−JADCI/JSHDR2014

日本比較免疫学会第 26 回学術集会
第 25 回日本生体防御学会学術総会

大会事務局

〒980-8578　仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3
東北大学大学院薬学研究科　生命機能解析学分野内
JADCI/JSHDR 2014 事務局
TEL: 022-795-4565　FAX: 022-795-6802
E-mail：jadci-jshdr2014@mail.pharm.tohoku.ac.jp

JADCI/JSHDR2014
日本比較免疫学会第 26 回学術集会
第 25 回日本生体防御学会学術総会
講演抄録集

目　次

大会概要　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　2
会場案内　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　3
参加者へのご案内　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　4
日程表　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　6
プログラム
特別講演　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　7
シンポジウム　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　7
奨励賞受賞講演　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　9
メモリアルセッション　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　9
一般演題　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　10
講演抄録
特別講演　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　17
シンポジウム１・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　19
シンポジウム２　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　25
シンポジウム３　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　31
学会奨励賞受賞講演　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　35
一般演題　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　37
生体防御学会賛助会員一覧　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　79
協賛広告掲載企業・団体一覧　・・・・・・・・・・・・・・・・・・　83

JADCI/JSHDR2014
日本比較免疫学会第 26 回学術集会
第 25 回日本生体防御学会学術総会
概要

会　期：２０１４年7月９日（水）、１０日（木）、１１日（金）

会　場：東北大学　片平さくらホール
〒980-8577　宮城県仙台市青葉区片平2丁目1-1

大会長：倉田祥一朗（東北大学大学院薬学研究科）

日　　程：

第１日　７月９日（水）

開会の辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	9:45～ 9:50
比較免疫学会一般講演１・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	9:50～11:20
比較免疫学会名誉会長 故古田恵美子先生メモリアルセッション・・・・・・・・・・・	11:20～11:50
比較免疫学会一般講演２ ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	13:00～14:30
比較免疫学会一般講演３・生体防御学会一般講演１ ・・・・・	14:45～16:00
シンポジウム１・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	16:15～17:55

第２日　７月１０日（木）

生体防御学会一般講演２・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	8:45～10:15
シンポジウム２・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	10:30～12:35
比較免疫学会総会・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	13:00～13:45
生体防御学会一般講演３・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	13:45～15:30
特別講演・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	15:45～16:45
写真撮影・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	16:45～17:00
懇親会・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	17:00～19:30

第３日　７月１１日（金）

生体防御学会一般講演４・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	8:45～10:30
シンポジウム３・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	10:45～12:25
生体防御学会総会・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	12:55～13:40
生体防御学会奨励賞受賞講演・・・・・・・・・・・・・・・・・	13:40～14:10
生体防御学会一般講演５・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	14:10～15:10
閉会の辞　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	15:10～15:20

会場案内

会場　　東北大学　片平さくらホール

〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平２丁目 1-1

（東北大学キャンパスは全面禁煙、喫煙所も有りません）

受付、発表会場：２階、懇親会会場：１階

東北大学片平キャンパス　アクセス

http://www.tohoku.ac.jp/japanese/profile/campus/01/katahira/index.html

・ 徒歩の場合：

仙台駅より約２０分

・バスご利用の場合：

仙台駅前西口バスプール 11 番・霊屋橋経由に乗車。片平丁小学校前の次、東北大正門前で下車。徒歩約 7 分

仙台駅前西口バスプール 12 番･動物公園経由長町ターミナル行に乗車。片平丁小学校前の次、東北大正門前で下車。徒歩約 7 分

・ 地下鉄ご利用の場合：五橋駅下車。北2番の出入口より地上へ、徒歩約8分

参加者へのご案内

【受付】

1. 当日大会参加費は正会員 5,000 円、非会員 5,000 円、大学院博士課程学生 3,000 円です。
   大学院修士課程（博士課程前期）と、学部学生は無料です。
   大学院生、学部学生は学生証の提示をお願いします。
   懇親会費は正会員 4,000 円、大学院博士課程学生 2,000 円、大学院修士課程（博士課程前期）・学部学生 1,000 円です。
2. 受付は、7 月 9 日は午前 9 時 00 分から、10 日および 11 日は午前 8 時 15 分からです。
3. 会場では必ず、名札をお付けください。
4. 両学会への入会手続き、年会費の納入受付も両学会個別の受付で行います。

【発表要領】

1. PC 用液晶プロジェクターにより投影して行います。
2. 会場に発表用 PC として Windows（Windows 7）と Mac（Mac OS X）を用意します。

【発表データ作成】

1. 発表データは、パワーポイントファイルを USB フラッシュメモリーでデータ受付までご持参ください。
2. パワーポイントのファイル名は、演題番号と演者氏名を半角の数字と全角文字で作成してください。（例、<u>一般講演</u>：演題番号 12 番、演者＝仙台太郎、所属＝東北大学の場合、12 仙台太郎東北大、<u>シンポジウム</u>：演題番 S-1-2 番、演者＝仙台花子、所属＝東北大学の場合、S-1-2 仙台花子東北大）
3. ファイル作成時には「ページ設定」から「スライドサイズ」を A4 に設定して下さい。「画面に会わせる」に設定されたファイルでは映写の際に画像や文字がずれる可能性があります。

【データ受付】

1. 第 1 日目の午前中に発表が予定されている演者は 9：15 までにファイルをお持ち下さい。
   第 1 日目の午後に発表が予定されている演者は当日 12:00 までに受付を完了して下さい。
2. 第 2 日目の午前中に発表が予定されている演者は第 1 日目終了までに受付を済ませて下さい。
   第 2 日目の午後に発表が予定されている演者は当日 12:45 までに受付を完了して下さい。
3. 第 3 日目の午前中に発表が予定されている演者は 2 日目終了までに受付を済ませて下さい。
   第 3 日目の午後に発表が予定されている演者は当日 12:35 までに受付を完了して下さい。
4. 大会事務局では PowerPoint 2013（Windows）と PowerPoint 2011（Mac）をインストールした PC を用意いたします。ご持参頂いたファイルが用意した PC で正常に作動するかデータ受付にてご確認下さい。
5. **上記時間帯以外でのファイル受付は会の進行に支障を来しますので、ご協力をお願いいたします。**

【講演】

1. 一般講演：講演時間は 10 分（1 鈴 8 分、2 鈴 10 分)、討論 5 分の合計 15 分（３鈴）です。
2. シンポジウム１：講演時間は 15 分（1 鈴 13 分、2 鈴 15 分)、討論 5 分の合計 20 分（３鈴）です。
3. シンポジウム２と３：講演時間は 20 分（1 鈴 18 分、2 鈴 20 分)、討論 5 分の合計 25 分（３鈴）です。
4. 時間厳守をお願いいたします。
5. 次座長、次演者の方は早めに指定の席にお着きください。

【写真撮影】

大会 2 日目の特別講演終了後に、会場において参加者の写真撮影を行います。

【懇親会】

1. 大会 2 日目の特別講演終了後に、17 時より会場（さくらホール）1 階において、懇親会を開催いたします。
2. 懇親会参加者の名札には印を付けさせて頂きます。
3. 東北大学学友会マンドリン楽部の演奏をお楽しみ下さい。

【昼食】

会場周辺には多数のレストラン・食堂などがございます。また、大会２日目と 3 日目の昼食は、昼食時間が短いために、大会事務局から事前申込者に軽食（弁当）を配布します。大会事務局からの事前申込者への問い合わせにお答え下さい。大会 2 日目の日本比較免疫学会総会に出席されない方、大会 3 日目の日本生体防御学会総会に出席されない方は、昼食時間として仙台の味覚をお楽しみ頂くことができます。

【宿泊】

各自でご予約下さい。

日程表

７月９日（水）		７月１０日（木）		７月１１日（金）	
9:00	受付開始	8:15	受付開始	8:15	受付開始
9:45	開会	8:45	生体防御学会一般講演２	8:45	生体防御学会一般講演４
9:50	比較免疫学会一般講演１	10:15	休憩	10:30	休憩
11:20	古田先生追悼講演	10:30	シンポジウム２ 「生体防御を眺める視点」	10:45	シンポジウム３ 「生体防御の基礎研究と臨床との接点」
11:50	昼食	12:35	昼食	12:25	昼食
13:00	比較免疫学会一般講演２	13:00	比較免疫学会総会	12:55	生体防御学会総会
14:30	休憩	13:45	生体防御学会一般講演３	13:40	生体防御学会奨励賞 受賞講演
14:45	比較免疫学会一般講演３・ 生体防御学会一般講演１	15:30	休憩	14:10	生体防御学会一般講演５
16:00	休憩	15:45	特別講演　Won−Jae　Lee	15:10	
16:15	シンポジウム１ 「若手研究者シンポジウム」	16:45	写真撮影	15:20	閉会
17:55		17:00	懇親会　さくらホール１階		
		19:30			

プログラム

特別講演

７月 10 日（木）15:45 – 16:45

座長：倉田祥一朗（東北大・薬）

演者：Won-Jae Lee

(Department of Biological Science, Seoul National University, Seoul, South Korea)

「**Gut-microbe symbiosis and dysbiosis: A view from *Drosophila*.**」

シンポジウム１

７月９日（水）16:15 – 17:55

「生体防御若手研究者シンポジウム」

座長：演者が次演題の座長をお願いします。

S1-1. マラリア原虫感染防御の感染初期におけるγδ T 細胞を介した樹状細胞活性化の重要性

井上信一、新倉保、井上愛美、小林富美惠

杏林大学　医学部　感染症学（寄生虫学）

S1-2. INAM は polyI:C 治療によるメラノーマの抗肺転移活性に必須である

笠松純、押海裕之、松本美佐子、瀬谷司

北大院・免疫学

S1-3. 創傷治癒過程におけるサイトカイン、ケモカイン産生と NKT 細胞の関与

丹野寛大[1]、川上和義[2]、鈴木愛子[1]、菅野恵美[3]、高木尚之[1]、上松野りな[1]、石井恵子[2]、丸山良子[3]、館正弘[1]

[1]東北大学大学院医学系研究科 形成外科学分野

[2]東北大学大学院医学系研究科 感染分子病態解析学分野

[3]東北大学大学院医学系研究科 看護アセスメント学分野

S1-4. ショウジョウバエ腸管におけるグラム陽性菌に対する防御応答機構の解析

堀亜紀[1]、倉石貴透[1,2]、倉田祥一朗[1]

[1]東北大院・生命機能解析学、[2]PRESTO, Japan Science and Technology (JST)

S1-5. 細菌の新しいシグナル伝達物質：8-ニトロ-cGMP の同定と機能解析

井田智章[1]、松永哲郎[1]、赤司壮一郎[1]、ジョン ミンギョン[1]、津々木博康[2]、藤井重元[1]、居原秀[2]、澤智裕[1]、赤池孝章[1]

[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]大阪府立大院・理・生物科学

シンポジウム２

７月 10 日（木）10:30 – 12:35

「生体防御を眺める視点」

座長：倉田祥一朗（東北大・薬）

S2-1. 適応免疫システムの設計原理について考える

笠原正典

北大・院医・分子病理

S2-2. 進化から見た MHC 領域遺伝子

野中勝

東京大学大学院理学系研究科

S2-3. 自然免疫機構による細胞内の監視と細胞内寄生菌の感染戦略

土屋晃介

京大院・医学研究科・微生物感染症学

S2-4. T 細胞分化と生体防御

柴田健輔[1]、吉開泰信[1]

[1]九大生医研・感染制御分野

S2-5. ユビキチンによるウイルス RNA 認識センサーRIG-I の活性化制御機構

押海裕之、松本美佐子、瀬谷司

北大院・医学研究科

シンポジウム３

７月 11 日（金）10:45 – 12:25

「生体防御の基礎研究と臨床との接点」

座長：川上和義（東北大医学研究科)、石和田稔彦（千葉大学医学部付属病院）

S3-1. 肺炎球菌に対する防御機構とワクチン

宮坂智充[1]、赤堀ゆきこ[2]、石井恵子[2]、大野勲[1]、川上和義[2]

[1]東北薬科大学・病態生理学、[2]東北大院・感染分子病態解析学

S3-2. ワクチン導入で変化した小児肺炎球菌感染症

石和田稔彦

千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部

S3-3. カンジダ感染症における NKT 細胞の関与

金城雄樹

国立感染症研究所真菌部

S3-4. 原発性免疫不全症候群と真菌感染

水上智之[1], 布井博幸[2]

[1]国立病院機構熊本医療センター・小児科, [2]宮崎大・生殖発達医学講座小児科学分野

生体防御学会奨励賞講演

7月 11 日（金）13:40 – 14:10

座長：川上和義（東北大医学研究科）

L1. ショウジョウバエの腸内細菌に対する免疫応答と寛容の分子機構

柴田俊生

九州大学理学研究院生物科学部門

日本比較免疫学会名誉会長　故古田恵美子先生 メモリアルセッション

7月 9 日（水）11:20 – 11:50

司会：笠原正典　（北海道大学医学研究科）

M１. 吉田彪（臨床パストラル教育研究センター）

M２. 佐々木年則（国立感染症研究所）

M３. 和合治久（埼玉医科大）

一般演題プログラム

第１日目　７月９日（水）

比較免疫学会一般講演１　9:50 – 11:20

座長：高橋計介（東北大院・農）
末武弘章（福井県立大学）

1. ショウジョウバエにおける脳・神経系による腸管恒常性維持機構
見目裕之[1]、石川裕規[2]、大手学[1]、倉田祥一朗[1]
[1]東北大院・生命機能解析学、[2]沖縄科学技術大学院大学・免疫シグナル

2. ショウジョウバエ個体を用いたオートファジー不全による炎症性腸疾患発症メカニズムの解析
長井広樹、矢野環、倉田祥一朗
東北大院・生命機能解析学

3. NF-κB 経路の活性化を制御する新規因子コシャペロン CG8863/DnaJA3
籾内義希、熊田幸平、倉石貴透、倉田祥一朗
東北大院・生命機能解析学

4. カビ感染に対するショウジョウバエ免疫応答の比較発現解析
瀬戸陽介[1]、田村浩一郎[1,2]
[1]首都大学東京・理工・生命科学、[2]生命情報研究センター

5. シンカイヒバリガイの鰓細胞による貪食作用とその動態
多米晃裕[1,2]、吉田尊雄[3]、大石和恵[3]、丸山正[3]
[1]（株）マリン・ワーク・ジャパン，[2]北里大学大学院，[3]海洋研究開発機構

6. トラフグ TNFα は TNFR1 と TNFR2 に結合する
前田知己、末武弘章、小髙智之、宮台俊明
福井県立大学・海洋生物資源学部

比較免疫学会一般講演２　13:00 – 14:30

座長：大石和恵（(独) 海洋研究開発機構）
柴田俊生（九大院・理）

7. ハエ腸管の囲食膜タンパク質の架橋体形成による感染防御の分子機構
槇光輝[1]、柴田俊生[2]、川畑俊一郎[1,2]
[1]九大院・システム生命科学、[2]九大院・理・生物科学

8. トラフグ好塩基球は寄生虫感染部位でマスト細胞へと分化する

小髙智之、末武弘章、前田知己、宮台俊明
福井県立大学・海洋生物資源学部

9. コイ補体 Properdin アイソフォームの多様性と機能解析

吉岡和紀、鵜木陽子、杣本智軌、中尾実樹
九州大学大学院 農学研究院

10. ネコザメ皮膚Ｃ型レクチンは極めて幅広い糖特異性を示し、自身の血液を凝固させる

筒井繁行[1]、土津田雄馬[1]、小野綾香[1]、舘野浩章[2]、平林淳[2]、中村修[1]
[1]北里大学・海洋生命科学部、[2]産業技術総合研究所・幹細胞工学研究センター

11. 福島の放射能汚染地域に生息するコイの免疫系

鈴木譲

12. マガキ血球貪食胞の酸性化に関する新知見

高橋計介、阿部史隆、福田陽一、伊藤直樹、尾定誠
東北大学大学院農学研究科、水圏動物生理学分野

比較免疫学会一般講演３・生体防御学会一般講演１ 14:45 – 16:00

座長：松﨑吾朗（琉球大院・医）
杣本智軌（九州大院・農）

13. モービリウイルス受容体の SLAM の結合面における３次元モデルによるウイルス特異性や感受性の解析

大石和恵[1]、鈴木倫太郎[2]、丸山正[1]
[1]（独）海洋研究開発機構、[2]（独）農業生物資源研究所・生体分子研究ユニット

14. Evolution of the interleukin 2, 15 and 15-like family

Takuya Yamaguchi[1], and Johannes M. Dijkstra*[2]
[1]Friedrich Loeffler Institutes, Insel Riems, Germany, [2]A Fujita Health University, Toyoake, Aichi-ken *speaker

15. NKT 細胞の活性化を介する肺炎球菌ワクチンの感染防御効果解析

水口裕紀[1,2], 井澤由衣奈[1,3], 北野尚樹[1], 上野圭吾[1], 浦井誠[1], 金子幸弘[1,5], 朴貞玉[4], 明田幸宏[4], 川上和義[6], 竹山春子[3], 川原一芳[2], 大石和徳[7], 金城雄樹[1]
[1]感染研・真菌, [2]関東学院大・院工・細菌生化, [3]早稲田大・先進理工・生命医科, [4]大阪大微研・臨床感染症, [5]大阪市大・院医・細菌, [6]東北大・院医・感染分子病態解析, [7]感染研・感染症疫学センター

16. 魚類のホルマリン不活化ワクチンによる液性免疫誘導と細胞性免疫抑制

山﨑雅俊[1,2]、荒木亨介[1]、中西照幸[3]、中易千早[4]、松﨑吾朗[2]、山本淳[1]

[1]鹿児島大・水産、[2]琉球大・熱生研、[3]日大・生物資源、[4]水研セ増養殖研

17. ヒト Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)の特異的マーカーの探索

武田裕司[1]、加藤智幸[2]、渡邊千尋[1]、阿部尚美[1]、奈良英利[1]、

荒木明美[1]、浅尾裕信[1]

山形大・医・[1]免疫学、[2]泌尿器科学

第２日目　７月１０日（木）

生体防御学会一般講演２　　8:45 – 10:15

座長：澤　智裕（東北大院・医）

押海裕之（北大院・医）

18. IL-22 が誘導するヒト Phospholipase A2 Group IIA (PLA2G2A)による *Listeria monocytogenes* 感染防御

松﨑吾朗、沖田大和、浜田聡、梅村正幸

琉球大・熱生研・分子感染防御、医院・生体防御

19. IL-33 のマイコバクテリア感染防御免疫に対する増強効果

梅村正幸[1, 2]、福井雅之[1, 2]、福井知穂[1, 2]、中江進[3]、松﨑吾朗[1, 2]

[1]琉球大・熱生研・分子感染防御、[2]医院・生体防御、

[3]東大・医科研・システムズバイオロジー

20. 新規抗肺結核ワクチン戦略による早期防御免疫応答の増強

[1]福井雅之、[1, 2]梅村正幸、[1, 2]松﨑吾朗

[1]琉球大・熱生研・分子感染防御、[2]医院・生体防御

21. レジオネラ菌の細胞内寄生性を担うエフェクタータンパク質の宿主標的タンパク質の網羅的同定の試み

瀬戸真太郎[1]、萱谷圭子[2]、永田　年[2]、堀井俊伸[1]、小出幸夫[3]

[1]浜松医科大学感染症学講座、[2]浜松医科大学健康科学講座、

[3]浜松医科大学理事・副学長

22. 糖鎖修飾の変化による自然免疫反応のダイナミックな制御

山本(日野)美紀[1]、村岡正敏[2]、近藤周[3]、岡野栄之[4]、上田龍[3]、後藤聡[1]

[1]立教大理、[2]東京都医学総合研、[3]国立遺伝研、[4]慶応大医

23. 転写因子Nrf1はシステイントランスポーターおよび脂質代謝酵素群を抑制制御する

辻田忠志[1,2]、Vivian Mullin[4]、Liam Baird[1]、松山由香[1]、高久美咲[1]、Shawn Walsh[3]、Julian Griffin[4]、山本雅之[1]、John Hayes[2]

[1]東北大院・医、[2]Univ. Dundee、[3]NHS Tayside、[4]Univ. Cambridge

生体防御学会一般講演３　　13:45 – 15:30

座長：中根明夫（弘前大院・医）
土屋晃介（京大院・医）

24. 好中球の殺菌能におけるオートファジー機構の役割

伊藤洋志[1]、北村奈緒子[1]、山本翔[1]、松尾英将[2]、足立壯一[1]

[1]京都大院・医・人間健康科学・検査応用開発学、[2]京都大・医・附属病院・検査部

25. オートファジー抑制および黄色ブドウ球菌の上皮細胞感染における毒素性ショック症候群毒素-1の関与

浅野クリスナ、中根明夫

弘前大・院医・感染生体防御学

26. 8-ニトロ-cGMPによる細菌感染防御機構と硫化水素による制御

ジョン ミンギョン、松永哲郎、藤井重元、井田智章、澤　智裕、赤池孝章

東北大院・医・環境保健医学

27. プロテインキナーゼGの活性化ドメインへのS-グアニル化とその敗血症における遷延性血圧低下への関与

澤　智裕[1]、Ahmed Ahtesham[2]、藤井重元[1]、井田智章[1]、赤池孝章[1]

[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]熊本大院・生命科学・微生物

28. 小形条虫の虫卵再感染における自然免疫による防御

渡邊直熙[1]、石渡賢治[2]、浅野和仁[3]

[1]慈恵医大・アレルギー学、[2]慈恵医大・熱帯医学、[3]昭和大・保健医療・生理学

29. マウス白血球におけるリグニンポリマー認識ならびに自然免疫応答

山中大輔、石橋健一、安達禎之、大野　尚仁

東京薬科大学院・免疫学教室

30. 抗原ペプチド輸送体様タンパク質が局在する線虫新規オルガネラ

錦織健児、丹治貴博、白石博久、大橋綾子

岩手医大・薬

第３日目　７月１１日（金）

生体防御学会一般講演４　8:45 – 10:30

座長：金城雄樹（国立感染症研究所真菌部）
武田裕司（山形大医）

31. 新興感染症菌 *Helicobacter cinaedi* 感染による動脈硬化の促進作用

松永哲郎[1]、岡本竜哉[2]、藤井重元[1]、井田智章[1]、澤智裕[1]、河村好章[3]、赤池孝章[1]
[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]国立国際医療研究センター病院、
[3]愛知学院大・薬・微生物学

32. Nested PCR 法による健常者における新興感染症菌 *Helicobacter cinaedi* 感染のスクリーニング

藤井重元[1]、小山耕太[2]、松永哲郎[1]、澤　智裕[1]、岡本竜哉[3]、河村好章[4]、赤池孝章[1]
[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]熊本大院・生命科学・微生物学、
[3]国立国際医療研究センター病院、[4]愛知学院大・薬・微生物学

33. リステリオリシンＯ並びに *p53* 遺伝子のリステリア感染による肝実質細胞のアポトーシスへの関与

金子雅和、江本善子、江本正志
群大院・保健学研究科

34. クリプトコックス感染防御における１型インターフェロンの役割

松本郁美[1]、佐藤　光[1,2]、山本秀輝[1]、野村俊樹[1]、石井恵子[1]、宇野賀津子[3]、
川上和義[1]
[1]東北大院医・感染分子病態解析学、
[2]国立病院機構仙台医療センター・ウイルスセンター、
[3]ルイ・パスツール医学研究センター

35. クリプトコックス感染防御における IL-17A の役割

野村俊樹[1]，佐藤　光[1]，山本秀輝[1]，松本郁美[1]，石井恵子[2]，岩倉洋一郎[2]，
川上和義[1]
[1]東北大院医・感染分子病態解析学、[2]東京理科大・生命医科学研・実験動物学

36. アユにおける抗原特異的二次免疫応答の解析

大谷　啓貴、古澤　修一
広島大・免疫生物学

37. IVIG 製剤治療抵抗性難治川崎病 KD へのインタフェロン適用可能性の実証研究着手

粟屋　昭[1，2，3]
[1]皮膚科学疫学研究所(横浜市・戸塚)、[2](独)理研横浜研究所、
[3]（独）科学技術振興機構

生体防御学会一般講演５　　14:10 – 15:10

座長：藤井重元（東北大院・医）

38. 高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチンの効果

上野 圭吾[1]、大久保 陽一郎[2]、清水 公徳[3]、金子 幸弘[4]、浦井 誠[1]、水口 裕紀[1]、
奈良 拓也[1]、川本 進[3]、大野 秀明[1]、澁谷 和俊[2]、宮﨑 義継[1]、金城 雄樹[1]
[1] 国立感染研・真菌部、[2] 東邦大・医・病院病理
[3] 千葉大・真菌研・病原機能、[4] 大阪市立大院・医学研・細菌学

39. 急性肺障害における Claudin-4 遺伝子欠損の影響

渡邉祐里絵[1], 外山真彦[1], 青柳哲史[2], 石井恵子[1], 賀来満夫[2], 田村　敦[3],
月田早智子[3], 川上和義[1]
[1]東北大院医・感染分子病態解析学、[2]感染制御検査診断学、
[3]阪大院医・分子生体情報学

40. *Aspergillus oryzae* 由来 RolA による免疫回避とステルスナノ粒子開発への応用

石井恵子[1], 渡邉祐里絵[1], 松村香菜[1], 笛　未崎[1], 高橋　徹[2], 村垣公英[3],
佐藤大貴[3], 阿部敬悦[2,3], 高見誠一[4], 阿尻雅文[2,4], 冨樫貴成[5], 川上和義[1]
[1]東北大・院医、[2]NICHe、[3]院農、[4]多元研、[5]山形大・理・物質生命科学

41. ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのカンジダ死菌肺炎重篤化機構

荒谷康昭[1]、本目みずき[1]、三浦典子[2]、大野尚仁[2]
[1]横浜市大院・生命ナノシステム科学、[2]東京薬大・薬

特別講演

7 月 10 日（木）15：45〜16：45

座長：倉田祥一朗

東北大学大学院薬学研究科

Gut-microbe symbiosis and dysbiosis: A view from *Drosophila*

Won-Jae Lee

Department of Biological Science, Seoul National University, Seoul, South Korea

Gut-microbe symbiosis and dysbiosis: A view from *Drosophila*.

Won-Jae Lee
Department of Biological Science, Seoul National University, Seoul, South Korea.

Gut microbiota is found in virtually any animals, from invertebrates to vertebrates. It is now evident that gut microbiota directly influences a variety of aspects in animal physiology such as immunity, development, and metabolism[1,2]. However, the exact molecular mechanisms by which gut microbiota achieves the host physiological homeostasis are largely unexploited. Here I will present and discuss recent discoveries regarding the molecular dialogues between bacteria and animals, using a genetic *Drosophila* model organism. Specifically, I will introduce how gut epithelia react to pathogens by using oxidant weapons[3-5], how beneficial gut bacteria influence host immunity[6] and development[7], and how gut immunity distinguishes between beneficial commensal bacteria and life-threatening pathogens[8]. Future studies in this direction in different invertebrate and vertebrate animal models will certainly provide a unique opportunity to better understand the evolutionarily conserved dialogue between prokaryotes and eukaryotes.

