冬の寒さに弱い本種は、もっとも寒い1月の平均気温が5℃より低い地域には分布することができないと考えられた^[1]。ところが、2000年頃にはすでに大阪市ではほとんどがミナミアオカメムシで、アオクサカメムシはほとんどいなくなっていた。すなわち、40年間にミナミアオカメムシは約70 km 分布を北に広げた。大阪の1月の平均気温は1986年を最後に5℃以下になった年はない。寒さに弱いミナミアオカメムシが北上したことはこの地域の温暖化で説明することができる。

2) クマゼミ *Cryptotympana facialis*

クマゼミは近年大阪など西日本の都市部で著しく増加した。一方、アブラゼミ *Graptosaltria nigrofuscata* は減少した^[2]。これらのセミは夏に枯れ

枝や樹皮に産卵し、卵が休眠に入って越冬し翌年夏の雨の日に高い湿度に応答して孵化する^[3]。まず、冬の寒さに注目し、温暖化によって冬の寒さが穏やかになったことがクマゼミの増えた原因ではないかと考えた。しかし、クマゼミの卵は過去に大阪で記録された範囲の寒さに十分耐えられ、現在でもクマゼミのいない標高の高いところでも越冬し、孵化することができた。次に、都市部では温暖化にともない乾燥が進み、土が固くなったことがクマゼミの増えた原因ではないかと考えた。夏に孵化した1齢幼虫はすぐに地中にもぐって木の根に定着するが、非力な1齢幼虫にとって土の固さは大きな障害となるからである。さまざまな密度に押し固めた土の上に1齢幼虫を放し、土に潜るまでの時間を観察したところ、クマゼミの幼虫はアブラゼミの幼虫に比べ短時間で固い土に潜ることができた。したがって、都市部では温暖化にともない乾燥が進むこと、それに加えて公園などの清掃が行き届き、土が固くなったことがクマゼミ増加の一因であると考えられる。

【参考文献】

1. Kiritani, K. et al., (1963) *Res. Popul. Ecol.* 5: 11-22.
2. 沼田英治・初宿成彦 (2007) 『都会にすむセミたち 温暖化の影響?』 海游舎
3. Moriyama, M. and Numata, H. (2006) *J. Insect Physiol.* 52: 1219-1225.

CS2 磯焼けの原因究明とその対策—東京の海でいま起きていること—

黒川 信¹、野原精一²、駒澤一朗³、高瀬智洋⁴

¹首都大学東京大学院・生命科学教室、

²国立環境研究所・アジア自然共生研究グループ

³東京都島しょ農林水産総合センター・八丈事業所、⁴同大島事業所

ISOYAKE (Barren Sea) at the Sea Coasts of Izu Islands.

Makoto Kurokawa¹, Seiichi Nohara², Ichiro Komazawa³, Tomohiro Takase⁴

¹Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University, ²Asian Environment Research Group, National Institute for Environmental Studies, ³Hachijo Branch, ⁴Oshima Branch, Tokyo Metropolitan Islands Area Research and Development Center of Agriculture, Forestry and Fisheries

東京都には伊豆諸島から小笠原群島、南鳥島に至るまで含まれ、日本の 200 海里排他的経済水域面積のうちの 40%近くが東京の海である。いま、全国的に「磯焼け」に代表される海の環境異変が報告されており、東京の島々の沿岸でも様々な深刻な変化が起きている。

磯焼けとは浅海の岩礁・転石帯で、藻場（海藻群落）が、季節的消長や通常の経年変化の範囲を越えて著しく衰退または消失して貧植生状態となり、それが回復しないか回復までに長い年月を要する状態の事である。その結果、その生態系を生活の場とする動物相も大きく変化し、産業的にも魚貝類資源に深刻な影響をもたらす事になる。磯焼けの発生と持続の原因には、気象、水温変化、被食圧増大、栄養不良など多様な要因が挙げられているが、単独の原因に因ると言うより、海域ごとで異なる様々な要因が関連しあっていると推測される場合も多い。

伊豆大島では 1998 年以降それまで沿岸の藻場の優占種であった一年生のコンブ科アントクメが激減し、藻場を生活の場とし、それらを餌としているアワビ、サザエなどの資源生物をはじめ動物相が減少している。その原因の一つに、初夏の低水温が孢子体上での遊走子形成を遅らせ、世代交代前に夏期の枯死期を迎えるためである事が示唆された。磯焼け状態の海域にアン

トクメ孢子体幼体を移植するとすぐに藻食魚類によって被食され消失したが、カゴに入れて防護すると順調に生長した事から、本海域で磯焼けが回復しない原因には被食圧との不均衡があると考えられる。

八丈島では 1996 年以降、特産のテングサ資源量の低迷が続いており、2007 年には過去 36 年間の最低を記録した。高水温・低栄養である黒潮の流路と島の位置関係が成長に影響する事が示唆されている。また現在僅かに残るテングサ群落は河口域や海底湧水が豊富な沿岸に限られている。そこで沿岸域の栄養塩濃度分布や窒素安定同位体比を調べる事でテングサが利用する栄養塩の起源を調べたところ、陸水からの栄養塩供給への強い依存性が示された。これらのテングサ場では、最近アオウミガメが頻繁に目撃され、テングサを選択的に摂餌していることが明らかになった。ここでも、植物相の減少の根本原因とは別に、貧植生期における過度の被食圧が磯焼け状態からの回復を困難にしていると考えられる。現在進められている両海藻の藻場の人工造成の取組について併せて紹介する。

本研究は東京都島しょ農林水産総合センター、首都大学東京などが中心となった産学公連携の「東京都水産海洋研究推進プロジェクト」（平成 16-19 年度）の成果の一部である。

CS3 海産腹足類と有機スズ化合物：生殖生理と内分泌攪乱の作用機序

堀口敏宏

国立環境研究所・環境リスク研究センター

Marine snails and organotin compounds: their reproductive physiology and mode of action inducing endocrine disruption

Toshihiro Horiguchi

Research Center for Environmental Risk, National Institute for Environmental Studies

船底防汚塗料や漁網防汚剤等として世界各地で使用されてきた有機スズ化合物（トリブチルスズ(TBT)及びトリフェニルスズ(TPT)）が、海水中濃度として数 ppt レベルのごく低濃度であっても海産腹足類（前鰓類）にはほぼ特異的に作用してインボセックスと呼ばれる雌の雄性化を引き起こすことが知られている。インボセックス誘導機構について、①アロマトラーゼ阻害説、②テストステロン排出阻害説、③脳神経節障害説、及び④APGW アミド関与説の4つの仮説が提示されてきた。しかしながら、腹足類、とりわけ前鰓類における生殖生理の知見はきわめて限られている。演者らは、前鰓類の生殖生理に関する基礎知見の獲得と蓄積を図りつつ、既存の4仮説の検証を進めてきた。

腹足類の内分泌に関する既往知見は、ほとんどが後鰓類（カリフォルニアアメフラシ *Aplysia californica*）と有肺類（ヨーロッパモノアラガイ *Lymnaea stagnalis*）に限られ、内臓神経節や脳神経節あるいは摂護腺から分泌される神経ペプチドが産卵ホルモン、排卵ホルモンあるいは放卵ホルモンとして作用するという。一方、インボセックスは腹足類の中でも前鰓類に特有の現象であるため、前鰓類の内分泌系に関する基礎知見が、有機スズの作用機序を考える上で有用であろう。しかし、前鰓類の内分泌の基礎知見は、これまでにほとんど得られていない。一方、腹足類はペプチドホルモンと共に、脊椎動物様のステロイドホルモンも有しているとの報告がある。演者らがイボニシとバイの生殖巣を用いて高分解能 GC/MS でステロイドの同定を試みた結果、テストステロンや17β-エストラジオール(E2)など4種とともにエチニルエストラジオールが検出された。これにより、GC/MS による同定は、サンプル中にステロイドが存在していたことは示すが、イボニシやバイがそ

れらを固有に有していたことを示す証拠にはならないと考えられた。ところで、リガンドが存在しても受容体がなければ、リガンドの生理作用は生じない。したがって、仮に前鰓類がステロイドを性ホルモンとして有するならば、その受容体が存在するはずである。ところが、イボニシからエストロゲン受容体(ER)様タンパクがクローニングされたものの、E2 はそれに結合しなかった。またアンドロゲン受容体(AR)は、これまでにクローニングされていない。無脊椎動物のゲノムには AR や ER をコードする遺伝子がないとの報告もある。したがって、現時点では、前鰓類の性ホルモンがステロイドである可能性は低いと考えられる。

一方、演者らは、アロマトラーゼ阻害剤(ファドロゾール)とテストステロンを併用した筋肉注射試験と流水式連続曝露試験を繰り返し行なってきたが、イボニシに有意にインボセックスを惹起することに成功していない。インボセックスが起きないという点では再現性がきわめて高い。またイボニシ頭部神経節の培養系を確立し、TBT やテストステロンの曝露実験も行なったが、結果はnegativeであった。イボニシに対する APGW アミドの筋肉注射試験でも結果は negative であった。以上により、既存の4仮説は支持されないと判断した。

演者らは、有機スズによる前鰓類のインボセックス誘導メカニズムとして2004年に新たな仮説、レチノイドX受容体(RXR)関与説を提示した。現在までに得られた複数の実験結果は、いずれも矛盾せず、RXR 関与説の信憑性が高いことを示唆している。とはいえ、まだ十分ではない。インボセックスには7つの特徴があり、それらを全て説明し得るメカニズムこそが、真のメカニズムと考えるためである。前鰓類の生殖生理と有機スズの作用機序の全容解明を目指して研究を継続している。

井口泰泉

自然科学研究機構・基礎生物学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター

Some newly identified mechanisms of chemicals acting as endocrine disruptors.

Taisen Iguchi

National Institute of Natural Sciences, National Institute for Basic Biology,
Okazaki Institute for Integrative Bioscience

環境中の化学物質の中には、ステロイドホルモン受容体を介してホルモン類似作用、あるいはホルモン阻害作用を及ぼすと考えられるものが知られている。このような物質は内分泌かく乱物質と呼ばれ、日本では環境媒体中の量が測定された。WHO/IPCS(2002)¹により、内分泌かく乱作用を示すと思われる化学物質の影響評価が行われ、日本でも多くの内分泌かく乱物質に関する研究が行われて、成果が得られている。内分泌かく乱物質の作用メカニズムについての新たな知見をまとめてみる。

1) ステロイドホルモン受容体を介した影響

イギリスの多くの河川でコイ科のローチに精巣卵が1980年代の半ばに見出され、河川中のエストロゲン類似物質が大きな問題となった。この原因としては、羊毛を洗浄するために用いた洗剤が代謝されてできたノニルフェノールが取り上げられた。イギリスの河川水には、排卵抑制剤のピルに含まれるエチニールエストラジオール(EE2)やヒトの尿からのエストロン、妊馬尿のエクイレニンなどが検出され、研究が進んでいる。孵化直後から2年間、下水処理水に含まれる程度のEE2に曝露されたローチで精巣卵が誘起された²。また、アメリカでウシの肥育ホルモンとして用いられているトレンボロンには、強いアンドロゲン作用があり、カダヤシの稚魚への曝露により卵巣に精子が形成された³。ステロイドホルモン受容体の感受性に種差が見出されている(Katsushita et al., 未発表)。

2) 有機スズの作用

船底防汚塗料に用いられた有機スズは低濃度で巻貝のメスに雄性生殖器を形成させる作用が見出され、核内受容体のRXRを介した作用機構が報告されてい

る。有機スズを発生中のオタマジャクシに作用させると、生殖腺近傍の脂肪が増えること、妊娠中のマウスに投与すると生まれた子どもの乳腺脂肪、祖頸部および精巣近傍の脂肪が増加した。有機スズは核内受容体であるヒトのRXRおよびPPAR γ 、アフリカツメガエルのRXRおよびPPAR γ に結合し、活性化させた。マイクロアレイを用いて肝臓の遺伝子プロファイル調べたところ、脂肪細胞分化に関連する遺伝子の発現が認められた。さらに、培養系で脂肪細胞分化の解析に用いられる3T3L1細胞では、有機スズが脂肪細胞分化を促進した。このような解析から、有機スズにはPPAR γ を介した脂肪細胞分化促進作用が見出された。

さらに、ダイオキシン受容体とエストロゲン受容体とのクロストークなども見出されている。

新たに見出された内分泌かく乱物質の作用メカニズムの一端を紹介する。

【参考文献】

1. Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. WHO/IPCS, 2002.
2. Lange, A. et al., (投稿中) .
3. Sone, K. et al., Gen. Comp. Endocr., 143, 151, 2006.
4. Grün, F. et al., Mol. Endocrinol., 20, 2141, 2006.

