

PROCEEDINGS

11th JAPANESE ASSOCIATION FOR DEVELOPMENTAL & COMPARATIVE IMMUNOLOGY

Fukuoka, Japan

August 19 to 21, 1999

---

日本比較免疫学会  
第11回 学術集会講演要旨

---

会期：1999年8月19日(木)～21日(土)

会場：九州大学同窓会館

学術集会会長：九州大学・矢野 友紀

学術集会事務局長：九州大学・中尾 実樹



日本比較免疫学会

—1999—

# 日本比較免疫学会 第11回学術集会

(1999年度)

会期：1999年8月19日(木)，20日(金)，21日(土)

場所：九州大学同窓会館

学術集会会長：九州大学 矢野友紀

学術集会事務局長：九州大学 中尾実樹

## 学術集会日程表

第1日目(19日)	11:00 13:00 13:50  16:40 17:20 18:10	受付開始 学会総会 一般講演 Session A: 節足動物・軟体動物 液性防御因子・血球応答および異物認識 特別講演(1) 特別講演(2) 歓迎会(九州大学同窓会館)
第2日目(20日)	9:00  13:30 14:20 18:00 18:30	一般講演 Session B: 魚類 異物排除・血球および生体防御 招待講演 シンポジウム 記念撮影 懇親会(リーセントホテル)
第3日目(21日)	9:00  10:30  11:35	一般講演 Session C: 原索動物 血球機能と生体防御 一般講演 Session D: 哺乳類 環境・アレルギー・サイトカイン 閉会

## 目 次

学会役員名簿	3
参加者へのご案内	4
講演プログラム 第1日目	5
第2日目	8
第3日目	13
交通のご案内	15
会場の案内図	16
講演要旨 第1日目	17
第2日目	23
第3日目	35
学会賛助会員	39
学会会則	40
学会 (JADCI) の英文案内	42
講演発表者名簿 (Author Index)	44

# 日本比較免疫学会

## 会長・役員名簿

(1999年度)

会長	-----	古田 恵美子	(獨協医科大学)
副会長	-----	和合 治久	(埼玉医科大学短期大学)
庶務・会計	-----	田中 邦男	(日本大学)
(補助役員)	-----	宍倉 文夫	(日本大学)
		大竹 伸一	(日本大学)
		阿部 健之	(日本大学)
プログラム委員	-----	小林 睦生	(国立感染症研究所)
		和合 治久	(埼玉医科大学短期大学)
(補助役員)	-----	木村 美智代	(埼玉医科大学短期大学)
抄録委員	-----	山崎 正利	(帝京大学)
会計監査	-----	渡邊 浩	(東京家政学院筑波女子大学)
		茂呂 周	(日本大学)

学会事務局：〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1

日本大学医学部生物学教室内

TEL：03-3972-8111 (内)2291

FAX：03-3972-0027 (庶務課)

E-mail：jadcitnk@med.nihon-u.ac.jp

# 参加者へのご案内

## 1. 総会および講演会場

九州大学同窓会館

(九州大学医系キャンパス内、福岡市東区馬出3丁目1-1、TEL:092-642-2896)

\*車でのご来場はご遠慮下さい。

## 2. 受付

学術集会関係の受付事務は、九州大学同窓会館にて19日午前11時より行います。

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

学会への入会手続き、学会費の納入も併せて行います。

## 3. 参加費

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

## 4. 懇親会費

第2日目(20日)午後6時30分より懇親会を行います。(場所:リーセントホテル)

会費は3500円です。

\*歓迎会は九州大学同窓会館にて行います。

## 5. 記念撮影

第2日目(20日)のシンポジウム終了後に参加者全員の記念撮影を行います。

## 6. 一般講演の発表

a) 1講演あたり20分(講演時間16分、質疑応答4分)を厳守して下さい。

b) 図表の説明には、スライド(35mm版、5cm角枠付き)を使用し、1演題につき20枚以内と致します。スライドを映写させる位置に置き(画面は倒立)、その枠の右上に講演番号、氏名、映写順序番号を必ず記入して下さい。講演開始40分前までにスライドを受付に提出して下さい。講演終了後、受付にて各自お受け取り下さい。

講演プログラム  
(PROGRAMME)

第1日目 (8月19日 : August 19)

- 11:00 受付開始 (Registration)  
13:00 学会総会 (General meeting)  
13:30 休憩 (Coffee break) (20分間)

一般講演 (GENERAL LECTURE)

Session A : 節足動物・軟体動物 (Arthropoda and Mollusca)

液性防御因子・血球応答および異物認識

(Humoral Defense Factors, Hemocytic Reaction and Recognition of Foreignness)

座長 : 近藤昌和 (Kondo, M.) (水産大学校)

- A 1 13:50 °池田 満 (東京農工大学) 佐々木年則・小林睦生 (国立感染症研究所)  
(Ikeda, M., Sasaki, T. and Kobayashi, M.)  
マラリア感染蚊におけるヒートショック蛋白質 (HSP) の誘導  
(Induction of heat shock protein (HSP) in the midgut of mosquito infected with malaria)
- A 2 14:10 °小林睦生・佐々木年則・斉藤典子・安居院宣昭 (国立感染症研究所)  
(Kobayashi, M., Sasaki, T., Saito, N. and Agui, N.)  
蚊体液中の溶血活性が与える赤血球表面微細構造への影響  
(Ultrastructural changes on the surface of human red blood cells caused by hemolytic activity  
in the mosquito hemolymph)

座長：木村美智代 (Kimura,M.) (埼玉医科大学短期大学)

A 3 14 : 30 °佐々木年則・小林睦生・安居院宣昭 (国立感染症研究所)

(Sasaki,T., Kobayashi,M. and Agui,N.)

蚊におけるマラリア原虫認識レクチン cDNA の解析

(The analysis on malaria binding lectin cDNA from mosquitoes)

A 4 14 : 50 °藤條純夫 (佐賀大学) 長沼文彦・荒川賢良・横尾暢也 (アース環境サービス)

(Tojo,S., Naganuma,F., Arakawa,K. and Yokoo,S.)

ハチミツガ体液における顆粒細胞およびプラズマ細胞両者の食食反応への関与

(Involvement of both granular cells and plasmatocytes in phagocytic reaction in *Galleria mellonella*)

A 5 15 : 10 Lee,Bok Luel(Pusan National University)

Molecular cloning and functional properties of three early-staged encapsulation-relating proteins from the coleopteran insect, *Tenebrio molitor* Larvae

座長：佐々木年則(Sasaki,T.) (国立感染症研究所)

A 6 15 : 30 °近藤昌和・山本明子・高橋幸則 (水産大学校) 藤井玲子・友永 進 (山口大学)

(Kondo,M., Yamamoto,A., Takahashi,Y., Fujii,R. and Tomonaga,S.)

クルマエビ血球の分類

(Classification of kuruma prawn hemocytes)

A 7 15 : 50 °近藤昌和・高橋幸則 (水産大学校) 藤井玲子・友永 進 (山口大学)

(Kondo,M., Takahashi,Y., Fujii,R. and Tomonaga,S.)

クルマエビのリンパ様器官の構造と異物捕捉能

(Structure and phagocytic ability of the lymphoid organ in kuruma prawn)

A 8 16:10 〇瀬尾直美（東京医科大学）古田恵美子・山口恵一郎（獨協医科大学）  
（Seo,N., Furuta,E. and Yamaguchi,K.）  
陸棲軟体動物チャコウラナメクジの皮膚移植片の運命  
（Fate of transplanted skin grafts from the terrestrial slug）

16:30 休憩（Coffee break）（10分間）

### 特別講演（SPECIAL LECTURE）

座長：友永 進(Tomonaga,S.)(山口大学)

SL 1 16:40 岡本信明（東京水産大学）(Okamoto,N.)  
ニジマス<sup>1</sup>の連鎖地図と I P N 耐病性に関する Q T L 解析  
（Genetic linkage map for rainbow trout and the analysis of QTLs for infectious pancreatic necrosis）

座長：山崎正利(Yamazaki,M.)（帝京大学）

SL 2 17:20 中西照幸（水産庁養殖研究所）(Nakanishi,T.)  
魚類の細胞障害性反応における M H C 拘束  
（MHC restriction in cell-mediated cytotoxicity in fish）

18:10 歓迎会（九州大学同窓会館）(Welcome party)

## 第2日目 (8月20日 : August 20)

### 一般講演 (GENERAL LECTURE)

#### Session B : 魚類 (Fish)

異物排除・血球および生体防御 (Elimination of Foreignness, Hemocytes and Host Defense)

座長 : 飯田貴次 (Iida, T.) (宮崎大学)

B 1 9 : 0 0 °八幡詩乃 (千葉大学) 中村弘明 (東京歯科大学) 菊池慎一 (千葉大学)

(Yahata, S., Nakamura, H. and Kikuchi, S.)

ハゼ科魚類ドロメの腹腔内に投与された粒子性異物の隔離と排除

(Retension and elimination of intraperitoneally injected particulate materials in the gobiid fish,

*Chasmichthys gulosus*)

B 2 9 : 2 0 °宇佐美剛志・末武弘章・大久保範聡・鈴木 譲・会田勝美 (東京大学大学院)

(Usami, T., Suetake, H., Okubo, K., Suzuki, Y. and Aida, K.)