1. Lee, W.J., and Brey, P.T. (2013). How microbiomes influence metazoan development: insights from history and Drosophila modeling of gut-microbe interactions. Annu Rev Cell Dev Biol 29, 571-592.
2. Lee, W.J., and Hase, K. (2014). Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. Nature chem biol 10, 416-424.
3. Ha, E.M., Lee, K.A., Park, S.H., Kim, S.H., Nam, H.J., Lee, H.Y., Kang, D., and Lee, W.J. (2009). Regulation of DUOX by the Galphaq-phospholipase Cbeta-Ca2+ pathway in Drosophila gut immunity. Dev Cell 16, 386-397.
4. Ha, E.M., Lee, K.A., Seo, Y.Y., Kim, S.H., Lim, J.H., Oh, B.H., Kim, J., and Lee, W.J. (2009). Coordination of multiple dual oxidase-regulatory pathways in responses to commensal and infectious microbes in drosophila gut. Nat Immunol 10, 949-957.
5. Ha, E.M., Oh, C.T., Bae, Y.S., and Lee, W.J. (2005). A direct role for dual oxidase in Drosophila gut immunity. Science 310, 847-850.
6. Ryu, J.H., Kim, S.H., Lee, H.Y., Bai, J.Y., Nam, Y.D., Bae, J.W., Lee, D.G., Shin, S.C., Ha, E.M., and Lee, W.J. (2008). Innate immune homeostasis by the homeobox gene caudal and commensal-gut mutualism in Drosophila. Science 319, 777-782.
7. Shin, S.C., Kim, S.H., You, H., Kim, B., Kim, A.C., Lee, K.A., Yoon, J.H., Ryu, J.H., and Lee, W.J. (2011). Drosophila microbiome modulates host developmental and metabolic homeostasis via insulin signaling. Science *334*, 670-674.
8. Lee, K.-A., Kim, S.-H., Kim, E.-K., Ha, E.-M., You, H., Kim, B., Kim, M.-J., Kwon, Y., Ryu, J.-H., and Lee, W.-J. (2013). Bacterial-Derived Uracil as a Modulator of Mucosal Immunity and Gut-Microbe Homeostasis in Drosophila. Cell 153, 797-811.

シンポジウム１

７月９日（水）16：15～17：55

「生体防御若手研究者シンポジウム」

座長：

井上信一　（杏林大学　医学部　感染症学）

笠松純　（北大院・免疫学）

丹野寛大　（東北大院医学系研究科 形成外科学分野）

堀亜紀　（東北大院・生命機能解析学）

井田智章　（東北大院・医・環境保健医学）

S1-1

マラリア原虫感染防御の感染初期における
γδ T 細胞を介した樹状細胞活性化の重要性

井上　信一、新倉　保、井上　愛美、小林　富美惠
杏林大学　医学部　感染症学（寄生虫学）

The protective effect of CD40 ligand-CD40 signalling is limited during the early phase of *Plasmodium* infection

Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi
Infect. Dis., Kyorin Univ. Sch. of Med.

【背景と目的】　これまでの研究で、γδ T 細胞は、自然免疫リンパ球の一つとして原虫、細菌、ウィルスなどの様々な感染病原体に対する免疫応答において重要な役割を担っている事が示されてきた。これまでに、マラリア患者の末梢血中においてγδ T 細胞の増殖がみられたこと、また、熱帯熱マラリア原虫の原虫抗原によってγδ T 細胞を含むリンパ球が活性化され、IFN-γなどの炎症性サイトカインを産生するという結果が *in vitro* 培養系によって示されたことから、γδ T 細胞はマラリアの感染病態に影響を及ぼしていることが推測されるようになった。そして、我々の研究により、γδ T 細胞はマラリア原虫感染後に CD40 Ligand (CD40L)や IFN-γ を産生する事で樹状細胞の活性化を促進し、マラリア原虫排除を誘導している事が示された。しかしながら、γδ T 細胞が樹状細胞を活性化させるのに重要なタイミングが存在するのかについては明らかにされていない。本研究では、γδ T 細胞の発現する CD40L を介した樹状細胞の活性促進がマラリア原虫感染防御を誘導するタイミングを明らかにする事を目的とした。

【方法】　野生型 C57BL/6 マウス(WT マウス)もしくはγδ T 細胞欠損マウス(TCR-δ KO マウス)に非致死性マウスマラリア原虫である *Plasmodium berghei* XAT を感染させ、末梢血の感染赤血球の割合を経時的に測定した。*P. berghei* XAT 感染後 0, 3, 5, 7, 9, 10, 14, もしくは 17 日目の TCR-δ KO マウスに anti-CD40 抗体を 1 回尾静脈より投与し、同様に末梢血の感染赤血球の割合を測定した。Anti-CD40 抗体によって樹状細胞の活性化促進が見られるかどうかについては、フローサイトメトリーにより解析した。【結果と考察】　*P. berghei* XAT は、WT マウスに感染させると末梢血中における感染赤血球の割合が幾度かの上昇下降を繰り返した後に最終的に免疫的に排除される。一方、TCR-δ KO マウスに *P. berghei* XAT を感染させたところ、マラリア原虫に対する免疫排除がうまくされずに感染赤血球が高率となり、全ての個体が死に至った。したがって、宿主からのマラリア原虫排除にはγδ T 細胞が必須であることが明らかとなった。TCR-δ KO マウスでは、*P. berghei* XAT 感染後の脾臓の樹状細胞の活性化が減弱されるが、anti-CD40 抗体投与で樹状細胞の活性化が亢進され、原虫排除にも成功する個体がみられるようになった。さらに、anti-CD40 抗体投与の効力が見られる期間を調べたところ、最終的に *P. berghei* XAT 原虫の排除が誘導されるのは感染 3~10 日目に抗体投与したものに限られた。一方、WT マウスに *P. berghei* XAT を感染させた個体のγδ T 細胞は 14~17 日目にも CD40L 発現がみられた。

これらの結果から、マラリア原虫感染により、γδ T 細胞は感染期間中に CD40L を発現し続けるものの、樹状細胞の活性化を促進して原虫防御免疫を成立させるのは感染初期に限られるということが示唆された。

S1-2

INAM は polyI:C 治療によるメラノーマの抗肺転移活性に必須である

笠松 純[1]、押海 裕之[1]、松本 美佐子[1]、瀬谷 司[1]
[1]北大院・免疫学

INAM have a critical rule in anti-lung metastatic activity against murine melanomas during polyI:C-based immunotherapy.

Jun Kasamatsu[1], Hiroyuki Oshiumi[1], Misako Matsumoto and Tsukasa Seya[1]
[1]Grad. School Med., Hokkaido Univ.

【目的】

ウイルスゲノムを模した合成二本鎖 RNA であるpolyI:C はナチュラルキラー(NK)細胞を活性化し，強い抗腫瘍・ウイルス応答を誘起する．NK 細胞は直接 polyI:C を受容せず，樹状細胞(DC)やマクロファージ(Mφ)などのアクセサリー細胞が poly I:C を認識・成熟化し，NK 細胞を活性化する．これまでに，polyI:C の受容体である Toll-like receptor 3 とその下流で活性化される Interferon regulatory factor (IRF)-3 経路によって発現が制御される新規 NK 細胞活性化因子を探索し，4 回膜貫通型膜分子 IRF-3-dependent NK-activating molecule(INAM)を同定した．本研究では，生体内における INAM を介した NK 細胞の活性化機構および抗腫瘍応答を明らかにするために，INAM 欠損マウスを樹立・解析をおこなった．

【方法】

生体内の NK 細胞活性化能を査定するため，polyI:C を腹腔内に投与後，脾臓から NK 細胞を単離して IFNγ および Granzyme B(GzmB)産生を測定した．また，共培養実験では脾臓から各種免疫細胞を単離し，NK 細胞と共培養後，上清中の IFNγ 産生を測定することで NK 細胞の活性化能を査定した．担癌状態における肺 NK 細胞の活性化能を査定するため，マウスメラノーマ B16F10 細胞を尾静脈注射後，polyI:C を腹腔内に投与後し，肺 NK 細胞の IFNγ および Granzyme B(GzmB)産生を測定した．また，polyI:C 治療によるメラノーマの抗肺転移活性を測定するために，B16F10 細胞を尾静脈注射後，polyI:C を 4 回腹腔内に投与後し，肺の転移巣を測定した．

【結果・考察】

INAM を介した NK 細胞の活性化能を査定するために，polyI:C を腹腔内に投与後， IFNγ および GzmB 産生を測定した．その結果，INAM 欠損マウスの NK 細胞は野生型と同等の GzmB 産生能を有するが，初期 IFNγ 産生能において INAM 欠損マウスでは有意な減少が認められた．さらに，野生型および INAM 欠損マウス由来の NK 細胞と DC または Mφ を用いた共培養実験を施行した結果，INAM 欠損マウス由来の NK 細胞，DC および Mφ を用いた群では INAM 依存的な IFNγ 産生の低下が認められた．従って，NK 細胞の初期 IFNγ 産生には INAM を介したアクセサリー細胞(DC や Mφ)との相互作用が必須であることが明らかになった．また，polyI:C 治療によるメラノーマの抗肺転移活性は NK1.1 陽性細胞と IFNγ が重要な役割を担うことが示されていることから，B16F10 細胞を用いた肺転移治療モデルを構築し，INAM の関与を検討した．その結果，肺 NK 細胞の IFNγ 産生は INAM に依存し，INAM 欠損マウスでは polyI:C 治療効果が消失した．以上の結果から，INAM は polyI:C 治療によるメラノーマの抗肺転移活性に必須であり，IFNγ 感受性がん細胞の新しい治療ターゲットになり得ることを明らかにした．

S1-3

創傷治癒過程におけるサイトカイン、ケモカイン産生と NKT 細胞の関与

丹野寛大[1]、川上和義[2]、鈴木愛子[1]、菅野恵美[3]、高木尚之[1]、上松野りな[1]、
石井恵子[2]、丸山良子[3]、館正弘[1]
[1]東北大学大学院医学系研究科 形成外科学分野
[2]東北大学大学院医学系研究科 感染分子病態解析学分野
[3]東北大学大学院医学系研究科 看護アセスメント学分野

【目的】

Natural Killer T (NKT) 細胞は T 細胞と NK 細胞の特性を併せ持ち、肝臓に豊富に存在する細胞であり、活性化すると interferon-γ（IFN-γ)、interleukin-4（IL-4）を産生することが知られている。これまでに我々は、NKT 細胞欠損（Jα18KO）マウスで創閉鎖が遅延し、この遅延が NKT 細胞の移植により、完全に回復することを報告した。本研究では、NKT 細胞が創作成後の創部白血球分画、創部サイトカイン・ケモカイン産生に与える影響について解析を行った。

【方法】

NKT 細胞欠損 Jα18KO マウス（千葉大学 中山俊憲教授より分与）と野生型マウス（C57BL/6）の背部皮膚に全層創を作成し、創作成後の皮膚白血球を比重遠心法で分離し、Diff-Quick 染色後、白血球分画の解析、また、創部サイトカイン・ケモカイン発現について Real-time PCR 法を用い創部 IFN-γ、IL-4、CXCL1（KC)、CXCL2（MIP-2)、CCL2（MCP-1)、CCL5（RANTES）測定を行った。NKT 細胞由来の IFN-γ の影響を確認するため、野生型マウス、IFN-γKO マウス（東京理科大学 岩倉洋一郎教授より供与）から NKT 細胞を 20~30%程度含む Liver Mononuclear cell (LMNC) を回収し、Jα18KO マウスへ移植後、創閉鎖率、免疫組織学的観察解析 (CD31、α-SMA) を行った。

【結果】

野生型マウス群と比べ、Jα18KO マウス群で創作成 1、3 日目の創部好中球数が有意に増加した。創部マクロファージ数は野生型マウス群と比べ、Jα18KO マウス群において創作成 3 日目で有意に低下した。野生型マウスと比べ、Jα18KO マウス群で創作成 12 時間後の MIP-2 mRNA 発現が有意に増加していた。一方、創作成 1 日目の MCP-1、RANTES mRNA 発現が有意に低下した。また、野生型マウスと比較し、Jα18KO マウス群で KC mRNA 発現は両群間に差はみられなかった。創部 IFN-γ mRNA 発現は Jα18KO マウス群において創作成 6、12 時間、1 日目で有意に低下していた。IL-4 mRNA は両群共に検出されなかった。野生型マウス由来 LMNC の Jα18KO マウスへの移植により創閉鎖率、α-SMA、CD31 陽性細胞数は回復したが、IFN-γKO マウス由来 LMNC ではそのような効果はみられなかった。

【考察】

今回の研究により、NKT 細胞が IFN-γ 産生を通して、創傷治癒を促進している可能性、ケモカイン産生を制御し、白血球集積に重要な役割を担うことが明らかとなった。今後、創傷治癒における NKT 細胞の制御機構についてさらに詳細な解析を行う予定である。

S1-4

ショウジョウバエ腸管におけるグラム陽性菌に対する防御応答機構の解析

堀　亜紀[1]、倉石　貴透[1,2]、倉田　祥一朗[1]
[1]東北大院・生命機能解析学、[2]PRESTO, Japan Science and Technology (JST)

Gut defense response against Gram-positive bacteria in *Drosophila*

Aki Hori[1], Takayuki Kuraishi[1,2], and Shoichiro Kurata[1]
[1]Grad. School Pharm. Sci., Tohoku Univ. [2]PRESTO, Japan Science and Technology (JST)

【目的】

自然免疫は、生体内に侵入してきた病原体に対し感染防御の第一線を担う、進化的に保存された生体防御機構である。「内なる外」と呼ばれる腸管上皮には大量の腸内常在菌や、食べ物などとともに取り込まれる病原微生物が存在している。そのため、強力かつ特有な自然免疫機構の存在が予想される。しかしながら、その詳細な機構はあまり良く分かっていない。本研究では、自然免疫研究の有用なモデル生物であるショウジョウバエを用いて、これまでほとんど明らかにされていなかったグラム陽性菌を経口感染させた時の腸管における自然免疫応答の機構を解析することを目的として研究を行った。

【方法・結果】

始めに、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌を経口感染させる条件を検討し、再現性よく感染後の生存率を測定できる実験系を確立した。次に、これまでにショウジョウバエ腸管においてグラム陰性菌経口感染時の免疫応答に重要であると知られていた因子の変異体を用いてグラム陽性菌経口感染実験を行った。活性酸素種 ROS を産生する酵素の変異体と、腸管上皮細胞の修復機構に関わる因子の変異体では生存率の低下がみられなかった。一方で、Imd 経路の変異体では生存率の低下がみられた。この時、CFU アッセイにより経口感染後の体内での菌数を調べたところ、Imd 変異体では野生型に比べて菌の数が多くなっていた。しかし、経口感染により腸管で Imd 経路依存に誘導が起こる抗菌ペプチドの発現量を定量的 PCR 法で測定してみると、グラム陰性菌経口感染時と比べてわずかな発現誘導しかみられないことが分かった。

【考察】

以上の結果から、グラム陽性菌経口感染時の腸管での防御応答には、抗菌ペプチドの産生によらない、Imd 経路を介した新規の機構が重要であると考えられた。現在、DNA マイクロアレイ法により、グラム陽性菌経口感染後の腸管における遺伝子発現量の変化を網羅的に解析している。今回の発表ではそのマイクロアレイ解析の結果を加え、グラム陽性菌経口感染に対する新規の防御応答機構について報告したい。

S1-5

細菌の新しいシグナル伝達物質：8-ニトロ-cGMP の同定と機能解析

〇井田智章[1]、松永哲郎[1]、赤司壮一郎[1]、ジョン　ミンギョン[1]、津々木博康[2]、藤井重元[1]、
居原　秀[2]、澤　智裕[1]、赤池孝章[1]
[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]大阪府立大院・理・生物科学

A new signal molecule 8-nitro-cGMP in bacteria

〇Tomoaki Ida[1], Tetsuro Matsunaga[1], Soichiro Akashi[1], Minkyung Jung[1], Hiroyasu Tsutsuki[2], Shigemoto Fujii[1], Hideshi Ihara[2], Tomohiro Sawa[1], Takaaki Akaike[1]
[1]Dept. Environ. Health Sci. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med.
[2]Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Pref. Univ.

【目的】我々は真核生物における様々な酸化ストレス条件下において、活性酸素と NO 産生の下流に新規センカンドメッセンジャーである 8-ニトロ-cGMP（8-nitroguanosine 3’,5’-cyclic monophosphate）が産生され、タンパク質の S-グアニル化を介して、抗酸化シグナル経路を活性化することを明らかにした。一方、原核生物における 8-ニトロ-cGMP の産生やシグナル伝達経路の存在は不明である。そこで、本研究では細菌における 8-ニトロ-cGMP 産生とその機能解析を検討した。

【方法・結果】ネズミチフス菌（*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, LT2 株）のメタノール抽出液を用いてタンデム型質量分析計（LC-MS/MS）で 8-ニトロ-cGMP 産生を検討した結果、cGMP と同等の 8-ニトロ-cGMP が産生されていた。また、細菌由来のアデニル酸シクラーゼを用いて、8-ニトロ-GTP を基質に 8-ニトロ-cGMP 生成を検討した結果、8-ニトロ-cGMP を生成することが分かった。さらに、ネズミチフス菌や大腸菌のウェスタンブロット解析より様々なタンパク質の S-グアニル化が検出され、そのプロテオミクスにより、酸化ストレス応答関連タンパク質である chaperon protein, DnaK などが S-グアニル化の標的タンパク質であることが示された。

【考察】以上の結果は、原核生物においても 8-ニトロ-cGMP が産生され、酸化ストレスにおける S-グアニル化を介したシグナル伝達機能を発揮していることを示唆している。今後、原核生物から真核生物（植物～動物、ヒト）にいたる多様な生物種に共通のシグナル分子である 8-ニトロ-cGMP の産生機構と生物学的意義の解明が待たれる。

シンポジウム２

７月 10 日（木）10：30～12：35

「生体防御を眺める視点」

座長：倉田祥一朗（東北大院・薬学研究科）

笠原正典　（北大・院医・分子病理）

野中勝　（東京大学大学院理学系研究科）

土屋晃介　（京大院・医学研究科・微生物感染症学）

柴田健輔　（九大生医研・感染制御分野）

押海裕之　（北大院・医学研究科）

S2-1

適応免疫システムの設計原理について考える

笠原　正典
北大・院医・分子病理

Design principles of the adaptive immune system

Masanori Kasahara
Dept. Pathol., Grad. School Med., Hokkaido Univ.

ヒトからサメに至るまで、顎を持った脊椎動物（有顎類）の適応免疫システムの中核をなしているのは、リンパ球の抗原レセプター（T 細胞レセプターTCR、B 細胞レセプターBCR）と主要組織適合遺伝子複合体（Major Histocompatibility Complex: MHC）分子である。これに対して、ヤツメウナギとヌタウナギによって代表される顎を持たない脊椎動物（円口類、無顎類）には、MHC、TCR、BCR が存在しないため、1990 年代から 2000 年代初頭にかけては、適応免疫システムは有顎類に固有のシステムであるとする考えが有力であった。ところが、Zeev Pancer, Max D. Cooper らにより、ヤツメウナギで可変性リンパ球レセプターvariable lymphocyte receptor（VLR）が同定されるに及んで、この考えは根底から覆されるに至った。VLR は多様性に富んだ leucine-rich repeat（LRR）モジュールを遺伝子変換様の機序により複数個組み合わせることにより、免疫グロブリンに匹敵する多様性を生み出す抗原レセプターであり、TCR、BCR とは構造的類似性を示さない。そのため、VLR の発見は有顎類と無顎類の適応免疫システムの相違を際立たせる結果となった。しかしながら、両者の適応免疫システムには共通点も多い。特に重要な共通点は、リンパ球系列（T 細胞系列、B 細胞系列）が保存されていることである。ここでは、有顎類と無顎類の適応免疫システムを比較することにより、脊椎動物における適応免疫システムの設計原理について考察する。

1. Flajnik, M. F. and Kasahara, M. Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nat. Rev. Genet. 11:* 47-59, 2010.

2. Boehm, T., McCurley, N., Sutoh, Y., Schorpp, M., Kasahara, M. and Cooper, M. D. VLR-based adaptive immunity. *Annu. Rev. Immunol. 30:* 203-220, 2012.

3. Kasahara, M. *Déjà vu*: three lineages of lymphocytes in lampreys. *Immunol. Cell. Biol. 91:* 599-600, 2013.

4. Kasahara, M. and Sutoh, Y. Two forms of adaptive immunity in vertebrates: similarities and differences. *Adv. Immunol. 122:* 59-90, 2014.

S2-2

進化から見たMHC領域遺伝子

野中　勝

東京大学大学院理学系研究科

Evolutionary view of the genes in the MHC genomic region

Masaru Nonaka

Graduate School of Science, The University of Tokyo

主要組織的合性抗原複合体(MHC)は有顎脊椎動物に固有のゲノム領域で､T細胞に抗原を提示する際に中心的な役割を果たすMHCクラスI, II分子の遺伝子をはじめとして、多くの免疫関連遺伝子が集積している。MHCクラスI, II遺伝子は、その驚異的多型性から以前より進化生物学の研究対象とされ、平衡選択による trans-species polymorphism と言う興味深い現象が報告されている。しかしながらMHCゲノム領域が存在する事の進化的意義は十分に理解されておらず、私は比較生物学的な手法によりその意義の解明を目指してきた。ヒト、マウスのMHC領域のゲノム構造が解明されると、構造的には無関係ながら機能的には密接な関係を持った遺伝子が緊密に連鎖しているという興味深い構造が明らかになった。哺乳類ではクラスIの抗原提示に関与するクラスIアルファ鎖、抗原ペプチドのプロセシングをおこなう免疫プロテアソームのサブユニットPSMB8, PSMB9、ペプチドをER内部へ輸送するトランスポーターであるTAP1, TAP2、ペプチドのクラスI分子上へのロードを助けるTAPBPの遺伝子の連鎖が報告された。硬骨魚類のモデルとしてメダカのMHC遺伝子を解析したところ、クラスI、クラスII、クラスIII補体遺伝子間の連鎖が失われており、にも関わらず、上記クラスI抗原提示に関わる遺伝子群は哺乳類よりも緊密なクラスターを形成していた。硬骨魚類のMHCは大規模な再編を経験したとされるため、これらの遺伝子の連鎖を保つ方向に強力な選択圧が働いている事が示唆された。もう一つの同様な連鎖の例は補体遺伝子、*C4* と *C2* の間に見られる。C4とC２はいかなる構造上の類似性も示さなが、機能的には両者は分子集合して古典経路の活性化に中心的な役割を果たす酵素を形成する間柄である。これまでに *C3/C4/C5* 間の遺伝子重複は有顎脊椎動物の共通祖先で生じた事が示されてきたが、条鰭類の *C2* と *Bf* は系統樹解析だけからは識別する事が困難であり、その遺伝子重複の時期は不明のままであった。現在国立遺伝学研究所で解読が進められているポリプテルスゲノムの予備的な結果から、条鰭類で初めてクラスIII補体遺伝子についてシンテニー情報を利用する事が可能になり、*C2/Bf* 間の遺伝子重複は条鰭類と肉鰭類の分岐以前に生じた事、およびポリプテルスにおいては *C4* と *C2* が連鎖している事が明らかになった。以上の結果は、ポリプテルスの分岐後に条鰭類の系統で生じたと思われる大規模なMHC領域の再編は、*C4* と *C2* の連鎖は壊したが、クラスI抗原提示に関わる遺伝子群の連鎖は保った事を示している。MHCは構造無関係、機能関連遺伝子が密接に連鎖して協調進化を遂げる場であり、補体古典経路の確立の過程で必要とされた *C4,C2* 間の連鎖はもはや役割を終えたのに対し、クラスI抗原提示に関わる遺伝子群は現在でも連鎖を保つ方向の選択圧の下、協調進化を続けている可能性が高いと考えられる。

S2-3

自然免疫機構による細胞内の監視と細胞内寄生菌の感染戦略

土屋晃介
京大院・医学研究科・微生物感染症学

Inflammasome recognition of intracellular pathogens and its modulation by virulence factors

Kohsuke Tsuchiya
Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Kyoto Univ.

生体防御は免疫を含む様々な要素で成り立っている。これまで生体防御の理解のために多大且つ多角的な努力が積み重ねられており、今日の研究の基礎となっている。この 10 年間で最も解明が進んだ生体防御機構の一つに自然免疫系による非自己および異常自己の認識がある。パターン認識受容体群（PRRs）が特有の病原体由来分子構造（PAMPs）や内因性または外因性の炎症誘導因子(DAMPs)を認識することがわかり、その生理的および病理学的意義が明らかになってきた。PRRs は細胞膜やエンドソーム膜の他、細胞内にも発現しており、細胞外および細胞内の PAMPs/DAMPs を認識する。

Nod-like receptors（NLRs）や absent in melanoma 2-like receptors（ALRs）は細胞内に発現する PRRs であり、その一部は PAMPs/DAMPs を認識すると細胞質にインフラマソームと呼ばれる蛋白複合体を形成する。インフラマソームは PAMPs/DAMPs の認識をカスパーゼ 1 活性化というシグナルに変換する装置である。すなわち、インフラマソームがカスパーゼ 1 前駆体と結合してその活性化を誘導し、次いで活性型カスパーゼ 1 が IL-1β および IL-18 の成熟化、炎症性プログラム細胞死、ケミカルメディエーターの産生などを誘導することで炎症が引き起こされる。インフラマソームは炎症応答を介して病原微生物に対する宿主防御や腸内細菌叢の恒常性維持に寄与する。一方、加齢や代謝異常などで蓄積する DAMPs を認識して組織内に慢性的な炎症を起こし、多様な疾患（神経変性疾患、動脈硬化性疾患、メタボリックシンドロームなど）の発症・増悪の原因にもなる。このような幅広い生理的・病理学的役割のため、インフラマソームの活性化機序および抑制機序に注目が集まっている。

多種の病原微生物が宿主の NLRs や ALRs に認識されてインフラマソームの活性化を誘導する。細菌では細胞内に侵入する細胞内寄生菌や 3 型/4 型分泌機構を有する病原細菌などによるインフラマソーム活性化の報告例が多い。さらに、一部の病原体は病原因子を産生することでインフラマソーム活性化を抑制または促進することが知られており、それにより宿主内での自身の生存を有利にしていると考えられる。我々は宿主の細胞内自然免疫機構、特にインフラマソームと細胞内寄生菌の相互作用に視点を当てて研究を行ってきた。本シンポジウムでは、リステリア（*Listeria monocytogenes*）の病原因子によるインフラマソーム活性化の促進とその意義、この解析を通じて明らかになった新規インフラマソーム制御機序などの我々の研究成果を報告し、最新の知見とともに考察したい。

S2-4

T細胞分化と生体防御

柴田健輔[1]、吉開泰信[1]
[1]九大生医研・感染制御分野

【目的】地球上に有顎脊椎動物が4億5000万年前に出現して以来、αβ T細胞とγδ T細胞の存在は進化の過程で高度に保存されており(Hayday,2000;Kreslavsky et al., 2010)、それらの欠損もしくは機能低下は様々な病原体に対して感受性が上昇することから生体恒常性維持に必須の役割を担う。そこでは炎症性αβもしくはγδ T細胞がサイトカインやケモカイン、細胞傷害性分子といった炎症性メディエーターを産生することで病原体排除に働く。したがって炎症性T細胞の機能獲得機構や末梢組織における維持機構の解明は、各種病原体に対するワクチンの開発や難治性感染症に対する新規治療法の開発への応用が期待される。それらのT細胞サブセットはTCRの構造上の違いのみならず、その末梢組織における局在が異なる。ヒトおよびマウスにおいてT細胞分化は胎生期より胸腺に前駆細胞が移入することで開始され、2種類のT細胞受容体 (TCR)を発現するαβ T細胞とγδ T細胞が分化する。胎生期から周産期にかけてγδ T細胞が胸腺における主な集団であるが、その後から成体期にかけてαβ T細胞の分化が優位となる。また成体マウスにおいてαβ T細胞は主に2次リンパ組織に存在するのに対し、γδ T細胞は肺、腸管、皮膚、生殖器上皮間等に高頻度に局在する。このように個体発生の過程でT細胞分化はダイナミックに且つ厳密に制御されている。しかしそのメカニズムや生体における意義については不明な点が多い。そこで本研究では、T細胞機能獲得および維持機構と生体防御における役割を解明することを目的とした。

【結果・考察】αβ T 細胞は胸腺においてナイーブ細胞として分化し末梢組織において抗原提示されることで炎症性サイトカイン IFN-γ、IL-17 産生細胞へと機能分化するが、γδ T 細胞は外来抗原に暴露される前の胎児胸腺においてそれらの能力を獲得する(Ribot, JC. et al., 2009;Shibata, K. et al., 2008)。我々は IFN-γ産生及び IL-17 産生γδ T 細胞は異なる 3 つの分化段階の T 細胞前駆細胞より分化誘導されることを明らかにした (Shibata, K. et al., 2014)。IFN-γ産生γδ T 細胞の機能獲得にはTCRシグナルとその下流の転写因子Id3、PLZFが、一方IL-17産生γδ T細胞の機能獲得には Notch1-Hes1 経路や TCR シグナルの関与が報告されている (Shibata, K. et al., 2011;Wencker, M. et al., 2014;Coffey, F. et al., 2014)。成体期と比較して幼児期 (2-3 週齢前後)に肺、腹腔内、腋窩リンパ節等の末梢組織に高頻度にIL-17産生γδ T細胞が認められ(Shibata, K., 2008;Ribot,JC.et al., 2009;Do.JS. et al.,2010)、それらは IL-7 受容体を高く発現しメモリー様細胞として長期間維持される(Michel, ML. et al., 2012;Haas, JD. et al., 2012)。我々はNotch1-RBP-Jκ経路が IL-17 産生γδ T 細胞の IL-7 受容体の発現を誘導すること、そして末梢組織における維持に必須であることを見いだした。感染性肺炎を引き起こす細菌として知られる *Klebsiella pneumoniae* 経鼻感染マウスモデルにより、IL-17 産生γδ T 細胞が幼児期の感染防御に特に重要であった。このように個体発生の過程でNotchシグナルがγδ T細胞の IL-17 産生能獲得と維持に必須で、様々な病原体に対する生体防御機構の一つとして進化してきたことが示唆された。

S2-5

ユビキチンによるウイルス RNA 認識センサー RIG-I の活性化制御機構

押海　裕之、松本　美佐子、瀬谷　司
北大院・医学研究科

Regulatory mechanism of cytoplasmic viral RNA sensor RIG-I by K63-linked polyubiquitination

Hiroyuki Oshiumi, Misako Matsumoto, and Tsukasa Seya
Grad. School Med., Hokkaido Univ.