CS5 ホヤの大規模トランスクリプトーム解析とその海洋環境科学への応用

安住 薫
北海道大学大学院薬学研究院・生化学教室

Global transcriptome analysis of ascidian and its application to assessment of marine pollution

Kaoru Azumi

Department of Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University

科学技術の発達により様々な化学物質が日々大量に製造され、工場排水や生活排水を経て海に排出されている。難分解性の化学物質は海産動物の体内に蓄積して様々な影響を及ぼしていると予想されるが、調べられている生物種は限られており、特に海産無脊椎動物に対する化学物質の影響や作用機構については解析が進んでいない。ホヤは幼生期にのみ脊索を有するので進化的に無脊椎動物から脊椎動物への移行期の動物として位置づけられており、さらに近年、ゲノムや遺伝子発現情報の整備によって分子生物学的解析基盤が充実した実験動物となっている。また、ホヤは産業国近海も含めて世界各地で岩や岸壁に固着して生活しているため、海洋汚染のモニタリングに適している。我々はホヤの大規模なトランスクリプトーム解析の技術を駆使して海洋環境科学の研究を展開していきたいと考えている。

1) カタユウレイボヤの遺伝子発現を指標とした金属、化学物質の影響評価系の開発

ゲノム解読により約 16,000 個のホヤ遺伝子が見いだされたが、塩基配列の相同性から機能が推定できる遺伝子は半数以下である。我々はホヤ全遺伝子の約 7 割を検出できる大規模なオリゴ DNA マイクロアレイを作製し、ホヤの受精卵から老成体までのライフサイクルにおけるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、約 1 万個のホヤ遺伝子のライフサイクルにおける発現パターン情報が得られ、パターンの類似性からホヤの遺伝子を 5 つのカテゴリー

(A: 胚特異的遺伝子群、B: 発生胚中期-成体遺伝子群、C: 成体特異的遺伝子群、D: 一定量発現遺伝子群、E: 母性遺伝子群)、49 個のサブクラスターに分類することに成功した(「安住式ホヤ遺伝子分類法」)。また、ホヤ成体に種々の化学物質や金属イオンを暴露させてアレイ解析を行い、暴露の前後で発現が大きく変動する遺伝子が多数存在すること、発現が変動する遺伝子の種類は暴露する物質の種類によって異なることを見いだした。さらに、発現が変動した遺伝子のカテゴリーを「安住式ホヤ遺伝子分類法」で同定することにより、化学物質や金属が影響を及ぼすホヤの生体機能が予測できた。予測された生体機能の内、胚発生と変態(固着)についてはホヤの発生胚と幼生を用いたバイオアッセイを行い、アレイ解析から予測された影響を実験的に証明することができた。上記 3 種類の解析を組み合わせることによって化学物質や金属のホヤ生体機能に対する影響を評価する新しい方法を開発することができた。

2) 舞鶴湾と瀬戸内海のカタユウレイボヤの遺伝子発現プロファイルの比較

現在、同じ親由来の幼生を固着させたシャーレを多数作製して舞鶴湾および瀬戸内海に垂下し、生育させている。それらのホヤを経時的にサンプリングしてトランスクリプトーム解析を行い、両海域のホヤの遺伝子発現プロファイルを比較する予定である。

CS6 媒介蚊の分布域拡大とリスク：疾病対策に比較免疫学は貢献するか

小林 睦生

国立感染症研究所 昆虫医科学部

The risk and expansion of distribution areas of vector mosquitoes: Comparative immunology contributes to outbreak control of vector-borne diseases ?

Mutsuo Kobayashi

Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases

炭酸ガス(CO₂)の濃度は1750年には280ppmであったのが2000年には368ppmと明らかに上昇し、有史以来最も高い濃度となっている。この影響によって、過去100年間に地上の平均気温が0.6度上昇し、北半球の温度上昇が他の地域より顕著であることも明らかとなった。将来予測はシナリオによって大きく異なるが、地球規模での温度上昇は2100年までに1.4~5.8℃と予想されており、これに関係して海水面が4~88 cm上昇すると指摘されている。異常気象としては2003年のヨーロッパ諸国での熱波、大規模な干ばつ、大型のサイクロン、台風、ハリケーンの出現、局所的な大雨などが認められている。「気候変動に関する政府間パネル(IPCC)」が最近発表した第4次評価報告書において、熱中症による死亡者の増加、間接的な影響としては、病気を媒介する蚊、ダニなどの生息域の高緯度地方への拡大が懸念されており、その他、氷河の融解による氷河湖の増加および氷河湖の決壊、近い将来のメガデルタ地域における水量の著しい減少などが指摘されている¹⁾。一方、温暖化の影響がvector-borne diseasesの流行にどの程度影響するか、実際、将来予測は難しい。近年、デング熱は毎年のように世界中で流行し、2005-2006年にインド洋島嶼国、インド、スリランカ等でヒトスジシマカが重要な媒介蚊であるチクングニア熱(Chikungunya fever)が大流行し、ウイルスの変異により多くの感染者が死亡した。また、この感染症が北イタリアの小さな村で突然300人規模の流行をおこした。媒介蚊は1990年にローマで初めて確認され、その後イタリア全土に分布域を広げたヒトスジシマカであった。我が国では過去50年間でヒトスジシマカの分布域が北へ明らかに拡大している^{2,3)}。日本脳炎、ウエストナイル熱、デング熱、黄熱、チクングニア熱などのウイルス、熱帯熱マラリアを代表とするヒトのマラリア、バンクロフト系状虫などの寄生線虫はイエカ、

ヤブカ、ハマダラカなどが媒介する。昆虫が本来持っている生体防御機構を攪乱または回避して巧妙に蚊の体内で増殖、発育する種々の病原体に対して、非感受性遺伝子を導入した媒介蚊を作製する事によって媒介能力を無くすことが提唱されている。しかし、この方法の大きな問題点は、野外に存在する感受性集団と遺伝子を導入した非感受性集団とを置き換える必要があることである。ヒトスジシマカやネッタシマカに種特異的に寄生が認められる原虫(*Ascogregarina* spp.)が日本でも高率に検出され、分子生物学的な解析も既に始まっている^{4,5)}。これらの原虫に外来遺伝子を導入してある種の抗病原体因子やその他の因子を発現するように操作し、大量にこれら原虫のオオシストを増殖し、幼虫発生源である人工容器にオオシストを処理することによって、媒介能力や蚊の行動を変化させることが出来ないかと考えている。遺伝子操作をした媒介蚊を大量に野外に放逐する方法より相手国に受け入れられやすいのではないかと?

[参考文献]

1. Kobayashi M., Komagata O., Nihei N.(2008) J. Disaster Research, 3(2):105-112.
2. Kobayashi M., Nihei N., Kurihara T.(2002) J. Medical Entomology, 39(1):4-11.
3. Kobayashi M., Kasai S., Sawabe K., Tsuda Y.(2008) J. Environmental Research (in press).
4. Roychoudhury S. & Kobayashi M.(2006) J. American Mosquito Control Association 22(1):29-36.
5. Roychoudhury S., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Saito N., Sawabe K., Kobayashi M.(2007) Parasitology International. 56(2):113-118.

古田賞受賞者講演：FP

川畑俊一郎

九州大学大学院・理学研究院・生物科学部門

カブトガニ *Tachypleus tridentatus* は、節足動物門、節口綱、剣尾目に属し、エビ、カニよりもクモに近縁である。獲得免疫は、遺伝子の組み換えに基づく抗体の多様性を基礎としているため、感染微生物に対する特異抗体ができるまで、通常、数日程度の時間が必要である。一方、自然免疫で活躍する食細胞やタンパク質は、感染の有無にかかわらず必要量が体内に存在し、感染初期の免疫反応に重要な役割を果たしていると考えられている。自然免疫は、動物に共通してみられる免疫系で、脊椎動物を除いた多細胞生物には獲得免疫はなく、自然免疫のみで感染微生物を防御している。自然免疫ではたらくタンパク質が、感染微生物を見分ける際に標的とする主要な物質は、リポ多糖、ペプチドグリカン、あるいは β -1,3-グルカンとよばれる細胞壁成分である。これらは、遺伝子の直接産物ではなく、いくつもの複雑な酵素反応の連鎖により作られる D-型を含むペプチド、糖鎖や脂質、あるいはそれらが複雑に結合したものである。

カブトガニは、受精卵の中で4回も胚脱皮して孵化後、15年をかけて脱皮を繰り返し成体となる。脊椎動物に劣らない長い寿命を誇るため、洗練された自然免疫を備えているはずである。また、カブトガニの体液に観察される細胞の99%は、1種類の顆粒細胞で占められ、自然免疫の研究を行なう上で大きな利点となっている^[1]。顆粒細胞内には大、小2種類の顆粒があって、体液凝固因子、レクチン、抗菌ペプチド、プロテアーゼインヒビター、トランスグ

ルタミナーゼ基質などが貯蔵されている^[2-19]。この顆粒細胞の特徴は、リポ多糖に鋭敏に反応して顆粒内成分を分泌することにある。その結果、体液凝固系が瞬時に働き、体液の流出と感染微生物の体内への拡散を阻止する。同時に、感染微生物はレクチンにより凝集されるとともに、抗菌ペプチドで殺菌される。最近になって、カブトガニの血漿中に補体系が存在することが判明し、自然免疫における補体系の重要性が示唆されている^[20]。

本講演では、カブトガニの自然免疫系で活躍するタンパク質の中から、リポ多糖を認識するセリンプロテアーゼ前駆体であるファクターCの自然免疫に果たす多機能性について紹介したい^[21-23]。

【1997年以降の主要文献】

1. Iwanaga, S. et al. (1998) *J. Biochem.* **123**: 1-15.
2. Saito, T. et al. (1997) *JBC* **272**: 30703-08.
3. Inamori, K. et al. (1999) *JBC* **274**: 3272-78.
4. Iwaki, D. et al. (1999) *EJB* **264**: 314-326.
5. Gokudan, S. et al. (1999) *PNAS USA* **96**: 10086-91.
6. Beisel, H.-G. et al. (1999) *EMBO J.* **18**: 2313-22.
7. Suetake, T. et al. (2000) *JBC* **275**: 17929-32.
8. Osaki, T. et al. (1999) *JBC* **274**: 26172-78.
9. Kairies, N. et al. (2001) *PNAS USA* **98**: 13519-24.
10. Kawasaki, H. et al. (2000) *JBC* **275**: 35297-301.
11. Nagai, T. et al. (1999) *JBC* **274**: 37673-78.
12. Nagai, T. et al. (2000) *JBC* **275**: 29264-67.
13. Nagai, T. et al. (2001) *JBC* **276**: 27166-70.
14. Osaki, T. et al. (2002) *JBC* **277**: 40084-90.
15. Fujitani, N. et al. (2002) *JBC* **277**: 23651-57.
16. Takaki, Y. et al. (2002) *JBC* **277**: 14281-87.
17. Iijima, M. et al. (2005) *FEBS J.* **272**: 4774-86.
18. Matsuda, Y. et al. (2007) *JBC* **282**: 33545-52.
19. Matusda, Y. et al. (2007) *JBC* **282**: 37316-24.
20. Zhu, Y. et al. (2005) *EMBO J.* **24**: 382-394.
21. Ariki, S. et al. (2004) *PNAS USA* **101**: 953-958.
22. Ozaki, A. et al. (2005) *FEBS J.* **272**: 3863-71.
23. Koshiba, T. et al. (2007) *JBC* **282**: 3962-67.

特別講演：SL

内藤 眞

新潟大学大学院・分子細胞病理学

Role of macrophages in physiological and pathological conditions.

Makoto Naito

Division of Cellular and Molecular Pathology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

マクロファージは専門的貪食細胞であり、多様な機構によって様々な機能を発揮するマクロファージが分化する。メチニコフは系統発生的に単細胞を除くすべての動物に貪食能を有する細胞が存在することを見出し、マクロファージ (macrophage, 大食細胞) と命名した。脊椎動物ではマクロファージは卵黄嚢の原始造血に初発し、このマクロファージは原始マクロファージと呼ばれ、造血幹細胞に相当する細胞から分化する。やがて大動脈領域 (aorta-gonad-mesonephros (AGM) 領域) に決定造血が起こり、造血幹細胞は肝原基に移住し、単球系細胞に分化し、マクロファージになる。魚類、鳥類、哺乳類は基本的に同様であり、原始造血と決定造血は異なった部位の中胚葉から発生する。つまり、個体発生的にマクロファージには原始造血由来と決定造血由来の起源を異にする二種類のマクロファージが存在する。

マクロファージの貪食・消化機構は種々の生理機能、病態に関わる。老化赤血球の貪食・取り込み機構はヘムおよびビリルビン代謝に重要である。ライソゾーム酵素の glucocerebrosidase 欠損による血球の分解、代謝障害ではライソゾーム内に glucocerebroside が蓄積し、Gaucher 病を惹起する。

マクロファージの増殖因子は多彩な組織マクロファージを産生し、病態に関わる。顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)ノック

アウトマウスでは肺胞サーファクタントの肺胞マクロファージによる分解処理異常によって肺胞内にサーファクタントが貯留し、肺胞蛋白症を発症する。ヒト特発性肺胞蛋白症では、GM-CSF に対する自己抗体が検出される。マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)欠損マウスは破骨細胞の分化障害によって大理石病を発症するほか、肝 Kupffer 細胞などの分化成熟障害を引き起こす。

マクロファージは種々の受容体を有する。スカベンジャー受容体は酸化低密度リポ蛋白(oxLDL) や種々の病原体を認識し、その発現は M-CSF や GM-CSF によって亢進する。スカベンジャー受容体の発現亢進は oxLDL の取り込みを増加させるが、oxLDL の細胞内蓄積は核内受容体 Liver X receptor α (LXR α) の発現を増強する。LXR α はコレステロールをマクロファージから除去する ABCA1 などの遺伝子発現を増強する。スカベンジャー受容体は病原体を取り込み、殺菌機構に関わるが、炎症性刺激は LXR α の発現を抑制する。炎症性シグナルはマクロファージのコレステロール蓄積を増加させ、泡沫細胞形成を促すことから、炎症は動脈硬化の一つの危険因子とみなされる。

このように、マクロファージは自然免疫の中核的細胞として生体防御と生理的機能に関わり、その機能破綻は感染性、免疫性、代謝性疾患を惹起する。

シンポジウム

マクロファージ
—生体防御の主役—

S1 ~ S6

S1 陸棲扁形動物及び陸棲軟体動物の生体防御に関わる食細胞

古田恵美子

比較免疫学会研究所

Phagocytes for internal defense system of the terrestrial planaria and the slug.