コイ末梢血白血球における生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の存在

(Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in carp leukocyte)

座長 : 中村弘明 (Nakamura, H.) (東京歯科大学)

B 3 9 : 4 0 °松山知正・黒木順子 (鹿児島大学) 飯田貴次 (宮崎大学)

(Matsuyama, T., Kurogi, J. and Iida, T.)

コルチゾールによるテラピア好酸性顆粒球の脱顆粒抑制

(Inhibitory effect of cortisol on the degranulation of eosinophilic granular cells)

B 4 10:00 °森友忠昭・井上孝正・田村有美・藤野 洋・間宮幸子・南 愛 (日本大学)  
(Moritomo,T., Inoue,T., Tamura,Y., Fujino,H., Mamiya,S. and Minami,A.)  
哺乳類以外の脊椎動物における自動血球計測システムの検討  
(Automated blood cell counting for lower vertebrate)

10:20 休憩 (Coffee break) (10分間)

座長：中尾実樹(Nakao,M.) (九州大学)

B 5 10:30 °中村 修・渡辺 翼・神谷久男 (北里大学) 村本光二 (東北大学)  
(Nakamura,O., Watanabe,T., Kamiya,H. and Muramoto,K.)  
免疫組織化学によるマアナゴ皮膚粘液レクチンの検出  
(Immunohistochemical demonstration of the lectin containing cells in the skin of adult and  
larvae of conger eel, *Conger myriaster*)

B 6 10:50 °田角聡志・川添一郎・大平 剛・末武弘章・川端孝一・中谷操子・鈴木 譲  
会田勝美 (東京大学大学院)  
(Tasumi,S., Kawazoe,I., Ohira,T., Suetake,H., Kawabata,K., Nakaya,M., Suzuki,Y. and  
Aida,K.)  
ウナギ体表粘液に存在する 16.1kDa レクチンの精製および生化学的解析  
(Purification and biochemical characterization of 16.1kDa lectin in the skin mucus of the eel)

座長：鈴木 譲(Suzuki,Y.) (東京大学大学院)

B 7 11:10 °無津呂淳一・中尾実樹・加藤陽子・藤木和浩・矢野友紀 (九州大学)  
(Mutsuro,J., Nakao,M., Kato,Y., Fujiki,K. and Yano,T.)  
コイ補体第3成分 (C3) アイソフォームの単離・同定  
(Isolation and identification of the third complement component isoforms from the common  
carp -*Cyprinus carpio*-)

B 8 1 1 : 3 0 永井 毅・<sup>○</sup>中尾実樹・加藤陽子・無津呂淳一・木村守孝・藤木和浩  
矢野友紀 (九州大学)  
(Nagai,T., Nakao,M., Kato,Y., Mutsuro,J., Kimura,M., Fujiki,K. and Yano,T.)  
コイ補体 MASP アイソフォームの分子クローニングおよび遺伝子解析  
(Molecular cloning and gene analysis of MSAP isoforms, components in carp complement)

座長：森友忠昭(Moritomo,T.) (日本大学)

B 9 1 1 : 5 0 <sup>○</sup>木村守孝・藤木和浩・中尾実樹・申 同浩・矢野友紀 (九州大学)  
(Kimura,M., Fujiki,K., Nakao,M., Shin,Dong-Ho. and Yano,T.)  
コイ C 3 レセプター $\beta$ サブユニットの cDNA クローニングと遺伝子解析  
(cDNA cloning and gene analysis of carp complement receptor type 3  $\beta$ -subunit)

B10 1 2 : 1 0 <sup>○</sup>藤木和浩・申 同浩・中尾実樹・矢野友紀 (九州大学)  
(Fujiki,K., Shin,Dong-Ho., Nakao,M. and Yano,T.)  
SSH 法を用いたコイサイトカイン類 (PBEF, LECT2, GMF  $\beta$ ) の cDNA クローニング  
(cDNA cloning of carp *-Cyprinus carpio-* cytokines (PBEF, LECT2, GMF  $\beta$ ) by use of  
suppression subtractive hybridization)

1 2 : 3 0 昼食 (Lunch time) (6 0 分間)

## 招待講演 (INVITED LECTURE)

座長：矢野友紀(Yano,T.) (九州大学)

IL 13:30 ° Bayne, Christopher J., Gerwick, Lena(Oregon State University)  
Demers, Nora(Oregon State University & Florida Gulf Coast University)  
The modulation of innate immunity

14:10 休憩 (Coffee break) (10分間)

## シンポジウム (SYMPOSIUM)

下等動物の自然免疫システム－体液性因子－  
(Innate Immunity in Lower Animals – Humoral Factors –)

座長：和合治久(Wago,H.) (埼玉医科大学短期大学)

S1 14:20 山川 稔 (農水省蚕糸昆虫農業技術研究所) (Yamakawa,M.)  
カイコの体液性因子  
(Humoral immune factors in *Bombyx mori*)

S2 15:00 川畑俊一郎 (九州大学) (Kawabata,S.)  
カプトガニレクチンの自己と非自己を見分ける分子機構  
(Molecular mechanism to distinguish between self and none-self by horseshoe crab lectins)

15:40 休憩 (Coffee break) (10分間)

座長：飯田貴次(Iida,T.) (宮崎大学)

S 3 15:50 李 宗映 (東京水産大学) (Lee,Jong-Young)

硬骨魚類のトランスフェリン

(Transferrins in teleost)

S 4 16:30 児玉 洋 (大阪府立大学) (Kodama,H.)

ニジマスのC-反応性タンパク質

(C-reactive protein of rainbow trout)

座長：中尾実樹(Nakao,M.) (九州大学)

S 5 17:10 °遠藤雄一・高橋 実 (福島県立医科大学) 中尾実樹 (九州大学)

野中 勝 (東京大学大学院) 松下 操・藤田禎三 (福島県立医科大学)

(Endo,Y., Takahashi,M., Nakao,M., Nonaka,M., Matsushita,M. and Fujita,T.)

補体レクチン経路の進化

(Evolution of the complement lectin pathway)

18:00 記念撮影

18:30 懇親会 (リーセントホテル) (Banquet)

### 第3日目 (8月21日 : August 21)

#### 一般講演 (GENERAL LECTURE)

##### Session C : 原索動物(Protochordata)

##### 血球機能と生体防御(Hemocyte Function and Host Defense)

座長 : 広瀬裕一(Hirose,E.) (琉球大学)

C 1 9 : 0 0 °白江麻貴・齊藤泰典 (筑波大学)

(Shirae,M. and Saito,Y.)

ナツメボヤ *Ascidia ahodori* における異種拒絶反応

(Xenorejection reaction in a solitary ascidian, *Ascidia ahodori*)

C 2 9 : 2 0 °大竹伸一・阿部健之 (日本大学) 石井照久 (秋田大学) 穴倉文夫

田中邦男 (日本大学)

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

Viriform Cell はマボヤの被囊細胞で被囊形成に関与する可能性がある

(Viriform cell, a kind of tunic cells, participates in the tunic formation of *H. roretzi*)

座長 : 穴倉文夫(Shishikura,F.) (日本大学)

C 3 9 : 4 0 °沢田知夫・西川晶子・徳田信子・王玉雪・友永 進・福本哲夫 (山口大学)

(Sawada,T., Nishikawa,S., Tokuda,N., Wang,Y-H., Tomonaga,S. and Fukumoto,T.)

マボヤの対異物反応における granular cell type 2 (G2/LG/fibroblastic cell)の役割

(Role of type 2 granular cells(G2/LG/fibroblastic cell) in the defence of tunicate

*Halocynthia roretzi*)

C 4 10:00 °広瀬裕一・森 康彰 (琉球大学) (Hirose,E. and Mori,Y.)  
ホヤ被囊中における強酸：酸性度・分布・含有量  
(Strong acid in ascidian tunic : pH, distribution and amount in the tunic)

10:20 休憩 (Coffee break) (10分間)

Session D : 哺乳動物 (Mammals)

環境・アレルギー・サイトカイン (Environment, Allergy and Cytokine)

座長 : 古田恵美子 (Furuta,E.) (獨協医科大学)

D 1 10:30 °笠原進司 (東京農工大学大学院) 相澤香織・岡宮雅美・数野直美・武藤 忍  
和合治久 (埼玉医科大学短期大学)  
(Kasahara,S., Aizawa,K., Okamiya,M., Kazuno,N., Muto,S. and Wago,H.)  
紫外線B照射のマウス好中球機能に及ぼす影響  
(Ultraviolet radiation reduces neutrophil functions and other immune responses in mice)

D 2 10:50 °和合治久・木村奈津子・沼口朋子・浜崎政美・石井詠子・熊谷 恵  
栗原美子 (埼玉医科大学短期大学)  
(Wago,H., Kimura,N., Numaguchi,T., Hamazaki,M., Ishii,E., Kumagai,M. and Kurihara,Y.)  
抗アレルギー性お茶類によるスギ花粉投与マウスのアレルギー抑制作用  
(Suppressive effects of oral-administration of anti-allergic teas on allergic states in  
sugi-pollinosis mice)

D 3 11:10 °西村仁志・内記良一・角渕浩央 (名古屋大学) 鈴木 操 (熊本大学)  
吉開泰信 (名古屋大学)  
(Nishimura,H., Naiki,Y., Tsunobuchi,H., Suzuki,M. and Yoshikai,Y.)  
高翻訳型インターロイキン 15 遺伝子トランスジェニックマウスの解析  
(Analysis of IL-15 mRNA isoforms transgenic mice)

11:35 閉会

## 交通の御案内

學術集会場である九州大学同窓会館は、九州大学医系キャンパス（馬出キャンパス）内にあります。福岡空港、博多駅どちらからも、地下鉄の利用が便利です。中洲川端駅で、「貝塚」行きに乗り換えて下さい。

- ・福岡空港/JR博多駅から

【地下鉄】

福岡空港→（４分）→博多→（３分）→中洲川端のりかえ→（７分）→馬出九大病院前下車（１番出口）→徒歩５分

- ・天神（バスセンター、西鉄福岡駅）から

【地下鉄】

天神→（１分）→中洲川端のりかえ→（７分）→馬出九大病院前下車（１番出口）→徒歩５分

## Information for overseas participants

The 11th meeting of JADCI will be held at Alumni Hall (Dohsoh-Kaikan) in Kyushu University, Medical Campus (Maidashi Campus), Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka city.