【目的】

自然免疫はウイルス感染初期の生体防御に非常に重要な役割を果たし、ウイルスの排除のみならず、獲得免疫系の活性化も誘導する。細胞質内に侵入したウイルスの RNA は、ウイルス RNA 認識センサーである RIG-I 分子により認識され、強い抗ウイルス作用を持つⅠ型インターフェロン（IFN）の産生を誘導する。ユビキチン修飾は、さまざまなタンパク質の活性化に関与する重要なメカニズムである。我々は、RIG-I 活性化のメカニズムの解明を目的として研究を進め、ユビキチンリガーゼによって RIG-I の活性化が厳密に制御されていることを解明した。

【方法・結果】

我々は、酵母 two-hybrid 法による RIG-I 結合因子の探索から、Riplet と名付けた新規ユビキチンリガーゼを同定し、これが、RIG-I の C 末端領域をリジン６３結合型のポリユビキチン修飾し、RIG-I の活性化を誘導することを解明した。この Riplet による RIG-I のポリユビキチン化の役割を解明するためにノックアウトマウスを作製した。興味深いことに、マウス胎児由来繊維芽細胞や骨髄由来のマクロファージや樹状細胞で Riplet をノックアウトすると、ウイルス感染時のⅠ型 IFN 産生が消失した。さらに、マウス個体への感染実験に於いて、Riplet ノックアウトマウスは VSV 感染時の自然免疫応答に欠損があり生存率が大きく低下した。これらは、Riplet による RIG-I のユビキチン修飾が生体内でのウイルスに対する生体防御に必須であることを示唆している。

他のグループから TRIM25 分子も RIG-I をリジン６３結合型ポリユビキチン修飾することが報告された。我々は、Riplet と TRIM25 の関連を調べたところ、Riplet による RIG-I のユビキチン修飾が、TRIM25 と RIG-I との結合を促進することを解明した。また、C 型肝炎ウイルスは RIG-I 経路を阻害することが以前から知られていたが、ウイルスの NS3-4A プロテーアーゼが Riplet 分子を分解し、RIG-I 依存的な自然免疫応答が阻害されることを発見した。

【考察】

ウイルス認識センサーの RIG-I には、複数のユビキチンリガーゼが協調してユビキチン修飾を行う。一方で、ウイルスは、これらのユビキチンリガーゼの働きを阻害することで自然免疫応答を抑制していると考えられる。

シンポジウム３

７月 11 日（金）10：45〜12：25

「生体防御の基礎研究と臨床との接点」

座長：川上和義（東北大院・医学研究科）

石和田稔彦（千葉大学医学部附属病院）

宮坂智充　（東北薬科大学・病態生理学）

石和田稔彦（千葉大学医学部附属病院）

金城雄樹　（国立感染症研究所真菌部）

水上智之　（国立病院機構熊本医療センター）

S3-1

肺炎球菌に対する防御機構とワクチン

宮坂　智充[1]、赤堀 ゆきこ[2]、石井 恵子[2]、大野　勲[1]、川上 和義[2]
[1]東北薬科大学・病態生理学、[2]東北大院・感染分子病態解析学

Role of Dectin-2 in host defense to pneumococcal infection and PPV-induced Ab production

Tomomitsu Miyasaka[1], Yukiko Akahori[2], Keiko Ishii[2], Isao Ohno[1] and Kazuyoshi Kawakami[2]
[1] Department of Pathophysiology, Tohoku Pharmaceutical University
[2] Department of Medical Microbiology, Mycology and Immunology, Tohoku University Graduate School of Medicine

肺炎球菌は多糖からなる厚い外膜を有するグラム陽性の双球菌で、本邦における市中肺炎の原因菌として最も頻度の高い細菌である。特に高齢者や慢性呼吸器・循環器疾患、肝硬変、糖尿病、脾摘などの基礎疾患を有する患者では侵襲性の肺炎球菌感染症を起こしやすい。肺炎球菌の莢膜多糖は細胞壁の外側に存在しており、莢膜保有株は莢膜非保有株と比較して病原性が強いことから、主要な病原因子のひとつであると考えられている。莢膜多糖などの肺炎球菌に関連した病原体関連分子パターン(PAMPs)は、樹状細胞やマクロファージなどに発現するパターン認識受容体を介して認識され、好中球主体の免疫応答を誘導する。本研究では、近年真菌に対する宿主感染防御機構の解明により、多糖の受容体のひとつとして明らかにされたDectin-2の役割を中心に肺炎球菌感染に対する宿主防御機構の解析を行った。はじめに、Dectin-2欠損(KO)マウスおよびC57BL/6 (WT)マウスを用いて、肺炎球菌臨床分離株を気管内投与したところ、生存率、肺内菌数ともにDectin-2KOマウスにおいて著明な感染の悪化が認められた。感染防御の主体である好中球の肺への集積は両群間に差を認めなかったが、Dectin-2KOマウスでは、肺内におけるIFN-γの産生量の減少を伴って好中球の貪食能の低下が観察された。次に、肺炎球菌のオプソニン化に重要な役割をはたす莢膜多糖特異的IgG産生を比較したところ、感染早期の血清および気管支肺胞洗浄液中の抗体産生がWTマウスと比較してDectin-2KOマウスにおいて有意に低下していた。さらに、23価肺炎球菌ワクチン(PPV23；ニューモバックス®)をDectin-2KOマウスとWTマウスに接種して抗体産生を比較検討した実験においても、莢膜多糖特異的IgMおよびIgG産生がDectin-2KOマウスにおいて有意に低下していた。in vitroの実験では、骨髄由来樹状細胞(BM-DCs)を肺炎球菌培養上清またはPPV23で刺激したところIL-12p40産生が認められたが、Dectin-2KOマウスでは完全に消失していた。さらに、Dectin-2による肺炎球菌莢膜多糖の認識による樹状細胞からのIL-12産生は、NKT細胞の活性化とIFN-γ産生を誘導していることが明らかとなった。これらの結果からDectin-2は、莢膜多糖特異的な抗体産生と、好中球による肺炎球菌の貪食を誘導することにより、肺炎球菌感染に対する宿主防御機構において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

S3-2

ワクチン導入で変化した小児肺炎球菌感染症

石和田 稔彦
千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部

Changes of pediatric pneumococcal disease after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine

Naruhiko Ishiwada

肺炎球菌の莢膜は、好中球やマクロファージなどの貪食細胞が貪食をする際に抵抗性を示すことから、病原性の主体となる。莢膜型は、血清型とも呼ばれ、現在 94 種類に分類される。肺炎球菌は、小児から成人に至るまで幅広い年齢層に感染し、菌血症を伴う侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）と、呼吸器感染症を主体とした非侵襲性感染症を惹起する。日本で 1980 年代から使用可能であった 23 価肺炎球菌多糖体ワクチンは、2 歳未満の乳幼児では十分な免疫が誘導できず予防効果は得られなかった。そこで、4、6B、9V、14、18C、19F、23F の 7 つの血清型の莢膜多糖体に、T 細胞依存性抗原であるジフテリア毒素の変異蛋白（ジフテリア CRM197）を結合させたワクチンが開発され、乳児にも十分な免疫を誘導できるようになった。PCV7 は、2000 年から米国で接種が開始され、2010 年 2 月からは日本でも小児に対して使用可能となった。PCV7 は任意接種の形で導入され当初接種率は低かったが、2011 年になり、全国的に PCV7 に対する公費助成が決定されたことにより接種率は上昇した。厚生労働省の研究班による全国 10 道県での IPD の疫学調査において IPD 罹患率は 2011 年になり減少傾向が認められている。一方、PCV7 接種が普及した国で、PCV7 に含まれる血清型の IPD が減る一方、血清型 19A を中心に PCV7 でカバーされない血清型による IPD が増加し問題となっている。国内における調査でも PCV7 導入後、全体の症例数は減少してきているものの、相対的に PCV7 でカバーされない血清型による IPD が増加してきており、海外と同様に 19A の割合が増えてきている。このような状況のもと、含有する血清型を 13 種類（PCV7 に含まれる血清型＋1、3、5、6A、7F、19A）まで増やした PCV13 が開発され、2013 年 11 月 1 日から PCV7 に切り替わる形で日本にも導入され、さらなる予防効果が期待されている。

肺炎球菌結合型ワクチンは、日本では侵襲性感染症予防の適応しかないが、海外においては肺炎や中耳炎を予防適応疾患としている国も多く認められる。我々は、PCV7 導入前後で小児市中肺炎の罹患率に関する調査を行ったところ、5 歳未満小児の肺炎球菌性肺炎の入院例がワクチン導入後有意に減少していること、分離された肺炎球菌の血清型と薬剤感受性に変化が認められることが明らかとなった。ワクチン導入により小児肺炎球菌感染症の臨床像は大きく変化しており、新たな対応が求められている。

S3-3

カンジダ感染症におけるNKT細胞の関与

金城　雄樹 [1]
[1] 国立感染症研究所真菌部

NKT cells in *Candida albicans* infection

Yuki Kinjo[1]
[1] Dept. Chemo. Myco., Nat Inst Infect Dis,

消化管や皮膚の常在性真菌であるカンジダは菌血症をおこす主な原因菌であり、ひとたび真菌血症をおこすと、積極的な抗真菌薬投与でも死亡率が高いことが問題となる。また、細菌との重複感染を認めることもあり、そのような症例では予後が悪いことが知られているが、その病態については明らかになっていない。自然免疫に関与するリンパ球のNatural killer T (NKT)細胞はアスペルギルスやクリプトコックスなどの病原真菌に対する免疫反応に関与するが、カンジダ感染における関与に関しては明らかになっていなかった。

私達はまず、カンジダ感染防御におけるNKT細胞の関与について、全身性カンジダ感染モデルを用いて解析を行った。しかし、全身性カンジダ感染に対する生体防御においてはNKT細胞の役割は限定的であることが分かった。次に、カンジダ感染増悪機構の解明を目的とし、カンジダ感染の経過に及ぼす細菌感染の影響に関して検討した。その結果、細菌との共感染によりカンジダ感染が増悪すること、その病態にIFNγ及びNKT細胞の関与を示唆する結果を得た。さらに、カンジダ感染早期に糖脂質を投与してNKT細胞を活性化した場合にはカンジダ感染が増悪することが分かった。

これまでにアスペルギルスやクリプトコックスなどの真菌に対する感染防御にはIFNγが重要であることが報告されている。カンジダ感染においても獲得免疫の誘導においてIFNγが重要な役割を担っている。しかし、感染早期に細菌の共感染などによってNKT細胞などのリンパ球が活性化され、過剰のIFNγが産生される状況においては、カンジダ感染が増悪することが示唆された。本発表では、カンジダ感染症におけるNKT細胞について発表すると共に、他の真菌感染におけるNKT細胞の役割に関する報告も含めて真菌感染症におけるNKT細胞の関与について紹介したい。

S3-4

原発性免疫不全症候群と真菌感染

水上　智之[1]，布井　博幸[2]
[1]国立病院機構熊本医療センター・小児科，[2]宮崎大・生殖発達医学講座小児科学分野

Fungal infections in patients with primary immunodeficiency

Tomoyuki Mizukami[1] and Hiroyuki Nunoi[2]
[1]Department of Pediatrics, NHO Kumamoto Medical Center. [2]Division of Pediatrics, Department of Reproductive and Developmental Medicine, University of Miyazaki.

原発性免疫不全症候群は免疫系に関わる分子の遺伝子変異によって発症する疾患の総称であり，感染防御機構の破綻のために患者は種々の病原体に対し易感染性を呈する．本症候群には現在 140 以上の遺伝子，200 以上の疾患が含まれ，疾患によって易感染性を示す病原体，症状経過や予後が大きく異なる．中でも真菌に易感染性を示す疾患として慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease: CGD)，高 IgE 症候群，慢性皮膚粘膜カンジダ症などが知られている．

CGD は食細胞活性酸素産生障害によって易感染性を示す免疫不全症で，約 300 名の国内患者が登録されている．CGD は活性酸素産生の場である食細胞 NADPH oxidase complex を構成する蛋白のいずれかの欠損により発症し，乳児期からの細菌，真菌感染症反復や諸臓器における肉芽腫形成が特徴的である．とくにアスペルギルス，カンジダなどの真菌感染症は重症，難治性でしばしば致命的である．われわれの国内 CGD 新規診断 47 例に関する調査では，乳児期から真菌感染症を発症した症例が 5 例（アスペルギルス 4 例，カンジダ 1 例）あり，肺カンジダ感染症例は生後 7 ヶ月で死亡していた．最近の CGD 死亡症例においても侵襲性真菌感染症と移植関連死が目立つ．これらのことは NADPH oxidase が真菌感染防御に重要な働きを持つことを示している．

CGD 食細胞では活性酸素種を用いた直接的真菌傷害作用が損なわれるが，好中球細胞外トラップ（neutrophil extracellular traps: NETs）の放出も欠損していることが最近明らかになった．つまり真菌に対し易感染性を呈する CGD 患者では，貪食された分生子に対する防御と細胞外菌糸に対する防御の両方とも障害されている．また CGD では炎症性サイトカイン産生亢進状態(IL-1β，IL-8，TNFαなど)，過剰炎症状態にあることが明らかになり，現在，非感染性肉芽腫病変（CGD 腸炎を含む）に対するサイトカイン遮断療法が試みられている．真菌感染症に肉芽腫病変を伴う CGD 患者も多く，これについても過剰炎症状態の関与が考えられている．

今回はわれわれの関わった症例を通して，CGD における真菌感染症の臨床について呈示したい．各方面から御意見をいただければ幸甚である．

学会奨励賞受賞講演

7 月 11 日（金）13：40〜14：10

座長：川上　和義

東北大学大学院医学系研究科

ショウジョウバエの腸内細菌に対する免疫応答と寛容の分子機構

柴田俊生（九州大学理学研究院生物科学部門）

日本生体防御学会奨励賞

平成 17 年度より日本生体防御学会奨励賞が創設されました。この賞は公募により推薦（自薦を含む）のあった応募者を対象に「奨励賞選考委員会」で当該年度の候補者を選定し、理事会にて決定いたします。本学術総会第３日目１３時４０分より受賞講演後、賞状と副賞が授与されます。

ショウジョウバエの腸内細菌に対する免疫応答と寛容の分子機構

柴田 俊生 [1]、関原 早苗 [2]、藤川 匠 [2]、槇 光輝 [2]、宮地 隆太 [2]、石原 健 [1,2]、小柴 琢己 [1,2]、川畑 俊一郎 [1,2]
([1] 九州大学大学院理学研究院生物科学部門、[2] 九州大学大学院システム生命科学府)

多細胞生物は自身の体細胞よりも多くの常在細菌を保持している、いわば生命の共同体である。例えば、ヒトにおいては約 500 種類、100 兆個、比較的シンプルな常在細菌を有すると言われているショウジョウバエにおいても 10～50 種、計 500 万個もの細菌が共生している。腸内の共生細菌は、宿主の免疫反応から免れて増殖し、腸管の恒常性に寄与するとともに、ビタミンなどの必須栄養源の供給を行っている。このような腸内の共生細菌叢は、腸管の免疫系により管理されているが、共生細菌に対する宿主の免疫寛容の仕組み、つまり異物であるはずの細菌がなぜ宿主から排除されてしまわないのかという分子機構には、未解明の部分が多く残されている。私たちは最近、この免疫寛容の一端を担うのが、意外にもタンパク質同士の架橋反応に関わる酵素、トランスグルタミナーゼ (transglutaminase, TG) であることを見出した。

TG はタンパク質のリジン残基とグルタミン残基間の架橋反応を触媒する酵素である。TG の果たす生理機能は、血液凝固や皮膚の角質化、細胞内シグナル伝達制御など多岐に渡り、哺乳類から昆虫に至るまで、生存に必須のものであることが知られている。私たちは、キイロショウジョウバエの遺伝子操作技術を用いて TG の生理機能解析を推進してきた。この酵素のノックダウンを行うと、翅の水泡形成や腹部のメラニン形成不全といった外骨格の異常が認められ、さらには野生型と比べて短命になることが明らかとなった。TG のノックダウン系統における短命の原因を突き止めるため、各種免疫関連因子の産生量をリアルタイム PCR 法により定量した。その結果、腸管において、自然免疫経路である IMD 経路の抗菌ペプチドが、コントロール系統と比較して著しく亢進していることが判明した。このような抗菌ペプチドの産生上昇は無菌飼育すると認められず、加えて生存率の低下も起こらなかった。以上のことから、過剰な抗菌ペプチドが腸内細菌叢に影響をおよぼしたと推定し、16S rDNA に基づいた細菌叢の解析を行った。その結果、ノックダウン系統は、コントロール系統とは異なる腸内細菌叢を有することが明らかとなった。TG の基質タンパク質を探索する目的で、タンパク質架橋反応を阻害する合成アミン基質を用いた解析を行ったところ、TG は IMD 経路の NF-kB 様転写因子である Relish を標的とすることが明らかとなった。TG は Relish を高度に架橋化し、不活性化させることにより、腸内細菌から受け取った過剰な情報を抑制すると結論した。タンパク質架橋反応による腸管シグナル伝達経路の抑制は、まったく新しい分子制御機構であり、新規分野の開拓が期待される。

日本比較免疫学会名誉会長
故古田恵美子先生
メモリアルセッション

７月９日（水）11：20〜11：50

司会：笠原正典　（北海道大学医学研究科）

吉田彪（臨床パストラル教育研究センター）

佐々木年則（国立感染症研究所）

和合治久（埼玉医科大）

一　般　演　題

	時間	セッション	演題番号	座　長
7月9日(水)	9:50〜11：20	比較免疫学会一般講演１	1〜6	高橋計介（東北大院・農） 末武弘章（福井県立大学）
	13：00〜14：30	比較免疫学会一般講演２	7〜12	大石和恵（(独）海洋研究開発機構） 柴田俊生（九大院・理）
	14：45〜16：00	比較免疫学会一般講演３ 生体防御学会一般講演１	13〜17	松﨑吾朗（琉球大院・医） 杣本智軌（九州大院・農）
7月10日(木)	8：45〜10：15	生体防御学会一般講演２	18〜23	澤　智裕（東北大院・医） 押海裕之（北大院・医）
	13：45〜15：30	生体防御学会一般講演３	24〜30	中根明夫（弘前大院・医） 土屋晃介（京大院・医）
7月11日(金)	8：45〜10：30	生体防御学会一般講演４	31〜37	金城雄樹（国立感染症研究所真菌部） 武田裕司（山形大医）
	14：10〜15：10	生体防御学会一般講演５	38〜41	藤井重元（東北大院・医）

一般-1

ショウジョウバエにおける脳・神経系による腸管恒常性維持機構

見目　裕之[1]、石川　裕規[2]、大手　学[1]、倉田　祥一朗[1]
[1]東北大院・生命機能解析学、[2]沖縄科学技術大学院大学・免疫シグナル

Neuronal control of gut homeostasis in *Drosophila* adults

Hiroyuki Kenmoku[1], Hiroki Ishikawa[2], Manabu Ote[1] and Shoichiro Kurata[1]
[1]Grad. School Pharm. Sci., Tohoku Univ. [2]Immune Signal. OIST.

【目的】

腸管は食物の消化吸収などの生命維持に必須の役割や、無数の腸内細菌や経口摂取した病原体などに対する物理的・化学的な障壁といった多彩な生理機能を持つ。また腸管には、高度に発達した神経系、免疫系、内分泌系が存在しており、これらがクロストークによって腸管の様々な機能が維持されていることが予想される。実際に脳・神経系が腸管の恒常性に与える影響は、緊張してお腹が痛くなったり、ストレスによって下痢や便秘を繰り返したりなどといった「病は気から」の経験的・臨床的な事実に始まり、そのメカニズムの解明が進んでいる。しかし腸管恒常性維持における複雑な神経系の果たす役割は未だ不明な点が多く、その解明が望まれている。本研究では、単純な腸管神経系と優れた遺伝学的手法を持つショウジョウバエをモデル生物とし、神経系による腸管恒常性維持機構の実体に迫ることを目的とした。

【方法・結果】

ショウジョウバエ成虫において遺伝学的手法を用いた神経細胞のスクリーニングを行い、内向き整流性のカリウムチャネル Kir2.1 を発現させて特定の神経細胞群の活性化を阻害することで、グラム陰性細菌の経口感染に対する感受性が亢進する神経細胞群を同定した。同定した細胞群にGFPを発現させてシグナルを観察したところ、それらは主に脳と腸管上部を接続している神経細胞で観察された。Kir2.1 によってこの神経細胞の機能を特異的に阻害した個体では、菌感染非依存的に腸管上皮細胞の物理的障壁の機能を持つ囲食膜の透過性が亢進していることがわかった。またこの時GFP を発現する細菌を経口感染させると、GFP シグナルが腸管だけでなく全身から観察される個体が多く認められた。それに加え、食道と中腸の境界部位に位置する前胃の形態に異常が生じ，腸管の構造が太く短くなる個体が多く認められた。

【考察】

今回の結果はショウジョウバエ成虫において神経系による腸管恒常性維持機構が存在することを示唆するものである。具体的には特定の神経細胞群が腸管の形態や囲食膜の機能を保つことで腸管のバリア機能を維持し、細菌の経口感染に対する個体の生存に重要な役割を果たす可能性が示された。

一般-2

ショウジョウバエ個体を用いた

オートファジー不全による炎症性腸疾患発症メカニズムの解析

長井　広樹、矢野　環、倉田　祥一朗
東北大院・生命機能解析学

Mechanistic analyses of inflammatory bowel disease caused by autophagy defect using *Drosophila*

Hiroki Nagai, Tamaki Yano, and Shoichiro Kurata
Grad. School Pharm. Sci., Tohoku Univ.

【目的】
細胞内分解系であるオートファジーの不全は炎症性腸疾患であるクローン病の遺伝的リスクとなる。オートファジー関連因子機能不全マウスを用いた研究から、オートファジー不全が腸管パネート細胞やマクロファージからの分泌異常をおこし、腸管炎症が亢進することが示されているが、その機構は不明である。そこで我々は、ゲノム網羅的な解析が可能なショウジョウバエ個体を用いた解析により、オートファジー不全による腸管恒常性破綻の分子メカニズムの解明を目的とした。

【方法・結果】
オートファジー不全によるクローン病発症機構をショウジョウバエで解明するため、ショウジョウバエ腸管上皮細胞特異的なオートファジー関連因子のノックダウンを行ったところ、クローン病モデルマウス同様、腸管細胞損傷により個体死がおきることを見いだし、ショウジョウバエ個体によるクローン病モデルを確立した。この個体死を指標としてオートファジー不全による腸管恒常性破綻に関与する因子をゲノム網羅的に探索した結果、上皮細胞極性に関与する因子を複数得た。そこで、腸管上皮細胞特異的オートファジー不全腸管における細胞極性を極性因子の免疫染色により検討したところ、オートファジー不全が後部腸管上皮細胞の極性に異常を生じさせることを明らかにした。また、腸管の恒常性維持に重要であることが知られている幹細胞分裂の頻度を解析し、上皮細胞特異的オートファジー不全による幹細胞分裂の異常亢進を見いだした。更に、腸管上皮細胞から分泌されるサイトカイン Upd3 発現抑制による幹細胞分裂の抑制が、腸管上皮細胞におけるオートファジー不全による細胞極性異常を回復させることを明らにした。

【考察】
腸管組織における上皮細胞は、腸管内の病原体や物質からの防御にきわめて重要である。オートファジー不全のおこす病態の原因解明をめざしたゲノム網羅的な解析を行うことにより、オートファジーが腸管上皮細胞の極性に重要であることを初めて見いだした。すでに分化して分裂能を持たない上皮細胞におけるオートファジー不全は、サイトカインの分泌異常を介して腸管幹細胞の分裂異常亢進をおこし、これが上皮細胞における極性に異常をもたらすことで腸管恒常性を破綻させる。オートファジーが組織の恒常性維持において細胞非自立的な機能を有するという知見はこれまでになく、今後オートファジー不全による腸管幹細胞分裂亢進メカニズムを更に解析することで、オートファジーの新たな生理的機能および炎症性腸疾患発症機構の解明が期待できる。

一般-3

NF-κB 経路の活性化を制御する新規因子コシャペロン CG8863/DnaJA3

籾内　義希、熊田　幸平、倉石　貴透、倉田　祥一朗
東北大院・生命機能解析学

Cochaperone CG8863/DnaJA3 regulating activation of NF-κB pathway in innate immunity

Yoshiki Momiuchi, Kouhei Kumada, Takayuki Kuraishi, and Shoichiro Kurata
Grad. School Pharm. Sci., Tohoku Univ.