Emiko Furuta

The Research Institute for Comparative Immunology

1990 年以降沖縄に広範囲に分布し始めた陸棲プラナリア、ニューギニアヤリガタリクウズムシ (*Platydemus manokwai* : PM) は、2000 年代になって広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis* : AC) の待機宿主と確認された。プラナリア類の異物認識能を検索するため、PM 及び本州に通常見られるクロコウガイビル (*Bipalium fuscatum* : BF) を用い異物 (AC, HRBC) 注入後の宿主体内での動態を経時的に観察した。また陸棲軟体動物は、古くから AC の中間宿主として知られていたが、その宿主側の生体防御系については殆ど知られていなかった。1980 年代以後我々は、ナメクジ類を用い異物認識能、関係因子等生体防御系について明らかにしてきた。

1) 陸棲扁形動物

AC 感染ナメクジ類を捕食するため、体内に感染幼虫を持つ。最終宿主ラットの糞と共に飼育したヒラベッコウガイ (*Parmarion martensi* 沖縄で最も高い感染率を持つ) を PM に捕食させ、4 h, 24h, 1 ヶ月後に固定、通常の方法に従ってプレパレート作成、観察したところ、AC は消化管から結合組織内に遊出し宿主に認識されることなく体外に排出される。しかし、BF 結合組織内への HRBC 注入では、30 分後には結合組織細胞に取り込まれ、6 時間後には消化されている事を観察した。

2) 陸棲軟体動物

体腔を持たない扁形動物とは異なり、真の体腔を持ちその中を流れる体液中に血球を持つ。ヤマナメクジでは、この血球 (マクロファージ) は高い異物認識能を持ち、同種他個体すらパーフォリン依存的に拒絶する。血球数は、体内に異物が侵入すると約 1 時間後には通常の 5~7 倍に増加する。ヤマナメクジに酵母を注入後 BrdU での標識細胞を追跡したところ線維芽細胞がその起源である事が分かった。In vitro の実験では、TNF- α , IL-1 α の存在下でマクロファージ遊出数が 20 倍にもなる。

3) 結語

扁形動物及び軟体動物における食細胞は、高い異物認識能を持つ。その起源は、結合組織細胞であり、特にヤマナメクジでは、異物侵入後の急速な血球増加は生体内至る所に存在する線維芽細胞が活性化されて分裂し、血管系の内腔面から突出遊離し、マクロファージに転換する事が分かった。寄生虫に対する反応については講演時推論したい。

4) 参考文献

- 1) 古田恵美子、山口恵一郎、中村弘明 (2001) 文光堂「命を支えるマクロファージ」(p32~53)
- 2) 古田恵美子、山口恵一郎 (1997) 菜根出版「動物の血液細胞と生体防御」(p 41~62)

和合 治久

埼玉医科大学・保健医療学部・健康医療科学科・免疫学

Functional expression of phagocyte involved in insect host defense

Haruhisa Wago

Laboratory of Immunology, School of Medical Technology and Health,
Faculty of Health and Medical Care, Saitama Medical University

昆虫の血体腔には体液が存在し、背脈管のポンプの力で全身を循環している。この体液には、血球が存在し、皮膚あるいは消化管から侵入する外敵病原体などを排除することができる。昆虫の血球の種類や割合は昆虫種によって大きく異なるが、どの種にも共通して存在するのは、顆粒細胞とプラズマ細胞（アメーバ状細胞）である。この2種の血球は食食という異物を捕食して処理する食機能と寄生虫のような大型の異物を包囲して生体内で隔離して排除する包囲化機能をもっている。この観点で、これらの血球は昆虫の免疫担当細胞として位置づけられている。

これらの血球がいかに異物を認識し、どのような細胞行動を発現して異物を効率的に処理するか、またこうした細胞性防御反応に液性因子がいかに関与しているかについて解明するため、演者はこれまでに種々の実験を行ってきた。顆粒細胞はその名前の示すように細胞質に大小の顆粒をもち、細胞表面には多くの糸状突起をもっている。カイコ幼虫の顆粒細胞の機能発現を知るために、まず微細構造の研究から開始した。カイコ血球を酸化酵素阻害剤を用いてメラニン色素形成を阻害しながら生体外で培養すると、顆粒細胞はその糸状突起を放射状に伸展して付着する。一方、プラズマ細胞は糸状突起のほか膜状突起も伸展させる。このような突起の伸展による物体への付着反応は、生体内においても異物への排除の初期過程に観察されるので、異物に突起を伸展させることが食作用などの細胞性防御反応の発現に不可欠であると予想された。

そこで、生体内で観察される顆粒細胞の食作用を生体外でも発現できれば、食細胞の防御

機能を解析することができると予想された。顆粒細胞の糸状突起機能に温度がどう影響するか、また突起伸展に種々の細胞質成分の機能阻害剤がどう影響するかについて調べた。その結果、低温やサイトカラシンBのようなマイクロフィラメント機能阻害剤で、糸状突起機能が抑制されることを見出した。また、プラズマ細胞の膜突起は、マイクロチューブル機能阻害剤で抑制されることもわかった。こうした実験結果から、カイコ顆粒細胞を体液存在下で低温において付着のみ起こしておき、そこに異種細胞を与えてから適温にシフトさせると、付着した異物に糸状突起が伸展して生体内同様に、食作用が発現することが判明した。この意味で、糸状突起が連続的に伸長していく過程で何らかの異物シグナルを量的に獲得して、食作用あるいは包囲化作用という細胞行動を発現させていると考えられた。

昆虫の生体防御反応には、血球に依存する細胞性防御のほかに、抗菌蛋白質やレクチン、あるいはフェノール酸化酵素前駆体活性化系によるメラニン色素形成などに依存する液性防御反応も知られている。そこで次に、これらの液性防御反応と顆粒細胞が示す細胞性防御反応との間には、どんな関係があるのかについて追究した。種々の実験の結果、特にメラニン形成の過程で生じるフェノール酸化酵素の存在は顆粒細胞の異物への付着反応を著しく促すことが判明した。また、食作用の発現度とレクチンの産生あるいは抗菌蛋白質の産生において、直接的な相互関係があり、食作用の生じやすい異物粒子ほどより早くレクチンや抗菌物質が出現することがわかった。昆虫の液性防御因子はうまく細胞性防御反応を支え効率性を高めていた。

S3 ヒトデ幼生間充織細胞の生体防御機能：細胞から分子へ

古川 亮平、金子 洋之
慶応義塾大学 生物学教室

Defense system of the starfish larval mesenchyme cell

Ryohei Furukawa, Hiroyuki Kaneko
Department of Biology, Keio University

棘皮動物ヒトデは系統進化的に脊索動物に繋がる後口動物の基部に位置しており、生体防御システムの進化を考察する上で重要な動物である。ヒトデ幼生は、単層の上皮シートからなる外内胚葉と1種類の間充織細胞 (mesenchyme cells: MCs) からなる単純な体制を持つ。この MCs は、胞胚腔に注射された種々の異物に対して、活発な食食作用を示すことがメチニコフにより見出されていた。私たちは、これらの事実に基づいてヒトデ幼生の MCs に着目し、「1種類の細胞による最もシンプルな生体防御システムとはどのようなものか？」という問題の解明を目指して研究を行っている。今回、MCs の食食作用に着目した細胞レベルでの生体防御システムの全体像と、培養 MCs を主材料に行ったプロテオミクス解析の結果から推測される生体防御システムに関連するタンパク質群を紹介する。

ヒトデ幼生において、多くの MCs は外内胚葉の直下にネットワーク構造を呈して分布している。幼生をラテックスビーズ存在下の海水中で飼育すると、MCs は体内に侵入したビーズを外胚葉直下で食食する。また正常発生過程で、何らかの要因で死に至った上皮細胞を MCs は活発に食食する。このように、MCs は外来の異物もしくは自己由来の異物的成分を効率良く食食できる状態で配置しており、生理的に防御細胞として機能していると考えられる。一方、種々の異物を顕微注射する実験から、MCs の食食作用は多様な細胞行動を伴って進行することが明らかとなった。実際、注射

した納豆菌の存在領域に数多くの MCs が集合し、典型的な食食作用を示しながら凝集体を形成する。この凝集体は中心部にまだ食食し終わっていない納豆菌を閉じ込めているのみならず (包囲化)、MCs は互いに融合することにより多核体となる。また、MCs は食食作用に至る上で、種レベルでの異物認識を行う証拠を得ている。MCs はあらゆる異物を食食するにも関わらず、ヒトデ (同種) とウニ (異種) の精子を混合して注射すると、まずウニ精子のみを選択的に食食する。また、注射された MCs だけは食食せずに共生を許容する。これらの事実は、MCs は、同種細胞表面に存在する何らかの物質を認識することにより食食作用を抑制していることを示唆する。

培養 MCs を中心とした MS/MS 解析の結果、免疫系関連タンパク質にヒットするタンパク質断片情報を多く得ている。膜タンパク質では、Toll 様受容体をはじめ、種々のレクチン、免疫グロブリン様ドメインを有する受容体、Scavenger 受容体が見出されている。また、IL-27B や HMGB-1 などのサイトカインもヒットしており、MCs による免疫応答が高度に調節されている可能性も浮かび上がってきた。さらに、ITIM モチーフを有する配列や、SHPS-1 や SHIP-1 など細胞応答を負に制御するシグナル関連タンパク質も見つかっている。これらの分子情報をもとに、細胞レベルで得られてきた知見に基づいた MCs の生体防御システムを分子レベルで考察する。

ホヤ類の食細胞

大竹伸一

日本大学・医学部・一般教育学系・生物学分野

Phagocytes of Ascidians.

Shin-Ichi Ohtake

Division of Biology, Institute of Liberal Education, Nihon University School of Medicine

ホヤ類は脊椎動物の姉妹群であり、その系統学的位置から脊椎動物への進化を考える上で重要な動物群である。ホヤ類には、MHC や免疫グロブリンに関する遺伝子は存在しないとされ、自然免疫系が防御システムの中心になっていると考えられる。マクロファージの細胞系譜に関する考え方は、ホ乳類でも変わりつつあり、マウスの T/B リンパ球前駆細胞からマクロファージが分化できることが示されている。ホヤ類血球の分化系譜は明らかになっていないが、食細胞は循環体液中に存在して防御機構の中心的役割を担っており、ホ乳類のマクロファージの由来と共通性を持つと考えている。ホヤ類の食細胞について、マボヤを中心にその特徴を報告し、最近報告されている分子生物学的な知見をあわせて、多種多様なホヤ類の血球の中で唯一共通性が確認できる食細胞の系統進化について考察する。

1) ホヤ類の血球と生体防御反応

ホヤ類の血球は、血リンパ中に浮遊している自由細胞のことで、体腔細胞とよばれることもある。種ごとにその形態が異なり、マボヤには、8～12種類の血球が観察でき、各々の種において脊椎動物の血球の形態からは想像できない多様性がある。これらの血球は、食食作用以外にも防御反応に関わっており、凝集反応、同種異個体反応、フェノール酸化酵素の放出などが知られている。

2) 異物の食食

マボヤの血体腔に炭素粒子を注入すると、循環血と結合組織中の同一と思われる細胞に食食が認められた。しかし、マボヤの食細胞の自由型と固着型と

の相違や、相互の移行については不明である。血球浮遊液に種々な異物を加えると Small-granular amebocyte に活発な食食が認められた^[1]。マボヤの食細胞は、細胞融合を起こして多核の広い細胞シートを形成する細胞 (type1) と、小型の異物を食食する細胞 (type2) の2タイプを光顕的に識別することができるが、電顕的には両者を識別できていない。食食活性に関してオプソニン活性をもつ血漿中の因子の存在が推測されたが、マボヤ食細胞には原始的な補体リセプターサブユニットが発現していることが報告されている^[2]。

3) 食細胞による同種異個体血球の食食

群体ホヤやマボヤでは、同種識別反応が知られ哺乳類の免疫反応に関わる分子の相同遺伝子の検索が進んでいる。マボヤでは血球の同種異個体反応が知られており、同種異個体の血球が混在すると食細胞はこれを認識して食食することが推測された。同種異個体識別に食細胞が関与していることは、群体ボヤでも推測されており^[3]、ホヤ類食細胞のユニークな特徴である。

ホヤ類は獲得免疫系こそ確立させていないものの、ホ乳類に匹敵する自然免疫システムを確立させ、食細胞がその中心的役割をはたしていることが分かる。

【参考文献】

- Ohtake, S., et al. (1994) Zool. Sc.:681-691
- Miyazawa, S. and M. Nonaka. (2004) Immunogenetics 55:836-844.
- Ihsii, T., et al. (2008) Biol. Bull., 214:145-152.