### Transportation

【From Fukuoka Airport】

- ・ International Terminal→(shuttle bus, every 15 min)→Domestic Terminal→(subway for any destination)→Nakasu-Kawabata Sta. (transfer to Kaizuka Line, platform upstairs)→(subway bound for Kaizuka)→Maidashi-Kyudaibyoinmae Sta. (No. 1 Exit) →(on foot, 5 min)→Kyushu Univ. Med. Campus.
- ・ Taxi, 20 min.

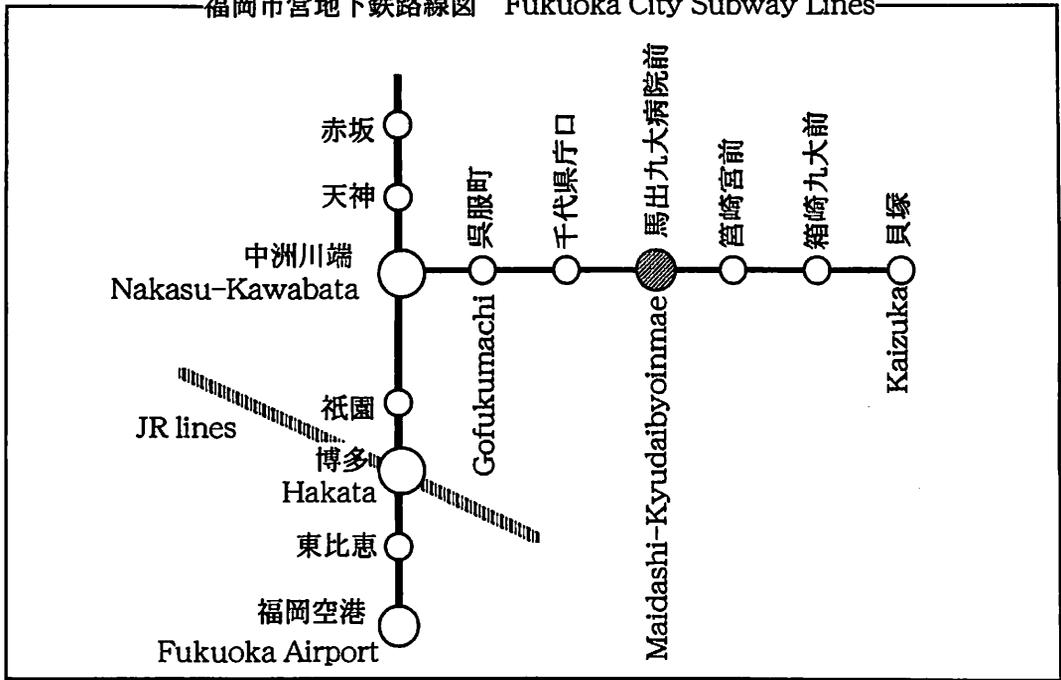
【From JR Hakata Station】

- ・ Hakata St. (subway bound for Nishijin/Meinohama/Chikuzen-Maebaru/Karatsu) → Nakasu-Kawabata Sta. (transfer to Kaizuka Line, platform upstairs)→ Maidashi-Kyudaibyoinmae Sta. (No. 1 Exit)→(on foot, 5 min)→Kyushu Univ. Med. Campus.
- ・ Taxi, 15 min.

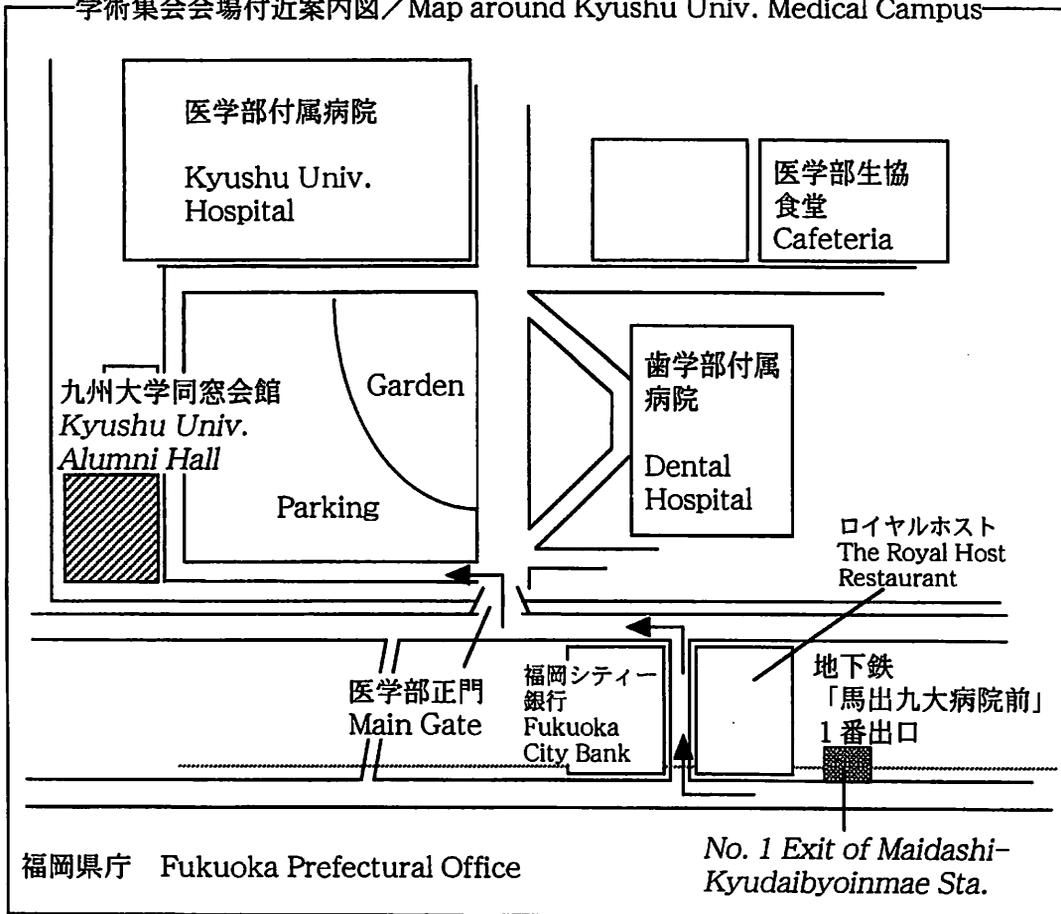
【From Hakata Port International Terminal】

- ・ Hakata Port Int. Term.→ bus (No. 19/84)→ Gofukumachi Stop.→( on foot, 2 min)→ Gofukumachi Subway Sta.→(subway bound for Kaizuka) → Maidashi-Kyudaibyoinmae Sta. (No. 1 Exit)→(on foot, 5 min)→Kyushu Univ. Med. Campus.
- ・ Taxi, 6 min.