【目的】

NF-κB は免疫機能や炎症反応において中心的な役割を担う転写因子である。その活性化を導くシグナル伝達経路についてこれまでに様々な解析がなされているが、詳細な制御機構に関しては未だに不明な点が多く残されている。そこ本研究では、ほ乳類の NF-κB 経路と高い相同性をもったモデル生物であるショウジョウバエを用いた機能獲得型スクリーニングを行い、NF-κB 経路の新規制御因子の同定およびその機能解析をすることを目的とした。

【方法・結果】

まず、約一万系統の変異体ライブラリーを用いて、ショウジョウバエ NF-κB 経路によって発現が制御される抗菌ペプチドの発現量を指標とした機能獲得型スクリーニングを行い、CG8863 を同定した。CG8863 のノックダウン個体を用いた細菌感染実験を行ったところ、CG8863 のノックダウンによってグラム陰性菌感染後の抗菌ペプチド Diptericin の発現が抑制されることが明らかとなった。CG8863 のノックダウンと NF-κB 経路因子の過剰発現によるエピスタシス解析を行ったところ、CG8863 がショウジョウバエ NF-κB である Relish の解裂あるいは核移行に関与する可能性が示唆された。

今回、新たに明らかとなった NF-κB 経路の制御系が、種を越えて保存されているかどうか調べるために、ヒト HEK293 細胞において CG8863 のホモログの一つである DnaJA3 のノックダウンを行った。そして、NF-κB 経路の受容体である TLR5 を、そのリガンドであるフラジェリンで刺激し、その際の NF-κB 活性化をレポーター遺伝子によって評価した。その結果、フラジェリン刺激による NF-κB レポーター遺伝子の活性が顕著に抑制されていることが明らかとなった。HEK293 細胞をフラジェリンで刺激した際の NF-κB 経路因子のリン酸化状態をウエスタンブロットで解析したところ、DnaJA3 のノックダウンによりフラジェリン刺激後の IκBαのリン酸化が減弱することが明らかとなった。

【考察】

本研究では、ショウジョウバエを用いた機能獲得型スクリーニングにより、ほ乳類まで保存された NF-κB 経路の新規制御因子として CG8863/DnaJA3 を同定した。また、CG8863 のほ乳類ホモログである DnaJA3 の解析から、その制御は NF-κB 経路の活性化に必要である IκBαのリン酸化の調節を介して行われている可能性が示唆された。

一般-4

カビ感染に対するショウジョウバエ免疫応答の比較発現解析

瀬戸　陽介[1]、田村　浩一郎[1,2]
[1]首都大学東京・理工・生命科学、[2]生命情報研究センター

Comparative transcriptome study for antifungal immune response in two *Drosophila* species

Yosuke Seto, Koichiro Tamura
[1] Department of Biological Sciences, Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Metropolitan University
[2] Research Center for Genomics and Bioinformatics

【目的】

ショウジョウバエの免疫において、抗菌ペプチドは非常に重要な役割を担っており、これまでに7種類の抗菌ペプチドがキイロショウジョウバエで同定されている。その中でも、キイロショウジョウバエの抗カビ免疫において重要な役割を担っている抗菌ペプチドである Drosomycin は、キイロショウジョウバエ種群に属する種以外には存在しない。しかし、この中の一種であるクロショウジョウバエはキイロショウジョウバエよりもアオカビの感染に対する耐性が高い。そこで本研究では、クロショウジョウバエがキイロショウジョウバエよりも高いアオカビ耐性を示す要因を探るため、アオカビの感染に応答する遺伝子を発現解析によって調べ、種間で比較した。

【方法・結果】

クロショウジョウバエとキイロショウジョウバエの 3 令幼虫を用い、アオカビの生えた培地で飼育したもの（感染群）と通常の培地で飼育したもの（コントロール群）それぞれから唾液腺と脂肪体を取り出し、そこから mRNA を抽出・精製し、アオカビの経口感染によって発現が変動する遺伝子をトランスクリプトーム解析によって網羅的に決定した。その結果、キイロショウジョウバエでは抗カビ抗菌ペプチドの Drosomycin と Metchnikowin の 2 種類が最も強く発現していたのに対し、クロショウジョウバエでは Diptericin と Defensin、Cecropin の 3 つの抗菌ペプチドが強く発現していた。これら抗菌ペプチドのうち、クロショウジョウバエの Defensin のアミノ酸配列はキイロショウジョウバエの Defensin よりも、むしろ抗カビ活性を持つ他の双翅目昆虫の Defensin に近いことが分子系統解析から明らかとなり、機能的に分化している可能性が示唆された。また、キイロショウジョウバエで微生物の感染によって発現が誘導される免疫誘導性分子（immune-induced molecules）遺伝子群は、クロショウジョウバエではその発現が抑制される傾向を示し、アオカビに対する免疫応答が 2 種間で大きく異なっていることが明らかとなった。

【考察】

アオカビの経口感染に対する免疫応答はクロショウジョウバエとキイロショウジョウバエで大きく異なっており、ショウジョウバエの進化の過程で、遺伝子の発現パターンの変化と機能的分化の両方が生じていることが示唆された。このような免疫遺伝子の応答の違いがクロショウジョウバエで高いアオカビ耐性をもたらす一つの要因となっていることが考えられる。

一般-5

シンカイヒバリガイの鰓細胞による貪食作用とその動態

多米　晃裕[1,2]、吉田　尊雄[3]、大石　和恵[3]、丸山　正[3]

[1]（株）マリン・ワーク・ジャパン, [2]北里大学大学院, [3]海洋研究開発機構

Morphological dynamic analysis of phagocytic gill cells in a deep-sea symbiotic mussel, *Bathymodiolus japonicus.*

Akihiro Tame[1,2], Takao Yoshida[3], Ohishi Kazue[3], Tadashi Maruyama[3]

[1]Marine Works Japan LTD, [2]Kitasato University, [3]JAMSTEC

【目的】

深海産共生二枚貝のシンカイヒバリガイは、メタン酸化細菌を鰓細胞内に共生させている。この仲間は卵に共生菌を有しておらず、初期発生に共生菌を獲得するといわれている。しかし、成熟個体でも共生菌を鰓細胞内に取り込むか、など共生菌の獲得様式はあまり良く分かっていない。私たちは、獲得様式の一つとして、成熟個体が共生組織である鰓から環境中の外来微生物を得る機構を持つと考え、FITC蛍光標識大腸菌（以下、蛍光大腸菌）を用いて、獲得の最初のステップとなる鰓細胞の貪食能について調べてきた。これまでの結果、鰓細胞が蛍光大腸菌を直接細胞内に取り込むことを明らかにし、さらに食胞内に取り込まれた蛍光大腸菌とリソソームが融合することを確認した。しかし、鰓細胞がどのような過程で外来微生物の取り込みを行っているか未だ分かっておらず、認識に関わる挙動を理解する上でも、鰓細胞表面の動態を詳細に調べる必要がある。そのため、本研究では、蛍光大腸菌を用いて、外来微生物に対する鰓細胞の貪食の動態を、光学顕微鏡と電子顕微鏡を組み合わせた形態学的手法により解析した。

【材料と方法】

シンカイヒバリガイの飼育海水に、蛍光大腸菌を加えて最大24時間反応させた。反応後、鰓を切り出して4%パラフォルムアルデヒド海水溶液で固定処理を行った。その後、鰓のホールマウント標本を作製し、蛍光顕微鏡により加えた蛍光大腸菌と鰓細胞の位置関係を把握しながら観察した。蛍光顕微鏡での観察後、同一サンプルの同一視野を走査型電子顕微鏡により観察し、鰓細胞表面における蛍光大腸菌の局在と微細形態の変化について、蛍光大腸菌添加後の時間経過に沿って観察した。

【結果】

シンカイヒバリガイの鰓細胞の種類は、前面鰓細胞（Frontal cell）、後面鰓細胞（Abfrontal cell）、共生菌を有する菌細胞（Bacteriocyte）、共生菌を有しない介在細胞（Intercalary cell）の大きく4つに分けられるが、実験の結果、この4種類の細胞の中でも、繊毛と微絨毛を有する介在細胞に取り込みが最も多く見られた。走査型電子顕微鏡による微細形態観察では、蛍光大腸菌が介在細胞由来の、（1）繊毛に付着する、（2）微絨毛に付着してファイバー状構造に囲まれる、（3）突出した細胞膜用構造に覆われる、などの取り込みの動態に関わると考えられる像が捉えられた。

【結論】

一連の観察結果から、シンカイヒバリガイ鰓細胞の外来微生物に対する貪食作用には、繊毛への吸着、微絨毛への受け渡し、ファイバー状構造の形成、細胞膜の覆い込みによる取り込みといった過程が存在すると推測される。中でも、介在細胞の微絨毛上で観察された接着時のファイバー状構造は、取り込みを開始する際の重要な因子を含んでいる可能性が考えられる。今後、ファイバー状構造の詳細を特定すると共に、共生菌に対する反応や介在細胞以外の鰓上皮細胞における取り込み過程も調べ、鰓上皮細胞における外来微生物の細胞外および細胞内認識能について明らかにしていく必要がある。

一般-6

トラフグ TNFαは TNFR1 と TNFR2 に結合する

前田知己、末武弘章、小高智之、宮台俊明
福井県立大学・海洋生物資源学部

Fugu TNFα binds to TNFR1 and TNFR2.

Tomoki Maeda, Hiroaki Suetake, Tomoyuki Odaka, Toshiaki Miyadai
Faculty of Marine Bioscience, Fukui Prefectural University

【目的】

腫瘍壊死因子α（TNFα）は炎症を中心とした免疫応答に不可欠なサイトカインである。哺乳類とは異なり、魚類ではこの TNFαが複数個報告されており、塩基配列の相同性から大きく分けて、配列の長いタイプ I と短いタイプ II に分けられる。発現タイミングや発現様式の違いから機能的な分化が起っていると考えられている。一方、トラフグは、他の魚類と異なり、タイプ I に属する TNFαを一つしかもたない。では、トラフグの TNFα（fTNFα）は、どちらのタイプに似ているのか？それとも、両方の機能を持っているのだろうか？しかし、fTNFαに関しては、発現様式、受容体すらも特定されていない。そこで本研究では、リコンビナント発現系を用いて、fTNFαの機能解析を行い、使い分けの可能性について考察した。

【方法・結果】

C 末端に FLAG タグを付加した fTNFαの全長配列を哺乳類発現プラスミド pcDNA3.3 に挿入し、COS-7 細胞にトランスフェクションして fTNFα^{+} COS-7 細胞を得た。抗 FLAG 抗体を用いて、膜型はフローサイトメトリー（FCM）で、可溶型はウエスタンブロット法（WB 法）で発現を確認したところ、FCM および WB 法でシグナルを検出した。WB 法では、細胞ライセートと培養上清で異なるサイズのシグナルが検出された。続いて、TNF 受容体 1 と 2（TNFR1 および TNFR2）をクローニング後、発現を組織別および白血球の種類別に RT-PCR で調べた。TNF 受容体のクローニングの結果、シンテニーが保存された TNFR1 および TNFR2 を得た。哺乳類同様、TNFR1 は細胞外領域が短く、予測糖鎖付加サイトも少ないが、TNFR2 はその逆であった。TNF 受容体の発現を調べた結果、白血球を始め幅広い臓器で発現が見られた。白血球を分画して得られた細胞腫別の発現解析では、哺乳類同様 T 細胞、B 細胞および単球の全てに発現が見られた。受容体を特定するために、TNFR の細胞外領域に Fc タグを付加して昆虫用発現プラスミド pIB に挿入した。そのプラスミドを昆虫細胞 High Five にトランスフェクションし、培養上清中に分泌されたリコンビナントを protein G カラムを用いて精製した。0.1 μg/mL の精製したリコンビナントと上記で作製した fTNFα^{+} COS-7 細胞を反応させ、抗 Fc 抗体を用いて FCM で検出した。その結果、TNFR1 および TNFR2 の両者において結合を確認した。

【考察】

本研究により、fTNFαは哺乳類同様、膜上に発現後、プロテアーゼによる切断で分泌されると考えられる。また TNFR1 および TNFR2 の両者を用いてシグナル伝達を行う可能性が示された。現状では、受容体の発現等に大きな違いが観察されないことから、受容体の使い分けはなく、哺乳類と同じ免疫制御機構を備えるものと考えられる。それゆえ、哺乳類の TNFα研究のモデルとして、TNFαを一つしか持たないトラフグの有用性が高まった。

一般-7

ハエ腸管の囲食膜タンパク質の架橋体形成による感染防御の分子機構

槇　光輝[1]、柴田　俊生[2]、川畑　俊一郎[1,2]
([1]九大院・システム生命科学、[2]九大院・理・生物科学)

Transglutaminase inhibits bacterial invasion in the gut

by cross-linking a peritorophic matrix protein in *Drosophila*

Kouki Maki[1], Toshio Shibata[2], and Shun-ichiro Kawabata[1,2]
[1] Graduate School of Systems Life Sciences, [2] Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University.

【目的】トランスグルタミナーゼ (transglutaminase：TG) は、タンパク質のLys残基とGln残基の側鎖を架橋する酵素である。*TG*遺伝子は、哺乳類では 8 種類の類似体が存在しているが、ショウジョウバエにおいては1 種類のみである。この点において、ショウジョウバエはTG研究の優れたモデル生物であり、当研究室では、GAL4/UASシステムを用いたRNAiにより、TGの機能解析を進めてきた。ショウジョウバエのTGは、羽の形成や免疫調節に重要であることが分かっており[1-2]、今回新たに TG が、囲食膜 (peritorophic matrix : PM) 形成へ関与することが明らかとなった。囲食膜は、昆虫の腸管内腔を管のように覆う構造体で、キチンとキチン結合性タンパク質から構成され、哺乳類ではムチン層に相当する。囲食膜には、食物と同時に侵入してきた微生物が、直接、腸管上皮に接するのを防ぐ役割がある。しかし、囲食膜を介した感染防御の詳細な分子機構は不明なままであった。一方で、当研究室の先行研究により、カブトガニ外骨格に含まれるキチン結合性タンパク質の多くが TG の基質となることが判明している。ハエ囲食膜に含まれるキチン結合性タンパク質の中からTG基質を同定し、囲食膜におけるTGの機能解析を行った。

【方法】キチンビーズを用いて、腸管ライセートに含まれるキチン結合性のタンパク質を精製した。その後、質量分析法を用いてキチン結合性タンパク質を同定した。同定されたタンパク質が TG の基質かどうか調べるために、組換え体タンパク質を大腸菌で発現し、TGの合成基質を用いて確認した。そして、生体内における架橋体形成の重要性をみるため、*TG*を RNAi したハエに病原性細菌を感染させ、生存率や腸管上皮細胞の細胞死を調べた。

【結果】本研究では、囲食膜の構成タンパク質のひとつであるドロソクリスタリン (drosocrystallin : Dcy) が TG の基質となり、高分子の架橋体を形成することを明らかにした。*TG*を RNAi したハエにおいて、囲食膜透過性が上昇しており、病原性細菌に対する抵抗性が低下していることが分かった。また、TGによる架橋体形成が、病原性細菌由来のプロテアーゼによるタンパク質の分解を防いでいることが判明した。

【参考文献】[1] Shibata T., Ariki S., Shinzawa N., *et al.*, *PLoS ONE*, 5, e13477 (2010).
[2] Shibata T., Sekihara S., Fujikawa T., *et al.*, *Sci. Signal.*, 285, ra61 (2013).

一般-8

トラフグ好塩基球は寄生虫感染部位でマスト細胞へと分化する

小髙智之、末武弘章、前田知己、宮台俊明
福井県立大学・海洋生物資源学部

Fugu skin metachromatic cells.

Tomoyuki Odaka, Hiroaki Suetake, Tomoki Maeda, Toshiaki Miyadai
Faculty of Marine Bioscience, Fukui Prefectural University

【目的】

好塩基球及びマスト細胞は、寄生虫免疫において重要な顆粒球であることが知られている。しかしながら、魚類においてはこれら顆粒球が哺乳類のように寄生虫免疫に関与しているかどうかは明らかにされていない。我々はこれまでの研究から、トラフグ血中の好塩基球が寄生虫に関連した因子に対して応答することを明らかにしている。さらに、トラフグ鰓腔壁における単生類 *Heterobothrium okamotoi* の寄生部位に、好塩基球やマスト細胞の特徴であるメタクロマジー（異染色性）を示す細胞のクラスターが形成されることを観察している。しかし、皮膚において見られたこれらの細胞が好塩基球であるのか、マスト細胞であるのかは不明である。そこで、我々は魚類の好塩基球やマスト細胞の機能を理解することを目的として、血中の好塩基球と皮膚のメタクロマジー陽性細胞の関係について調べた。

【方法・結果】

メタクロマジー陽性細胞が好塩基球であるのか、マスト細胞であるのかを明らかにするため、マスト細胞マーカーである c-kit に対する抗体を用いて、*H. okamotoi* 感染部位の免疫染色を行った。免疫染色の結果、皮膚のメタクロマジー陽性細胞は c-kit 陽性であった。つまり、*H. okamotoi* 寄生部位に見られたクラスターはマスト細胞によって形成されているということが示唆された。次に、血中の好塩基球が寄生虫感染部位に遊走している可能性を調べるために、寄生虫感染を模してトラフグ皮膚をパパイン存在下で刺激した後、この皮膚培養上清（SCM）を用いて好塩基球の遊走実験を行った。遊走試験の結果、好塩基球は SCM に対して遊走能を示したことから、好塩基球は寄生虫感染時に皮膚へと遊走し得ることが示された。血中の好塩基球と皮膚のマスト細胞の関係を明らかにするため、SCM で好塩基球を刺激した後、RT-PCR により c-kit の遺伝子発現を解析した。また、マスト細胞は細胞増殖能を持つことから、CFSE ラベルした好塩基球を SCM 中で培養し、増殖能を測定した。その結果、SCM で刺激した好塩基球は c-kit の発現や細胞増殖といった、マスト細胞に見られるような特徴を獲得していた。また、この細胞を顕微鏡で観察したところ、皮膚のメタクロマジー陽性細胞と同様に、クラスターを形成していることが明らかとなった。

【考察】

本研究により、*H. okamotoi* 寄生部位に見られたクラスターはマスト細胞により形成されていることが明らかとなった。さらにこのクラスターは、血中の好塩基球が寄生虫感染時に皮膚へと遊走した後、そこで産生される因子によってマスト細胞へと分化し、増殖することで形成されているということが示唆された。

一般-9

コイ補体 Properdin アイソフォームの多様性と機能解析

吉岡 和紀、鵜木 陽子、杣本 智軌、中尾 実樹
九州大学大学院 農学研究院

Diversity and functional analysis of carp properdin isoforms.

Kazuki Yoshioka, Yoko Kato-Unoki, Tomonori Somamoto, Miki Nakao
Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University

【目的】

Properdin は補体活性化の第二経路において正の調節因子として重要な役割を果たす。また近年の研究で、Properdin には直接異物に結合して補体活性化を開始させる機能が見つかり、新しい補体活性化経路「Properdin Direct Pathway」として注目されている。魚類は哺乳類と相同な補体成分を持つが、その多くは多重化しており、それぞれの生理活性の違いや存在意義が注目されている。本研究ではコイで同定された Properdin アイソフォーム CaPf1, CaPf2 の遺伝子、タンパク質レベルでの多様性と機能を解析した。まず２つのアイソフォームのゲノム DNA 中の遺伝子のコピー数を同定し、さらにそれぞれの遺伝子の発現場所を特定した。また両アイソフォームのタンパク質レベルでの機能を比較するためのツールとして、各アイソフォームに特異的な抗体の作製を試みた。

【方法・結果】

（１）CaPf1,CaPf2 遺伝子のコピー数：コイの赤血球から抽出したゲノム DNA を、制限酵素（EcoR Ⅰ, HindⅢ, Pst Ⅰ）で消化した。これらをアガロースゲル電気泳動後、ナイロン膜に転写し、CaPf1 および CaPf2 の TSR4~6 ドメインをコードする DIG 標識プローブをハイブリダイズさせて、ゲノム DNA 中の CaPf1, CaPf2 遺伝子のコピー数を調べた。その結果 CaPf1, CaPf2 はそれぞれシングルコピーの遺伝子でコードされていることが示唆された。（２）プロパージン mRNA の臓器分布：コイから摘出した 14 種の臓器から RNA を抽出し、その逆転写産物を鋳型として CaPf1, CaPf2 の発現量を Real-time PCR で測定した。その結果、CaPf1 は脾臓で、CaPf2 は体腎、頭腎で高い発現量を示した。（３）組み換えプロパージンの発現と抗体作製：CaPf1 および CaPf2 の TSR4~6 ドメインの組み換えタンパク質を pCold I ベクターと Origami B 株を用いて発現させ、各アイソフォームに対するウサギ抗体の作製を試みた。CaPf1, CaPf2 ともに、安定な可溶性タンパク質として発現させることはできなかったので、SDS-PAGE で分離された組み換えタンパク質のバンドを免疫原として抗体を作製した。その抗体を用いた Western Blotting により、コイ血清から CaPf1 (49kDa) と CaPf2 (48kDa) が検出された。

【考察】

魚類の脾臓では赤血球やリンパ球が、腎臓では好中球やマクロファージなど様々な免疫細胞が多く存在することと、real-time PCR による解析結果と考え合わせると、両アイソフォームはそれぞれ異なる細胞によって産生されている可能性が考えられる。今後は作製した各アイソフォームに特異的な抗体を用いて、C3b や各種病原微生物への結合能に差があるのかを評価する予定である。

一般-10

ネコザメ皮膚C型レクチンは極めて幅広い糖特異性を示し、自身の血液を凝固させる

筒井　繁行[1]、土津田　雄馬[1]、小野　綾香[1]、舘野　浩章[2]、平林　淳[2]、中村　修[1]
[1]北里大学・海洋生命科学部、[2]産業技術総合研究所・幹細胞工学研究センター

A C-type lectin from bullhead shark skin shows broad sugar-specificity and blood coagulation activity

Shigeyuki Tsutsui[1], Yuma Dotsuta[1], Ayaka Ono[1], Hiroaki Tateno[2], Jun Hirabayashi[2] and Osamu Nakamura[1]
[1]School of Marine Biosciences, Kitasato University,
[2]Research Center for Stem Cell Engineering, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

【目的】陸上に比べ、魚類の生息する水中には病原微生物が数多く存在する。そのため、魚類の皮膚は感染に対する最初の防衛ラインとして極めて重要である。多くの魚種ではその皮膚を粘液で覆うことで保護しているが、その一方で、サメ類やカワハギなど、極端に粘液の乏しい魚種も存在する。彼らは皮膚にどのような防御機構を備えているのだろうか？

我々はネコザメの皮膚抽出液に、極めて強いレクチン活性を見出した。本発表では、ネコザメ皮膚レクチンのユニークな性状について報告するとともに、その構造および機能についても紹介する。

【方法・結果】ネコザメ皮膚抽出液のウサギ赤血球凝集活性は、用いた 13 種類のすべての糖で完全に阻害された。次に 7 種類の糖をリガンドとしたアフィニティークロマトグラフィーを行ったところ、得られたレクチンの分子量はいずれも 14 kDa であり、且つこれらの N 末端アミノ酸配列はほぼ一致していた。このことから、ネコザメの皮膚には、様々な糖と結合するユニークなレクチンが存在することが示唆された。実際、マンノースアフィニティークロマトグラフィーで精製されたレクチンの赤血球凝集活性は、13 種類の糖で阻害された。さらに糖鎖アレイ解析により、本レクチンが GalNAc およびマンノース含有糖鎖に強い親和性を持つことが示された。また、マンノースカラムに結合したレクチンはラクトースで溶出され、逆にラクトースカラム結合レクチンはマンノースで溶出された。このことは、本レクチンが単一の糖鎖結合部位で、異なる複数の糖と結合することを示唆している。クローニングの結果、本レクチンが C 型レクチンであることが明らかとなった。幅広い糖結合能にも関わらず、本レクチンのアミノ酸配列にはマンノース結合型モチーフである EPN 配列しか存在していなかった。系統解析の結果、本レクチンは硬骨魚類の C 型レクチンとはクラスターを形成せず、進化的にヘビ毒 C 型レクチンに近いことが示された。RT-PCR および免疫染色により、本レクチンが皮膚でのみ発現し、表皮の大型未同定細胞に局在することを示した。このレクチンは魚病細菌 *Edwardsiella tarda* を凝集し、さらにネコザメの血液を 15 分以内に凝固させた。

【考察】本レクチンは血管の存在しない表皮にのみ分布することから、通常は血液と遭遇することはない。しかしネコザメが皮膚に傷を負い出血した場合、破壊された大型細胞からレクチンが海水へと放出され細菌の侵入を防ぐとともに、血液に作用して凝固を促し、止血を促進する役割を果たしているものと考えられる。

一般-11

福島の放射能汚染地域に生息するコイの免疫系

鈴木　譲

Immune system of carp in the Fukushima radio-contaminated area.

Yuzuru Suzuki

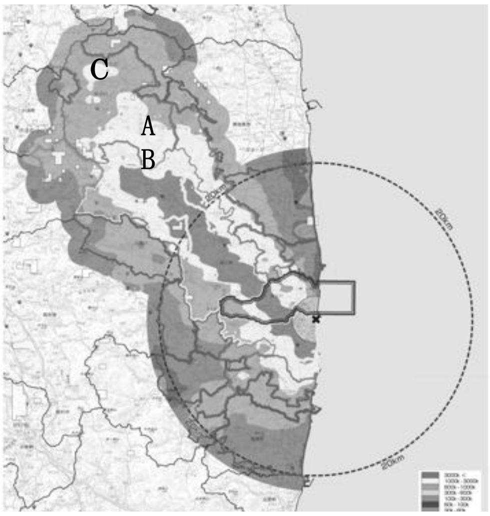
【目的】

原子力発電所の事故による放射能汚染は，野生生物にもさまざまな影響を及ぼしていることがチェルノブイリ等の調査で明らかになっている．不幸にも福島事故に遭遇してしまった日本の研究者には放射線の影響を多角的に検証して行く責任があるのではないか．長年魚類免疫学に携わってきた者として，ため池に生息するコイを材料に魚類免疫系に対する放射線影響の評価を試みた．

【方法・結果】

2013年8月，福島県飯舘村の3か所（図のA,B,C)，およびコントロールとして栃木県芳賀町の，給餌が行われていないため池でそれぞれ4-5個体のコイを採集し，白血球組成，免疫器官の組織像と，筋肉中放射性セシウムレベルとの関係を調べた．

池の水からは放射性セシウムは検出されなかったが，底泥からはA，B，Cの各池で7900，2138，743bq/kgのセシウム（134と137の合計）が検出され，コイ筋肉もそれぞれ平均5033，5986，1323Bq/kgと高いレベルを示した．コントロールの芳賀町では13Bq/kgであった．



図．セシウム沈着量と調査地点

白血球数については，好中球，単球，リンパ球で飯舘村3カ所での値が芳賀町より有意に低かった．条件の異なる芳賀町のデータを除いてセシウム濃度と白血球数との関係を見たところ好塩基球でのみ有意な負の相関が認められた．組織学的観察の結果，飯舘村のコイでは，脾臓，腎臓，頭腎において，メラノマクロファージセンター（MMC）の顕著な増加が多くの個体で認められた．また，肝臓，膵臓においてもMMCに類似したマクロファージの集塊が顕著であった．さらに飯舘村の各池では脾臓に黒色の不定形物質の沈着を示す個体や，肝細胞の委縮を示す個体が認められた．飯舘村のコイには，すべての個体でこうした何らかの変異が認められたが，個体ごとの変異の種類数や変異の程度とセシウム濃度との間に特定の関係は認められなかった．

【考察】

今回の調査はコントロールが1か所しか設定できず（他2か所で採集に失敗)，個体数も少ないため，軽々に結論づけるべきではないが，飯舘村のコイは放射性セシウムを多量に蓄積することで不健康状態におちいっている可能性が高い．今後，比較免疫学の立場から幅広い動物種でこうした調査が進むことを期待したい．

一般-12

マガキ血球貪食胞の酸性化に関する新知見

高橋計介[1]、阿部史隆[1]、福田陽一[1]、伊藤直樹[1]、尾定　誠[1]

Findings obtained from our studies on phagosomal acidification in oyster hemocytes

Keisuke G. Takahashi[1], Fumitaka Abe[1], Yoichi Fukuda[1], Naoki Itoh[1], and Makoto Osada[1]

[1]Grad. School Agr. Sci., Tohoku Univ.