-アユ好中球の特徴-

森友 忠昭・世良田 研
 日本大学・獣医学科・魚病学研究室

Respiratory burst in fish neutrophil - Feature of ayu neutrophil -

Tadaaki Moritomo and Ken Serada

Laboratory of Fish Pathology, Department of Veterinary Medicine, Nihon University

魚類好中球の活性酸素産生能 (RBA) をアユを中心に調べた。

1. 魚類好中球の活性酸素産生能 (RBA) の測定

各種魚類 (アユ, コイ, ニジマス, ウナギ, ワカサギ) の血液または腎臓 (主要な造血部位) から白血球浮遊液を作製し, 好中球 RBA をフローサイトメトリーにより測定した。

アユ好中球は, 他魚種に比べ極めて高い RBA を示し, この高い産生能は成長 (稚魚~親魚) および系統 (養殖, 天然) に関係なく一様であった。

これらのことから, アユ好中球は他魚種に比べ高い RBA を持つことがわかった。

2. 魚類炎症性好中球の RBA

一般に, 炎症性好中球は RBA を亢進させることが知られている。そこで, アユ好中球が, 炎症部位でさらに RBA を亢進させるかを調べた。

大腸菌死菌をアユ腹腔に接種し, 腎臓・血液・腹腔好中球の RBA を測定した。また, 同様の実験をコイでも行い, アユと比較した。

菌を接種すると, 腎臓から大量の成熟好中球が流出し, 血中そして腹腔へと移動した。コイでは腎臓・血中好中球と比べ, 腹腔好中球 (炎症性好中球) の RBA は明らかに亢進していた。しかし, アユの腹腔好中球は RBA を亢進させなかった。

アユ好中球の RBA は好中球の産生・貯蔵部位 (腎臓) ですでに高く, 炎症部位で RBA を亢進させないことが判った。

3. 魚類 NADPH 酸化酵素の構造解析

アユの好中球 RBA が高い原因を調べるため, 活性酸素産生酵素 (NADPH 酸化酵素) の構造を検討した。

アユおよびコイの腎臓から cDNA を合成し, NADPH 酸化酵素の各コンポーネント (gp91^{phox}, p22^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}) の遺伝子クローニングを行った。また, ゲノムが公開されているフグやゼブラフィッシュからも遺伝子配列を得た。

推定アミノ酸配列を基にドメイン・モチーフ解析を行ったところ, 活性酸素の産生制御に必要な部位は魚種間で良く保存されており, アユに特有なものは認められなかった。また, 魚類と哺乳類 (ヒト, マウス) の比較でも, 保存性が極めて高いことがわかった。以上のことから活性酸素の基本的な産生機構は脊椎動物で共通であり, アユ好中球の RBA が高い原因を特定することはできなかった。

4. 魚類好中球の NADPH 酸化酵素遺伝子の発現解析

アユ好中球 RBA が高い原因をさらに調べるため, gp91^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox} 遺伝子の発現を調べた。

アユまたはコイの腎臓白血球から, フローサイトメーターを用いて純度の高い好中球 (97%以上) を分取し, リアルタイム PCR にて調べた。

アユ好中球におけるこれら遺伝子の発現はコイに比べて明らかに高く, アユ好中球が健康時においても, RBA が高い要因の一つであると考えられた。

5. まとめ

寿命が 1 年であるアユにとって, 再度の感染に備える獲得免疫よりも, 即時応答できる好中球による自然免疫を強化することは, 生存戦略上有利ではないかと考えられた。

赤川清子
北里大学生命科学研究所
国立感染症研究所

Diversity and functions of human monocyte-derived macrophages

Kiyoko S. Akagawa

Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University and Department of Immunology, National Institute of Infectious Diseases

マクロファージ (MΦ) は、貪食作用、殺菌・殺ウイルス作用、抗原呈示作用、腫瘍細胞傷害作用、分泌作用、骨の形成と吸収作用、脂質の代謝作用など広汎な機能を有し、生体の防御、恒常性の維持、発生に基本的かつ重要な役割を担う細胞である。この多彩な機能は全てのMΦが均一に有すわけではない。この原因の一つに、MΦの分化増殖に関与するコロニー刺激因子 (CSF) の違いがあり、GM-CSF は肺胞MΦの形質発現に、M-CSF は破骨細胞や腹腔MΦの形成に関与することが、マウスの実験から明らかになった。

血中単球は、組織に入りその環境下にMΦに分化・成熟する。ヒト血中単球をM-CSFやGM-CSF存在下に培養すると、形質の異なる2種類のMΦに分化する。ヒト単球由来GM型MΦの形態 (fried egg-like shape) 及び表面マーカーの発現 ($c\text{-fms}^{\text{low}}$, CD14^{low} , CD71^+ and 710F^+) は、ヒト肺胞MΦのそれらに似ている。また、ヒトの肺胞蛋白症も、GM-CSF やそのレセプターの変異、そして GM-CSF に対する自己抗体による GM-CSF の作用阻害による肺胞MΦのサーファクタント処理機能の欠損によることが明らかにされた。これら結果は、マウスの肺胞MΦ同様ヒトの肺胞MΦの形質や機能分化にも GM-CSF が必須の因子であること、ヒト単球由来 GM 型MΦはヒト肺胞MΦのモデルになることが示唆された。一方、ヒト単球由来M型

MΦは、CD14 や $c\text{-fms}$ を発現する点などヒトの腹腔MΦや炎症局所に浸潤してきたMΦに似ている。ヒト単球由来M型MΦおよびGM型MΦの機能解析により、これら両MΦは、チロシンキナーゼ Hck や転写因子 C/EBPβの発現、 $bcl\text{-}2$ ファミリー分子の発現、サイトカイン産生能、抗原提示機能、カタラーゼの産生及びその産生制御機構の違いによるオキシダントストレス抵抗性の違い、HIV-1 や結核菌に対する感染感受性などが異なることが明らかになってきた。本シンポジウムでは、これら2種類の単球由来MΦの機能をヒト肺胞MΦと比較しながら述べると共に、肺はGM-CSFが豊富な組織として古くより知られているが、肺胞MΦの分化成熟におけるGM-CSFの意義について述べる。

参考文献

赤川清子：マクロファージの多様性とその起源、“生体防御医学事典” (鈴木和男監修)、p132-138, 朝倉書店, 2007

赤川清子：肺胞マクロファージの分化とGM-CSF—PPAR-γの発現と抗炎症作用、医学のあゆみ 224: 857-860, 2008

一般演題 : C1 ~ C6

D1 ~ D4

ショウジョウバエ新規遺伝子 *CG9080* の発現誘導後藤 彰¹、矢野 環¹、寺島 潤¹、倉田 祥一郎¹¹東北大学大学院薬学研究科**Novel *Drosophila* gene *CG9080* is induced upon intracellular bacteria *Listeria* infection.**Akira Goto¹, Tamaki Yano¹, Jun Terashima¹, Shoichiro Kurata¹¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University.

【目的】

当研究室で最初に同定されたペプチドグリカン認識タンパク質 PGRP-LE は、自然免疫シグナル伝達経路の一つである Imd 経路およびメラニン合成に関わる proPO 経路の活性化に寄与する多機能性分子である^[1]。近年、この PGRP-LE が細胞内寄生細菌に対する認識分子として機能する可能性が示唆された^[2]。本研究では、細胞内寄生細菌であるリステリア菌を用いて、PGRP-LE を介した新規宿主防御因子を同定することを目的とした。

【材料と方法】

ショウジョウバエマクロファージ様細胞である S2 株を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った。実験には、PGRP-LE 発現細胞および非発現細胞を宿主細胞として、感染させるリステリア菌は細胞質内へ侵入可能な野性株および不可能な Listeriolysin O (LLO) 欠損株を用いた。様々な組み合わせのサンプルを用いて解析を行ない、PGRP-LE 依存的かつ野性型のリステリア菌の感染特異的に発現誘導される遺伝子群を抽出した。

【結果】

PGRP-LE 依存的かつ野性型のリステリア菌に応答して発現誘導されるショウジョウバエ新規遺伝子 *CG9080* を、DNA マイクロアレイ解析により抽出した。定量 PCR 法による詳細な発現解析を行ったところ、*CG9080* は S2 細胞 (*in vitro*) および ショウジョウ

バエ成虫 (*in vivo*) の両方においてリステリア菌感染に対して誘導された。

さらに、様々な種類の *CG9080* 安定過剰発現細胞を用いて感染実験を行ったところ、*CG9080* がリステリア菌の宿主 S2 細胞内での増殖抑制に寄与する可能性が示唆された。

【結論】

本研究によって同定されたショウジョウバエ新規遺伝子 *CG9080* は、リステリア菌野性感染により誘導された。*CG9080* は、グリシン豊富領域を含む分泌性タンパク質であることが、演繹される 121 アミノ酸配列の解析により推測された。また、過剰発現細胞を用いた解析により、*CG9080* が抗菌ペプチド様活性を有する可能性が示された。

【参考文献】

1. Takehana A, Yano T, Mita S, Kotani A, Oshima Y, Kurata S (2004) EMBO J, 23:4690-4700
2. Kaneko T, Yano T, Aggarwal K, Lim J.H, Ueda K, Oshima Y, Peach C, Erturk-Hasdemir D, Goldman W.E, Oh B.H, Kurata S, Silverman N (2006) Nat Immunol, 7:715-723

ショウジョウバエ PGRP-LE の細胞内認識依存的なオートファジー誘導 によるリステリア菌の増殖抑制

矢野 環¹, 三田 静香¹, 大森 弘子^{2,3}, 大島 吉輝¹, 上田 龍⁴, 吉森 保^{2,3}, 倉田 祥一朗¹
¹東北大・院・薬, ²阪大・微研, ³CREST, ⁴遺伝研

Autophagic control of *Listeria monocytogenes* via intracellular recognition by PGRP-LE in *Drosophila*

Tamaki Yano¹, Shizuka Mita¹, Hiroko Omori^{2,3}, Yoshiteru Oshima¹, Ryu Ueda⁴, Tamotsu Yoshimori^{2,3}, Shoichiro Kurata¹

¹Grad. School Pharm. Sci., Tohoku Univ., ²BIKEN, Osaka Univ., ³CREST, ⁴Nat. Inst. Genetics

【目的】

自然免疫は哺乳類を含むほぼすべての多細胞生物が有する生体防御機構である。ショウジョウバエでは、Peptidoglycan Recognition Protein (PGRP)ファミリーが侵入した病原体を認識し、抗菌ペプチド産生を誘導する。我々はこれまでに PGRP-LE が DAP 型ペプチドグリカンをもつ細菌を認識し、細胞内シグナル伝達経路である IMD 経路を活性化することを明らかにしてきた^[1,2]。細胞内寄生細菌は宿主細胞内に侵入し増殖することによって、抗菌ペプチドなどの体液性自然免疫から逃れている。これまで、細胞内寄生細菌に対する認識と自然免疫応答は、ショウジョウバエにおいては全く不明であった。

ほ乳類細胞においては、細胞内寄生細菌に対する防御反応としてオートファジーが重要である。しかし、細胞のタンパク質等の代謝回転に常時機能しているオートファジーが、細胞内寄生細菌感染時にもどのように菌の周囲に誘導されるのかは不明であった。そこで我々は、PGRP-LE の細胞内における認識分子としての機能と、オートファジーがその認識依存的に誘導されるかについて検討した。

【材料と方法】

ショウジョウバエ成虫の体腔にリステリア菌を注入し、その後の生存率を測定した。さらに、様々な変異体ショウジョウバエの幼虫から取り出して *ex vivo* 培養した体液細胞、あるいは培養細胞株である S2 細胞、PGRP-LE を発現させた S2 細胞^[2]を用いてリ

ステリア菌の感染を行い、細胞内へリステリア菌が侵入した後、抗生物質 Gentamicin を含む培地中で培養することにより、細胞内におけるリステリア菌の増殖を測定した。また、オートファジーの誘導を、分子マーカーである GFP-LC3 の細胞内局在を指標として、蛍光顕微鏡と免疫電子顕微鏡により観察した。

【結果】

PGRP-LE 変異体が細胞内寄生細菌であるリステリア菌に対する生存率に感受性を示し、それが PGRP-LE を体液細胞に発現させることにより回復した。さらに、*ex vivo* 培養した PGRP-LE 変異体液細胞、オートファジーの必須因子である *Atg5* 発現を RNAi 法により抑制した体液細胞では、リステリア菌の細胞内増殖が野生型と比較して増加した。リステリア菌の細胞内侵入によりオートファジーが誘導され、オートファゴソームが菌体を取り囲むが、これは PGRP-LE に依存的であった^[3]。

【結論】

PGRP-LE は細胞内においてリステリア菌を認識し、それによる菌体の周囲でのオートファジーの誘導が、リステリア菌に対する抵抗性に寄与していることが示された。

【参考文献】

1. Takehana, A, *et al.* *EMBO J.* **23**, 4690-700 (2004).
2. Kaneko, T. *et al.* *Nat. Immunol.* **7**, 715-723 (2006)
3. Yano, T. *et al.* *Nat. Immunol.* in press

C3 モンシロチョウ免疫機能におけるピエリシン-1の役割

中口(高橋) 梓¹, 松本 恭子¹, 山本 真史¹, 岩淵 喜久男², 戸塚 ゆ加里¹, 杉村 隆¹, 若林 敬二¹
¹国立がんセンター研究所・がん予防基礎研究プロジェクト, ²東京農工大学・応用昆虫学研究室

The role of apoptosis-inducing protein, pierisin-1 in immune systems of white butterfly.