福岡市営地下鉄路線図 Fukuoka City Subway Lines



学術集會会場付近案内図 / Map around Kyushu Univ. Medical Campus



## 第 1 日目

一般講演：A 1 ～ A 8

特別講演：S L 1, S L 2



A 1 マラリア感染蚊におけるヒートショック蛋白質 (HSP) の誘導  
池田満<sup>1) 2)</sup>・佐々木年則<sup>2)</sup>・小林睦生<sup>2)</sup>  
東京農工大学農学部<sup>1)</sup>・国立感染症研究所昆虫医科学部<sup>2)</sup>

脊椎動物においては、マラリア感染による HSP60 の誘導が報告され、感染に対して防衛的に働いていると考えられている。しかし、蚊において HSP の発現がマラリア感染によって誘導されるか不明である。そこで、マラリア虫様体(オーキニート)の中腸組織移行期(感染吸血 18-24 時間後)における HSP の発現を調べ、蚊におけるマラリア感染と HSP との関係について検討した。マラリア感染蚊の中腸を摘出し、抽出液を得てウエスタンブロッティングを行った。その結果、HSP70 は感染蚊、未感染吸血蚊及び未吸血蚊の全てに検出されたが、HSP90 は感染蚊においてのみ発現が見られた。次に、免疫組織化学的手法で中腸切片の HSP の発現を調べたところ、抗 HSP70 抗体に対する陽性反応は感染蚊及び未感染吸血蚊に認められた。しかし、抗 HSP90 抗体に対しては感染蚊の中腸組織のみに陽性反応を示した。以上のことから、HSP70 はマラリア感染とは関係なく中腸で発現しており、HSP90 はマラリア感染により発現が誘導されることが示された。

Induction of Heat Shock Protein (HSP) in the Midgut of Mosquito Infected with Malaria  
Mitsuru Ikeda<sup>1) 2)</sup>, Toshinori Sasaki<sup>2)</sup> and Mutsuo Kobayashi<sup>2)</sup>  
Tokyo University of Agriculture and Technology<sup>1)</sup>, Department of Medical Entomology,  
National Institute of Infectious Diseases<sup>2)</sup>

A 2 蚊体液中の溶血活性が与える赤血球表面微細構造への影響  
小林睦生<sup>1)</sup>・佐々木年則<sup>1)</sup>・斉藤典子<sup>2)</sup>・安居院宣昭<sup>1)</sup>  
国立感染症研究所・昆虫医科学部<sup>1)</sup>・電子顕微鏡室<sup>2)</sup>

オオクロヤブカ蛹体液中にはヒト赤血球に対する強い溶血活性が存在する。今までに、この活性は EDTA, シアル酸、大豆由来のトリプシンインヒビター (STI) によって阻害されること、および 56℃ の熱処理で失活することなどを明らかにしてきた。また、同体液にはシアル酸特異的レクチンが存在し、溶血は体液レクチンを介して起こる可能性が強く示唆されている。今回、このレクチンの部分アミノ酸配列をもとにウサギで作製された抗体が蚊体液によるヒト赤血球の溶血を濃度依存的に阻害する事が示された。また、同体液とヒト赤血球とを反応させ、赤血球表面の微細構造を走査型電子顕微鏡で経時的に観察したところ、体液と反応させた赤血球表面の微細構造に反応開始 5 分後から著しい変化が認められた。反応開始 30 分では赤血球がコンペート状の形態を示した。なお、現在赤血球表面に付着する体液由来のタンパク質がどのような物質か検討している。

Ultrastructural changes on the surface of human red blood cells caused by hemolytic activity in the mosquito hemolymph.  
Mutsuo Kobayashi<sup>1)</sup>, Toshinori Sasaki<sup>1)</sup>, Noriko Saito<sup>2)</sup> and Noriaki Agui<sup>1)</sup>  
Department of Medical Entomology<sup>1)</sup>, Laboratory of Electron Microscopy<sup>2)</sup>,  
National Institute of Infectious Diseases

A 3

蚊におけるマラリア原虫認識レクチン cDNA の解析

佐々木年則・小林睦生・安居院宜昭

国立感染症研究所昆虫医科学部

蚊の生体防御の一つとして、フェノール酸化酵素前駆体カスケード (Pro-POC) が考えられている。特に、マラリア原虫 (オーキニート) という異物に対して、蚊の中腸壁上でのメラニン化が報告されている。Pro-POC の上流に関わる因子として、カイコ体液中の  $\beta$ -1,3-グルカンやペプチドグリカン結合蛋白が報告されている。しかしながら、マラリアのベクターである蚊において Pro-POC の上流に関わる因子については不明な点が多い。我々は、前回オオクロヤブカ体液中のシアル酸特異的レクチンの Pro-POC への関わりと、その部分精製による N 末端アミノ酸配列を報告した。そこで今回シアル酸特異的レクチン cDNA の配列について、シアル酸特異的レクチンの N 末端アミノ酸配列をもとに 3'-RACE による検討を行った。その結果、約 500bp の PCR 産物と約 1kbp の PCR 産物を得ることができた。さらに、TA クローニングを試み、約 500bp の PCR 産物の中にシアル酸特異的レクチンと思われる配列を読むことができた。現在、得られた PCR 産物がシアル酸特異的レクチン cDNA の配列に相当するか、5'-RACE で確認を行っている。

The Analysis on Malaria Binding Lectin cDNA from Mosquitoes

Toshinori Sasaki, Mutsuo Kobayashi and Noriaki Agui

Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases

A 4 ハチミツガ体液における顆粒細胞およびプラズマ細胞両者の食食反応への関与

○藤條純夫<sup>1)</sup>・長沼文彦<sup>2)</sup>・荒川賢良<sup>2)</sup>・横尾暢也<sup>2)</sup>

佐賀大学農学部<sup>1)</sup>・アース環境サービス<sup>2)</sup>

昆虫の体液では、異物に対して食食と包囲化反応が生じ、それには顆粒細胞とプラズマ細胞が関与する。ところが、それらの反応に関与する細胞は昆虫によって異なり、食食反応には、ハチミツガではプラズマ細胞のみが関与すると報告されてきた。演者らは、体液を EDTA 存在下にインキュベートすることにより顆粒細胞をガラス面に選択的に付着させた後、浮遊している血球を遠心分離により集め、Ca イオン下に置くことによりプラズマ細胞を付着させるという、両種の血球のモノレイヤーを調整する方法を考案した。本研究では、特にハチミツガ幼虫を用いて、こうして調整したモノレイヤーに直径 5  $\mu$ m のシリカビーズを加えて反応させることにより、食食反応への血球への関与を検討した。顆粒細胞の付着および食食反応は、プロフェノールオキシダーゼ活性化を阻害する p-NPGB 存在下に抑制されたが、フェノールオキシダーゼの阻害剤である PTU によっては抑制されなかったことから、カイコの場合と同様に、フェノールオキシダーゼそのものが食食反応に必須であると結論した。一方、プラズマ細胞の付着・食食反応はそれらの化合物の影響を受けず、いずれも EDTA によって阻害され、Ca イオンによって促進されることを確認した。以上のように、ハチミツガでは両種の血球が食食反応に関与していることが判明した。他の鱗翅目昆虫においても、調べた限り、両種の血球の関与を確認した。

Involvement of Both Granular Cells and Plasmacytes in Phagocytic Reaction in *Galleria mellonella*

Sumio Tojo<sup>1)</sup>, Fumihiko Naganuma<sup>2)</sup>, Kenryo Arakawa<sup>2)</sup>, and Shinya Yokoo<sup>2)</sup>

Faculty of Agriculture, Saga University<sup>1)</sup>, Earth-Environmental Service Co. LTD<sup>2)</sup>

A 5 Molecular cloning and functional properties of three early-staged encapsulation-relating proteins from the coleopteran insect, *Tenebrio molitor* larvae

Bok Luel LEE

College of Pharmacy, Pusan National University, Jangjeon Dong, Kumjeong Ku, Pusan, 609-735, Korea

Encapsulation is a major defensive reaction against foreign materials that are too large to be phagocytosed by individual hemocytes; however, the biochemical process of encapsulation is still obscure. To isolate and characterize the early stage of encapsulation-relating proteins (ERPs), we used the coleopteran insect, *Tenebrio molitor* larvae, by injecting three differing kinds of beads or inserting pieces of surgical sutures into the abdomen of *T. molitor* larvae. The resulting proteins from the injected beads or the inserted pieces of surgical sutures were recovered within ten min after injection or insertion, and were analyzed on SDS/PAGE under reducing conditions. Four different proteins (86 kDa, 78 kDa, 56kDa and 48 kDa) were enriched as compared with the crude hemolymph. Among them, we purified 86 kDa, 56 kDa and 48 kDa ERPs to homogeneity. We found that the 86 kDa protein shows high homology with insect diapause protein 1. Analysis of the cDNA of 56 kDa ERP consisted of 579 amino acid residues and showed a novel glutamine-rich protein. 48 kDa ERP was produced with the cleavage of Arg<sup>101</sup>-Gly<sup>102</sup> of the 56 kDa ERP by a limited proteolysis. Western blotting analysis showed that these ERPs were exclusively detected on membrane fractions of hemocytes. Also, when the early stage encapsulated beads were coated with both of the 56 kDa and 48 kDa ERPs antibodies and re-injected into larvae, no further encapsulation reaction was observed. However, when the early stage encapsulated beads were incubated with either 56 kDa ERP antibody or 48 kDa ERP antibody or non-immunized rabbit IgG and re-injected into larvae, further encapsulation occurred.