【目的】

二枚貝にとって最も重要な生体防御反応は、血球による異物の貪食である。異物を取り込んで形成された貪食胞が殺菌・分解能力を獲得する過程は貪食胞の成熟と呼ばれ、最初に貪食胞内の酸性化が起こるが、マクロファージでは V-H^+-ATPase の活性化によるプロトンポンプが関与する。二枚貝の血球においても貪食胞内の酸性化は確認されているが、詳細なしくみは不明である。本研究では、海産二枚貝のマガキ *Crassostrea gigas* を対象として、血球における貪食胞内の酸性化のしくみを明らかにすることを目的とした。

【方法】

<u>酸性化の観察</u>：pH 感受性の蛍光色素 pHrodo を標識した出芽酵母（pHrodo イースト）を調製した。pHrodo イーストとマガキ血球とを反応して、貪食させた後、貪食胞内における蛍光強度の変化を顕微鏡下で観察した。<u>酸性化率の算出</u>：FITC イーストも調製して、これと pHrodo イーストとを同一個体から採取した血球に貪食させ、蛍光細胞陽性率(FR)、蛍光陽性細胞 1 個あたりの蛍光イーストの数(FI)をそれぞれ求め、貪食胞の酸性化率を算出した。<u>貪食胞の分離と V-H^+-ATPase 活性の測定</u>：磁気ビーズの BioMag を細胞表面に固相化した磁気イーストを調製して、これを血球に貪食させた。血球を集めて破砕した後、磁気分離法により貪食胞を分離した。貪食胞画分と非貪食胞画分について、ATPase 活性を測定した。また、V-H^+-ATPase 特異阻害剤を添加した時の活性低下分を V-H^+-ATPase 活性とした。

【結果および考察】

マガキ血球に貪食された pHrodo イーストは強い赤色蛍光を発し、貪食胞内の酸性化が認められた。貪食胞画分と非貪食胞画分の ATPase 活性を測定した結果、両画分で活性はみられたものの、特異阻害剤の効果は貪食胞画分にのみ認められたことから、マガキ血球においても貪食胞の酸性化に V-H^+-ATPase が関与することが明らかとなった。FITC および pHrodo イーストの貪食による FI は、FITC が 4.2、pHrodo が 3.2 であり、貪食胞の 76.2%が酸性化したと考えられた。また、FR について両者の間に有意差は認められなかったことから、貪食を行う血球では基本的に貪食胞の酸性化が起こるが、1 つの細胞が複数の貪食胞を形成した場合には酸性化されない貪食胞が出現することが示唆された。

一般-13

モービリウイルス受容体のSLAMの結合面における3次元モデルによるウイルス特異性や感受性の解析

大石　和恵[1]、鈴木　倫太郎[2]、丸山　正[1]
[1]（独）海洋研究開発機構、[2]（独）農業生物資源研究所・生体分子研究ユニット

Specificity and sensitivity for morbillivirus predicted by structure modeling of SLAM

Kazue Ohishi[1], Rintaro Suzuki[2], and Tadashi Maruyama[1]
[1]Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, [2]National Institute of Agrobiological Sciences

【目的】

モービリウイルスは哺乳類に伝播性の高い重篤な感染症を引き起こすRNAウイルスで、これまでに陸棲哺乳類から4種、海棲哺乳類から2種が同定されている。Signaling Lymphocyte Activating Molecule (SLAM)はモービリウイルスの細胞への侵入の際の受容体としてはたらく分子で、ウイルスの特徴である高い宿主特異性に関与すると考えられる。私たちはこれまで、異なる分類群の海棲哺乳類のSLAMの全遺伝子配列を決定後、3次元構造モデルを構築し、ウイルスの特異性について考察してきた。近年、イヌジステンパーウイルス(CDV)の大型ネコ科動物への感染など、これまで考えられていた以上の動物に宿主域を広げている感染事例が相次いで報告されている。最近発表された麻疹ウイルスとサルSLAM複合体の結晶構造を基に、種々の哺乳類のSLAMの3次元モデルを再構築し、ウイルス特異性あるいは鯨種間や食肉目イヌ科・ネコ科間の感受性の差について議論する。

【方法・結果】

ヒゲクジラ科を含む26種の鯨類、食肉目イヌ科2種、ネコ科6種、の組織あるいは血液サンプルからDNAを抽出した。特異的PCRによりSLAM第2エクソン領域を増幅し、塩基配列を決定した。麻疹ウイルスのヘマグルチニンとサルSLAMの細胞外領域の複合体の結晶構造(Hashiguchi et al., 2011)を基に、MODELLERを用いて3次元モデルを作成した。3次元モデルにおいてウイルスに結合する可能性のあるアミノ酸のうち、特に電荷の異なるアミノ酸がウイルス特異性や感受性に関与すると考えられた。鯨種間を比較すると、大量死がたびたび報告されているマイルカ科の結合面では他の鯨種に比べアミノ酸置換が多く見られ、そのうちの3個 (G68, H90, H130)は電荷の変化を伴うものであった。また、食肉目のイヌとネコ科の動物の間では9個が異なり、このうち3または4個に電荷の違いがあった。大量死の報告のある大型ネコ科と報告のない小型ネコ科間では、唯一76番目に違いが見られ、電荷の違いを伴った。

【考察】

SLAM の結合面上にあるアミノ酸の違いが鯨類のウイルス感受性に関与する可能性が考えられた。イヌ科とネコ科の結合面上のアミノ酸はかなり異なり、一般にイヌとネコの間でウイルス伝播が見られない事実と一致する。ライオン由来のウイルス株はイヌ弱毒生ワクチン株と共通する特徴的なH549のアミノ酸を有しており、ウイルスの増殖性や感受性に絡む可能性がある。

一般-14

Evolution of the interleukin 2, 15 and 15-like family

Takuya Yamaguchi[1], and Johannes M. Dijkstra*[2]

[1]Friedrich Loeffler Institutes, Insel Riems, Germany, [2]A Fujita Health University, Toyoake, Aichi-ken

*speaker

【目的】

Interleukins 2 and 15 (IL-2 and IL-15) induce pronounced proliferation of several kinds of lymphocytes. For this reason they are used and/or investigated for therapeutic and vaccination purposes in human and veterinarian medicine. Whereas IL-2 has a predominant stimulatory effect on regulatory T cells, IL-15 is best known for its stimulatory effect on NK cells and CD8+ T cells. In fish a gene for an unknown family member, interleukin 15-like, was reported, for which the function is not known yet.

【方法・結果】

We investigated the evolution of the interleukin 2/15/15-like family and found that throughout many vertebrates these genes are inherited in a 1:1:1 fashion, staying at their individual genomic loci. This despite the fact that their sequence identity is very low, except regarding a set of key/marker amino acid residues. Our finding of interleukin 15-like in several lineages of mammals showed that the evolution of the IL-2 vs IL-15 functional divide as known in mice and humans took place in the presence of a third family member, IL-15L. From sequence motifs we predicted that mammalian IL-15L would bind receptor chain IL-15Ra, as known for IL-15, and we could show that indeed. Our data suggest that bovine IL-15L depends on IL-15Ra for stability and/or expression into the extracellular space, even more so than known for IL-15. Also in agreement with prediction, we could show that rainbow trout IL-2, IL-15 and IL-15L all bind to IL-15Ra of that species. Fish do not have IL-2Ra, a receptor chain related to IL-15Ra which probably only evolved in tetrapod species. Tetrapod IL-2Ra co-evolved with tetrapod IL-2 to create the unique IL-2 to IL-2Ra binding mode known in mammals. That the binding mode as known for mammalian IL-15 to IL-15Ra represents the ancient binding mode of this family is underlined by the fact that we found that trout IL-2, IL-15 and IL-15L all can bind to bovine IL-15Ra (but not to bovine IL-2Ra).

【考察】

The finding of IL-15L is interesting from a number of viewpoints. It is important for understanding how in tetrapod evolution the IL-2/IL-2Ra system specialized. For studies on vaccination and permanent cell culture purposes in fish, we have to keep an open eye on the possibility that the IL-2/15/15L family members in fish may have tasks different from their mammalian counterparts.

一般-15

NKT 細胞の活性化を介する肺炎球菌ワクチンの感染防御効果解析

○水口　裕紀[1,2]，井澤　由衣奈[1,3]，北野　尚樹[1]，上野　圭吾[1]，浦井　誠[1]，金子　幸弘[1,5]，
朴　貞玉[4]，明田　幸宏[4]，川上　和義[6]，竹山　春子[3]，川原　一芳[2]，大石　和徳[7]，金城　雄樹[1]
[1]感染研・真菌，[2]関東学院大・院工・細菌生化，[3]早稲田大・先進理工・生命医科，
[4]大阪大微研・臨床感染症，[5]大阪市大・院医・細菌，[6]東北大・院医・感染分子病態解析，
[7]感染研・感染症疫学センター

Protective effect of NKT cell mediated pneumococcal vaccine

Yuki Mizuguchi[1,2], Yuina Izawa[1,3], Naoki Kitano[1], Keigo Ueno[1], Makoto Urai[1], Yukihiro Kaneko[1,5],
Zhenyu Piao[4], Yukihiro Akeda[4], Kazuyoshi Kawakami[6], Haruko Takeyama[3], Kazuyoshi Kawahara[2],
Kazunori Oishi[1], Yuki Kinjo[1]
[1]Dept. Chemo. Myco., NIID., [2] Grad. Sch. Eng., Kanto Gakuin Univ., [3] Grad. Sch. Eng., Waseda Univ.,
[4]Microb. Dis. Inst., Osaka Univ., [5] Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Osaka City Univ.,
[6] Grad. Sch. Med., Tohoku Univ., [7] Dept. Infect. Dis. Surv. Cent, NIID.

【目的】肺炎球菌は90種類以上の血清型があり、現在の成人用ワクチンはそのうち主要な23種類、小児用ワクチンは主要な 13 種類の血清型の肺炎球菌多糖体を含んでいる。小児用ワクチンの導入後、侵襲性肺炎球菌感染症の発症率の低下を認めている。しかし、近年 13 価ワクチンに含まれない血清型の割合が増加していることから将来的に新しいワクチンが必要となる可能性がある。そこで、本研究ではワクチン抗原として、全ての血清型の肺炎球菌が有している蛋白抗原 Pneumococcal surface protein A (PspA)、アジュバントとして Natural Killer T (NKT) 細胞を活性化する糖脂質を併用した新規のワクチンを用いて、肺炎球菌感染防御効果の解析を行った。

【方法】C57BL/6J マウスに PspA 及び糖脂質併用ワクチンの経鼻接種を行った。肺炎球菌感染に対するワクチンの防御効果を評価するため、肺炎球菌感染後の生存率および感染 3 日後の肺内菌数を測定した。本併用ワクチンによる抗体産生誘導を調べるため、血中の抗 PspA IgG 抗体価及びリンパ節における抗 PspA IgG 抗体産生細胞の誘導を ELISA 法及び ELISPOT 法で解析した。また、併用ワクチン接種マウスから採取した血漿を用いて血清型の異なる数種類の菌株に対する抗体結合性を検証した。

【結果・考察】併用ワクチン接種群では、対照群と比較して肺炎球菌感染後の生存率が有意に高く、肺内菌数の有意な減少を認めた。また、併用ワクチン接種群では、血中の抗 PspA IgG 抗体価の有意な上昇を認め、頸部リンパ節にて抗 PspA IgG 抗体産生細胞を検出した。さらに、併用ワクチン接種群の血中に認められる抗 PspA IgG 抗体は、13 価ワクチンに含まれない血清型の肺炎球菌株にも結合した。肺炎球菌の PspA 蛋白抗原と糖脂質抗原併用接種により産生された抗 PspA IgG 抗体が、肺炎球菌に結合することで菌体排除を促進して延命効果をもたらすと考えられた。以上の結果より、糖脂質抗原による NKT 細胞の活性化を介する肺炎球菌蛋白抗原ワクチンは、
肺炎球菌感染防御に有用であることが示唆された。

一般-16

魚類のホルマリン不活化ワクチンによる液性免疫誘導と細胞性免疫抑制

山﨑　雅俊[1,2]、荒木　亨介[1]、中西　照幸[3]
中易　千早[4]、松﨑　吾朗[2]、山本　淳[1]
[1]鹿児島大・水産、[2]琉球大・熱生研、[3]日大・生物資源、[4]水研セ増養殖研

The induction of humoral immunity and suppression of cell-mediated immunity with folmarin-killed cell vaccine in fish

Masatoshi Yamasaki[1,2], Kyosuke Araki[1], Teruyuki Nakanishi[3], Chihaya Nakayasu[4]
Goro Matsuzaki[2], Atsushi Yamamoto[1]
[1]Faculty of Fisheries, Kagoshima Univ., [2]Tropical Biosphere Research Center, Ryukyu Univ.,
[3]College of Bioresource Sci. Nihon Univ., [4]National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency.

【目的】魚類のエドワジエラ症の原因細菌である *Edwardsiella tarda* は細胞内寄生細菌として知られている。本症に対してはホルマリン不活化菌体（FKC）ワクチンでは十分な感染防御能を賦与できないが、その要因は明らかではない。そこで本研究ではエドワジエラ症に対して効果を有する弱毒生ワクチンと FKC ワクチン接種魚における攻撃試験後の免疫応答を比較し、FKC ワクチンが有効ではない要因を検討した

【方法・結果】クローンギンブナに *E. tarda* FPC498 株の FKC（2×10^7 cells/fish）および FPC498 株を親株とする弱毒変異株 SPM31 株（2×10^6 CFU/fish; 0.2LD_{50}）をそれぞれ腹腔内接種することによりワクチネーションした。その 30 日後、0.2LD_{50} の *E. tarda* FPC498 株で攻撃試験を行った。その後、血清中の凝集抗体価、腎臓白血球における IFNγ、IL-10、T-bet、GATA-3 遺伝子の発現量および $CD8\alpha^+$ 細胞数を測定した。

FKC ワクチン接種区において抗体価および抑制性サイトカインである *IL-10* の発現量が弱毒生ワクチン接種区と比較して有意に高い値を示した。加えて細胞性免疫を誘導するサイトカインである *IFNγ* の発現量は有意に低い値を示すとともに $CD8\alpha^+$細胞数は減少傾向を示した。一方、弱毒生ワクチン接種区において $CD8\alpha^+$細胞数、*IFNγ* および 1 型ヘルパーT 細胞（Th1）の分化に関わる転写因子である *T-bet* の発現量が FKC ワクチン接種区と比較して有意に高い値を示した。

【考察】これまでの研究で本症に対して $CD8\alpha^+$細胞が重要な役割を果たすことは養子移入によって確認済みである。本研究において弱毒生ワクチン接種区において細胞性免疫の誘導が見られたが、これはワクチン接種後にメモリーとなった $CD8^+$細胞が起点となって Th1 や CTLs を誘導・活性化していると考えられる。対照的に FKC ワクチン接種区において抗体価や *IL-10* の発現量の増加が見られたことから液性免疫を誘導していると考えられる。一方、同接種区において *IFNγ* の発現低下と $CD8\alpha^+$リンパ球数の減少傾向が見られたことから FKC ワクチンは液性免疫を誘導することによって細胞性免疫の誘導および活性化を抑制すると考えられる。以上の結果より魚類のエドワジエラ症に対して FKC ワクチンが有効性を示さない要因は液性免疫を誘導するだけではなく、細胞性免疫を抑制することに起因していると考えられる。

一般-17

ヒト Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)の特異的マーカーの探索

武田　裕司[1]、加藤　智幸[2]、渡邊　千尋[1]、阿部　尚美[1]、
奈良　英利[1]、荒木　明美[1]、浅尾　裕信[1]
山形大・医・[1]免疫学、[2]泌尿器科学

Exploration of specific marker for human myeloid-derived suppressor cells

Yuji Takeda[1], Tomoyuki Kato[2], Chihiro Watanabe[1], Naomi Abe[1],
Hidetoshi Nara[1], Akemi Araki[1], and Hironobu Asao[1]
Dep. [1]Immunol., [2]Urol., Faculty Med., Yamagata Univ.

【目的】

生体防御機構において、炎症反応は異物排除に重要な応答である。一方、多くの癌は、自己組織破壊などにより、多様な炎症性物質を長期間産生する。この慢性炎症が、未熟な好中球様・単球様といった多様な形態を示す Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)を誘導することが報告されている。この MDSCs は、リンパ球増殖を抑える新たな免疫抑制細胞として近年、注目されている。マウスのがんモデルでは、MDSCs を除去すると劇的な免疫治療効果が得られる。しかし、マウスとヒトの好中球抗原は、乖離が大きく、マウスでの研究成果をヒト MDSCs 同定に反映させることは難しい。そのため、現在、MDSCs を治療に応用するには至っていない。ヒトの正常好中球と MDSCs を区別できるマーカーが確立されれば、癌などの病勢の予測・評価、および、免疫治療の発展に貢献できる。そこで、本研究は、ヒト MDSCs のマーカーの探索を試みた。

【方法・結果】

ヒト前骨髄系細胞株 HL60 を用い、様々な炎症性サイトカイン存在下において好中球分化刺激を行った。骨髄系細胞分化マーカーとして、CD11b, CD14, CD16, CD33, CD62L, CD66b を用いた。また、増殖マーカーとして CD71、抗原提示細胞マーカーとして CD86, HLA-DR を測定した。更に、我々が以前に同定した好中球成熟抗原の GPI-80 を測定した。IL-1β, IL-6, IL-21, TNF-α, G-CSF 刺激下にて HL60 に好中球分化誘導を行ったが、分化は抑制されなかった。成熟過程に関与する GPI-80 発現は、G-CSF により亢進し、GM-CSF により抑制された。貪食能・細胞接着能は、G-CSF のみで亢進し、一方、活性酸素産生能は G-CSF, GM-CSF 両者で上昇した。活性酸素産生能は、IL-6 を組み合わせることで更に亢進した。

【考察】

予想に反し、炎症性サイトカインは、好中球分化を抑制しなかった。しかし、GPI-80 のような成熟過程で発現する分子において、G-CSF, GM-CSF の作用により発現異常が生じる場合があることが判明した。また、好中球機能のうち、成熟抑制を受けた場合でも活性酸素産生能は上昇した。これらのことから、GPI-80 発現異常と活性酸素産生能上昇を組み合わせることで、好中球様 MDSCs や単球様 MDSCs のそれぞれのマーカーになると考えられた。現在、実際のがん患者由来の血液を用いた測定を予定している。

一般-18

IL-22 が誘導するヒト Phospholipase A2 Group IIA (PLA2G2A)による *Listeria monocytogenes* 感染防御

松崎吾朗、沖田大和、浜田聡、梅村正幸
琉球大・熱生研・分子感染防御、医院・生体防御

IL-22-induced PLA2G2A-dependent protective immunity against *Listeria monocytogenes* infection.

Goro Matsuzaki, Yamato Okita, Satoru Hamada, and Masayuki Umemura
.Mol. Microbiol. Group, TBRC and Dept. Host Defense Vaccinol., Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus.

【目的】哺乳類の IL-17A は、好中球の誘導と遊走ならびに抗菌物質の産生を介して感染防御に関与するサイトカインとして報告されている。一方、細胞内寄生性細菌 *Listeria monocytogenes* マウス感染モデルにおいて、γδT 細胞の産生する IL-17A が肝臓感染の初期防御に重要であること、その IL-17A がさらに炎症性サイトカイン IL-22 を誘導することを報告してきた。しかしながら、*L. monocytogenes* に対する IL-17A の感染防御メカニズムは不明であり、この点を検討するために、ヒト肝細胞株を用いた *in vitro* 感染系による解析を行った。

【方法】ヒト肝細胞癌株 HepG2 を IL-17A、IL-22 あるいは両者と培養した後に *L. monocytogenes* を細胞内感染させ、次いでゲンタミシンを加えて細胞外の菌を殺菌し、さらに 3 時間培養後に細胞を洗浄・溶解して細胞内の菌数を測定した。また、サイトカイン処理後の HepG2 の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにより、また特定の遺伝子発現を real time reverse transcription–PCR 法にて測定した。発現が誘導された抗菌タンパクの *L. monocytogenes* 感染に対する影響について、*in vitro* 感染系への組換え(r)タンパクあるいは阻害剤の添加により評価した。

【結果と考察】IL-17A+IL-22 処理 *L. monocytogenes* 感染 HepG2 の遺伝子発現プロファイルをサイトカイン非処理細胞のそれとマイクロアレイ解析により比較した結果、IL-17A+IL-22 処理により発現増加する遺伝子に抗菌タンパクである Lipocalin(LCN)-2 と PAL2G2A が同定された。LCN-2 の発現には IL-17A と IL-22 の両者が必要であったが、PLA2G2A は IL-22 単独で発現誘導された。rPLA2G2A は HepG2 への *L. monocytogenes* 感染を抑制したが、rLCN-2 にはその効果は認められなかった。さらに、PLA2G2A 阻害剤 LY315920 を加えることにより、IL-22 による HepG2 の *L. monocytogenes* 感染抑制効果が消失した。

PLA2G2A は、グラム陽性菌の細胞壁を通過して細菌細胞膜リン脂質、特に phosphatidylglycerol を主に分解することにより、抗菌活性を示すことが報告されている。本研究から、グラム陽性菌 *L. monocytogenes* の肝臓感染に対する IL-17A の感染防御の少なくとも一部は、IL-22 発現を介した肝細胞の PLA2G2A 発現によるものと考えられた。

一般-19

IL-33 のマイコバクテリア感染防御免疫に対する増強効果

梅村　正幸[1,2]、福井　雅之[1,2]、福井　知穂[1,2]、中江　進[3]、松﨑　吾朗[1,2]
[1]琉球大・熱生研・分子感染防御、[2]医院・生体防御、[3]東大・医科研・システムズバイオロジー

Involvement of IL-33 to mycobacterial infection.

Masayuki Umemura[1,2], Masayuki Fukui[1,2], Chiho Fukui[1,2], Susumu Nakae[3], and Goro Matsuzaki[1,2]
[1] Mol. Microbiol., Trop. Biosphere Res. Cent. and [2]Dept Host Defense Vaccinol., Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus
[3]Inst. Med. Sci., Uni. Tokyo

【目的】

Interleukin(IL)-33 は IL－1 ファミリーに属しており、その受容体である ST2L と IL-1RAcP を介して 2 型免疫応答を誘導することが知られている。*Cryptococcus neoformans* 肺感染モデルにおいても、ST2L に依存した IL-33 介在性シグナルが自然免疫および獲得免疫応答で ILC2 および Th2 の増強に働き、感染防御免疫を抑制することが明らかになった。しかしながら、マイコバクテリア感染肺における感染防御免疫に対する IL-33 の影響については未だ不明瞭な点が多い。本研究では IL-33 KO マウスを用い、マイコバクテリア感染症における IL-33 の関与について追究した。

【方法・結果】

Mycobacterium bovis bacilli Calmette-Guérin (BCG)を野生型あるいは IL-33 KO マウスに経気道感染させ、臓器内菌数を比較した。感染 28 日目の IL-33 KO マウスの感染肺では野生型マウスに比べ有意にマイコバクテリアの排除能が低下していた。その防御機構を明らかにする為、BCG 感染マクロファージにリコンビナント(r)IL-33 を添加し NF-κB 活性および殺菌活性を調べた。rIL-33 投与で NF-κB 活性および殺菌活性の増強が認められたが、iNOS の発現増強には影響を及ぼさなかった。そこで、抗菌性ペプチドの発現を調べたところ、lipocalin-2 が濃度依存的に増強されることを認められた。さらに、結核菌感染において最も重要な Th1 サイトカインである IFN-γも同時に処理したところ、IL-33 と IFN-γによる感染マクロファージへの直接的な相乗効果は認められなかった。

【考察】

結核菌の肺感染モデルにおいては、*M. tuberculosis* 感染 ST2 KO マウスは野生型マウスにおける免疫応答と変わらないことが報告されている。しかし、我々の結果はそれに反し、マイコバクテリア感染において産生誘導された IL-33 が何らかの機構を介して防御に関与することが考えられた。現在、マイコバクテリア感染における IL-33 の Th1 や Tc1 細胞といった細胞性免疫応答の関与を含め、感染防御メカニズムを解析している。

一般-20

新規抗肺結核ワクチン戦略による早期防御免疫応答の増強

[1]福井　雅之、[1,2]梅村　正幸、[1,2]松崎　吾朗
[1]琉球大・熱生研・分子感染防御、[2]医院・生体防御

Enhancement of early protective immunity in the lung against *Mycobacterium tuberculosis* by a novel vaccination strategy

Masayuki Fukui, Masayuki Umemura, Goro Matsuzaki
Mol. Microbiol.,TBRC and Dept. Host Defense Vaccinol., Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus

【目的】

現行の BCG ワクチンは乳幼児における粟粒結核や結核性髄膜炎に対して高い予防効果が認められている。一方、成人の肺結核に対するその有効性は疑問視されており、より効果的な予防ワクチンの開発、ならびにその接種方法の確立が急務とされる。本研究では、BCG 経皮ワクチンによって誘導される全身性の Th1 型免疫応答に加え、新たにマイコバクテリア抗原 HBHA (heparin-binding heamagglutinin adhesin)を cholera toxin (CT) アジュバントと共に経鼻接種することにより、肺粘膜での免疫応答を増強する方法を試み、結核菌肺感染に対する防御効果を検討した。

【方法・結果】

C57BL/6 マウスに *Mycobacterium bovis* bacille de Calmette et Guérin (BCG)を経皮接種した後、 4 週目から HBHA と CT を経鼻投与(週 1 回/4 週間)した。さらに 1 週間後に *M. tuberculosis* H37Rv (Mtb)を経気道感染し、14 日および 28 日目に解析を行なった。HBHA＋CT の単独経鼻投与による肺での IFN-γ 産生 Th1 型および IL-17A 産生 Th17 型免疫応答を $CD4^+$ T 細胞について調べた結果、Th1 型免疫応答よりも Th17 型免疫応答が強く誘導されることが明らかになった。そこで、全身的に Th1 型免疫応答を誘導する BCG を経皮接種した後に HBHA＋CT 経鼻投与を行ったところ、Mtb 感染 14 日目において菌の排除が有意に増強した。また、BCG ワクチン接種後に HBHA＋CT を経鼻接種しても肺の組織傷害は認められず、このプロトコールの安全性に問題はないものと考えられた。

【考察】

これまで我々は γδ 型 T 細胞の産生する IL-17A がマイコバクテリア感染肺において感染防御に重要な役割を担っていることを報告してきた。今回は、HBHA＋CT 経鼻接種による追加免疫で IL-17A 産生 Th17 型 T 細胞を肺に誘導することにより、全身性に Th1 型 T 細胞を誘導した BGC 経皮接種マウスの結核菌感染肺での初期抗結核防御能を増強することができた。このメカニズムとして、肺で産生される IL-17A が BCG で誘導された Th1 型 T 細胞の感染肺への動員を増強することにより、肺での感染防御が増強した可能性を考えている。

一般-21

レジオネラ菌の細胞内寄生性を担うエフェクタータンパク質の宿主標的タンパク質の網羅的同定の試み

瀬戸真太郎[1]、菅谷圭子[2]、永田　年[2]、堀井俊伸[1]、小出幸夫[3]
[1]浜松医科大学感染症学講座、[2]浜松医科大学健康科学講座、[3]浜松医科大学理事・副学長

Host target proteins of *Legionella* effector proteins involved in intracellular parasitism

Shintaro Seto[1], Keiko Sugaya[2], Toshi Nagata[2], Toshinobu Horii[1] and Yukio Koide[3]
[1]Department of Infectious Diseases, [2]Department of Health Science and [3]Executive Director/Vice President,
Hamamatsu University School of Medicine

【目的】

レジオネラ菌は細胞内寄生性細菌であり、貪食されたマクロファージ内で増殖することができる。レジオネラ菌は宿主細胞内で IV 型分泌装置である Dot/Icm 依存的にエフェクタータンパク質を分泌する。分泌されたエフェクタータンパク質によってレジオネラ菌の増殖ニッチが形成される。これまで、一部分のエフェクタータンパク質の宿主標的タンパク質が同定されている。本研究では、レジオネラ菌のゲノムに存在する 400 以上の Dot/Icm 依存的に分泌されうるエフェクタータンパク質の宿主標的タンパク質を網羅的に同定することによって、レジオネラ菌の寄生戦略をプロテオミクスによって明らかにする。

【方法・結果】

HEK293T 細胞において、FLAG タグ融合 Dot/Icm 依存的エフェクター分泌タンパク質を発現させた。細胞抽出液から抗 FLAG タグ抗体結合ビーズを用いてエフェクタータンパク質を精製した。エフェクタータンパク質に結合している宿主タンパク質を LC-MS/MS 法によって同定した。試験的に、Rab1 の GEF として機能する LidA と SidM に結合する宿主標的タンパク質を同定した。SidM には Rab1A/B が結合した。LidA には Rab1A/B だけではなく、Rab3、Rab4、Rab6、Rab8、Rab10、Rab13、Rab14、Rab35 などの Rab GTPase が結合していることが明らかになった。現在、35 遺伝子のレジオネラエフェクタータンパク質をクローニングして、これらの宿主標的タンパク質の同定を行っている。

【考察】

本研究では、Rab1 の GEF として機能する LidA に Rab14 も結合していることが明らかになった。Rab14 はファゴリソソーム形成阻害に機能していることが知られている。本研究は、レジオネラは小胞体様の増殖ニッチ形成を行うだけでなく、Rab14 をレジオネラ小胞に局在させることによってファゴリソソーム形成を阻害していることを示唆する。今後、これらのエフェクタータンパク質の宿主標的タンパク質を網羅的に同定することによって、レジオネラ菌の細胞内寄生戦略をプロテオミクスによって明らかにしたい。

一般-22

糖鎖修飾の変化による自然免疫反応のダイナミックな制御

山本（日野）　美紀[1]、村岡　正敏[2]、近藤　周[3]、岡野　栄之[4]、上田　龍[3]、後藤　聡[1]
[1]立教大理、[2]東京都医学総合研、[3]国立遺伝研、[4]慶応大医

Dynamic regulation of innate immune responses in *Drosophila* by Senju-mediated glycosylation

Miki Yamamoto(Hino)[1], Masatoshi Muraoka[2], Shu Kondo[3], Hideyuki Okano[4], Ryu Ueda[3] and Satoshi Goto[1]
[1]Dept. of Life Sci., Rikkyo Univ., [2]Tokyo Metropolitan Inst. Of Med. Sci., [3]Invertabrate Genetic Lab. NIG.,
[4]Dept of Physiol., Keio Univ.