Azusa Takahashi-Nakaguchi¹, Yasuko Matsumoto¹, Masafumi Yamamoto¹, Kikuo Iwabuchi², Yukari Totsuka¹,
Takashi Sugimura¹, Keiji Wakabayashi¹

¹National Cancer Center Research Institute, ²Tokyo University of Agriculture and Technology

【目的】

ピエリシン-1はモンシロチョウ体内に存在する分子量98kDaのタンパク質で^[1]、糖脂質Gb3等を表面に持つ哺乳類細胞に取り込まれ^[2]、DNAをモノADPリボシル化することにより^[3]、アポトーシスを誘導する。ピエリシン-1のモンシロチョウ体内における役割は良くわかっていないが、モンシロチョウ体内で、変態時の不要組織の除去に関わると考えられてきた^[4]。一方で生体防御にも関わる可能性も示唆されている。そこで本研究では、液性免疫および細胞性免疫におけるピエリシン-1の働きについて検討した。

【材料と方法】

液性免疫については、寄生蜂等に対するピエリシン-1の毒性と、寄生、非寄生時のピエリシン-1の発現動態を調べた。細胞性免疫については、寄生者と接触させた血球におけるピエリシン-1の発現動態を調べた。

寄生蜂は、卵および幼虫を培養して試験に用いた。ピエリシン-1の発現動態については免疫染色、リアルタイムPCR、ウェスタンブロッティングを行い、比較検討した。

【結果】

ピエリシン-1によって障害を受け、死亡する寄生者と耐性を示す寄生者が確認された。ピエリシン-1の発現動態を調べた結果、異物侵入時にはピエリシ

ン-1の発現が誘導され、寄生時にはこれが制御されている可能性を見出した。

【結論】

ピエリシン-1が液性免疫・細胞性免疫の両方に関わっていることが示唆された。今後さらに、モンシロチョウ免疫機構におけるピエリシン-1の役割について追求する。

【参考文献】

1. Watanabe M, Kono T, Matsushima - Hibiya Y, Kanazawa T, Nishisaka N, Kishimoto T, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (1999) Proc Natl Acad Sci U S A., 96:10608-13.
2. Matsushima - Hibiya Y, Watanabe M, Hidari KI, Miyamoto D, Suzuki Y, Kasama T, Kasama T, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (2003) J Biol Chem., 278:9972-8.
3. Takamura - Enya T, Watanabe M, Totsuka Y, Kanazawa T, Matsushima-Hibiya Y, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (2001) Proc Natl Acad Sci U S A., 98:12414-9.
4. Watanabe M, Nakano T, Shiotani B, Matsushima - Hibiya Y, Kiuchi M, Yukuhiro F, Kanazawa T, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (2004) Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 139:125-31.

C4 リポ多糖受容体として機能するカプトガニ Factor C の構造機能解明

小柴琢己、川畑俊一郎

九州大学大学院・理学研究院・生物科学部門

Structure-function studies of horseshoe crab factor C acts as an LPS receptor.

Takumi Koshiba and Shun-ichiro Kawabata

Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University

【目的】節足動物では、感染微生物に由来する分子パターンを認識するパターン認識タンパク質 (PRP) が発達している。私たちの研究室では、PRP の立体構造を決定してパターン認識の構造基盤を解明することを目指している。自然免疫の本質は、自己と非自己の識別という多細胞生物に共通する反応であり、PRP の構造機能相関の解析から、感染微生物に対する分子認識の普遍的な構造が見いだされる可能性が高い。カプトガニの顆粒細胞は、リポ多糖 (LPS) に対して鋭敏に反応し、開口放出が誘導される。LPS は、顆粒細胞表面に存在するセリンプロテアーゼ前駆体 (Factor C) が受容体となり、そのプロテアーゼ活性により、特異的な G タンパク質共役型受容体を活性化することが示唆されている¹⁾。一方では、顆粒細胞の主要成分である抗菌ペプチドのタキプレシンが濃度依存的に開口放出を誘導すること、タキプレシンは G-タンパク質と直接相互作用することも判明している²⁾。今回、Factor C の LPS 結合ドメインの構造機能解析を行なった。

【結果と考察】顆粒細胞を蛍光ラベルした LPS と反応させたところ、LPS は細胞膜上の Factor C と共存しており、Factor C が細胞上における主要な LPS 受容体であることが確認された。そこで Factor C のリコンビナントタンパク質

を用いて、LPS に対する詳細な結合実験を行なったところ、LPS 結合部位は、Factor C のアミノ末端側の Cys-rich ドメインに存在し、さらに、Cys-rich ドメインの -Arg-Trp-Arg- 配列が LPS 結合に必須であることが判明した。このトリペプチド配列が β -ストランド上にあると仮定すると、同方向を向いた 2 つの Arg 側鎖が LPS のリピド A 部分のグルコサミンに結合したリン酸基と相互作用し、さらに Trp 側鎖が、グルコサミン六員環とスタッキングすることで、LPS を特異的に認識できることが推定される。このトリペプチドモチーフは、既知のほ乳類 LPS 結合タンパク質 (LBP や CAP18 など) にも見られる配列であり、LPS 認識に必要とされるタンパク質の構造様式は、種を超えて保存されていると思われる。

【参考文献】

1. Ariki, S., Koori, K., Osaki, T., Motoyama, K., Inamori, K., and Kawabata, S. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**: 953-958.
2. Ozaki, A., Ariki, S., and Kawabata, S. (2005) *FEBS J.* **272**: 3863-3871
3. Koshiba, T., Hashii, T., and Kawabata, S. (2007). *J. Biol. Chem.*, **282**: 3962-39

—既知レクチンおよびレクチン阻害糖を用いた解析—

木村美智代¹, 浅香優子², 塩田祥子², 関根のぞみ², 和合治久¹
¹埼玉医科大学保健医療学部、²埼玉医科大学短期大学・臨床検査学科

Lectin involved in wound repair response in planaria
 —Analysis using well-known lectins and lectin-inhibiting sugars—

Michiyo Kimura¹, Yuko Asaka², Sachiko Shiota², Nozomi Sekine², Haruhisa Wago¹

¹ Faculty of Health and Medical Care, Saitama Medical University, ² Saitama Medical University Junior College

【目的】

プラナリアは扁形動物門渦虫綱に属し、三胚葉性動物に分化した最初の動物であり、再生力が旺盛なことが知られている。われわれはこれまでに創傷治癒反応や再生現象にどのような生体防御因子が関与しているか探索してきた。その結果、体表粘液中にはヒトの赤血球を凝集するレクチンが存在し、N-アセチルアミノ糖や D-マンノースに特異性を示すこと、大腸菌や黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性が存在すること、創傷治癒反応には熱ショック蛋白質が、再生にはレクチンが必要であること、などを報告してきた。今回の実験ではプラナリアを人為的に切断した後、レクチン阻害糖あるいは糖特異性の明らかなレクチン存在下において、創傷治癒反応がいかなる影響を受けるかについて治癒時間を指標に調べた。

【材料と方法】

研究室で飼育されたプラナリア (*Dugesia japonica*) を材料に、実験前1週間絶食させた個体を使用した。レクチン阻害糖として N-アセチルグルコサミン、D-ガラクトース、L-フコース、D-マンノースを使用し、それぞれ 25mM、50mM、100mM、の3濃度の溶液を調製して実験に用いた。また、既知レクチンとしてドリコスレクチン(DBA)、コンカナバリン A (ConA)、ピーナッツレクチン(PNA)、ウレックスレクチン(UEA-I)の4種類を用い、それぞれ 5 μg/ml、10 μg/ml、20 μg/ml の溶液を調製して実験に使用した。プラナリアの咽頭前部で切断し、尾部を糖ある

いはレクチンの溶液が入った 12 穴プレートに1個体ずつ入れ、創傷治癒反応を実体顕微鏡で経時的に観察した。観察後、糖あるいはレクチン存在下でプラナリアを飼育し、1週間後の生存率を調べた。コントロールとして糖、レクチンが含まれていない溶液も準備し、同様の実験を行った。

【結果】

プラナリアの創傷治癒反応において、4種類の糖すべてにおいてコントロールと比較し、遅延が見られ、それは濃度依存的事であること、生存率は糖によって差が見られるが、D-マンノースでは濃度依存的に低下することが判明した。一方、4種類の既知レクチンではコントロール群よりも創傷治癒反応を促進する傾向があり、その至適濃度は 5 μg/ml であること、生存率は 100% であることが分かった。

【結論】

これまでの研究から、プラナリアの創傷治癒反応には熱ショック蛋白質、再生反応には体表粘液レクチンが関与することが明らかになっているが、今回得られた結果より、レクチンは生体防御因子として存在しているだけでなく、創傷治癒反応にも重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。今後、創傷治癒部位のレクチン結合部位を免疫組織学的に追究することにより、創傷治癒反応におけるレクチンの機能と役割が明らかになると考えられる。

C6 ウニ幼生に感染する細菌の特定と免疫関連遺伝子の発現解析

日比野 拓¹, Jonathan Rast²

¹埼玉大学教育学部、²トロント大学サニーブルック健康科学センター&医学生物物理学科

Identification of infected bacteria and analysis of gene expression patterns involved in immune system in sea urchin development.

Taku Hibino¹, Jonathan Rast²

¹Faculty of Education, Saitama University, ²Sunnybrook Research Institute and Department of Medical Biophysics, University of Toronto

【目的】

ウニの幼生は変態までの1ヶ月間、餌を食べながら遊泳生活を送る。この間、ウニ幼生の上皮組織は多くの病原体に暴露され、ある細菌は上皮を通り抜け体内に感染することが予想される。しかし、ウニ成体への感染細菌の研究は盛んに行われているものの、ウニの発生過程における細菌感染の研究は乏しい。そこで本研究では、自然海水で飼育したウニの胚や幼生を、蛍光ラベルした *16S rRNA* 共通プローブを用いて Whole mount *in situ* hybridization (WMISH)を行うことによって、細菌の感染頻度と感染部位を調べた。また *16S rRNA* の塩基配列を決定し、感染した細菌種を特定した。

一昨年ウニゲノム解析が終了し、千個以上の免疫関連遺伝子がアノテーションされた。この遺伝子情報をもとにプライマーを作成し、自然海水と人工海水で飼育したプルテウス幼生における免疫関連遺伝子の時間的空間的な発現パターンを比較し、幼生の免疫応答に関わる遺伝子を特定した。

【材料と方法】

マウントデザートアイランド生物学研究所にて、アメリカムラサキウニ *Strongylocentrotus purpuratus* の胚と幼生を、12–15°Cで飼育した。岸で汲んだ自然海水を毎日与えることにより不特定の細菌に暴露させた。受精後3日、7日、10日目のプルテウス幼生を Trizol (Invitrogen) で固定し、塩基配列決定と発現解析に用いた。同時に4%パラフォル

ムアルデヒド固定を行い、WMISH 実験に用いた。

【結果】

16S rRNA 共通プローブを用いた WMISH 実験により、7日、10日目の4腕プルテウス幼生では、腸内と上皮に存在する細菌が見られたが、細菌の感染頻度は低く腸内では12–18%、上皮では5–6%であった。腸内細菌は、腸内に消化物があるときにのみ見られた。口が開く前の3日目幼生では、腸内に感染した細菌は見られなかった。またどの発生ステージでも体腔内に感染している細菌はまったく見られなかった。*16S rRNA* の塩基配列決定により、現在までにウニ幼生に感染する細菌を10種以上(2種の培養可能細菌を含む)特定した。

自然海水で飼育した幼生では、補体系遺伝子やウニ独自の遺伝子である *185/333* の発現が大きく上昇していることが分かり、食作用の機能をもつ体腔細胞で強い発現が見られた。

【結論】

ウニ成体だけでなく、ウニ幼生の上皮や腸内にも細菌が感染することが明らかになった。幼生の口が開いた後、細菌は餌とともに腸内に進行する。そして餌の消化と同調した細菌増殖の周期がある可能性が示唆された。免疫関連遺伝子の発現パターン解析により、ウニ成体だけでなく幼生においても補体系や *185/333* が免疫応答に関与していることが示唆された。

D1 イトマキヒトデ幼生間充織細胞における食食作用関連タンパク質の探索

船橋宏美¹⁾、古川亮平²⁾、金子洋之²⁾、森山英明³⁾

慶應義塾大学大学院・生命システム情報¹⁾、慶應義塾大学・生物学教室²⁾、ネブラスカ州立大学・化学科³⁾

Proteomic analysis of starfish embryonic mesenchyme cells to explore phagocytosis-related molecules

Funabashi Hiromi¹⁾, Furukawa Ryohei²⁾, Hiroyuki Kaneko²⁾, Moriyama Hideaki³⁾

Dpt. of biological Science and Informatics, Keio Univ.¹⁾ and Dpt. of biology, Keio Univ.²⁾, Dpt. of chemistry, University of Nebraska-Lincoln³⁾

【目的】

ヒトデ幼生の間充織細胞は、メチニコフにより細胞の食食作用が最初に報告された記念すべき細胞である。その活発な食食作用は、幼生体内に異物を注射する実験や培養下に単離した間充織細胞にビーズを投与する実験において検証することができる。系統進化的にヒトデは新口動物の基部に位置することから、ヒトデ幼生の間充織細胞は脊椎動物マクロファージの細胞祖先であると考えられる。しかし、この間充織細胞を特徴づける食食作用の分子機序の解明研究はなされていない。現在、私たちは、培養間充織細胞を中核に据えたプロテオミクス解析を進めており、間充織細胞に発現するタンパク質情報を網羅的に収集している。ヒトデ幼生間充織細胞の食食作用を分子レベルで研究していくために、これらのデータの中から食食作用に関する分子情報の効率的な選別を試みた。

【材料・方法】

タンデム質量分析装置 (MS/MS) を用い、①培養間充織細胞、②胞胚細胞、③原腸胚細胞からタンパク質の断片情報を得た。次に、配列データベースの検索アルゴリズム MASCOT に、ユニ遺伝子、イトマキヒトデ EST 配列由来のアミノ酸データベースを新たに追加し、上記①～③のデータを検索した。続いて、ベン図作成プログラムを用いて重複するデータを除き、①～③に特異的なタンパク質情報に分類した。最後に、NCBI (the National Center for Biotechnology Information) に登録されている食食作用関連タンパク質のデータベースを作成し、①を中心としたタンパク質データを解

析した。

【結果】

上記①～③のサンプルから、3 万以上のタンパク質断片の情報を得た。これらから、ベン図作成プログラムを用いて重複を除いたところ、計 3424 種のタンパク質とのヒットを検出できた。