A 6

クルマエビ血球の分類

° 近藤 昌和<sup>1)</sup>・山本 明子<sup>1)</sup>・高橋 幸則<sup>1)</sup>・藤井 玲子<sup>2)</sup>・友永 進<sup>2)</sup>  
水産大学校生物生産学科<sup>1)</sup>・山口大学医療技術短期大学部<sup>2)</sup>

一般に、甲殻類十脚目の血球は透明細胞、小顆粒細胞、大顆粒細胞の3種類に分類されている。本研究では、クルマエビの血球にメイ-グリュンワルド染色を施して血球の細分類を試みた。血球は、微小好塩基性顆粒球(FBG)、好塩基性形質細胞(BP)、好塩基性顆粒球(BG)、両染色顆粒球(AG)、クロマチンの濃淡が見られる好酸性顆粒球(EGS)、濃縮核を持つ好酸性顆粒球(EGD)、および難染色顆粒球(CG)の7種類に分類された。いずれの血球も顆粒を有し、FBGは直径1 $\mu$ m以下の均一な大きさの青色顆粒を持っていた。BPは直径0.2 $\mu$ mの濃紺色顆粒を持ち、細胞質は紺色であった。BGは直径0.1~0.2 $\mu$ mの不均一な大きさの青色顆粒を有していた。AGは、青色顆粒と赤色顆粒の両方を持ち、ともに直径0.2 $\mu$ mであった。EGSとEGDはともに直径0.2 $\mu$ mの赤色顆粒を有し、CGは紡錘形から楕円形(1.0 $\times$ 0.6 $\mu$ m)の非染色性顆粒を持っていた。各種血球の中間型と思われる細胞は認められなかった。採血が円滑に行われなかった場合、金平糖状のBPが認められ、そのとげの先端には顆粒が観察された。また、AGとEGSでは赤色顆粒の巨大化と、その染色性の低下が見られたが、EGDの顆粒には、そのような変化は認められなかった。各種血球の微細構造についても併せて報告する。

Classification of kuruma prawn hemocytes

Masakazu Kondo<sup>1)</sup>, Akiko Yamamoto<sup>1)</sup>, Yukinori Takahashi<sup>1)</sup>, Reiko Fujii<sup>2)</sup> and Susumu Tomonaga<sup>2)</sup>  
National Fisheries University<sup>1)</sup> and Yamaguchi University<sup>2)</sup>

A 7

クルマエビのリンパ様器官の構造と異物捕捉能

° 近藤 昌和<sup>1)</sup>・高橋 幸則<sup>1)</sup>・藤井 玲子<sup>2)</sup>・友永 進<sup>2)</sup>  
水産大学校生物生産学科<sup>1)</sup>・山口大学医療技術短期大学部<sup>2)</sup>

クルマエビのリンパ様器官の基本構造は細血管が分岐したものである。クルマエビに注入した種々の異物が本器官に取り込まれるか否かを調べた。直径の異なるラテックスビーズ( $\leq 5 \mu\text{m}$ )、グルタールアルデヒド固定赤血球、加熱処理パン酵母、およびザイモサンのいずれも本器官の血管壁に存在する食細胞に貪食された。走査型電子顕微鏡により細血管の基底膜に直径約  $2 \mu\text{m}$  の孔が観察された。ファロイジン染色の結果、基底膜中の内皮細胞が強染し、豊富なアクチン繊維の存在が示唆された。孔径よりも大きな異物が本器官に取り込まれるのは、何らかの異物認識反応の結果、内皮細胞が収縮することにより孔が広がり、これを通して異物が血管壁に入るためと思われる。基底膜は PAS 反応および Azan 染色に陽性であり、Elastica van Gieson (EVG) 染色にはほとんど染まらなかった。食細胞間には繊維構造が観察され、PAS 反応と Azan 染色に陽性であり、EVG 染色で淡赤色を呈した。また、細血管間には細血管の外周と連続するスポンジ状結合組織があり、PAS 反応には様々な染色性を示し、Azan 染色には難染性であり、EVG 染色では食細胞間よりも強く染まった。これらの染色性の違いから、基底膜、食細胞間繊維およびスポンジ状結合組織繊維の構成成分は異なると考えられる。

Structure and Phagocytic Ability of the Lymphoid Organ in Kuruma Prawn

Masakazu Kondo<sup>1)</sup>, Yukinori Takahashi<sup>1)</sup>, Reiko Fujii<sup>2)</sup> and Susumu Tomonaga<sup>2)</sup>  
National Fisheries University<sup>1)</sup> and Yamaguchi University<sup>2)</sup>

A 8

陸棲軟体動物チャコウラナメクジの皮膚移植片の運命

° 瀬尾直美<sup>1)</sup>・古田恵美子<sup>2)</sup>・山口恵一郎<sup>3)</sup>  
東京医大 生物<sup>1)</sup>・獨協医大 II 解剖<sup>2)</sup>・同 医総研<sup>3)</sup>

軟体動物の自己・非自己認識機構の解明の一手段として、全く殻をもたず、多量の粘液を分泌する大型のヤマナメクジを用い、auto, allograft の移植片：宿主の関係を追求してきた。allo graft に対する宿主反応の初期反応では、auto, allograft いずれもマクロファージの遊走、貪食作用がみられたが、根本的な反応の違いは、allograft 移植直後から宿主は、その移植片を allo と認識し、apoptotic にこれを拒絶することであった。その際に、perforin が確実に関与するサイトカインであることも解明した。今回、allograft 認識機構が軟体動物に広く存在するかどうかを検索するために、ヤマナメクジとは種類の異なるチャコウラナメクジを材料とした。チャコウラナメクジ (*Limax marginatus*) は痕跡的ではあるが、皮下に殻を有し、またヤマナメクジとは異なり、粘液分泌が少ない小型の外来種である。チャコウラナメクジを宿主として、auto, allo, xeno の移植片に対する宿主の反応を経時的に検索した。xenograft としては、ノハラナメクジ (*Deroceras reticulatus*) の strain を使用した。

Fate of transplanted skin grafts from the terrestrial slug.

Naomi Seo<sup>1)</sup>, Emiko Furuta<sup>2)</sup> and Keiichiro Yamaguchi<sup>3)</sup>  
Dept. Biol., Tokyo Med. Coll.<sup>1)</sup>, Dept. Anat.<sup>2)</sup> and Inst. Med. Sci.<sup>3)</sup>, Dokkyo Univ. Sch. Med.

岡 本 信 明

東京水産大学 資源育成学科

魚類養殖におけるウイルス病の被害は甚大であるにも関わらず、現在のところ有効な治療対策が見つかっていない。それ故に、ウイルス病に対する耐病性品種の作出が切望されているが、このような形質は量的形質(quantitative trait; QT) あるいは複雑形質と呼ばれ、その解析が困難とされてきた。近年、急速に発展した DNA マーカーを用いたポジショナルクローニング法は、ゲノム上に存在するこれらの量的形質に関与する複数の遺伝子群(quantitative trait loci; QTLs)の検出を可能にし、その遺伝子の位置を決定することも可能にした。本題では、ニジマスのマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖地図とニジマスのウイルス病である伝染性膵臓壊死症(IPN)に対する耐病性/感受性に関する QTL 解析についての我々の成果を述べる。連鎖地図の威力は、ひとたび DNA マーカーをゲノム上に位置決めすれば、この地図がすべての遺伝形質の解析に利用できる点にある。

【連鎖地図】 我々は、DNA 多型マーカーとして最も広く使われているマイクロサテライトマーカー (CA リピートマーカー)、192 個を用いて、29 遺伝子連鎖群からなるニジマスの連鎖地図を作製した。雄と雌における遺伝子の組換え頻度の差を反映して、マーカー間の距離は、雄の方が雌のそれより短く、その比は 1 : 3.25 であった。テロメア近傍では雌における組換え率が雄のそれより著しく低く (0.14 : 1)、動原体近傍では逆に、雌の方が雄のそれより高かった (10 : 1)。雌の連鎖地図におけるマーカー間の平均距離は 10 cM であった。

【IPN 耐病性/感受性の QTL 解析】 QTL 解析に用いた家系は、ニジマス IPN 耐病性系統 (YN-RT201)、IPN 感受性系統 (YK-RT101) の 2 つの近交系の F1 と、IPN 感受性系統 (YK-RT101) とを交配した戻し交配家系で、IPN ウイルスで浸漬感染 ( $10^{5.0}$  TCID<sub>50</sub>/ml, 1 時間) を行ない、耐病性 (表現型; 生、死) と DNA 多型の遺伝状況との関連性の有無を解析した。その結果、2 つの遺伝子連鎖群に属する 4 つのマイクロサテライトマーカーにより、ニジマス IPN 耐病性/感受性に関する遺伝子座の存在とおおよその座位が推定された。

Genetic linkage map for rainbow trout and the analysis of QTLs for infectious pancreatic necrosis

Nobuaki OKAMOTO

(Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries)

主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子には、構造的にも機能的にも異なる2つのクラスが存在する。MHCクラスI分子は殆どすべての有核細胞に発現され、自己タンパク質、ウイルスタンパク質などに由来する主として細胞内で合成されたペプチドを結合し、CD8陽性のT細胞 (主にキラーT細胞) に提示する。一方、クラスII分子はマクロファージやB細胞など一部の免疫細胞に限って発現され、外来のタンパク質抗原由来のペプチドを結合して、CD4陽性のT細胞 (主にヘルパーT細胞) に提示する機能を有する。なお、T細胞は自己MHC抗原と共に呈示された抗原に対しては反応するが、自己以外のMHCによって呈示された抗原には反応できない (MHC拘束)。魚類においても、これまでに30種類以上の硬骨魚及び軟骨魚から、クラスI $\alpha$ 鎖、クラスII $\alpha$ 鎖、 $\beta$ 鎖及び $\beta$ 2mをコードする遺伝子が単離されている。これら魚類のMHC遺伝子の構造は高等脊椎動物のそれと基本的に同じで、古典的クラスI遺伝子においては著しい多型が認められ、抗原ペプチドと相互作用する部位、 $\beta$ 2mや糖鎖との結合部位等のアミノ酸がよく保存されている。このように、魚類においても哺乳類と同様な構造を持つMHC遺伝子が単離されているが、残念ながら、未だ分子として同定されておらず、また、その機能についても全く不明である。