【目的】
自然免疫は、ほとんど全ての生物に備わっている、感染や創傷に対する最初の防御機構である。自然免疫反応が十分に起こらないと病原体を制圧することができず、また引き続いて起こる獲得免疫反応も誘導されないため、感染症に陥ってしまう。一方、強すぎる反応、また非感染時の不適切な活性化は、慢性炎症や自己免疫疾患の原因となることが知られている。従って自然免疫反応は、定常時には低レベルに抑制されていて、感染時には素早く十分に活性化し、その後終息するよう緊密に制御されている必要がある。私達は糖鎖修飾に関わる分子のショウジョウバエ変異体の解析から、このような自然免疫反応の制御に糖鎖修飾の変化が関与している可能性を見出したので、その詳細について明らかにすることを目的として実験を行った。

【方法・結果】
私達は糖鎖修飾の生体内での意義を明らかにするために、ショウジョウバエを用いて、糖鎖修飾に関わる糖転移酵素や糖核酸輸送体の機能欠失変異体の解析を行っている。その中で、新規 UDP-Galactose 輸送体（我々は senju と名付けた）のノックアウトを行ったところ、この変異体では Galactose を含む糖鎖構造が減少しており、自然免疫反応の重要な情報伝達系の一つである Toll 情報伝達系が恒常的に活性化していた。Toll 情報伝達系の中のどの蛋白質が活性化しているのか、遺伝学的、生化学的な解析を行った結果、Toll receptor のリガンドである Spatzle 蛋白質が、その上流のシグナルとは無関係に活性化していることが明らかになった。さらに、感染時に糖鎖修飾が変化するかどうか検討を行ったところ、Toll 情報伝達系の活性化時には、Galactose を含む糖鎖構造が減少することを見出した。このことは、定常時には Galactose を含む糖鎖構造が自然免疫反応に抑制的に働いているが、感染時に Toll 情報伝達系が活性化すると、Galactose を含む糖鎖構造が減少し、自然免疫反応をより増強する方向に働いていることを示唆している。

【考察】
糖鎖修飾の変化による Toll 情報伝達系の positive feedback 機構が存在し、感染時の素早く十分な Toll 情報伝達系の活性化に寄与していると考えられる。

一般-23

転写因子Nrf1はシステイントランスポーターおよび脂質代謝酵素群を抑制制御する

辻田　忠志[1,2]、Vivian Mullin[4]、Liam Baird[1]、松山　由香[1]、高久　美咲[1]、Shawn Walsh[3]、Julian Griffin[4]、山本　雅之[1]、John Hayes[2]
[1]東北大院・医、[2]Univ. Dundee、[3]NHS Tayside、[4]Univ. Cambridge

Transcription factor Nrf1 negatively regulates the cystine/glutamate transporter and lipid-metabolizing enzymes

Tadayuki Tsujita[1,2], Vivian Mullin[4], Liam Baird[1], Yuka Matsuyama[1], Misaki Takaku[1], Shawn V. Walsh[3], Julian L. Griffin[4], Masayuki Yamamoto[1] and John D. Hayes[2]
[1]Tohoku Univ. Grad. Med., [2]Univ. Dundee, UK, [3]NHS Tayside, UK, [4]Univ. Cambridge, UK

【目的】

CNC-bZip タンパク質ファミリーに属する転写因子ファミリー（NFE2p45、Nrf1、Nrf2、Nrf3、Bach1、Bach2）の欠失マウスの中で Nrf1 の全身欠失マウスは唯一胎生致死を示す。我々は以前、肝特異的 Nrf1 欠失マウスを作出し、本マウスは NAFLD 様の肝疾患を示すことを報告した。しかし、Nrf1 欠失でなぜ NAFLD に陥るのかは未だ解明されていなかった。本研究では後天的に脂肪肝を発症する薬剤誘導性肝特異的 Nrf1 欠失マウスを作出することで、後天的かつ肝特異的に Nrf1 を欠失可能とし、肝臓における NAFLD の形成分子メカニズムを解析した。

【結果】

Nrf1 は Nrf2 と同様に酸化ストレスに応答し、その防御遺伝子群を発現誘導すると考えられており、Nrf1 欠失グループ肝では、酸化ストレスが亢進し、細胞内チオール環境が減弱すると予想していたが、逆に本マウスでは GSH が著明に蓄積していた。CE-MS メタボロミクス解析からも、Nrf1 欠失グループ肝にシステインが多く存在することを明確にした。この原因は *xCT* の発現上昇であり、Nrf1 は *xCT* を通常状態で抑制制御する事を明らかにした。加えて、脂質メタボロミクス解析により、Nrf1 欠失グループ肝はコントロール群と比較して極性脂肪（脂肪酸）が著明に蓄積することを明らかにした。詳細な脂質組成分析をもとに原因遺伝子を予測して発現解析を実施し、リポタンパク質の取込み受容体、D9 デサチュラーゼである FADS3 の発現亢進を明らかにした。

【考察】

Nrf1 は通常状態において ARE 配列に結合し、不必要なシスチンおよび脂質の取り込みを抑制制御することを明らかにした。特に xCT は Nrf2 の活性化によって発現上昇すると報告されていることから、Nrf1 と Nrf2 が ARE 配列を取り合うことで精密な発現調節がなされると予想された。今回、Nrf1 欠失で細胞内チオール環境が亢進することを示したが、今後は Nrf1 発現調節と酸化ストレス防御との関連について明らかにしていきたい。

一般-24

好中球の殺菌能におけるオートファジー機構の役割

伊藤　洋志[1]、北村　奈緒子[1]、山本　翔[1]、松尾　英将[2]、足立　壯一[1]
[1]京都大院・医・人間健康科学・検査応用開発学、[2]京都大・医・附属病院・検査部

A role of autophagy machinery on bactericidal activity of neutrophils

Hiroshi Itoh[1], Naoko Kitamura[1], Sho Yamamoto[1], Hidemasa Matsuo[2], and Souichi Adachi[1]
[1]Grad. School Med. Human Health Sci. Appl. Lab. Sci., Kyoto Univ. [2]Clinical Lab., Kyoto Univ. Hospital

【目的】

好中球は、細菌や真菌を貪食して活性酸素などの殺菌因子によって強力に殺菌し、生体防御の一次機構において中心的な役割を果たしている。近年、菌の貪食による好中球のオートファジー誘導が明らかにされた。オートファジーは細胞内タンパク質分解機構の一つであり、種々の重要な生命機能に深く関わっている。また、細胞内寄生細菌の排除にも働くことが明らかにされ、自然免疫機構においても重要な役割を果たすと考えられている。しかし、好中球機能との関連についてはほとんど不明である。そこで、好中球の殺菌能におけるオートファジー機構の役割を明らかにするため、以下の実験を行った。

【方法・結果】

健常人末梢血からパーコール比重遠心法により好中球を分離した。貪食刺激用の被検菌として、多剤耐性大腸菌の臨床分離株(5 菌株)を用いた。好中球のオートファジー誘導は、LC3B-Ⅱ/Ⅰ比の変化をウェスタンブロットで、好中球細胞質の LC3B および ATG5 のドット形成を免疫蛍光染色標本の共焦点レーザー顕微鏡による観察で、オートファゴソームの観察を透過型電顕でそれぞれ解析した。また貪食能はサイトスピン標本の鏡検法で、O_2^-産生能は cytochrome c 法でそれぞれ解析した。これらの解析で、免疫グロブリン 1mg/ml（献血ベニロン-Ⅰ®；帝人ファーマ）の添加効果について検討した。殺菌能は 10%自己血清存在下で好中球を貪食刺激後、ゲンタマイシンにより細胞外非貪食菌を殺滅し、細胞内生菌数をコロニー法で定量して評価した。

免疫グロブリンにより、好中球の貪食能、O_2^-産生が増強された。LC3B-Ⅱ/Ⅰ比は貪食刺激後 3 時間をピークに増大し、以降は減少した。また、LC3B および ATG5 のドット形成が増強し、一部菌との共局在が観察された。さらに、菌を内包するオートファゴソームが有意に増加した（35 個→54 個/100 cells)。オートファジー阻害薬の bafilomycin(500nM)により、細胞内生菌数はコントロール比 217%に、また NADPH oxidase 阻害薬の apocynin(300μM)で活性酸素産生を約 50%に抑制した条件では同 435%に上昇した。

【考察】

免疫グロブリンの添加により、好中球の貪食能とオートファジーの増強が認められたことから、菌の貪食によるオートファジー誘導が確認された。bafilomycin による細胞内生菌数の増加は、好中球の殺菌能低下が考えられ、菌を内包するオートファゴソームの所見とともに、好中球の殺菌能にオートファジー機構が何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

一般-25

オートファジー抑制および黄色ブドウ球菌の上皮細胞感染における毒素性ショック症候群毒素-1 の関与

浅野クリスナ、中根明夫
弘前大・院医・感染生体防御学

Contribution of toxic shock syndrome toxin-1 to autophagy suppression and *Staphylococcus aureus* infection in the epithelial cells

Krisana Asano and Akio Nakane
Depart. Microbiol. Immunol., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med.

【Objective】

Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) is a superantigen produced by *Staphylococcus aureus*. In addition to its superantigenic activity which has been largely elucidated in the immunocompetent cells, several evidences suggest that this toxin also contributes in the infection and persistence of *S. aureus*. In this study, the biological activity of TSST-1 in the epithelial cells was investigated by focusing on autophagy.

【Methods・Results】

GFP-LC3 was expressed in HeLa 229 cells and autophagy was induced by nutrient starvation or rapamycin. The effect of TSST-1 on autophagy was observed and the results demonstrated that autophagosomes was suppressed by treatment with recombinant TSST-1 (rTSST-1) and TSST-1 producing-*S. aureus*. Lysosomal protease inhibitors could not restore autophagosomes in rTSST-1-treated cells, suggesting that TSST-1 inhibits autophagosome synthesis rather than enhances autophagosome degradation. Mutant TSST-1 lacking superantigenic effect also showed a similar effect as the rTSST-1, indicating that the autophagic suppression by TSST-1 did not require superantigenic activity. Cytotoxicity of *S. aureus*-infected cells and intracellular bacterial number of *S. aureus* suggested that suppression of autophagy by TSST-1 decreased bacterial number of *S. aureus* and increased the survival of *S. aureus*-infected cells.

【Discussion】

Autophagy is a fundamental cellular homeostatic mechanism which is involved in the host defense against several intracellular pathogenic microorganisms. Successful pathogens have evolved strategies to avoid autophagy. It has been shown that *S. aureus* can subvert autophagy for its own replication. However, this ability also induces host cells death which does not correlate to the persistence *S. aureus* within the host cells. Our study suggested that TSST-1 has ability to suppress autophagy and this ability may promote the intracellular persistence of *S. aureus* as well as a reduction of host cell death.

一般-26

8-ニトロ-cGMPによる細菌感染防御機構と硫化水素による制御

○ジョン　ミンギョン、松永哲郎、藤井重元、井田智章、澤　智裕、赤池孝章
東北大院・医・環境保健医学

8-Nitro-cGMP-mediated antibacterial host defense and its regulation by hydrogen sulfide

○Minkyung Jung, Tetsuro Matsunaga, Shigemoto Fujii, Tomoaki Ida, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike
Dept. Environ. Health Sci. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med.

【目的】細菌感染に伴い生体内で生成する活性酸素や一酸化窒素（NO）は、感染防御において重要な役割を果たしている。我々は最近、活性酸素とNOに依存して生成する8-ニトロ-cGMPが、タンパク質中システイン残基にcGMPを付加する翻訳後修飾（タンパク質S-グアニル化）により細胞内シグナル伝達に関与することを明らかにした。さらに、生体内で生成する硫化水素関連化合物が8-ニトロ-cGMPのシグナル活性を制御していることを見いだした。今回、オートファジーによる細胞内殺菌における8-ニトロ-cGMPの役割と、サルモネラが産生する硫化水素が細胞内殺菌に与える影響を解析した。

【方法・結果】マウスマクロファージRAW264.7細胞にサルモネラ（*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, LT2 株）を感染させると、8-ニトロ-cGMP生成に伴って、著明にオートファジーが誘導された。興味深いことに、オートファジーの誘導に、菌体タンパク質のS-グアニル化が関与することが示唆された。硫化水素産生酵素遺伝子（*phs*および*asr*）を欠損させたサルモネラを感染させた細胞では、野生型サルモネラに比べ、オートファジー誘導が促進し、細胞内の菌の増殖が有意に抑制された。硫化水素ドナーであるNaHSを添加すると、*phs/asr*欠損サルモネラの細胞内増殖は著明に増加した。

【結論】8-ニトロ-cGMPはS-グアニル化を介してオートファジーによる細胞内殺菌に関与しており、サルモネラが産生する硫化水素は、8-ニトロ-cGMPによるS-グアニル化を低下させることにより、オートファジーによる細胞内殺菌を抑制することが示唆された。

一般-27

プロテインキナーゼGの活性化ドメインへのS-グアニル化と

その敗血症における遷延性血圧低下への関与

○澤　智裕[1]、Ahmed Ahtesham[2]、藤井重元[1]、井田智章[1]、赤池孝章[1]

[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]熊本大院・生命科学・微生物

Protein S-guanylation in cGMP binding domain of PKG implicated in persistent hypotension in sepsis

○Tomohiro Sawa[1], Ahmed Ahtesham[2], Shigemoto Fujii[1], Tomoaki Ida[1], Takaaki Akaike[1]

[1]Dept. Environ. Health Sci. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med.,

[2]Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med. Sci., Kumamoto Univ.

敗血症における重篤な臨床症状として、遷延性の血圧低下とそれにともなう多臓器不全がある。しかしながら、このような症状の進展の詳細な分子機構はいまだ十分には分かっていない。8-Nitroguanosine 3’,5’-cyclic monophosphate (8-ニトロ-cGMP)は炎症反応にともなって生成し、親電子性を有するユニークな環状ヌクレオチドで、タンパク質のシステイン残基にcGMPを付加するタンパク質S-グアニル化という翻訳後修飾をもたらす。cGMP依存性プロテインキナーゼ(プロテインキナーゼG; PKG) は、平滑筋の弛緩を制御するリン酸化酵素である。本研究では、PKGに対するS-グアニル化反応と、それによる酵素活性の制御機構、さらには血管弛緩反応を解析した。精製酵素標品を用いてキナーゼ活性を検討したところ、8-ニトロ-cGMPはPKGを強力に、かつ不可逆的に活性化した。また、organ bathによる検討から、8-ニトロ-cGMP処理はマウス大動脈を、不可逆的にフェニレフリンに対する血管収縮反応を減弱させた。質量分析による結果から、8-ニトロ-cGMPはPKGの４２番目ならびにcGMP結合ドメインに存在する１９５番目のシステイン残基をS-グアニル化していた。PKGのS-グアニル化は、リポ多糖を投与したマウスの心臓において顕著に増加していた。以上の結果より、敗血症における8-ニトロ-cGMPの生成は、PKGの活性化ドメインである１９５番目システインのS-グアニル化を介して、PKGを遷延性かつ不可逆的に活性化し、敗血症においてみられる血圧低下に関わる可能性が示唆された。

一般-28

小形条虫の虫卵再感染における自然免疫による防御

渡邊直煕[1]、石渡賢治[2]、浅野和仁[3]
[1]慈恵医大・アレルギー学、[2]慈恵医大・熱帯医学、[3]昭和大・保健医療・生理学

Protection through innate immunity against reinfection with *Vampirolepis nana* eggs

Naohiro Watanabe[1], Kenji Ishiwata[2], and Kazuhito Asano[3]
[1]Dept. Allergology, [2]Dept. Tropical Medicine, Jikei Univ. and [3]Div. Physiology, Showa Univ.

【目的】

小形条虫は世界で多くの感染者をみる人体寄生虫として知られるが、マウスにも感染する。小形条虫のマウスへの感染では、虫卵の再感染に対して、初感染24時間後には防御が誘導され、36時間後には1隻の寄生も許さない強い防御となる。また初感染の数ヶ月後に再感染した場合も完全な防御がみられ、免疫記憶が示唆される。前者は自然感染により、後者は獲得免疫によると考えられるが、これまでの解析は両者の区別が明確ではなかった。われわれは小形条虫の虫卵再感染防御について自然免疫による機序に注目して解析した。

【方法・結果】

小形条虫のマウスへの感染では、経口摂取された虫卵は孵化して六鉤幼虫となり数時間後に小腸絨毛内に侵入し擬嚢尾虫となる。擬嚢尾虫は5日後に小腸腔に出て成虫となる。実験では、虫卵 50 個を経口投与して免疫し、2日後に虫卵1000個の経口投与で再感染を行い、その4日後に小腸内の擬嚢尾虫を数えることで再感染防御能を判定した。虫卵の初感染を皮下または腹腔にした場合は経口による再感染防御は起らない。また擬嚢尾虫の初感染は虫卵による再感染を防御できない。防御の特異性を調べるため、消化管寄生線虫である *Nippostrongylus brasiliensis*、*Heligmosomoides polygyrus*、*Strongyloides venezuelensis* のいずれかを感染させ腸管に変化をきたしたマウスに小形条虫の虫卵を経口投与すると、感染できた虫卵は対照マウスの約半数で防御がみられたものの完全ではなかった。旋毛虫の感染は小形条虫の虫卵感染に影響しなかった。虫卵初感染の直前に抗NK1.1または抗asialoGM1抗体で処理しても虫卵再感染防御は起ることから、NK 細胞、NKT 細胞、好塩基球の関与は否定される。抗 Thy1、抗 CD3 または抗 CD4 抗体をマウスに投与すると再感染防御はみられなくなる。しかし抗 CD8 抗体処理では防御が成立する。補助分子としては、CD80 と CD86 は防御成立に不要だが、ICOSL と CD40L の関与が示された。

【考察】

小形条虫の虫卵再感染防御は、消化管からの刺激として虫卵から孵化した六鉤幼虫の侵入が必要で、CD3＋Thy1＋CD4＋細胞が ICOSL と CD40L を介して発現する自然免疫の現象であることが示唆された。３種の線虫感染による消化管の変化は小形条虫の虫卵感染を減少させたが、不完全な防御であることから異なる機序による防御と考えられる。

一般-29

マウス白血球におけるリグニンポリマー認識ならびに自然免疫応答

山中　大輔、石橋　健一、安達　禎之、大野　尚仁
東京薬科大学院・免疫学教室

Innate immune response to synthetic lignin-like polymers by murine leukocytes.

Daisuke Yamanaka, Ken-ichi Ishibashi, Yoshiyuki Adachi and Naohito Ohno
Laboratory for Immunopharmacology of Microbial Products, School of Pharmacy,
Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences.

【目的】

高等植物の細胞壁中には、1,4-β-グルカンから成るセルロース、1,3-/1,4-β-グルカンから成るヘミセルロースと共に、高分子量芳香族ポリマーであるリグニンが存在する。このリグニンは、バイオエタノールの製造過程で多量に廃棄されることから、有効利用法の早期開発が求められている。近年、カーボンナノチューブに代わる素材としてリグニンナノチューブが用いられ、生体への応用を目指した研究が進められている。しかしながら、哺乳動物の免疫系がリグニン類に対してどのような応答を示すのか、いまだ不明な点が多く残されている。そこで、本研究ではフェニルプロパノイド類とペルオキシダーゼを用いて可溶性合成リグニンを作製し、リグニン類がマウス免疫系にどのような影響を及ぼすか明らかにするため、*in vitro* ならびに *in vivo* におけるリグニンの免疫修飾作用について種々の白血球を用いて解析した。

【方法・結果】

カフェ酸、フェルラ酸、クマル酸などのリグニン前駆体をペルオキシダーゼにより重合し、分子量 50 kDa 以上の水溶性画分を合成リグニンとして回収した。マウス脾臓細胞をこの合成リグニンで刺激したところ、IFN-γ などのサイトカイン産生が誘導されたが、この作用は T 細胞の特異的除去ならびに CD4 に対する中和抗体の添加により有意に抑制された。しかし、精製した T 細胞を合成リグニンで刺激したところ、サイトカイン産生は誘導されなかった。そこで、抗原提示細胞への影響を検討したところ、合成リグニンは腹腔内細胞（PC）および骨髄由来樹状細胞を活性化し、サイトカインの産生を上昇させた。さらに、PC に精製した T 細胞を加えることで、合成リグニン刺激による IFN-γ 産生量が有意に上昇した。加えて、脾臓におけるリグニン応答は、抗原提示細胞と T 細胞間の相互作用を阻害することにより、有意に抑制された。また、合成リグニンをマウスに経口投与したところ、NK 細胞活性が有意に上昇し、担癌マウスにおいて腫瘍抵抗性が上昇した。

【考察】

合成リグニンは、自然免疫を活性化したことから、PAMPs の類縁物質として免疫系から認識されているものと予想される。また，経口投与では炎症誘発のリスクを低下させつつ、自然免疫系を活性化することが可能であることから、感染防御ならびに腫瘍抑制を目的としたツールとして応用できる可能性が示唆された。

一般-30

抗原ペプチド輸送体様タンパク質が局在する線虫新規オルガネラ

錦織　健児、丹治　貴博、白石　博久、大橋　綾子
岩手医大・薬

A novel intestinal organelle in *C. elegans* to which TAP-like homologs localize

Kenji Nishikori, Takahiro Tanji, Hirohisa Shiraishi, Ayako Ohashi-Kobayashi
Sch. of Pharm., Iwate Med. Univ.

【目的】

多くの生物は、飢餓や病原体感染などのストレスや加齢変化を受けながらも体内の恒常性維持に努めている。哺乳類 TAP (transporter associated with antigen processing)(ABCB2/ABCB3)は MHC クラス I 拘束性の抗原提示に関わる抗原ペプチド輸送体だが、その祖先型遺伝子と考えられる TAP-like (ABCB9)は、*in vitro* でのペプチド輸送能を有するものの生理機能は不明である。我々は、獲得免疫のない無脊椎動物にも TAP-like ホモログ遺伝子を見いだし、線虫(*C. elegans*)での機能解析を進めている。本研究では、線虫ホモログ HAF-4 及び HAF-9 が共局在する腸内の新規顆粒状オルガネラに注目して、原初的な TAP 様タンパク質が関わる内外の環境応答について解析した。

【方法・結果】

これまでに、①HAF-4/HAF-9 が局在する顆粒はリソソームマーカー陽性だが内部が非酸性の新規オルガネラであり、その形成に HAF-4 と HAF-9 が必要であること、②*haf-4* や *haf-9* 欠損変異体では、成長遅延や産卵数の減少などが生じることを示した（Kawai *et al.* (2009) Mol. Biol. Cell, 20:2979-90）。そこで、HAF-4/HAF-9 がこの顆粒状オルガネラの生理機能に関わる可能性を考え、当該オルガネラの生理応答を観察した。その結果、この顆粒は①幼虫後期から生殖期にかけて豊富に存在し、その後加齢に伴い消失すること、②栄養状態に応じて消失、再形成することを見出した。以上よりこの顆粒を、ギリシャ神話における神々の給仕役で青春を象徴する女神にちなみ、HEBE（HAF-4/HAF-9-enriched body evanescent with age）顆粒と名付けた。現在、HEBE 顆粒の形成に必要な遺伝子群を明らかにするため RNAi スクリーニングを行っており、これまでに脂肪酸合成や酸化ストレス防御に間接的に関わるペントースリン酸経路因子や pH 環境調整に関わる液胞型 ATPase 等の因子を得ている。また、HEBE 顆粒が消失する *haf-4 haf-9* 欠損変異体を用いたプロテオーム解析も進行中である。

【考察】

HEBE 顆粒は飢餓や加齢に応じて変動するオルガネラであり、HAF-4/HAF-9 はその形成に関わることから、多様な環境応答に TAP-like ホモログが関わると期待される。我々は最近、*C. elegans* と別属に分類される線虫とその腸細胞に感染する微生物を単離した。この線虫にも HEBE 顆粒と類似の構造を見出しており、将来的には HEBE 顆粒の微生物応答を探る良いツールとなるかもしれない。

一般-31

新興感染症菌 *Helicobacter cinaedi* 感染による動脈硬化の促進作用

○松永哲郎[1]、岡本竜哉[2]、藤井重元[1]、井田智章[1]、澤　智裕[1]、河村好章[3]、赤池孝章[1]
[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]国立国際医療研究センター病院、
[3]愛知学院大・薬・微生物学

Helicobacter cinaedi **shows proatherogenic effects in spontaneously hyperlipidemic mice**

○Tetsuro Matsunaga[1], Tatsuya Okamoto[2], Shigemoto Fujii[1], Tomoaki Ida[1], Tomohiro Sawa[1],
Yoshiaki Kawamura[3], Takaaki Akaike[1]
[1]Dept. Environ. Health Sci. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med., [2]National.Center Global Health Med.,
[3]Dept. Microbiol., Sch. Pharmacy, Aichi-Gakuin Univ.