また、NCBI に登録されている 1157 種の食食作用関連タンパク質を検索したところ、①～③の総データ中に 43 種のタンパク質が存在することが分かった。これらをベン図作成プログラムを用いて、(i) 培養間充織細胞に特異的なタンパク質群、(ii) 胞胚/原腸胚に特異的なタンパク質群、(iii) 全てに存在するタンパク質群に分類した。その結果、(i) には、抗食菌作用を有する M タンパク質、phagocytosis の際に細胞表面を拡張する DOCK180、apoptosis 細胞の食食を促進する ATP-binding cassette sub-family A member7 が見出された。また、食食作用関連タンパク質として NCBI に登録されている多様なタイプのみオシンが、43 種中の半数を占めていたが、(i) に特異的なタイプはなく、(ii) にタイプ I A、C、K が属した。また、clathrin、Rab/Ras などの小胞輸送に関与するタンパク質が、(iii) に分類された。

【結論】

本研究の結果から、ヒトデ幼生の間充織細胞が有する活発な食食作用を分子レベルで理解するための数種類のタンパク質を研究候補として挙げ得た。今後、これらの遺伝子単離を通して、幼生体内での生理的な発現パターンや阻害効果を解析したい。

細菌感染魚の食食性顆粒球

近藤 昌和¹, 高橋 幸則¹, 菅原 和宏²¹水産大学校・生物生産学科, ²滋賀県水産試験場

Phagocytic granulocytes of fish infected with bacteria

Masakazu Kondo¹, Yukinori Takahashi¹, Kazuhiro Sugahara²¹Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, ²Shiga Prefectural Fisheries Experimental Station

【目的】

アユに冷水病菌 *Flavobacterium psychrophilum* を人為感染させたところ、感染5日前後から、未感染魚では認められない食食性顆粒球 (PG) が出現した。この血球の形態学および機能的特性について報告するとともに、他魚種においても同様の血球が細菌感染時に出現するか否かを調べた。

【材料と方法】

冷水病菌感染アユの血中 PG に種々の染色を施して観察するとともに、食食能などの有無を調べた。また、ヒラメに *Streptococcus iniae* を、マダイに *Edwardsiella tarda* を、コイとウナギに *Aeromonas hydrophila* を腹腔内接種したのち、PG が出現するか否かを調べた。

【結果】

冷水病菌感染アユの PG は、細胞質内に好塩基性を示し、粗面小胞体と考えられる不定形構造物 (Y 小体) を多数有していた。また、細胞化学的特徴は、未感染アユの好中球 (正常好中球) に類似していたが、未感染魚では、ペルオキシダーゼ (PO) 陽性反応が難染性顆粒 (β 顆粒) と核に認められるのに対して、PG では β 顆粒にのみ検出された。PG は、①浮遊条件下で冷水病菌に対して食食、活性酸素産生および殺菌活性を示すとともに、脱顆粒反応と細胞凝集を起こしたが、これらの反応に血清は影響しなかった。②遊走能を有していた。③ガラスやプラスチックに付着・伸展後、脱顆粒し、冷水病菌に対する

食食能が低下した。④感染後、主に腎臓で産生され、脾臓や皮膚の表皮に浸潤し、食食能を示した。⑤ *Aeromonas sobria*、*Vibrio anguillarum*、*Pseudomonas plecoglossicida* といったグラム陰性病原細菌のみならず、グラム陽性病原細菌 *S. iniae* に感染させたアユにも、形態学的に冷水病菌感染時と同様の PG が出現した。⑥冷水病菌感染アユの PG は、冷水病菌を多数食食したが、*V. anguillarum* に対する食食は弱く、*S. iniae* に対してはほとんど食食しなかった。一方、*V. anguillarum* 感染アユの PG は、*V. anguillarum* を多数食食し、冷水病菌に対しても高い食食活性を示したが、*S. iniae* に対する食食はほとんど認められなかった。また、*S. iniae* 感染アユの PG は *S. iniae* を食食するとともに、PG 同士の凝集像も観察された。⑦ PG の顆粒中には、オプソニン因子が存在した。⑧冷水病菌に感染耐過したアユでは、再感染後、速やかに PG が血液中出现した。

病原細菌を接種した各種魚類にも、アユの PG と同様に、Y 小体を豊富に有する血球が出現した。コイ、ヒラメおよびマダイでは、PO 陽性の β 顆粒も観察されたが、ウナギの難染性顆粒は PO 陰性であった。ヒラメでは、未感染魚の好中球とは異なり、 β -グルクロニダーゼと α -ナフチルブチレートエステラーゼが検出された。

【結論】

細菌感染魚に出現する PG は、正常好中球に類似した血球であるが、感染に用いた細菌に対して特異的な異物認識能があるのではないかと推察された。

近藤 昌和¹, 友永 進², 高橋 幸則¹

¹水産大学校・生物生産学科, ²昇陽学院

Hemocyte of Ostracoda (Crustacea)

Masakazu Kondo¹, Susumu Tomonaga², Yukinori Takahashi¹

¹Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, ²Shyoyou Academy

【目的】

甲殻類(甲殻亜門)は一般に、6綱に分類されている。我々は、これまでに3綱に属する甲殻類の血球形態について調べ、低位群である鰓脚綱や顎脚綱(鰓尾亜綱)では、形態は異なるものの、血球は1種類であり、顆粒を有していることを明らかにした。また、顎脚綱鞘甲亜綱では血液中の血球は少なく、血球には難染色性顆粒とともに、偽足も観察され、蔓脚上皮表面に血球と同様の細胞が存在し、アメーバ様運動が認められた。さらに、同綱カイアシ亜綱では循環血球は認められないが、組織表面にアメーバ様運動をする細胞が観察された。一方、高位群である十脚目(軟甲綱真軟甲亜綱ホンエビ上目)の血球種数は、8種類(クルマエビなど)、4種類(イセエビなど)、3種類(アメリカザリガニなど)、2種類(テナガエビなど)およびテナガエビとは異なる2種類(オオシロピンノ)と、多様であることが明らかとなった。クルマエビなどに観察される8種類の血球は、同綱真軟甲亜綱フクロエビ上目等脚目や同上目端脚目のみならず、真軟甲亜綱と共通の祖先種から分岐した軟甲綱トゲエビ亜綱口脚目にも観察されている。したがって、8種類の血球を有する甲殻類は、軟甲綱に広く分布していると思われる。一方、軟甲綱コノハエビ亜綱薄甲目のコノハエビには1種類の顆粒球のみが存在する。コノハエビは軟甲綱に分類されているが、分岐分類学的分析結果からは、貝形虫綱や顎脚綱鞘甲亜綱と共通の祖先から分岐してきたと考えられている。本報告では、貝形虫綱ミオドコーパ亜綱ウミホタルの血球形態について調べ、他の甲殻類と比較した。

【材料と方法】

吉見湾で採取したウミホタルを、ゼラチン処理したスライドガラス上に置き、心臓付近の背甲に、メスで切り込みをつけた。流出血液を、冷固定液と混合し、風乾したのち、各種染色を施した。また、位相差顕微鏡観察も行った。

【結果】

顕微鏡下でウミホタル生体を観察したところ、長径約20 μ mの楕円形から紡錘形の血球が循環していた。また、循環血球が上皮表面に付着している像や、付着部位から遊離して循環する像も観察された。位相差顕微鏡観察によって、細胞質に多数の顆粒が認められた。しかし、充満する顆粒の影響で、核は観察されなかった。メイグリュンワルド染色標本観察によって、血球は1種類であり、2種類の小型円形顆粒(難染色性顆粒と好塩基性顆粒)を有していることが明らかとなった。難染色性顆粒は直径0.5 μ m以下であり、好塩基性顆粒は直径0.2 μ m以下であった。両顆粒は、pH5~8のいずれのリン酸緩衝液(¹/₁₅M)を用いた染色標本においても観察された。核は細胞のほぼ中央に位置し、円形から楕円形であった。核内には、粒子状のヘテロクロマチンが散在していた。

【結論】

ウミホタルには1種類の血球が認められた。また、細胞質には難染色性顆粒が充満していた。このことは、貝形虫綱が鞘甲亜綱(顎脚綱)と共通の祖先種から分岐したという考えを支持するものと思われる。

マボヤの血リンパに対する低温処理の影響

石井照久¹、澤田知夫²、大竹伸一³¹秋田大学・教文・生物, ²山口大学・医学研究科・器官解剖, ³日本大学・医学部・生物Effect of low temperature on hemolymph of the solitary ascidian, *Halocynthia roretzi*Teruhisa Ishii¹, Tomoo Sawada², Shin-Ichi Ohtake³¹ Division of Biology, Akita University, ² Division of Organ Anatomy, Yamaguchi University School of Medicine,³ Division of Biology, Nihon University School of Medicine

【目的】

脊索動物に所属するマボヤは実験的に海水が凍るくらいの低温にさらされても耐凍性を示すことが分かっている。マボヤは低温時になんらかの耐凍成分を分泌し、体液の凍結を防ぐなどの防御反応を行い、低温をのりきると考えられる。

マボヤの生体防御システムにおいて、血リンパは重要な要素である。血リンパは血球成分とプラズマ成分からなり、これまで様々な防御機能が調べられてきた^[1]。しかし、耐凍性などに関する防御反応については報告がない。低温条件に置いた個体では、食細胞の極端な減少が示唆され、低温による血球構成の変化も推測された。そこで今回は、マボヤが低温に対してどのような防御反応を示すのかを血リンパに着目して検討した。

【材料と方法】

実験材料のマボヤは陸奥湾産を用いた。入手したマボヤは実験するまで10℃で飼育した。実験は次の2つの観点から行った。1) 様々な温度条件下で飼育し、血リンパの状態を調べる。2) 血リンパに、*in vivo* または *in vitro* で様々な物質を加え、それらの物質の取り込みの様子と血リンパの状態変化を調べる。

【結果】

2℃まで水温を下げた後フリーザーにいれ、海水がシャーベット状になったところで(約2時間後)再度2℃に戻し、1日後10℃にした個体、あるいは5℃で飼育した個体、それぞれについて7-20日後に採血して血球を観察すると、ともにスライドグラスに薄く広がるアメーバ様の食細胞-特に p1 細胞^[2]-が減少し、代わって未知の大型の球形液胞細胞が増加した。また印環をもつような液胞細胞(ホヤ血球で既知の印環細胞と考えられるが、マボヤではごく

まれにしか存在しない)が確認された。

血リンパに、*in vivo* でポリエチレングリコールを加えた実験でも、同様の血球構成の変化が見られた。*In vitro* でBSAを添加した実験では、あまり血球構成に変化は認められなかった。

【結論】

自然界でマボヤは様々な水温下で生息できると考えられるが、海水が凍るほどの低水温域には普通は生息しないと思われる。そしてマボヤを飼育するには10℃前後が適温といわれている。今回マボヤを極低温(海水がシャーベット状になる)下や低温下(5℃)にさらすことによる、防御反応を血リンパでみたところ、血球構成に変化がみられた。すなわちアメーバ様の食細胞の特定の1種が極端に減少し、代わって未知の大型球形液胞細胞が出現した。これらのことから仮説として、低温にさらされるとマボヤはなんらかの耐凍物質を分泌して体液浸透圧を上げて対処し、水温が上がるとその物質処理をアメーバ様の食細胞が行い、自らの形態を大型球形へと変化させるのではないかと考えた。ポリエチレングリコール注入によって、低温条件と同様の血球構成変化を観察できることから、この仮説はやや現実性をおびてきたが、本当にマボヤが耐凍物質を分泌するのか、また分泌した物質をアメーバ様の食細胞が食処理するのかは、今後詳細に研究する必要がある。

【参考文献】

1. 澤田知夫, 大竹伸一(1997), ホヤの血球の構造と機能, 動物の血液細胞と生体防御, 和合治久編 117-142, 菜根出版
2. Sawada T, Fujikura Y, Tomonaga S, Fukumoto T (1991) *Zoological Science*, 8:939-950

会長講演：PL

吉田 彪

臨床パストラルケア教育研修センター

Macrophage Migration Inhibitory Factor(MIF) Revisited

Takeshi Yoshida, M.D.