一方、我々はこれまでに3倍体クローンギンブナとギンブナーキングョ4倍体雑種を用いて移植片対宿主反応(GVHR)や赤血球を標的とした *in vitro* 標的細胞特異的細胞障害試験法、あるいはクローンギンブナとこれに由来する細胞株を用いて特異的細胞障害試験法を確立し、魚類においてもアロ抗原特異的細胞傷害性T細胞が存在することを示してきた。また、ドチザメ親子のMHCクラスI遺伝子を徹底的に解析し、2つの遺伝子座を同定しその多型性を明らかにすると共に、これらクラスI遺伝子がコードする分子がアロ抗原として認識されていることを皮膚移植実験により明らかにした。現在、ニジマスを用いてMHCクラスI遺伝子の多型性を明らかにすると共に、クラスII遺伝子産物に対するモノクローナル抗体を作成し、これらの分子の細胞における分布や機能の解析を進めている。

本講演においては、上に述べた特異的細胞障害試験やMHCクラスI遺伝子の多型性と機能に関する最近の研究を紹介すると共に、クローンギンブナとこれに由来する長期培養細胞を用いたウイルス抗原特異的細胞障害活性に関する研究、並びにホモ接合体クローンニジマスと数種のニジマス細胞株を用いたウイルス感染細胞に対する細胞障害活性におけるMHC拘束性について述べる。

MHC restriction in cell-mediated cytotoxicity in fish

Teruyuki Nakanishi

(Pathology Division, National Research Institute of Aquaculture)

## 第2日目

一般講演：B 1～B10

招待講演：I L

シンポジウム：S 1～S 5



B1 ハゼ科魚類ドロメの腹腔内に投与された粒子性異物の隔離と排除

八幡詩乃<sup>1)</sup>・中村弘明<sup>2)</sup>・菊池慎一<sup>1)</sup>

千葉大学・海洋バイオシステム研究センター<sup>1)</sup>・東京歯科大学・生物<sup>2)</sup>

ハゼ科の海産魚ドロメの腹腔内にカーボン粒、フェリチンなどの微小粒子性異物を注射し、経時的に臓器を組織学的に観察すると、異物の多くは脾臓と心臓内皮に速やかに取り込まれ、時間とともにメラノマクロファージセンター様の結節を形成した。また、異物の一部は、腹壁の筋層の薄い部域を通過し、体表側に運ばれて体外へ排除される像がみとめられた(第10回本学術集会)。今回、やや大型の粒子性異物としてラテックスビーズ(直径2-15ミクロン)をドロメの腹腔内に注射したところ、心臓内皮への取り込みはほとんど認められなかったが、他の臓器への取り込みは、カーボン粒の場合とほぼ同様であった。また、注射後1週間目頃から、腹部皮膚内に多数のラテックスビーズが観察されるようになり、さらにその一部は体外へ排除されている像を示した。この腹腔内から皮膚内への異物の運搬の経路について、組織学的に解析した。

Retention and elimination of intraperitoneally injected particulate materials in the gobiid fish, *Chasmichthys gulosus*.

Shino Yahata<sup>1)</sup>, Hiroaki Nakamura<sup>2)</sup>, Shin-ichi Kikuchi<sup>1)</sup>

Marine Biosystems Res.Ctr., Chiba Univ<sup>1)</sup>, Lab. of Biol., Tokyo Dent. Col.<sup>2)</sup>

B2 コイ末梢血白血球における生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の存在

宇佐美剛志・末武弘章・大久保範聡・鈴木順・会田勝美

東京大学大学院農学生命科学研究科

近年、哺乳類において、脳内で産生されるホルモンが白血球に存在することが明らかになり注目されている。我々は、下垂体の生殖腺刺激ホルモン放出活性をもつことが知られている GnRH に着目し、コイを用いて白血球に GnRH が存在することを明らかにした。

コイの脳より抽出した全 RNA を試料として、RT-PCR 法、及び RACE 法を行いサケ型 GnRH(sGnRH)、ニワトリ II 型 GnRH(cGnRH-II) という 2 つの分子種をそれぞれコードする cDNA クローンを得ることができた。これらの塩基配列をもとにそれぞれの GnRH に特異的なプライマーを作製し、RT-PCR 法を用いてコイ末梢血白血球においての 2 種類の GnRH 遺伝子の発現を調べた。その結果、末梢血白血球には sGnRH 遺伝子のみが発現がみられた。次にペプチドレベルでの存在を明らかにするために、末梢血白血球の塗抹標本を作製し sGnRH 抗体による免疫染色を行ったところ、形態的にみて好中球と考えられる細胞が免疫陽性であった。

哺乳類では GnRH はリンパ球などに存在することが報告されているが、コイの好中球に GnRH が存在することの意義について、現在行っている GnRH レセプターの解析とあわせて今後検討する予定である。

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in carp leukocyte

\* T.Usami, H.Suetake, K.Okubo, Y.Suzuki and K.Aida

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

B 3 コルチゾールによるテラピア好酸性顆粒球の脱顆粒抑制

○ 松山知正<sup>1)</sup>・黒木順子<sup>1)</sup>・飯田貴次<sup>2)</sup>

鹿児島大学連合大学院農学研究科<sup>1)</sup>・宮崎大学農学部<sup>2)</sup>

魚類でも哺乳類と同様に、ストレスによって炎症部に浸出する好中球の数が減少すること、好酸性顆粒球 (EGC) が炎症反応初期に脱顆粒を起こし、好中球遊走因子を放出することを報告してきた。今回、ストレス時に放出されるコルチゾールの EGC 脱顆粒および、組織内の EGC 分布密度におよぼす影響について報告する。

*in vivo* での EGC 脱顆粒率は、刺激剤 (大腸菌死菌、サブスタンス P) を鰓内に接種し 1 時間後に鰓膜の伸展標本を作製して求めた。刺激剤接種の 24 時間前に腹腔内にコルチゾールを含むココナッツオイルを投与したところ、ココナッツオイルのみを投与した場合と比較して有意に脱顆粒率が減少した。鰓膜から分離した EGC をコルチゾールを含む HBSS に再浮遊し、サブスタンス P あるいは正常血清に浮遊したサイモサンを細胞に加えて EGC を脱顆粒させると、EGC の脱顆粒はコルチゾールの濃度依存的に抑制された。さらに、コルチゾールを含むココナッツオイルを腹腔内投与し、経時的に鰓の伸展標本を作製して一定面積当たりの EGC の数を測定したところ、ココナッツオイルのみを投与したときと比較して鰓に分布する EGC 密度が低下する傾向が見られた。以上の結果から、ストレス時の炎症部浸出好中球数の減少には、コルチゾールによる直接的な EGC 脱顆粒の抑制、組織内の EGC 分布密度の低下が関与していると考えられた。

Inhibitory effect of cortisol on the degranulation of eosinophilic granular cells.

○ Tomomasa Matsuyama<sup>1)</sup>, Junko Kurogi<sup>1)</sup> and Takaji Iida<sup>2)</sup>

Kagoshima University<sup>1)</sup> and Miyazaki University<sup>2)</sup>

B 4 哺乳類以外の脊椎動物における自動血球計測システムの検討

○ 森友忠昭・井上孝正・田村有美・藤野 洋・間宮幸子・南 愛

日本大学 生物資源科学部 獣医学科 魚病学研究室

哺乳類以外の脊椎動物 (魚類、両生類、爬虫類、鳥類) の赤血球および栓球は有核であり、溶血を基本原理とする哺乳類の自動血球計測システムは利用できず、独自法の開発が必要である。本研究では、生体膜蛍光プローブ DiOC<sub>6</sub>(3) を用い血液細胞を染色し、フローサイトメトリーにて解析することによりこれら動物の自動血球解析法を検討した。【方法】コイ、キンギョ、ニジマス、ウナギ、イグアナおよびウズラよりヘパリン処理シリンジを用いて採血後、20 μl の血液を試験管にとり 3900 μl の Minimum Essential Medium および 80 μl の DiOC<sub>6</sub>(3) 色素液 (50 μg/ml) を加え、10 分間室温で染色した。その後、血液細胞浮遊液をスライドグラス上に取り、落射式蛍光顕微鏡 (Olympus BH2-RFC、B 励起) 下で観察した。また、残りの浮遊液をフローサイトメーターに吸引させ、前方散乱光 (FSC)、側方散乱光 (SSC) および緑色蛍光強度 (FL1) を測定した。【結果】DiOC<sub>6</sub>(3) 染色後の血液を蛍光顕微鏡下で観察したところ、白血球および栓球は染色されたが、赤血球はほとんど染色されなかった。また、赤血球以外の細胞においても、細胞の種類によって蛍光強度の差が認められ、顆粒球は強陽性に染色されたが、栓球、リンパ球は弱陽性であった。そのため、同様の血液細胞をフローサイトメトリーにて解析をおこなったところ、FL-1 vs SSC ドットプロット上で顆粒球、単球、栓球-リンパ球領域が確定され、これら各白血球数の自動カウントが可能であった。