【目的】近年、心血管疾患(Cardiovascular disease)の主な原因である動脈硬化症は、慢性炎症であるという概念が一般化してきており、その原因としていくつかの病原体の関与が示唆されているが不明な点が多い。*Helicobacter cinaedi* は腸肝ヘリコバクター属に属し、1984 年に初めてヒトへの感染が確認された新興感染症菌である。最近、我々は、アテローム性動脈硬化症患者の病変部から免疫組織染色にて本菌の局在を観察しており、本菌の関与が示唆された。そこで今回、モデルマウスを用いてアテローム性動脈硬化促進作用について解析したので報告する。
【方法・結果】アテローム性動脈硬化モデルマウス B6.Apoe^{shl}に *H. cinaedi* PAGU0616 を経口感染させ、大動脈組織切片の Oil Red O 染色および免疫組織染色を行ったところ、病変部の増悪とともに、好中球および F4/80 陽性の泡沫細胞の蓄積が見られた。また、本菌の感染により、炎症性サイトカインの発現量も増加した。加えて、本菌をヒト単球由来マクロファージおよび THP-1 単球細胞に感染させたところ、泡沫細胞への変化に伴い、脂質の取り込みに関与する ABCG1 (ATP-binding cassette transporter G1) および LDLR (Low density lipoprotein receptor) の発現を変化させた。驚くべきことに、本菌を感染させたマウスの病変部から RNA を抽出し、RT-PCR にて本菌特異的な遺伝子が検出された。
【結論】本モデルマウスにおいて *H. cinaedi* は炎症性サイトカインの発現誘導や好中球の蓄積およびマクロファージの泡沫細胞への誘導により、アテローム性動脈硬化を促進させることが示唆された。

一般-32

Nested PCR 法による健常者における 新興感染症菌 *Helicobacter cinaedi* 感染のスクリーニング

○藤井重元[1]、小山耕太[2]、松永哲郎[1]、澤　智裕[1]、岡本竜哉[3]、河村好章[4]、赤池孝章[1]
[1]東北大院・医・環境保健医学、[2]熊本大院・生命科学・微生物学、
[3]国立国際医療研究センター病院、[4]愛知学院大・薬・微生物学

Identification and screening for human *Helicobacter cinaedi* infections and carriers via nested PCR

○Shigemoto Fujii[1], Kohta Oyama[2], Tetsuro Matsunaga[1], Tomohiro Sawa[1], Tatsuya Okamoto[3],
Yoshiaki Kawamura[4], Takaaki Akaike[1]
[1]Dept. Environ. Health Sci. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med.,
[2]Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med. Sci., Kumamoto Univ., [3]National.Center Global Health Med.,
[4]Dept. Microbiol., Sch. Pharmacy, Aichi-Gakuin Univ.

Helicobacter cinaedi has been recognized as the most commonly reported enterohepatic *Helicobacter* species isolated from humans. Earlier research suggested that certain patients with *H. cinaedi* infection may remain undiagnosed because of difficulties in detecting the bacteria by conventional culture methods. Here, we report a method for identification of and screening for *H. cinaedi* infection and carriers. This method utilizes a nested PCR assay that rapidly detects the cytolethal distending toxin subunit B gene of *H. cinaedi* with high specificity and sensitivity. The assay detected *H. cinaedi* in blood, urine, and stool samples of patients with *H. cinaedi* infections. The assay was used clinically to follow-up two *H. cinaedi*-infected patients after antibiotic treatment. Stool samples of these two patients evaluated by nested PCR after antibiotic therapy showed clearance of bacterial DNA. Analyses of stool specimens of healthy volunteers occasionally showed a positive reaction to *H. cinaedi* DNA (9 of 274), as well as successful culture of live bacterium from PCR-positive stool samples (5 of 9), which suggests intestinal colonization by *H. cinaedi* in healthy subjects. In conclusion, nested PCR assay may be useful for the diagnosis, treatment evaluation, and epidemiological study of *H. cinaedi* infection and for its screening in humans.

一般-33

リステリオリシン O 並びに *p53* 遺伝子のリステリア感染による肝実質細胞のアポトーシスへの関与

金子雅和、江本善子、江本正志
群大院・保健学研究科

Participation of listeriolysin O and *p53* in hepatocyte apoptosis induced by *L. monocytogenes* infection

Masakazu Kaneko, Yoshiko Emoto, and Masashi Emoto
Laboratory of Immunology, Department of Laboratory Sciences,
Gunma University Graduate School of Health Sciences

Listeria monocytogenes is a facultative intracellular bacterium, which can survive and propagate not only in professional phagocytes such as macrophages (Mϕ), but also in nonprofessional phagocytes such as liver parenchymal cells (LPC). This bacterium is capable of escape from the phagosome into the cytosol by means of listeriolysin O (LLO). LLO has been considered to participate in induction of Mϕ apoptosis and *p53* plays a central role in this mechanism. Although LLO induces Mϕ apoptosis, it remains to be determined whether LLO and *p53* participate in induction of LPC apoptosis by *L. monocytogenes* infection. In the present study, we examined whether LLO and *p53* participate in induction of LPC apoptosis after *L. monocytogenes* infection. The LPC damage was found by infection with wild-type (strain EGD), but not LLO-deficient (*Δhly*), strain of *L. monocytogenes*. Percentages of viable LPC were considerably lower in $p53^{+}$ LPC than in $p53^{-}$ LPC after *L. monocytogenes* (strain EGD) infection, although the damage was also found, though in small numbers, in $p53^{-}$ LPC. The apoptosis was found in LPC infected with strain EGD, but not with strain *Δhly*, and that was found in $p53^{+}$, but not $p53^{-}$ LPC. Thus, *L. monocytogenes* caused LPC apoptosis dependently on LLO and *p53*. Our results not only indicate that LLO participates in LPC apoptosis induced by *L. monocytogenes* infection, but also suggest that *p53* plays a central role in this mechanism.

一般-34

クリプトコックス感染防御における1型インターフェロンの役割

松本郁美[1]、佐藤　光[1,2]、山本秀輝[1]、野村俊樹[1]、石井恵子[1]、宇野賀津子[3]、川上和義[1]
[1]東北大院医・感染分子病態解析学、[2]国立病院機構仙台医療センター・ウイルスセンター、
[3]ルイ・パスツール医学研究センター

Role of type 1 interferon in the host defense to cryptococcal infection

Ikumi Matsumoto[1], Ko Sato[1,2], Hideki Yamamoto[1], Keiko Ishii[1], Kazuko Uno[3], and Kazuyoshi Kawakami[1]
[1]Med. Microbiol. Mycol. Immunol., Grad. School Med., Tohoku Univ. [2]Virus Res. Cent., Sendai Med. Cent.
[3]Louis Pasteur Cent. Med. Res.

【目的】

type 1 interferon（IFN）はウイルスの排除に重要なサイトカインとして有名であるが、真菌感染防御における機能はまだ十分に解析されていない。そこで本研究では、エイズなど細胞性免疫の低下した患者に重篤な髄膜炎を引き起こす細胞内寄生真菌の一つである*Cryptococcus neoformans*に対する感染防御への type 1 IFN の役割を解析した。

【方法】①type 1 IFN 受容体欠損（IFNAR1KO）マウス（Prof. Aguet, University Hospital Zürich より供与）及び野生型（WT）マウスを用いた。②*C. neoformans* として B3501 株を用いた。③マウスの気管内へ $1x10^6$ CFU/マウスの B3501 を感染させ、肺生菌数、肺ホモジネート中のサイトカインを測定した。④HE 染色、PAS 染色及び MUC5AC による免疫組織化学染色した感染肺を病理学的に解析した。⑤肺内 RNA を抽出しリアルタイム RT-PCR 法にて各種転写因子の発現を解析した。⑥感染 1 日前、0、3、7 日後に抗 IL-4 抗体を投与し、上記と同様の解析を行った。⑦B3501 感染後の WT マウスに IFN-α を連日経鼻投与し、肺ホモジネート中のサイトカインを測定した。⑧WT マウスより LMNC（肝臓由来単核細胞）を採取し、種々の刺激物と培養後上清中のサイトカインを測定した。

【結果と考察】

WT マウスに比べ IFNAR1KO マウスにおいて以下の所見が得られた。①感染 14 日後の肺内生菌数が有意に減少した。②感染 3 日後の IL-12p70、感染 7 日後の IFN-γ 産生と iNOS mRNA 発現が増加した。③感染 7 日後の IL-4、IL-5、IL-13 産生が増加した。④感染 14 日後の気管支上皮細胞からのムチン産生が増加し、MUC5AC mRNA の発現が増加した。また、免疫組織化学染色では MUC5AC 陽性細胞が増加した。⑤IFNAR1KO マウスで増加していたムチン産生および MUC5AC mRNA 発現増加は抗 IL-4 抗体投与によって抑制された。また、IFN-αA/D の投与によって感染 14 日後の IFN-γ、IL-4 の産生が抑制された。WT マウス由来の LMNC を α-galactosylceramide（α-GalCer）で刺激することで産生された IFN-γ および IL-4 は IFN-αA/D 濃度依存的に抑制された。

C. neoformans 感染において type 1 IFN のシグナルを阻害することで、Th1 応答の亢進による免疫学的な菌の排除および、Th2 応答の亢進による機械的な菌の排除の協調作用によって菌の排除がより亢進した可能性が考えられた。また、type 1 IFN が NKT 細胞の活性化を抑制することで *C. neoformans* 感染防御において負の制御に関わる可能性が示唆された。

一般-35

クリプトコックス感染防御における IL-17A の役割

野村俊樹[1], 佐藤　光[1], 山本秀輝[1], 松本郁美[1], 石井恵子[2], 岩倉洋一郎[2], 川上和義[1]
[1]東北大院医・感染分子病態解析学、[2]東京理科大・生命医科学研・実験動物学

Role of IL-17A in the host defense to cryptococcal infection

Toshiki Nomura[1], Ko Sato[1], Hideki Yamamoto[1], Ikumi Matsumoto[1], Keiko Ishii[1], Yoichiro Iwakura[2], and Kazuyoshi Kawakami[1] : [1]Med. Microbiol. Mycol. Immunol., Grad. School Med., Tohoku Univ.
[2]Exp. Anim. Immunol., Tokyo Univ. Sci.

【目的】

近年、IL-17A は炎症性サイトカインとして認識され、Th17 細胞のみならず γδT 細胞など自然免疫リンパ球からも産生される。これまで自己免疫疾患との関連で注目されてきたが、その好中球集積への関与から、細胞外増殖細菌やカンジダに対する感染防御に重要な役割を担うことが明らかにされている。一方で、細胞内増殖細菌である結核菌やリステリア菌に対する感染防御における IL-17A の重要性も報告されているが、細胞外増殖菌ほどには十分に解明されていない。本研究では、細胞内増殖真菌であるクリプトコックスに対する感染防御での IL-17A の役割について解析を行った。

【方法】

IL-17A 欠損（KO）マウスと野生型（WT）として C57BL/6 マウスを用いた。*Cryptococcus neoformans* B3501 株（$1x10^6$/マウス）を直接気管内に接種し肺感染モデルを作製した。感染後の肺内生菌数を調べ、病理学的解析を行った。肺内におけるサイトカイン産生を ELISA 及びリアルタイム PCR で解析し、その産生細胞についてはフローサイトメトリーを用いて検討した。感染後の肺内におけるムチン産生についても解析を行った。

【結果・考察】

以下の結果が得られた。1) IL-17AKO マウスでは WT マウスと比較して、感染 14 日、28 日後の肺内生菌数の有意な減少が観察された。2) 病理学的解析では、両群間で明らかな炎症像の相違はなく、PAS 染色にて検出される気管支上皮細胞からのムチン産生にも明らかな差はみられなかった。3) IL-17AKO マウスでは、肺内における IFN-γ 産生と、iNOS mRNA 発現の有意な増加が観察された。4) 3)の結果と一致して、感染 3 日後の肺内における IL-12p35、T-bet の発現増加、7 日後の $IFN\text{-}\gamma^+CD4^+T$ 細胞数の増加、所属リンパ節細胞の抗原再刺激による IFN-γ の産生増加が観察された。5) 一方、IL-4 産生、GATA3 発現、$IL\text{-}4^+CD4^+T$ 細胞数には影響はみられなかった。

これらの結果から、IL-17A はクリプトコックス感染後の IFN-γ 産生を抑制することで感染防御を負に制御している可能性が示唆された。これまで、クリプトコックス感染防御は Th1-Th2 バランスをもとに理解されてきたが、今後 Th17 を含めた解析が必要であると考えられた。

一般-36

アユにおける抗原特異的二次免疫応答の解析

大谷　啓貴、古澤　修一
広島大・免疫生物学

Analyses of secondary immune response in Ayu *Plecoglossus altivelis*

Hiroki Ohtani & Shuichi Furusawa
[1] _ Hiroshima Univ. .

【目的】

アユ、*Plecoglossus altivelis* の液性免疫機構おける免疫記憶機構や抗体の親和性成熟の存在に関しては、未だ明解な報告がなされていない。ほ乳類などで免疫記憶機構や抗体の親和性成熟に関わる胚中心も魚類では確認されておらず、魚類の獲得免疫機構は未だ明らかにされていない部分が多い。以上のような背景から、本研究では、年魚であるアユの獲得免疫機構の基礎的知見を得ることを目的とし、抗原特異的血中抗体の検出系を用いて一次免疫応答および二次免疫応答を観察した。

【方法・結果】

アユ成魚に、FCA アジュバントを用いて TNP-KLH 抗原を腹腔内に免疫し、さらに一次免疫から 5 週間後に FIA アジュバントを用いて腹腔内に二次免疫を行った。免疫前及び免疫後のアユから回収した血清を用いて、TNP-KLH に対するアユ IgM の抗体価を ELISA によって測定した。その結果、免疫後の血清中で IgM の抗体価の上昇が確認された。一次免疫後では、1 週、2 週と抗体価は上昇を続け、3 週後にピークを迎え、4 週以降では減少に向かった。二次免疫後では 1 週後に急激な抗体価上昇を示して一次免疫 3 週後の抗体価と同程度にまで上昇し、免疫 2 週後から抗体価は減少した。

【考察】

獲得免疫は生体防御機構において非常に重要なものであり、生命の維持に大きく関わるものである。これは、常に抗原の暴露にさらされるような環境で生活する魚類にも言えることである。本研究では、アユ腹腔内に TNP-KLH を免疫することにより、免疫アユ血清中の抗原特異的 IgM の抗体価の上昇を確認した。また、ほ乳類などと同様にして、二次免疫応答における抗原特異的抗体の上昇が一次免疫応答の場合よりも早く観察されたことより、アユにおいても免疫記憶機構があることが推察された。しかしながら、ほ乳類などとは異なり、産生された抗体量のピークは一次免疫応答と二次免疫応答で変化が無かった。このことより、アユには免疫記憶機構はあるものの、ほ乳類とは異なった免疫記憶の状態が一次免疫において構築されたものと考えられる。この結果は、今後、抗病性を付与するためにアユにワクチン接種を行う際の重要な知見を提供したといえる。今後は、引き続き ELISA による抗体価の確認を行うとともに、免疫アユの各組織において、免疫組織化学染色、*in situ* hybridization、および real time PCR によって免疫前後での抗体蛋白および抗体遺伝子の動向を観察したいと考えている。

一般-37

IVIG製剤治療抵抗性難治川崎病KDへのインタフェロン適用可能性の実証研究着手－スギ花粉に対する遅延型過敏性疾患と考えられる全身性血管炎 KD はインフルエンザ(flu)の流行期、発症が抑制される知見を活用するfluワクチン投与によるKD発症抑制・遅延効果の検討、更にはインタフェロン製剤治療法導入による難治KD治療剤選択肢の新たな提供－

粟屋　昭[1, 2, 3]

1 皮膚科学疫学研究所(横浜市・戸塚)、2(独)理研横浜研究所、3(独)科学技術振興機構

【背景】皮膚を太陽の光・熱energyから、生体内各組織細胞をROS関与energy等から防御し、生体防御上、著者が重要と考えるmelanin合成代謝系の、活性の程度が、例えばアレルギー体質(アレルギー傾向)であるかどうかの parameter であることを 2002 年以来、著者は報告してきた。「花粉惹起(誘導)疾患(Pollen-Induced Diseases・PID)であるアレルギー性鼻炎・結膜炎(花粉症)やKDと、喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー等アレルギー疾患患者、更にはパーキンソン病患者や難聴者の皮膚状態はおとなしく、ほくろの殆どない人・ほくろ生成系の弱い人が大多数である」という知見がその根拠である。著者はまた、91～02 年の神奈川県 KD 患者 6 千人以上の月別発症数と国立相模原病院観測花粉飛散数の月別合計との交差相関解析と回帰解析等が示す、2者の有意な相関性から、全身性血管炎KDが遅延型過敏性疾患であると想定した。更にKDの年間発症パターンの特徴が 12 月、1 月にpeakを持ち、3～8 月に高原状態をなし、2月の急激な一過的減少がflu流行最盛期と一致することを東京都でも指摘してきた。その後、09 年初めの過去最大の患者数が発生した季節性 flu と 09 年夏-秋の新型 flu の大流行の年の年間KD 患者数が大きく減少した事実も確認された。これら現象は花粉再感作によって亜急性的に進行し、BCG 接種跡腫脹を同時に伴って全身性血管炎の発症に至る遅延型過敏反応の亢進が、flu 不顕性感染やflu流行環境雰囲気により抑制されることを示唆するもので、fluワクチン接種はKD発症抑制・遅延という思わぬ効果をもたらしている可能性も想定され、BCG接種動物でのflu感染実験を目指したが、flu感染を経ずに直接、Ｉ型IFNの投与を行う方法で代替する方が感染施設が無いlaboでは現実的と考えられた。現在 KD の治療標準法は IVIG 製剤＋aspirin であるが、IVIG 不応例等治療難渋の症例が 20%近くが存在し、炎症を抑える目的で苦し紛れに?近年上市された高価な抗体生物製剤の転用が行われてきている。上記の知見を斟酌すると、より安価な歴史の古いIFNを積極的にKD治療に応用することが妥当であるかどうか考慮されて良い。Ｉ型IFNのKDへの適応にあたって、花粉感作KD発症モデルの作製は懸案であるが、KD発症と同時に発生するBCG接種跡腫脹現象のIFNによる抑制現象を単独で実証するとともに、血管障害部位へのIFNの薬理学的・生物学的効果も検証されれば、IFNの難治KD症例への応用に弾みがつくと考えた。【解析結果・課題】KD 発症時に特徴的な冠動脈の瘤形成とそれに伴うハイポキシア・虚血および血流障害をＩ型IFNが改善・修復する可能性を検討したところ、多発性硬化症治療に古くから臨床適応されている IFN-βは、神経細胞のみならず脳血管系への作用も知られ、一方オランダおよび北欧の研究者らが独立に、心血管系虚血モデルでの IFN-βの作用・効果を実験的に明らかにしている。著者の知見であるflu流行期におけるKD発症抑制現象に基づき、fluワクチン接種によるflu予防以外にKD発症の抑制・先延ばし効果が予測され、また、冠動脈瘤形成過程での虚血障害防護を想定させるIFN-βの実験結果から、IVIG製剤不応例での第1選択治療法としてIFN-β 等1型IFNの適応が期待される。

一般-38

高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチンの効果

○上野 圭吾[1]、大久保 陽一郎[2]、清水 公徳[3]、金子 幸弘[4]、浦井 誠[1]、水口 裕紀[1]、奈良 拓也[1]
川本 進[3]、大野 秀明[1]、澁谷 和俊[2]、宮﨑 義継[1]、金城 雄樹[1]
[1] 国立感染研・真菌部、[2] 東邦大・医・病院病理
[3] 千葉大・真菌研・病原機能、[4] 大阪市立大院・医学研・細菌学

Dendritic cell-based immunization for highly virulent fungus *Cryptococcus gattii* induces IFNγ producing T cell and ameliorates pulmonary infection

Keigo Ueno[1], Yoichiro Okubo[2], Kiminori Shimizu[3], Yukihiro Kaneko[4], Makoto Urai[1], Yuki Mizuguchi[1], Takuya Nara[1]
Susumu Kawamoto[3], Hideaki Ohono[1], Kazutoshi Shibuya[2], Yoshitsugu Miyazaki[1], and Yuki Kinjo[1]
[1] Dept. Chemo. Myco., NIID, [2] Dept. Surg. Patho., Toho Univ.,
[3] MMRC, Chiba Univ., [4] Dept. Bacteriol., Grad. School of Med., Osaka City Univ.

【目的】 病原性真菌 *Cryptococcus gattii* (*Cg*)によるクリプトコックス症は、 1999 年以降、カナダのバンクーバー島周辺で死亡例を含む症例が多数報告され、国内でも症例が報告されている。ある報告によれば、流行地での罹患率は人口 10 万人あたり 3.8 人であり、致死率は 20%という報告もある。北米流行型 *Cg* (R265 株)は、感染後も目立った免疫応答を誘導せずに感染を進展させるのが特徴であり、旧来の原因菌よりも高病原性であることが指摘されている。しかしながら、感染後に誘導される免疫応答が乏しいために、感染排除に必要な免疫応答は殆ど明らかにされていない。本研究の目的は、本菌の感染防衛に必要な免疫応答を明らかし、感染予防や治療に資する科学的知見を集積することである。

【方法】 樹状細胞 (DC) ワクチンは、抗原を取り込ませた DC を宿主に移入する方法で、抗原特異的 T 細胞を効率よく誘導する有用な方法である。本研究では、マウスの骨髄由来樹状細胞(BMDC)に莢膜欠損型の *Cg* (CAP60Δ)を取り込ませて CAP60Δ/DC ワクチンとした。 DC ワクチンは、感染 14 日前と 1 日前に経静脈投与し、3 x 10^3 cfu/mouse の R265 株を経気道感染させ感染後の臓器内菌数及び生存率を評価した。

【結果・考察】 BMDC は R265 株を殆ど貪食できないが、CAP60Δを効率よく貪食できることが明らかになった。またその際に CD40, CD86, I-Ab を発現する集団が増加し、IL-12p40 が産生されることも明らかになった。これらの結果は、DC が *Cg* を認識する際に、莢膜成分は負に作用していることを示している。次に、CAP60Δを DC に取り込ませて CAP60Δ/DC ワクチンとした場合、ワクチン投与群では非投与群に比べると感染 14 日後の肺内菌数は有意に低下し生存期間は有意に延長した。この菌体排除効果は、死菌単独をワクチンとした場合では殆ど効果がなく、R265/DC ワクチンよりも CAP60Δ/DC ワクチンの方が有意に優れていた。CAP60Δ/DC ワクチン投与群では、IFNγ を産生する CD4 T 細胞や CD8 T 細胞が、感染後 14 日目の脾臓や気管支リンパ節で有意に増加しており、肺内の IFNγ も有意に増加した。これらの結果は、IFNγ を介した免疫応答が *Cg* の感染排除に寄与することを示唆している。

一般-39

急性肺障害における Claudin-4 遺伝子欠損の影響

渡邉祐里絵[1], 外山真彦[1], 青柳哲史[2], 石井恵子[1], 賀来満夫[2], 田村　敦[3], 月田早智子[3], 川上和義[1]
[1]東北大院医・感染分子病態解析学、[2]感染制御検査診断学、[3]阪大院医・分子生体情報学

Effect of Claudin-4 genetic disruption on the development of acute lung injury

Yurie Watanabe[1], Masahiko Toyama[1], Tetsuji Aoyagi[2], Keiko Ishii[1], Mitsuo Kaku[2], Atsushi Tamura[3], Sachiko Tsukita[3], and Kazuyoshi Kawakami[1]: [1]Dept. Med. Microbiol. Mycol. Immunol., [2]Dept. Infect. Cont. Lab. Diag., Grad. School Med., Tohoku Univ. [3]Lab. Biol. Sci., Grad. Med., Osaka Univ.

【目的】

肺炎などにともなって起こる急性肺障害（ALI）では、急激な炎症により透過性の高まった血管から炎症細胞や液性成分が肺胞上皮細胞間隙を経て肺胞腔へ浸出する。一方、生理的状態では、肺胞上皮細胞間のタイトジャンクション（TJ）がバリアとなり、恒常的に呼吸スペースが確保されている。近年、TJ の分子機構の研究が急速に進展し、その構築に重要な分子群が見出されており、その中で Claudin は中心的な役割を担っている。Wray らは、マウスを用いた人工換気による圧損傷によって惹起される ALI への Claudin-4 の関与を示唆する報告を行った（Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 297: L219-27, 2009）。本研究では、Claudin-4 遺伝子欠損（KO）マウスを用いることで、LPS の気管内投与による ALI の病態における Claudin-4 の役割について解析を実施した。

【方法・結果】

ALI モデルを作製するために、マウスの気管内に LPS（50μg/マウス）を投与した。また、LPS 投与の 24 時間前に α-galactosylceramide（α-GalCer）（1μg/マウス）を投与することで劇症型 ALI（F-ALI）モデルを作製した（Int. Immunol. 23: 97-108, 2011）。肺内での経時的な Claudin-4 mRNA の発現をリアルタイム PCR にて解析した。Claudin-4KO マウス及び野生型（WT）マウスを用いて ALI、F-ALI モデルを作製し、生存率、肺湿乾重量比、肺病理所見、気管支肺胞洗浄液（BALF）中の炎症細胞、タンパク濃度、サイトカイン濃度について検討した。

ALI モデルでは、LPS 投与 6、24、48 時間後で Claudin-4 の発現が増加を示した。一方、F-ALI モデルでは、ALI モデルと比較して LPS 投与 6 時間後で Claudin-4 の発現が顕著に亢進した。Claudin-4KO マウスと WT マウスを用いて ALI、F-ALI モデルを作製し、生存率、肺湿乾重量比、肺病理所見、肺障害スコア、気管支肺胞洗浄液（BALF）中の白血球数及び好中球、マクロファージ、リンパ球数、タンパク濃度、そして IL-1β、IL-6、TNF-α、IFN-γ 濃度を解析したところ、両マウス間で有意な差は認められなかった。

【考察】

ALI、F-ALI モデルにおいて、肺内の Claudin-4 mRNA 発現が亢進したことから、これらの病態における関与が予想されたが、Claudin-4KO マウスを用いた検討ではいずれのモデルにおいても肺障害の指標に有意な差はみられず、本分子の明確な関与を示すことはできなかった。今後は、Claudin-18 など他の TJ 分子についても検討する必要があると考えられた。

一般-40

Aspergillus oryzae 由来 RolA による免疫回避とステルスナノ粒子開発への応用

石井恵子[1], 渡邉祐里絵[1], 松村香菜[1], 笛　未崎[1], 高橋　徹[2], 村垣公英[3], 佐藤大貴[3], 阿部敬悦[2,3], 高見誠一[4], 阿尻雅文[2,4], 冨樫貴成[5], 川上和義[1]

[1]東北大・院医、[2]NICHe、[3]院農、[4]多元研、[5]山形大・理・物質生命科学

Immune evasion by RolA from *Aspergillus oryzae* and its application for a novel stealth nano-particle

Yurie Watanabe[1], Keiko Ishii[1], Kana Matsumura[1], Misaki Fue[1], Toru Takahashi[2], Kimihide Muragaki[3], Daiki Sato[3], Keietsu Abe[2,3], Seiichi Takami[4], Tadafumi Adschiri[2,4], Takanari Togashi[5], and Kazuyoshi Kawakami[1] :

[1]Grad. Sch. Med., [2]NICHe, [3]Grad. Sch. Agric. Sci., [4]IMRAM, Tohoku Univ. and [5]Fac. Sci., Yamagata Univ.