Clinical Pastoralcare Education and Research Center

遅延型アレルギー（或いは細胞性免疫）のメディエーターとして、M I Fが提唱されてから既に40年以上経過している。結核のツベルクリン反応を *in vitro* で研究する道具としてマクロファージの遊走現象が取り上げられてからは50年以上にもなる。そしてM I F遺伝子のクローニングの成功が報告されてから、約20年経った。それにも拘わらず、未だにこの物質の生体内での生物学的意義がはっきりしない。

マクロファージの遊走阻止現象がリンパ球から出る可溶性因子によることが判明した後幾つかの現象がリンパ球由来物質によるものであることが観察されて Dumonde によってこれらの物質が1960年代末に *lymphokine* と名づけられた。私は1965年からこの遊走阻止現象の解析をしていたが、残念ながら米国研究者2グループによる1966年のM I F発見には一歩遅れを取った。その後、この *in vitro* で発見された物質の *in vivo* での意義を主たるテーマとして研究した結果、単にツベルクリン反応や肺結節の形成への関与だけではなく、血液中を循環するリンホカインは生体の *anergy* を引き起こすことを発見し、サルコイドーシスやハンセン氏病、更には末期結核患者における *anergy* の原因因子として

発表し、*immunoregulatory lymphokine* のコンセプトを提案した。

その後、M I Fが細胞性免疫に関わるT細胞の独占的産物ではなくて、B細胞も作ることで、更にはリンパ球以外の細胞、例えば増殖性線維芽細胞の培養上清やウイルス感染細胞の上清にも存在すること、などの結果を得て、生体の各種の細胞が局所ホルモンとも言うべきメディエーターを放出していると考え共同研究者と共に、*cytokine* のコンセプトを1970年代後半に発表し、広く受け入れられるに至った。

さてその後、M I Fの生物学的意義に関する研究は、物質の生成や遺伝子のクローニングが難しく、純粋な物質が手に入らなかったため、他の *cytokine* に比べて著しく遅れた。1989年にM I Fの遺伝子はクローニングされたが、純物質産生の再現性が乏しく、1993年以降の再発見によって改めてM I Fの機能が明らかにされ始めたのだが、驚くことに15年後の今も多くの点が闇に包まれている。現在までに報告されているデータをクローニング以前の原点に戻って分析し、炎症性サイトカインとして極めて重要と思われるM I Fの真の機能を推定してみたい。更に本物質の比較免疫学上の意義についても考察したい。

和文・英文会則

および

講演発表者名簿

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) 日本比較免疫学会古田賞および古田奨励賞受賞者の選考と表彰
 - 7) その他、本会の目的に必要なと認められる事業

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。
2. 名誉会長・名誉会員は本人の承諾を得て、役員会が推薦し、総会で承認を得て決定する。
 - 1) 名誉会長・名誉会員は年会費および学術集会費を免除される。

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。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、出席会員を以って構成する。
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。
5. 講演者は本会員に限る。
6. 古田賞および古田奨励賞の選考に係る詳細は別途定める。

(平成18年8月24日 一部修正)

**THE JAPANESE ASSOCIATION FOR
DEVELOPMENTAL AND COMPARATIVE IMMUNOLOGY
(JADCI)**

OFFICERS

April 2006-August 2008

PRESIDENT

Takeshi YOSHIDA
Research Institute for
Spiritual Care
3-32-11-305 Miyamae
Suginami-ku
Tokyo, 168-0081

VICE PRESIDENT

Shunichiro KAWABATA
Department of Biology
Faculty of Sciences
Kyushu University
Fukuoka 812-8581

SECRETARY/TREASURER

Miki NAKAO
Laboratory of
Marine Biochemistry
Department of Bioscience
and Biotechnology
Graduate School of
Bioresource and
Bioenvironmental Science
Kyushu University
Fukuoka 812-8581

SECRETARY/TREASURER

(assiatant)
Tomonori SOMAMOTO
Laboratory of
Marine Biochemistry
Department of Bioscience
and Biotechnology
Graduate School of
Bioresource and
Bioenvironmental Science
Kyushu University
Fukuoka 812-8581

PROGRAM OFFICERS

Hiroaki NAKAMURA
Department of Biology
Tokyo Dental College
1-2-2 Masago, Mihama
Chiba 261-8502

Kei-ichiro YAMAGUCHI
Institute for Medical Sciences
Dokkyo Medical University
Mibu, Tochigi 321-0293

ABSTRACT OFFICER

Ryosuke IJIMA
Faculty of Pharmaceutical
Sciences
Teikyo University
Sagamiko
Kanagawa 199-0195

TRUSTEES

Susumu TOMONAGA
Shouyou Gakuin
1-3-10 Ue-machi
Ube 755-0051

Haruhisa WAGO

Laboratory of Immunology
School of Medical
Technology and Health
Faculty of Health and
Medical Care
Saitama Medical University
1397-1, Yamane, Hidaka
Saitama 350-1241

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) Selection and conferment of Furuta Award and Furuta Young Investigator Award.
 - 7) Other business which considered essential to achieve the Object of the Association.

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.
2. An executive board composed of the Association officers can nominate a person with distinctive contributions to the Association as a candidate for Honorary member and Honorary President, upon nominee's agreement. The candidate shall be approved and authorized by the Association members in business meeting.
 - 1) Honorary members and Honorary President are not subjected to payment of fee for annual membership and for scientific meetings.

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.

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 3,000 Japanese yen a head.
 2. Annual dues of the corporate affiliate are 20,000 Japanese yen an affiliate.
 3. Secretary-Treasurer shall be in charge of the Business Office of the Association.
 4. The Secretary-Treasurer can nominate his/her assistant(s).
 5. Only the members of JADCI are permitted to have a talk about the investigation.
 6. Detailed procedures for selection and conferment of Furuta Award and Furuta Young Investigator Award are defined in a fine print.
-

Approved: November 28, 1989; Revised: August 28, 1991; Revised August 23, 1999
Revised August 29, 2003; Revised August 24, 2006.

**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 pay your membership dues (3,000 yen) at registration desk of JADCI meeting.*

演題発表者名簿 (Author Index)

- 【A】**
- | | | | |
|--------------------|-----|---------------------|--------|
| Aihara, S. (相原俊介) | A9 | Komazawa, I. (駒澤一朗) | CS2 |
| Akagawa, K. (赤川清子) | S6 | Kondo, M. (近藤昌和) | D2, D3 |
| Ando, A. (安藤暁子) | B1 | Koshiha, T. (小柴琢己) | C4 |
| Asaka, Y. (浅香優子) | C5 | Kozuka, Y. (小塚祐利子) | B2 |
| Azuma, T. (東 照雄) | A5 | Kurata, S. (倉田祥一朗) | C1, C2 |
| Azumi, K. (安住 薫) | CS5 | Kurokawa, M. (黒川 信) | CS2 |
-
- 【D】**
- | | | | |
|---------------|------------|--|--|
| Dijkstra, JM. | A5, A7, A9 | | |
|---------------|------------|--|--|
-
- 【F】**
- | | | | |
|----------------------|--------|--|--|
| Funabashi, H. (船橋宏美) | D1 | | |
| Furukawa, R. (古川亮平) | S3, D1 | | |
| Furuta, E. (古田恵美子) | S1 | | |
-
- 【G】**
- | | | | |
|-----------------|----|--|--|
| Goto, A. (後藤 彰) | C1 | | |
|-----------------|----|--|--|
-
- 【H】**
- | | | | |
|-----------------------|--------|--|--|
| Hashimoto, K. (橋本敬一郎) | A5, A7 | | |
| Hatanaka, D. (畑中大作) | A1 | | |
| Hayashi, N. (林 宣宏) | A7 | | |
| Hibino, T. (日比野拓) | C6 | | |
| Horiguchi, T. (堀口敏宏) | CS3 | | |
-
- 【I】**
- | | | | |
|----------------------|-----|--|--|
| Ichiki, A. (一木昭土) | A1 | | |
| Iguchi, T. (井口泰泉) | CS4 | | |
| Ishii, T. (石井照久) | D4 | | |
| Iwabuchi, K. (岩淵喜久男) | C3 | | |
-
- 【K】**
- | | | | |
|----------------------|--------|--|--|
| Kaneko, H. (金子洋之) | S3, D1 | | |
| Katakura, F. (片倉文彦) | A11 | | |
| Katsumata, E. (勝俣悦子) | B1 | | |
| Kawabata, S. (川畑俊一郎) | FP, C4 | | |
| Kawato, M. (河戸 勝) | B1 | | |
| Kikuchi, K. (菊池 潔) | A6 | | |
| Kimura, M. (木村美智代) | C5 | | |
| Kiryu, I. (桐生郁也) | A5 | | |
| Kobayashi, M. (小林睦生) | CS6 | | |
-
- 【M】**
- | | | | |
|----------------------|-------------------------|--|--|
| Maruyama, T. (丸山 正) | B1 | | |
| Matsumoto, Y. (松本恭子) | C3 | | |
| Mayumi, M. (眞弓雅行) | A10 | | |
| Minagawa, K. (皆川佳名子) | A12 | | |
| Mita, S. (三田静香) | C2 | | |
| Miyahara, H. (宮原弘和) | B1 | | |
| Moritomo, T. (森友忠昭) | A8, A9, A10,
A11, S5 | | |
| Moriyama, H. (森山英明) | D1 | | |
| Motizuki, M. (望月万美子) | A9 | | |
| Murakami, T. (村上隆之) | B2 | | |
| Murata, M. (村田学博) | A10 | | |
| Murayama, T. (村山 司) | A6, B1 | | |
-
- 【N】**
- | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|--|--|
| Naitoh, M. (内藤 眞) | SL | | |
| Nakaguchi, TA. (中口(高橋) 梓) | C3 | | |
| Nakamura, H. (中村浩隆) | B1 | | |
| Nakamura, O. (中村 修) | A4, A12 | | |
| Nakanishi, T. (中西照幸) | A3, A5, A7, A8,
A9, A10, A11 | | |
| Nakao, M. (中尾実樹) | A1, A2, A3 | | |
| Namai, F. (生井史代) | A4 | | |
| Nasu, T. (那須哲夫) | B2 | | |
| Nohara, S. (野原精一) | CS2 | | |
| Numata, H. (沼田英治) | CS1 | | |
-
- 【O】**
- | | | | |
|-------------------|-------------|--|--|
| Ohishi, K. (大石和恵) | B1 | | |
| Ohtake, S. (大竹伸一) | S4, D4 | | |
| Ohtani, M. (大谷真紀) | A7, A8, A10 | | |
| Ohtsu, D. (大津 大) | B1 | | |
| Okutsu, K. (奥津健司) | B1 | | |

Omori, H. (大森弘子)	C2	Takizawa, F. (瀧澤文雄)	A8, A10
Onda, K. (恩田紀代子)	A6	Terashima, J. (寺島 潤)	C1
Oshima, Y. (大島吉輝)	C2	Tokutake, K. (徳武浩司)	B1
Ototake, M. (乙竹 充)	A5	Tomonaga, S. (友永 進)	D3
Ozaki, A. (尾崎照遵)	A5	Totsuka, Y. (戸塚ゆ加里)	C3
		Tsujikura, M. (辻倉正和)	A2
		Tsutsui, S. (筒井繁行)	A4, A12
【R】			
Rast, J.	C6	【U】	
		Ueda, R. (上田 龍)	C2
【S】		Unoki, KY. (鵜木陽子)	A2
Sameshima, S. (鮫島史朗)	A3	Urabe, S. (占部慎二)	A3
Sawada, T. (澤田知夫)	D4		
Sekine, N. (関根のぞみ)	C5	【W】	
Serada, K. (世良田研)	A10, S5	Wada, Y. (和田侑士)	A4
Shibuya, N. (渋谷紀史)	A12	Wago, H. (和合治久)	S2, C5
Shimizu, Y. (清水裕介)	A8	Wakabayashi, K. (若林敬二)	C3
Shiota, S. (塩田祥子)	C5	Watanabe, T. (渡邊 翼)	A12
Somamoto, T. (杣本智軌)	A1, A2, A3		
Suetake, H. (末武弘章)	A6	【Y】	
Sugahara, K. (菅原和宏)	D2	Yamaguchi, T. (山口卓哉)	A11
Sugimura, T. (杉村 隆)	C3	Yamamoto, M. (山本真史)	C3
Suzuki, R. (鈴木倫太郎)	B1	Yano, T. (矢野 環)	C1, C2
Suzuki, Y. (鈴木 讓)	A6	Yasuda, M. (保田昌宏)	B2
		Yoshida, M. (吉田美幸)	A11
【T】		Yoshida, T. (吉田 彪)	PL
Takahashi, Y. (高橋幸則)	D2, D3	Yoshimori, T. (吉森 保)	C2
Takanashi, M. (高梨資子)	B2	Yoshino, Y. (吉野由有子)	A12
Takase, T. (高瀬智洋)	CS2	Yoshiura, Y. (吉浦康寿)	A8
Takishita, K. (瀧下清貴)	B1		

協賛企業・団体

平成20年7月10日現在

【広告協賛】

株式会社 国際文献印刷社

正晃株式会社

株式会社 三啓

株式会社 ジーンネット

株式会社 菅原製作所

株式会社 新興精機

株式会社 IMUH

株式会社 帝国理化

日本電子株式会社

鍋林フジサイエンス株式会社

株式会社 メド城取

【協賛】

中外製薬株式会社

本学術集会を開催するに当たり、上記企業・団体より多大なご援助を賜りました。
ここに、ご芳名を記して感謝の意を表します。

平成20年7月

第20回学術集会会長・日本比較免疫学会会長 吉田 彪



A1

共焦点レーザー顕微鏡システム



最新・最強の共焦点レーザー顕微鏡システム、登場!