Automated Blood Cell Counting for Lower Vertebrate

T. Moritomo, T. Inoue, Y. Tamura, H. Fujino, S. Mamiya and A. Minami

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

B 5

免疫組織化学によるマアナゴ皮膚粘液レクチンの検出

・中村修<sup>1)</sup>・渡辺翼<sup>1)</sup>・神谷久男<sup>2)</sup>・村本光二<sup>3)</sup>

北里大水産学部水族病理学<sup>1)</sup>・同水産資源化学<sup>2)</sup>・東北大農学部植物資源化学<sup>3)</sup>

魚類の皮膚粘液は物理的および化学的障壁として生体防御上重要な機能を持ち、いくつかの魚類粘液中から、抗体やレクチンなどが検出されている。マアナゴ *Conger myriaster* の皮膚粘液からは Kamiya ら (1988) が、ガラクトース特異性を示すレクチン (congerin) を単離・精製している。congerin には複数のアイソタイプが存在し、量的にもっとも多い congerin I については 1 次構造も明らかにされている (Muramoto and Kamiya, 1992)。演者らはマアナゴ皮膚をブアン液または 4% パラフォルムアルデヒドで固定後、パラフィン切片を作製し、免疫組織学的手法を用いて、マアナゴ成魚組織切片における congerin I の検出を試みた。その結果、マアナゴ表皮には表皮細胞、粘液細胞および棍棒状細胞の少なくとも 3 種類の細胞が存在しており、congerin I は棍棒状細胞に多量に含まれていることがわかった。また、マアナゴはウナギ目の他の魚種と同じく、葉形幼生 (leptocephalus) とよばれる特異な仔魚期を持つ。この仔魚はほとんど透明で色素を持たず、体積の大部分をゼラチン様物質が占め、生体防御機能についてもほとんど不明である。仔魚粘液を調べたところ、ウサギ赤血球に対し強い凝集活性を示し、ガラクトースにより活性が阻害されたことから、congerin を産生していると考えられた。しかしながら皮膚の構成は成魚のそれと大きく異なっている。そこで変態前、および変態期仔魚における congerin 含有細胞の所在を調べ、その発達過程について検討した。

Immunohistochemical demonstration of the lectin containing cells in the skin of adult and larvae of conger eel, *Conger myriaster*

Osamu Nakamura<sup>1)</sup>, Tasuku Watanabe<sup>1)</sup>, Hisao Kamiya<sup>1)</sup>, Koji Muramoto<sup>3)</sup>

Kitasato Univ.<sup>1)</sup>, Tohoku Univ.<sup>2)</sup>

B 6

ウナギ体表粘液に存在する 16.1 kDa レクチンの精製および生化学的解析

田角聡志・川添一郎・大平剛・末武弘章・川端孝一・中谷操子・鈴木譲・会田勝美

東京大学大学院農学生命科学研究科

ウナギ体表粘液中には高いレクチン活性が認められ、生体防御に関与していると考えられるがその機能は不明である。現在、このレクチンの構造および生化学的性質の解析を行っている。

ウサギ赤血球を用いたマイクロタイター法によりウナギ体表粘液抽出液におけるレクチン活性を検討したところ活性はラクトースにより阻害を受けた。そこでラクトースアフィニティークロマトグラフィーにより異なる 2 種類のレクチン (16.1 kDa および 31.7 kDa レクチン) を精製し、さらにゲル濾過クロマトグラフィーによりこれらを単離した。31.7 kDa レクチンについてはすでに cDNA クローニングを行い一次構造の解析まで行ってきたが、今回は 16.1 kDa レクチンに注目しその生化学的解析を行った。精製 16.1 kDa レクチンは活性発現に 2 価イオンを要求せずラクトースにより顕著に阻害された。また、分子量は TOF-MS により 16091 Da と決定された。次に N 末端アミノ酸配列決定を試みたが N 末端がブロックされていたため、リジルエンドペプチダーゼにより切断して得たペプチド断片のアミノ酸配列を一部決定した。得られた部分配列は 31.7 kDa レクチンの配列とは異なり、ホモロジー検索にかけたところ相同性を示す既知のタンパク質は見つからなかった。しかし、本ウナギ体表粘液 16.1 kDa レクチンはすでに報告されているマアナゴレクチン Congerin に対する抗体とクロス反応し、分子量も近いことなどから二次構造の類似性が想定され、比較生物学的観点からも興味深い。

Purification and biochemical characterization of 16.1 kDa lectin in the skin mucus of the eel

・S. Tasumi, I. Kawazoe, T. Ohira, H. Suetake, K. Kawabata, M. Nakaya, Y. Suzuki and K. Aida  
Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

B 7

コイ補体第3成分(C3)アイソフォームの単離・同定

・無津呂 淳一・中尾実樹・加藤陽子・藤木和浩・矢野友紀

九州大学大学院生物資源環境科学研究科

近年の研究で硬骨魚類のC3(the third complement component)は、高度な多様性を持つことが明らかとなっている。これまでに演者らは、1尾のコイから8種類のC3アイソフォームcDNAを単離した。これらのアイソフォームは、80~95%のアミノ酸配列同一性を示し、チオエテルの開裂・結合反応を触媒するヒスチジン残基(触媒性His)に変異が見られた。これらの変異は、C3の異物表面に対する結合特異性に大きく影響すると考えられることから、このような多様な結合性を示すC3を持つことが硬骨魚類の生体防御上有利に働いていると推測される。

本研究では、これらのC3アイソフォームの発現をタンパク質レベルで確認し、その機能的な差異を検討するために、コイ血清からC3タンパク質の精製を試みた。コイ血清をポリエチレングリコール分画後、その5~16%画分を陰イオン交換、ゲル濾過など各種カラムクロマトグラフィーに供試し、1尾のコイから5種類のC3アイソフォームを得た。これらは、全て $\alpha$ 鎖(約120 kDa)と $\beta$ 鎖(約66 kDa)からなる2本鎖構造をとり、精製中に変性したものを除いた4種は、分子内部にチオエステル結合を保持したネイティブなC3であった。触媒性HisのSerへの置換に伴い、チオエステルの結合特異性が水酸基からアミノ基へと変化することがタンパク質レベルで確認された。また、4種の変異C3の溶血活性は大きく異なったが、触媒性Hisとは必ずしも相関がなかった。この様な触媒性Hisを欠くC3が硬骨魚類において確認されたことは、非常に興味深い新見知である。

Isolation and identification of the third complement component isoforms from the common carp (*Cyprinus carpio*).

Junichi Mutsuro, Miki Nakao, Yoko Kato, Kazuhiro Fujiki, and Tomoki Yano

Division of Bioresources and Bioenvironment Sciences, Graduate School, Kyushu University

B 8

コイ補体MASPアイソフォームの分子クローニングおよび遺伝子解析

永井 毅・中尾実樹・加藤陽子・無津呂淳一・木村守孝・藤木和浩・矢野友紀

九州大学大学院生物資源環境科学研究科

MASP(mannose-binding lectin-associated serine protease)は、補体レクチン経路を介して補体成分C4, C2, C3を活性化するセリンプロテアーゼ(SP)である。これまでに、ヒト、マウス、カエル、コイ、サメ、ヤツメウナギ、ホヤからMASPのcDNAが単離されており、レクチン経路は幅広い動物で機能する起源の古い補体活性化経路であると考えられる。

本研究では、硬骨魚類におけるMASPの多様性を検討するために、コイから、MASP様クローンの単離を試みた。その結果、既報のcaMASPに加えて、新規アイソフォーム(MASP-related protein, MRP)のcDNAを単離した。MRPのN末端側のドメイン構造は、caMASPと同様に、CUB1/EGF/CUB2/SCR1であったが、C末端側に続くべきSCR2/SPドメインを欠損し、代わりに21残基から成るユニークなC末端アミノ酸配列を含んでいた。ノーザンブロットングにおいて、供試した6個体のコイの肝臓から、caMASPとMRPのmRNAが検出された。caMASPの二つのSCRドメインをコードするエキソン間に相当するゲノムDNAをPCRで増幅したところ、MRPのC末端アミノ酸配列をコードするエキソンが見つかった。したがって、caMASPとMRPは同一の遺伝子を共有し、mRNAの選択的スプライシングによって生じたアイソフォームであることが判明した。近年、ヒトMASP2においても、選択スプライシングによってCUB-EGFドメインだけから成る、コイMRPと類似したアイソフォームが見つかっており、このようなアイソフォームの役割に興味もたれる。

Molecular cloning and gene analysis of MASP isoforms, components in carp complement.