【目的】

微生物には、生存戦略として宿主免疫による排除から免れるための回避機構を有する場合がある。近年、病原真菌である*Aspergillus fumigatus*において、胞子表層の両親媒性タンパク質であるhydrophobin（RodA）が宿主免疫回避機能を有することが報告された（*Nature 460: 1117, 2009*）。一方、阿部らは産業糸状菌である麹菌*A. oryzae*のhydrophobin（RolA）がポリエステル表面に結合してポリエステラーゼをリクルートして分解を促進する研究、およびRolAの材料表面への吸着に関する研究を行っていた。本研究では、*A. fumigatus* RodAのorthologueであるRolAの免疫回避機能について解析するとともに、阿尻らが開発中の自在なサイズコントロールが可能で水良分散性を有する酸化鉄ナノ粒子をRolAで被覆することで新たなステルスナノ粒子開発への応用を試みている。

【方法】

RolAは、麹菌遺伝子組み換え体により高発現させた後に精製し（*Mol. Microbiol. 57: 1780, 2005*）、ポリミキシンビーズで混入するLPSを除去した。酸化鉄（Fe3O4）ナノ粒子（平均粒径200nm）は高温熱水反応により合成し（*Dalton Trans. 40: 1073, 2011*）、緩衝液中でRolAにて被覆した。精製RolAおよびRolA被覆酸化鉄ナノ粒子について、C57BL/6マウスより調製した骨髄樹状細胞（BM-DC）でIL-12p40、TNF-α産生能を、マクロファージRAW264.7細胞を酸化鉄ナノ粒子と培養し貪食能を観察した。また、酸化鉄ナノ粒子をマウスに静脈投与し、網内系への取り込みをMRIにて解析した。

【結果と考察】

BM-DCを用いてサイトカイン産性能を評価した結果、 RolAおよびRolA被覆酸化鉄ナノ粒子は、IL-12p40、TNF-αともに産生を誘起しなかった。さらに、RolA被覆酸化鉄ナノ粒子では、非被覆酸化鉄ナノ粒子に比べ、RAW264.7細胞による貪食が低下していた。また、RolA被覆酸化鉄ナノ粒子では、非被覆酸化鉄ナノ粒子に比べ、静脈投与後の肝臓及び脾臓への取り込みが低下していた。

以上の結果から、RolA被覆酸化鉄ナノ粒子は、医療用ナノ粒子に必要なステルス能を有すると考えられた。

一般-41

ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのカンジダ死菌肺炎重篤化機構

荒谷康昭[1]、本目みずき[1]、三浦典子[2]、大野尚仁[2]
[1]横浜市大院・生命ナノシステム科学、[2]東京薬大・薬

Myeloperoxidase deficiency in mice exacerbates lung inflammation induced by nonviable *Candida albicans*

Yasuaki Aratani[1], Mizuki Homme[1], Noriko Miura[2], and Naohito Ohno[2]
[1]Grad. School Nanobiosci., Yokohama City Univ., [2]Dept. Pharm., Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.

【目的】

ミエロペルオキシダーゼ(MPO)は好中球のみに存在し、過酸化水素から次亜塩素酸への反応を触媒する。MPO 欠損マウス(MPO$^{-/-}$マウス)は、カンジダ菌に易感染性を示して重篤な肺炎を発症するだけでなく、カンジダ死菌に暴露されるだけでも肺炎が重篤化することを一昨年の本大会で報告した。本研究は、その肺炎重篤化のメカニズムを解明することを目的とした。

【方法・結果】

MPO$^{-/-}$マウスにカンジダ死菌を経鼻投与すると、野生型マウスに比べて好中球性の重篤な肺炎を発症することが、組織像と FACS 解析から明らかになった。MPO$^{-/-}$マウスの肺では MIP-2 と KC 量が一過的に高値を示したこと、および抗 MIP-2 抗体と抗 KC 抗体をカンジダ死菌と同時投与することによって肺炎が緩和されたことから、両ケモカインの過剰産生が MPO$^{-/-}$マウスの肺炎重篤化の一因であると考えられた。次に、これらのケモカインの産生源を特定するために、肺胞マクロファージおよび単離好中球をカンジダ死菌で刺激し、mRNA 量をリアルタイム PCR で解析した結果、MPO$^{-/-}$好中球からの MIP-2 遺伝子発現量が野生型よりも有意に高いことが判明した。シグナル伝達系の阻害剤とウェスタンブロット法を用いて MIP-2 の産生機序を解析した結果、MIP-2 は Syk/ERK/NF-kB 経路を介して産生され、カンジダ死菌の刺激を受けた MPO$^{-/-}$好中球では、Syk、ERK1/2、NF-kB のすべての活性が野生型マウスよりも顕著に高いことが判明した。

【考察】

以上のことから、MPO$^{-/-}$好中球における Syk/ERK/NF-kB 系の過剰な活性化が、MPO$^{-/-}$マウスの肺炎重篤化の一因であると考えられた。

生体防御学会賛助会員（五十音順）

株式会社中嶋製作所
388-8004
長野県長野市篠ノ井会３３

株式会社ヤクルト本社中央研究所
186-8650
東京都国立市谷保１７９６

高信化学株式会社
370-0072
群馬県高崎市大八木町８０１番地

ハウスウェルネスフーズ株式会社
664-0011
兵庫県伊丹市鋳物師３丁目２０番地

ミルテニーバイオテク株式会社
35-0041
東京都江東区冬１６−１０

和光純薬工業株式会社
103-0023
東京都中央区日本橋本町４－５－１３

技術と信頼のブランド ナカマチック®

STEP by Step　～現在・過去・未来～
『大切な事』それは、『努力』しつづけること

私たちは、大正１０年に創業して以来、畜産施設、
機械器具の製造・販売のリーディングカンパニー
として『食の安全・安心』を守ってきました。

そして、これから農業全体の変革が必要となっていく時代の中、
養鶏・養豚をはじめとした日本の畜産業に欠かせない様々なシステムを
開発・製造し続け、日本のみならず世界の食産業の発展に貢献し続けます。

明日の畜産界をにな
株式会社 中嶋製作所
URL　http://www.nakamatic.co.jp

◆ 本社 ・ 工場 〒388-8004 長野市篠ノ井会 33
Tel: 026-292-1203(代) Fax: 026-293-1611
■ 南九州営業所 〒889-1301 宮崎県児湯郡川南町川南
Tel: 0983-27-0210(代) Fax: 0983-27-0207

乳酸菌 シロタ株を飲む。

ヤクルトを飲んで、
乳酸菌 シロタ株のチカラをあなたの中へ。
生きて腸で働き、腸内環境を改善するそのチカラを、
あなたの毎日にもプラスしてみませんか。

ヤクルト400に比べ
甘さひかえめ
カロリー
30%カット

悪い菌を減らす
乳酸菌 シロタ株

人も地球も健康に
Yakult

株式会社ヤクルト本社 中央研究所
〒186-8650 国立市谷保1796　http://institute.yakult.co.jp/

KOSHIN
高信化学株式会社

URL http://www.koshin-chem.co.jp

House

毎日の健康が気になる方へ

ラクトプラン L-137 一般価格 2,857円(税抜)

原材料：マルチトール、コーンスターチ、乳酸菌加熱菌体末、ビタミン C、ナイアシン、ショ糖エステル、ビタミン B2、シェラック、ビタミン B1、ビタミン B6、(原材料の一部に乳成分を含む)

乳酸菌加熱菌体（HK L-137）10mg配合

※この製品には、食品衛生法によるアレルギー物質25品目のうち、**乳成分**を含む原料を使用しています。
※食生活は、主食、主菜、副菜を基本に、食事のバランスを。

“乳酸菌HK L-137”で「守るチカラ」をさらに高めて
日々の健康をサポート!
ラクトプランL-137

「ラクトプランL-137」は、“食”と“健康”のハウスが
長年の研究を経て見つけ出した“乳酸菌HK L-137”に
さらに4種のビタミンB群、ビタミンCを配合。
カラダの中から季節や年齢の変化に負けない「守るチカラ」をサポートします。

ラクトプラン L-137 のお問合せはこちら

お電話
通話無料
ハウスダイレクトお客様センター
0120-854-014（ハウス おいしい）
月曜～金曜 9:00～17:30 土・日・祝・年末年始(12/29～1/3)除く

インターネット
24時間受付OK
ハウスダイレクトホームページ
https://www.house-direct.jp/

試験研究用
MACS
Miltenyi Biotec
ミルテニーバイオテクの
フローサイトメトリーソリューション
Flow Cytometry Solution
高品質 MACS® 抗体
約4000種類のロット間差の少ない
抗体を取り揃えております。
MACS オリジナル蛍光色素・Vio® Dyes と
MACSQuant® Analyzers を組み合わせて
高度な多重染色解析が可能です。
◆ タイトレーション不要
◆ MACS 細胞分離の解析に最適
◆ 染色プロトコール添付
◆ 細胞同定に便利な MACS Control カクテル
● 国内在庫に関しては、最短翌日にお届けします。
超小型・高性能フローサイトメーター
～ MACSQuant® いつも実験の中心に ～
MACS Quant
◆ 10 個の光学検出器を持つ超小型ベンチトップデザイン (60cm×35cm×40cm)
◆ Volumetric 法による細胞の絶対数測定
◆ 自動サンプル測定：チューブ、96 well プレート対応
◆ 濃縮カラムを用いた高感度希少細胞解析
◆ 便利な専用解析テンプレートを収録した高性能 MACSQuantify™ Software
◆ 自動キャリブレーションとコンペンセーション
デモ受付中
ミルテニー
Miltenyi Biotec
ミルテニー バイオテク株式会社
〒135-0041 東京都江東区冬木16-10 NEX永代ビル5F
TEL：03-5646-8910（代） FAX：03-5646-8911
学術的なお問い合せ：03-5646-9606
機器修理のお問い合せ：0120-03-5645
（カスタマーコールセンター）
AM9：00～PM5：00
（土日祝日除く）
【E-mail】macs@miltenyibiotec.jp
【ホームページ】www.miltenyibiotec.co.jp

協賛広告掲載企業･団体（五十音順）

イルミナ株式会社

108-0014

東京都港区芝５−３６−７

URL: http://www.illuminakk.co.jp

株式会社池田理科

101-0044

東京都千代田区鍛治町１−８−６

URL: http://www.ikedarika.co.jp

株式会社国際文献社

162-0801

東京都新宿区山吹町３５８−５

URL: http://www.bunken.co.jp

株式会社シバタインテック

984-0015

宮城県仙台市若林区卸町２−１１−３

URL: http://www.shibataintech.co.jp

株式会社セイミ

981-0933

宮城県仙台市青葉区柏木２−３−２８

URL: http://www.chemie.co.jp

株式会社南部医理科

981-8003

宮城県仙台市泉区南光台４−２８−１５

URL: http://www.nanbu-irika.com

公益財団法人仙台観光コンベンション協会

980-0012

宮城県仙台市青葉区錦町１－３－９

URL：http://www.stcb.or.jp

公益財団法人テルモ科学技術振興財団

259-0151

神奈川県足柄上郡中井町井ノ口１５００

URL：http://www.terumozaidan.or.jp

生化学工業株式会社

100-0005

東京都千代田区丸の内１－６－１

URL：http://www.seikagaku.co.jp

仙台和光純薬株式会社

984-0002

宮城県仙台市若林区卸町東２－２－３２

URL：http://www.sendaiwako.com

東北化学薬品株式会社

036-8655

青森県弘前市大字神田１－３－１

URL：http://www.t-kagaku.co.jp

中山商事株式会社仙台営業所

983-0005

宮城県仙台市宮城野区福室字境３－１２８

URL：http://www.nakayama-co.jp

ナカライテスク株式会社

604-0855

京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町４９８

URL: http://www.nacalai.co.jp

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

105-0014

東京都港区芝２−６−１

URL: http://www.roche-biochem.jp

ハイスループットの規模を デスクトップの簡易性で

NextSeq™ 500 システム

全ゲノム、エクソーム、RNA 解析のための
デスクトップ型次世代シーケンサー

www.illuminakk.co.jp/nextseq

イルミナ株式会社

〒108-0014　東京都港区芝 5-36-7　三田ベルジュビル 22 階
TEL.03-4578-2800　FAX.03-4578-2810

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved.　　本製品の使用目的は研究に限定されます。

illumina®

池田理化
研究機器カタログ

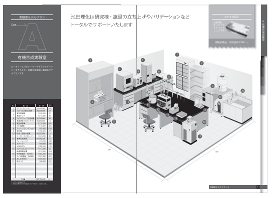
IKEDA RIKA Products Catalog

No.1500 | **2014 ⟫ 2015**

『池田理化研究機器カタログ』好評配布中！

カタログをご希望の方は、最寄りの営業所までご連絡ください。
また、WEB での「総合カタログ請求フォーム」でもお申し込みいただけます。

実験室モデルプラン



WEB カタログ

http://www.ikedarika.co.jp/

株式会社 池田理化

本　　社
東京都千代田区鍛冶町1-8-6神田KSビル　〒101-0044
TEL　03-5256-1811　　FAX　03-5256-1818

仙 台 支 店
宮城県仙台市青葉区上杉1-16-8　〒980-0011
TEL　022-217-7037　　FAX　022-217-7038

八王子支店	TEL: 042-642-0570	高 崎 支 店	TEL: 027-320-7735
鶴 見 支 店	TEL: 045-501-5881	宇都宮支店	TEL: 028-610-3722
横 浜 支 店	TEL: 045-983-0491	三 島 支 店	TEL: 055-975-0975
藤 沢 支 店	TEL: 0466-54-0300	藤 枝 支 店	TEL: 054-644-5551
平 塚 支 店	TEL: 0463-37-4711	名古屋支店	TEL: 052-249-8350
千 葉 支 店	TEL: 043-290-4055	大 阪 支 店	TEL: 06-6136-1255
埼 玉 支 店	TEL: 049-245-7831	岩国営業所	TEL: 0827-21-6701
つくば支店	TEL: 029-836-6611		

◆◆ 新しい学会運営基盤の構築 ◆◆

学会事務局機能強化・編集事務局機能強化・学術講演会事務局機能強化
〜学術情報発信機能強化〜

信 用 ・ 信 頼 ・ 実 績

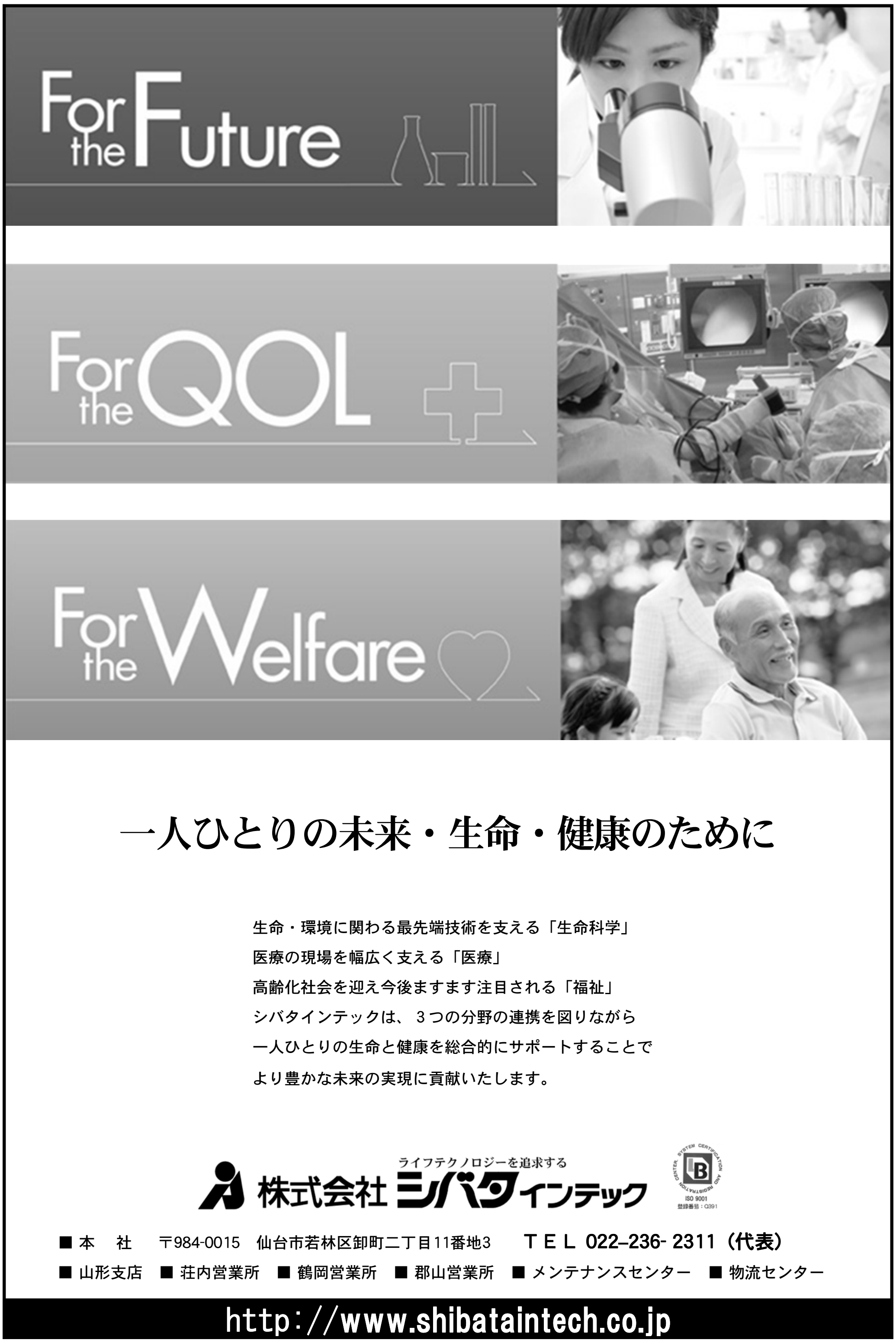
国際文献社

多様な要望に応えられる経験豊富な業務実績，慣習見直しと財務基盤の確立をサポート
学術団体が抱える諸問題を解決，学術研究団体の発展・学術振興を総合的にサポート
学術領域において市場価値の高いコアコンピタンスを身につけたスタッフが、諸問題に対し適切に対応します

新しい学会運営基盤の構築

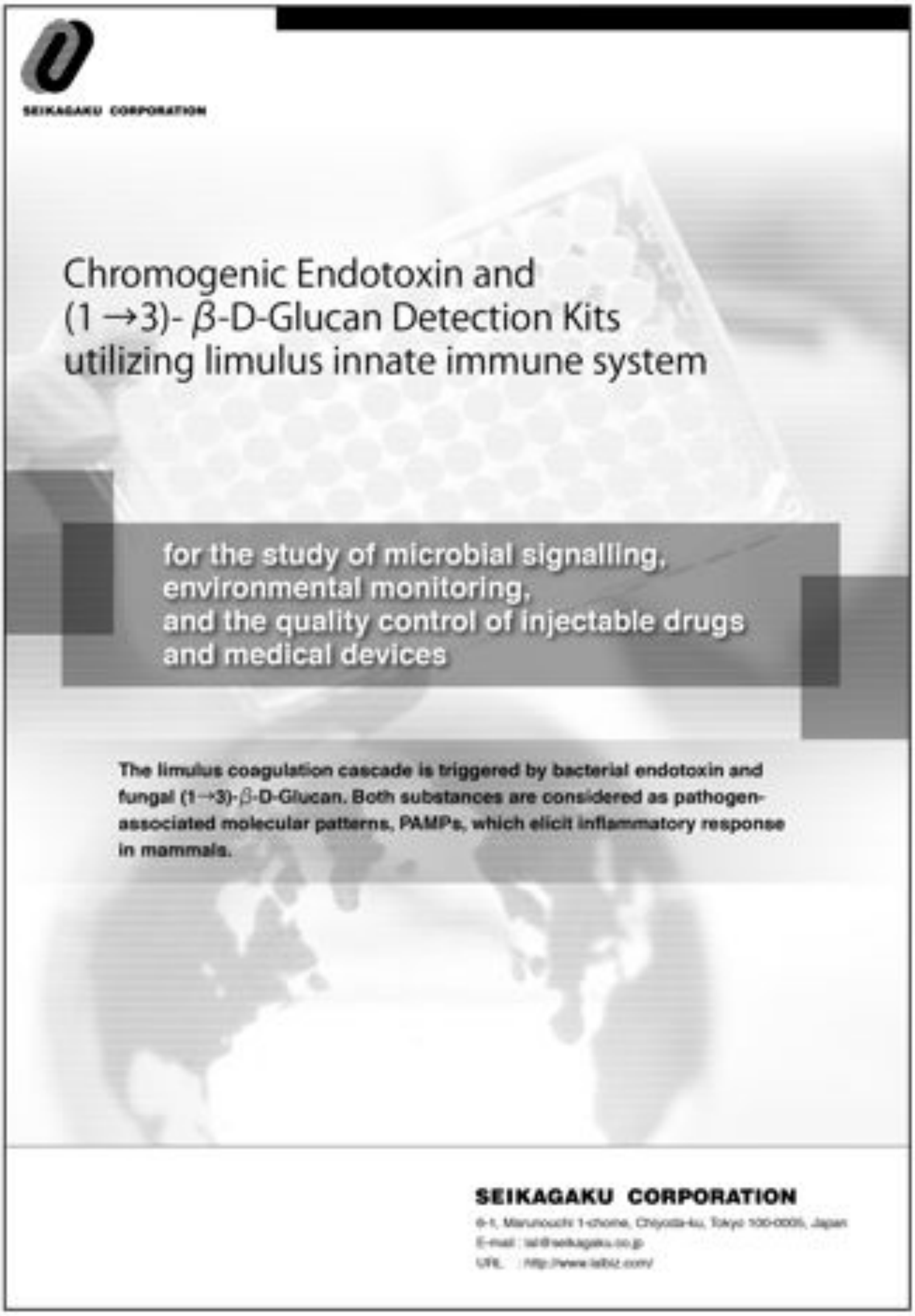
研究活動の活性化

お問い合わせ：株式会社 国際文献社
162-0801 東京都新宿区山吹町358-5 Tel. 03-3362-9741 E-mail: sales@bunken.co.jp


For the Future
For the QOL
For the Welfare
一人ひとりの未来・生命・健康のために
生命・環境に関わる最先端技術を支える「生命科学」
医療の現場を幅広く支える「医療」
高齢化社会を迎え今後ますます注目される「福祉」
シバタインテックは、３つの分野の連携を図りながら
一人ひとりの生命と健康を総合的にサポートすることで
より豊かな未来の実現に貢献いたします。
ライフテクノロジーを追求する
株式会社シバタインテック
ISO 9001
登録番号：Q391
■本　社　〒984-0015　仙台市若林区卸町二丁目11番地3　ＴＥＬ 022-236-2311（代表）
■山形支店　■荘内営業所　■鶴岡営業所　■郡山営業所　■メンテナンスセンター　■物流センター
http://www.shibataintech.co.jp

Leica
MICROSYSTEMS
Leica TCS SP8 STED
with Gated Technology
New
Leica STEDがさらに進化。超解像顕微鏡は次のステージへ。
50nm以下の分解能と
より低いSTED光による超解像イメージングを実現
ライブセルの観察に最適な超解像レーザー顕微鏡システム
・マルチカラー対応の共焦点レーザー顕微鏡ベース
・光学的に超解像を実現する唯一の技術
・一般的な蛍光色素や蛍光タンパクを使用可能
・STEDシリーズからアップグレード可能
Confocal
Gated STED
東北地区販売代理店 株式会社南部医理科
仙台支店 〒981-8003 宮城県仙台市泉区南光台4丁目28-15
Tel. 022-797-3337 Fax. 022-718-9880
≫URL http://www.nanbu-irika.com ≫E-mail : s-office@nanbu-irika.com
岩手（本社）・弘前・八戸・秋田・山形・郡山
Leica
ライカ マイクロシステムズ株式会社

人々が生命にかける夢を持ち続ける限り、
テクノロジーは歩みつづけます。
私たちは生命科学のサポーターです。
地球に人が存在する限り生命科学の発展は人類の大きな夢の一つです。
“セイミ”は最新の研究機器と試薬を通じて
「明日の生命への夢」を追求し
過程で信頼ある理想的なパートナーを目指します。
生命科学のサポーター
SEIMI 株式会社セイミ
TEL 022-233-1717 FAX 022-233-1725
TEL 0235-29-0461 FAX 0235-29-0460
ホームページ http://www.chemie.co.jp


Chromogenic Endotoxin and
(1 →3)- β-D-Glucan Detection Kits
utilizing limulus innate immune system
for the study of microbial signalling,
environmental monitoring,
and the quality control of injectable drugs
and medical devices
The limulus coagulation cascade is triggered by bacterial endotoxin and fungal (1→3)-β-D-Glucan. Both substances are considered as pathogen-associated molecular patterns, PAMPs, which elicit inflammatory response in mammals.
SEIKAGAKU CORPORATION

化学工業薬品分野
Chemical industrial medicine
農業資材分野
Agricultural materials
臨床検査試薬分野
Clinical examination reagent
食品分野
Food
生命システム情報研究所
Research Institute of Bio-System Informatics
臨床検査・研究分野の試薬・消耗品・機器
トータルソリューションを提供する
東北化学薬品株式会社
本社
TEL：0172-33-8131 FAX：0172-33-6800
八戸支店
TEL：0178-43-9236 FAX：0178-44-7629
青森支店
TEL：017-738-4451 FAX：017-738-0278
むつ小川原営業所
TEL：0175-73-2271 FAX：0175-73-2272
秋田支店
TEL：018-824-1201 FAX：018-824-1166
大館営業所
TEL：0186-45-0566 FAX：0186-45-0570
岩手支店
TEL：0197-68-2271 FAX：0197-68-2440
盛岡営業所
TEL：019-614-8800 FAX：019-614-9777
仙台支店
TEL：022-345-4870 FAX：022-345-4495
山形支店
TEL：0237-47-0068 FAX：0237-47-0285
鶴岡営業所
TEL：0235-24-5786 FAX：0235-24-9875
米沢営業所
TEL：0238-24-7622 FAX：0238-24-7667
東京支店
TEL：03-3866-6777 FAX：03-3866-9735
生命システム情報研究所
TEL：019-629-2661 FAX：019-629-2663
東北化学薬品株式会社
TOHOKU CHEMICAL CO., LTD.
TEL 0172-33-8131 FAX 0172-33-6800
http://www.t-kagaku.co.jp/
〒036-8655 青森県弘前市大字神田一丁目3番地の1

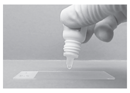
nacalai tesque
The quality for certainty.

蛍光染色用の封入剤

Fluoro-KEEPER Antifade Reagent, Non-Hardening Type

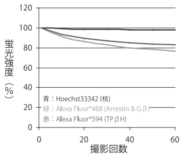
特 長

- さまざまな蛍光色素に対し、優れた退色防止効果を発揮
- 使いやすいドロッパーボトルを採用



実施例

・繰り返し撮影後の蛍光強度の変化



核
Hoecst 33342
Arrestin & G Protein β Subunit(Gβ)
一次抗体 Mouse Anti-planarian Arrestin
Mouse Anti-planarian Gβ
二次抗体 Alexa Fluor® 488 Goat Anti-mouse IgG
Tryptophan β Hydroxylase(TPβH)
一次抗体 Rabbit Anti-planarian TPβH
二次抗体 Alexa Fluor® 594 Goat Anti-rabbit IgG

撮影１回目の蛍光強度を 100% とした時の繰り返し撮影後の各蛍光強度（%）

データご提供：京都大学大学院理学研究科生物科学専攻 高次情報形成学講座 生体情報発生分野 分子発生学分科
阿形 清和 教授 / 井上 武 助教

共焦点レーザー走査型顕微鏡（Olympus FV10）にて蛍光染色を行ったプラナリアを撮影しました。60 回撮影後でも鮮明に検出されています。

ナカライテスク株式会社
〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町498

価格・納期のご照会 フリーダイヤル 0120-489-552
製品に関するご照会 TEL : 075-211-2703 FAX : 075-211-2673
Web site:http://www.nacalai.co.jp

LightCycler®

ハイエンドの性能を、もっと身近に。

長きにわたってリアルタイムPCRで研究のブレイクスルーを担ってきた
ロシュの技術を試してみませんか。
新製品LightCycler® 96は今日の科学技術が求める基準を満たしています。

> スピーディで精度の高い温度制御
> 正確性の高い光学系ユニット
> スマートで直感的なソフトウェアインターフェイス
> 高機能なデータ解析用ソフトウェア

LightCycler® 96は、あなたを研究者のヒーローにします。

詳細はウェブサイトをご覧ください。
www.roche-biochem.jp

LIGHTCYCLER is a trademark of Roche.

本製品はライフサイエンス分野の研究のみを目的としています。
For life science research only. Not for use in diagnostic procedures.

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
AS事業部（研究用試薬・機器）
〒105-0014 東京都港区芝2-6-1
TEL:03-5443-5287 FAX.03-54437098
www.roche-biochem.jp

Roche