- ・細胞内の生命現象を逃さず捉える、高速・高画質・スペクトルイメージング。
- ・高速・高画質・同時スキャンの3モードが一台で可能なハイブリッドスキャナー。
- ・VAASピンホールユニットで、光シグナルロスを最小限に。
- ・簡単操作で顕微鏡・カメラ・コンフォーカルのすべてをサポートする、画像統合ソフトウェア NIS-Elements C。

株式会社ニコンインステック 特約店

カタログパンフレット等のご請求は当社まで。



Sankei 株式会社 三 啓

本 社：〒113-8534 東京都文京区本郷 2-17-7 Tel. 03(5805)0514 Fax. 03(5805)0524 <http://www.sankei-coltd.co.jp>

筑波営業所 〒305-0861 茨城県つくば市谷田部 6524-1 ☎029(839)1320
 横浜営業所 〒247-0072 神奈川県鎌倉市岡本 2-5-11 ☎0467(41)1221
 静岡営業所 〒422-8076 静岡市駿河区宮竹 1-1-16 ☎054(236)5500

名古屋出張所 〒451-0031 名古屋市西区城西 1-9-10 ☎052(528)4155
 大阪営業所 〒533-0033 大阪市東淀川区東中島 2-9-15 ☎06(6327)3850
 神戸営業所 〒650-0022 神戸市中央区元町通 6-1-6 ☎078(367)2301

ANATOMICA スガワラ

各種解剖器具 ○ 各種解剖道具
解剖実習器具セット
解剖衣 ○ 解剖キャップ ○ 白衣 ○ 前掛
活性炭マスク ○ アームカバー
ラテックス手袋
ご遺体処置収納用品
標本容器 ○ ギブスカッター
動脈注入ポンプ ○ 解剖台
解剖照明灯 ○ ストレッチャー
ミニクレーン ○ パワーリフター
ドアスルーフォークリフト
器具等の修理も承ります



厚生省許可番号 13BZ2471号

 株式会社 菅原製作所

〒131-0044 東京都墨田区文花 3-20-18
TEL 03-3611-7610
FAX 03-3611-7612

免疫検査の受託・相談

当社は、他の検査会社や研究施設では実施されていない、特殊免疫検査を行っております。また、有効な免疫検査アッセイの研究開発に取り組み、ほかの検査会社や研究施設或いは大学研究室等と連携しつつ、さらには先端技術を持つ企業と協力して、臨床検査に応用できる新技術を確立すべく日々努力をしています。

一方、ハリ、マッサージ、灸、音楽療法、運動療法或いは健康食品療法など代替医療の広い分野で有効な唾液免疫検査を行い、21世紀型の安全で優しい検査体制の確立を目指しています。

主な検査項目

- ・ エリスポット検査受託
- ・ 血液免疫検査受託
- ・ フローサイトメトリー
プロトコール作成受託
解析受託
- ・ 遺伝子検査受託
- ・ 唾液免疫検査
プロトコール作成受託
解析受託

業務の3つの骨子

1. 免疫療法を効果判定する特殊免疫機能検査の展開
2. 簡便な免疫診断法の確立
3. 代替医療の効果判定に役立つ唾液免疫検査の展開

食品中の異物検査

近年、消費者の食に関する関心は高まっています。食品のずさんな管理や異物混入の対応により信頼性を失いかねない時代になりました。

特に食品製造業や食材輸入業では製造物責任法（PL法）により、その異物が何であり食した場合に有害なのか無害なのかを消費者に回答しなければなりません。

当社は、実態顕微鏡、光学顕微鏡、電子顕微鏡などによる観察と化学分析、その他、細菌や真菌の同定及び確認検査など経験豊富なスタッフが判定してお答えします。

食品中の異物でよく検出されるもの

毛髪・プラスチック及びビニールの包装材破片・刃物の破片及び金網の一部・糸屑や包装紐の一部・木片・昆虫・細菌及びカビ・ガラスの破片



株式会社 IMUH

ご相談・お問い合わせ先

TEL: 042-498-3680

FAX: 042-498-3681

検査室: 東京都調布市国領町5-45-6

本社: 東京都新宿区西新宿1-26-2

MEDICAL & SCIENTIFIC EQUIPMENTS MED. SHIROTORI CO., Ltd

私たちは 常に時代の先端を見つめ

最新の研究・開発に合致した製品を

提供させていただいております。



取り扱い製品

汎用器機・計測機器, 培養・分離・分析器機, 手術室・病棟・薬剤室他, 実験・研究・検査用必需品各種。

株式会社 メド 城 取

医療・理科学機器総合販売代理店

東京オフィス 〒155-0032 東京都世田谷区赤堤3-3-4
TEL (03)5355-0310(代) FAX (03)5355-0311
E-mail tokyo@medo-shirotori.co.jp

湘南オフィス 〒252-0813 神奈川県藤沢市亀井野1770-2 モトハウス2-B
TEL (0466)80-1536 FAX (0466)80-1538
E-mail shonan@medo-shirotori.co.jp



鍋林フジサイエンス株式会社

URL: <http://www.nfsweb.co.jp>

自然科学に挑戦し、技術革新・研究開発
及び生命追求科学の進歩に貢献します

☆ 主要取扱い商品 ☆

環境測定器	*	試験研究用試薬
バイオ機器	*	バイオ試薬
分析機器	*	光学機器
理化機器	*	消耗品
試験機器	*	医薬品
臨床検査薬	*	病院設備
臨床検査装置	*	治療用機器

- ~~~~~
- 本 社 〒399-8754 長野県松本市芳川村井町36-1
T. 0263-58-0021 F. 0263-58-8786
 - 東京支社 〒113-0021 東京都文京区本駒込3-31-2
T. 03-5940-5711 F. 03-5940-5471
 - ◇東京営業所 〒113-0021 東京都文京区本駒込-31-2
T. 03-5940-5711 F. 03-5940-5471
 - ◇横浜営業所 〒227-0064 神奈川県横浜市青葉区田奈町29-8-1
T. 045-989-3906 F. 045-989-3907
 - 新潟支店 〒950-2054 新潟県新潟市西区寺尾東1-19-19
T. 025-269-5161 F. 025-269-4178
 - ◇新潟営業所 〒950-2054 新潟県新潟市西区寺尾東1-19-19
T. 025-269-5161 F. 025-269-4178
 - ◇医療上越営業所 〒942-0033 新潟県上越市福橋字前田744-1
T. 025-545-5626 F. 025-544-7868
 - ◇医療山形営業所 〒990-0832 山形県山形市城西町1-5-13
T. 023-647-7140 F. 023-647-7141
 - 北関東支店 〒321-0901 栃木県宇都宮市平出町385-15
T. 028-661-5616 F. 028-664-0664
 - ◇宇都宮営業所 〒321-0901 栃木県宇都宮市平出町385-15
T. 028-661-5616 F. 028-664-0664
 - ◇つくば営業所 〒302-0109 茨城県守谷市本町586
T. 0297-48-8991 F. 0297-48-8993
 - ◇高崎営業所 〒370-1135 群馬県佐波郡玉村町板井870
T. 0270-50-1333 F. 0270-50-1334
 - 甲府支店 〒409-3867 山梨県中巨摩郡昭和町清水新居601-1
T. 055-222-5131 F. 055-226-0310
 - ◇甲府営業所 〒409-3867 山梨県中巨摩郡昭和町清水新居601-1
T. 055-222-5131 F. 055-226-0310
 - ◇御殿場営業所 〒412-0024 静岡県御殿場市東山287-11
T. 0550-81-5959 F. 0550-81-5960
 - 長野営業部
 - ◇長野営業所 〒389-0802 長野県千曲市内川618-3
T. 026-261-0555 F. 026-261-0666
 - ◇松本営業所 〒399-8754 長野県松本市芳川村井町36-1
T. 0263-58-1121 F. 0263-58-1060
 - ◇科学上越営業所 〒942-0074 新潟県上越市石橋2-9-41
T. 025-539-0160 F. 025-539-0161



Think Perfection

お客様にとっての"パーフェクト"をめざして、正晃は常にユーザーの視点で考えています。



試薬
大学や官立試験所、研究所をはじめ、各企業の研究に不可欠な試薬とそれに関連する最新の情報をタイムリーに提供しています。



診断薬
病院臨床検査室や検査センターなどに、豊富な専門知識をベースに、最適な診断薬を最新の情報・技術とともに提供しています。



器材
大学・企業などの研究機関、病院・検査センターなどの医療機関での検体採取から保存までに必要な器材を提供しています。



化粧品 電子材料
産業や生活の幅広い分野で必要とされる化学工業製品や食品添加物およびIC生産に欠かせない洗浄剤・電子材料などを扱っています。



理化学機器
大学・官公庁・企業の試験研究機関へ国内外一流メーカーの最先端機器の販売と関連情報の提供およびメンテナンスを行っています。



医療機器 医療材料
高度化が進む医療現場に、診断に必要とされる各種検査機器と治療用機器などを専門的にサポート。また医療消耗品も提供しています。



ケアサブライ
介護福祉の時代に対応して、一般向けに在宅医療、在宅介護に関わる福祉用具や医療機器のレンタルと販売を行っています。



メディカルIT
大学や医療機関向けに、遠隔診断・データベースソフトや検査業務支援システムなどを開発・提供し、医療のIT化に貢献しています。



健康食品
「健康管理時代」のニーズに応じて、一般向けにオリジナルのフコイダン製品などの健康食品を開発・販売しています。



コンピュータ 家電
OA、AV機器、テレビや冷蔵庫からパソコン、デジタルカメラなど、さまざまな一流メーカーの製品を取り扱っています。

ライフサイエンスをはじめとする科学技術は私たちの生活と未来を大きくリードし続けています。正晃は、総合試薬ディーラーとして培ったノウハウをお客様にとっての"パーフェクト"を起点に多彩な分野へ柔軟な対応で貢献いたします。

 **正晃株式会社**

www.seikonet.co.jp

本社 福岡市東区松島3丁目34番33号
〒813-0062
TEL:092-621-8199(代)
FAX:092-611-4415

営業所 福岡第一 福岡第二 北九州
久留米 大分 佐賀
山口 下関 熊本
沖縄 宮崎 鹿児島
東京 長崎 広城

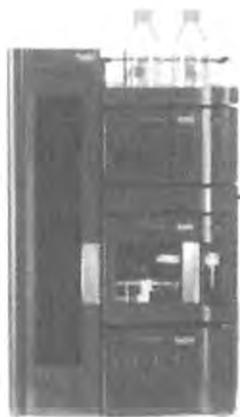
的確な情報で研究開発をバックアップ

最適な研究環境をコンサルティング

ハイレベルな製品のご案内

信頼のサポート体制

あらゆる分野における研究機関において
長年にわたって携わってきた実績から、
細かなニーズにお応えする提案力が
私たち「新興精機」にはあります。



株式会社 新興精機

〒812-0054 福岡市東区馬出1丁目18番3号
TEL: 092-641-8451 FAX: 092-641-8786

【関連会社】 CAセラピューティック

細胞保存・免疫細胞加工と先端医療技術の開発

佐賀営業所 〒849-0937 佐賀市鍋島3丁目9番6号
北九州営業所 〒807-0872 北九州市八幡西区浅川1丁目18番37号
熊本営業所 〒862-0920 熊本市月出4丁目4番130号
宮崎営業所 〒880-0929 宮崎市まなび野2丁目37番5
鹿児島営業所 〒890-0054 鹿児島市荒田2丁目4番14号-201号
東京営業所 〒101-0021 東京都千代田区外神田6丁目10番12号
工場 〒816-0063 福岡市博多区大字金の隈2丁目3番9号

● ジーンネット ● 委託解析サービス

サービス名	サービス内容	価格
DNA 合成	全製品 逆相カートリッジカラムでの精製品です。 @オリゴは高品質・低価格・早さがモットーです。	単品 ¥80~
DNA シークエンス	¥3,000/サンプルからの格安シーケンスサービス!	¥3,000~ /1 サンプル
siRNA 用 RNA セット	27 mer までの定額料金で siRNA 用 RNA を 2 本セット(1 本鎖ずつ納品)でお届けいたします。また、RNAi 研究を始められる方や、Knock down 効率の高い siRNA 配列のスクリーニング実験を行う方におすすめの、少量で低価格のお試し siRNA もご用意しております。	¥20,000~/組
抗体作製	初回免疫から 9 週間でウサギ抗血清 60ml を納品いたします。 その他の動物種もご用意しております。	¥99,800 /ウサギ 1 羽
ペプチド合成	液体クロマトグラフィー(HPLC)データ 質量分析(Mass)データ 確認用アミノ酸配列・計算上分子量(MW)・等電点(pI)計算データシート その他オプションのご用意がございます etc; 合成量・精製純度・修飾	¥2,500~ /1 アミノ酸残基当り

お問い合わせは・・・

gene net 株式会社 ジーンネット

福岡市東区多の津 5 丁目 22 番 8 号
TEL 092-626-2722 FAX 092-626-2723
E-mail info@genenet.co.jp
URL <http://www.genenet.co.jp>

良いデータを簡単に撮りたい

その夢を実現した、簡単操作の120kV高コントラストTEM

電子顕微鏡

JEM-1400



■新しい電子光学系の採用

電子顕微鏡とデジタルCCDカメラを一体設計し、CCDカメラに最適な電子光学系を開発したことにより200倍の低倍率から像回転が無く、高精細・高コントラストな像を得られます。

■新しいGUI - TEM Center -

操作は、新デザインのGUIの画面で行い、装置の動作状態や操作内容を鏡筒のユニット順に対応させているため、直感的な操作に役立ちます。

■ナビゲーション - JENIE -

さまざまな操作を正しい手順でナビゲーションする機能です。操作項目を選択すると、ウィンドウに実際の操作や動作をビデオ像などで表示されるので、初心者でも安心して操作ができます。

■新開発のデジタルCCDカメラ

電子顕微鏡像を撮影する新しいデジタルCCDカメラを開発しました。ビームブランキング不要のインターライン方式CCDの採用により、高速データの取込が可能になりました。

■豊富なアプリケーションソフトウェア

電子顕微鏡とデジタルCCDカメラを一体化したことにより、オートフォーカスや自動モニター撮影など数多くの一連操作をアプリケーションソフトとして組み込むことができました。

JEOL

Serving Advanced Technology

日本電子株式会社

<http://www.jeol.co.jp/>

本社・昭島製作所 〒199-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 ☎(042)543-1111

営業統括本部 〒190-0012 東京都立川市曙町2-8-3 新鈴春ビル3F ☎(042)528-3381

札幌 (011) 726-9680・仙台 (022) 222-3324・筑波 (029) 856-3220・東京 (042) 528-3211・横浜 (045) 474-2181

名古屋 (052) 581-1406・大阪 (06) 6304-3941・広島 (082) 221-2500・福岡 (092) 411-2381



理化学・分析機器及び試薬の御用命は

株式会社 帝国理化

東京都中央区日本橋室町 2-5-8-702

電話 03-3270-4541 FAX03-3270-4544

日本比較免疫学会
第20回学術集会 講演要旨

原稿受付	2008年6月10日
発行日	2008年7月25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会 委員：中村弘明、山口恵一郎
印刷所	(株) 国際文献印刷社 東京都新宿区高田馬場3-8-8