Takeshi Nagai, Miki Nakao, Yoko Kato, Jun-ichi Mutsuro, Moritaka Kimura, Kazuhiro Fujiki, and Tomoki Yano

Division of Bioresources and Bioenvironment Sciences, Graduate School, Kyushu University

B 9 コイC3レセプターβサブユニットのcDNAクローニングと遺伝子解析

°木村守孝・藤木和浩・中尾実樹・申同浩・矢野友紀

九州大学大学院生物資源環境科学研究科

補体第三成分 (C3) レセプター (CR3)は細胞接着分子インテグリンの一種で、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖から成るヘテロダイマーである。CR3は補体C3の活性化フラグメントiC3bを主に認識して、白血球による異物の食食を亢進する。本研究では、魚類の生体防御に重要な役割を果たすオプソニンのメカニズムを解明するために、免疫強化物質スクレログルカンおよびアルギン酸ナトリウムを投与したコイと無投与コイの白血球で発現しているmRNAの差分を、Suppression Subtractive Hybridization法で解析し、コイCR3 $\beta$ サブユニットのcDNAをクローニングした。ライブラリーより単離されたcDNAクローン [IB19 (3.2 kbp), IB22 (2.8 kbp)] は、それぞれ767 残基および768 残基のアミノ酸をコードする翻訳領域を含んでいた。両者の推定アミノ酸配列は、インテグリン $\beta$ 鎖に特徴的なシステインに富む4回の反復配列を含み、ヒトのインテグリン $\beta$ 鎖 ( $\beta 1\sim\beta 8$ ) と30~49%の同一性を示したが、中でも $\beta 2$ と最も高い相同性が認められた。したがって、IB19とIB22は、いずれもコイCR3の $\beta$ サブユニットをコードするクローンであると考えられた。RT-PCRを行った結果、IB19, IB22ともに免疫強化物質による刺激の有無に関わらず、頭腎および腹腔内の白血球で構成的に発現していることが判明したが、IB19の発現量には個体間でばらつきがあった。ゲノムDNAを用いたサザンブロットリングおよびPCRによって遺伝子コピー数を解析したところ、複数のバンドが認められ、コイCR3 $\beta$ サブユニット遺伝子が重複していることが示唆された。

cDNA cloning and gene analysis of carp complement receptor type 3  $\beta$ -subunit.

Moritaka Kimura, Kazuhiro Fujiki, Miki Nakao, Shin Dong-Ho, Tomoki Yano

Division of Bioresources and Bioenvironment Sciences, Graduate School, Kyushu University

B10 SSH法を用いたコイサイトカイン類(PBEF, LECT2, GMF $\beta$ )のcDNAクローニング

°藤木和浩・申同浩・中尾実樹・矢野友紀

九州大学農学部水産化学第一講座

Suppression subtractive hybridization (SSH)法は、PCRを利用したcDNAのサブトラクション法であり、サイトカインを含む発現量の低い遺伝子のクローニングに効果的である。本研究では、2種類のSSHを行い、コイサイトカイン類のクローニングを試みた。SSH1:コイにアルギン酸ナトリウムを腹腔内投与し、48時間後の腹腔内細胞のcDNAから無処理のコイの頭腎細胞のcDNAを差し引いた。SSH2:コイにスクレログルカンとアルギン酸ナトリウムの混液を腹腔内投与し、3, 6, 12, 24, 48時間後に頭腎細胞と腹腔内細胞を採取しプールした細胞のcDNAから、これをライブラリー化したものを差し引いた。SSH1では、これまでに全長塩基配列を決定したCC chemokine、allograft inflammatory factor-1 (AIF-1)、natural-killer enhancing factor (NKEF)に加えて、新たにpre-B cell enhancing factor (PBEF)のホモログの全長cDNAをクローニングした。コイPBEFはヒトPBEFと86.2%と非常に高いアミノ酸同一性を示した。SSH2ではleukocyte cell-derived chemotaxin 2 (LECT2)とglia maturation factor  $\beta$  (GMF $\beta$ )のホモログが得られた。コイLECT2は哺乳類のLECT2と47.5-48.1%のアミノ酸同一性を示した。一方、コイGMF $\beta$ は哺乳類のGMF $\beta$ と76.1-77.5%と高いアミノ酸同一性を示した。cDNA cloning of carp (*Cyprinus carpio*) cytokines (PBEF, LECT2, GMF $\beta$ ) by use of suppression subtractive hybridization

Kazuhiro Fujiki, Dong-Ho Shin, Miki Nakao and Tomoki Yano

Laboratory of Marine Biochemistry, Kyushu University

## II. The Modulation of Innate Immunity.

Christopher J. Bayne<sup>1,2</sup>, Lena Gerwick<sup>2</sup> and Nora Demers<sup>2,3</sup>,

<sup>1</sup>Laboratory of Marine Biochemistry, Department of Fisheries, Kyushu University, Hakozaki, Fukuoka 812-8581, <sup>2</sup>Department of Zoology, Oregon State University, Corvallis, Oregon 97331, USA, and <sup>3</sup>Biology Department, College of Arts & Sciences, Florida Gulf Coast University, Ft. Myers, FL 33965, USA.

Modulation is change. In physiological systems, such changes are evident in the effectiveness with which the system performs to ensure survival. Within the adaptive immune system, modulation is an absolute pre-requisite for defensive functions, since lymphocyte clones must be expanded and differentiated. Within the innate immune system, effector components are pre-formed and ready for action. It is important to consider, however, to what extent components of innate immunity are subject to modulation. Many components, both humoral and cellular, make up the innate immune system. The purpose of this presentation is to evaluate molecular components in terms of their capacity to achieve altered effectiveness. External factors that may modulate innate immunity include diet, toxic pollutants, temperature, and stressors. Internal factors that may modulate innate immunity include nutritional status, age, endocrines, and the presence of pathogens or parasites. Our work, using fish models, has focussed on rapid effects of stressors. We hypothesized that the “fight-or-flight” response that is experienced at times of acute danger should include enhanced effectiveness of innate immunity to cope with non-sterile consequences of bodily injury. Modulation as proposed is indeed found to occur: several plasma proteins increase within minutes of the start of an acute stressful event. In rainbow trout, these proteins include lysozyme, complement component 3, and others. With the goal of developing probes for use in quantifying additional humoral components involved in such responses, we are sequencing genes involved in the acute phase response of trout. Catecholamine hormones elicit altered trafficking of leukocytes, and we postulate that these hormones also induce the release of so-called acute phase proteins as part of the “fight-or-flight” response. Development of the trout as a model for this work has relied on appropriate selection and administration of anesthetic; surreptitious infusion of 2-phenoxyethanol into home tanks yields fish with low plasma adrenaline levels.

昆虫の生体防御系は脊椎動物の獲得免疫とは異なり抗体は関与せず先天性免疫だけで細菌類、真菌類、ウイルス等の微生物感染に対処する特徴を持つ。

大腸菌で免疫したカイコ5齢幼虫より既知のセクロピンAやB以外にセクロピンDや新規のレボシンやモリシンと命名した抗菌性蛋白質が分離・同定された。レボシンは32個のアミノ酸から成り、プロリンに富み糖鎖を含むことが大きな特徴である。レボシンは3つの類似体から成り、グラム陰性細菌を殺すが、糖鎖は活性発現に必須である。一方、モリシンは $\alpha$ ヘリックス構造をもちリポゾームを用いた実験より細菌の細胞質膜に作用することが明らかとなっている。モリシンはグラム陰性及び陽性細菌いずれにも強い抗菌活性を示し臨床分離株のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)や緑膿菌に対しても活性を示す実験結果が得られている。

昆虫の抗菌性蛋白質遺伝子はリポポリサッカライド(LPS)やペプチドグリカン(PG)等の細菌の細胞壁構成成分でその発現が誘導されることが知られている。これらの細胞壁構成成分の内LPSについてはカイコの貧食細胞である顆粒細胞を含む *in vitro* 系に大腸菌を加える実験から血液中の貧食細胞による補食の結果生じることが示された。このように生成されたLPSは顆粒細胞表面にある11kDaの膜蛋白質に結合することがわかっている。LPSによって引き起こされる血球や脂肪体のような特定の組織の細胞内情報伝達経路としてG蛋白、cAMP、カルシウムイオン、プロテインキナーゼAとC等の因子が関与することが推測された。一方、細胞核の中に存在するセクロピンB、アタシン、レボシンやモリシン等の抗菌性蛋白質遺伝子の5'上流の活性制御領域にはTATAボックス、NF- $\kappa$ B結合領域、GAGAボックス、IL-6結合領域等の脊椎動物の免疫系に関与する蛋白質遺伝子上にも共通して存在する重要な活性制御モチーフが存在することが明らかになった。これらのモチーフに細菌やLPSでカイコを免疫した場合にのみ結合する核蛋白質があることがわかってきた。細胞内情報伝達の最終局面で細胞質内に存在する核蛋白質がその情報を受けて核へ移行し、特定のモチーフに結合することにより遺伝子発現が引き起こされるものと推察される。最近になり、カイコアタシン遺伝子の5'上流に昆虫のような無脊椎動物や脊椎動物において今まで知られていない核蛋白質結合部位が同定された。それはNF- $\kappa$ B結合領域とGATAボックスのすぐ下流に位置するCATT配列で、ゲルシフト分析により、カイコをLPSで免疫した時のみにこの部位に結合する核蛋白質の存在が実証された。

Humoral immune factors in *Bombyx mori*.

Minoru YAMAKAWA

(Laboratory of Biological Defense, NISES)

川畑俊一郎

九州大学大学院理学研究科生物科学専攻

抗体の多様性を利用できない無脊椎動物にとって、侵入する細菌に対する異物認識は、細菌表層に存在する糖鎖を認識するレクチンと呼ばれる糖結合タンパク質によるところが大きい。これら生体防御レクチンのなかには、細菌特異的なものではなく、生物に普遍的に存在する単糖、あるいはその一部を認識するものがある。自己にも存在する糖鎖をターゲットにしていかに非自己を認識できるのか？

カプトガニ体液の顆粒細胞には、体液凝固因子やレクチン（タキレクチン、TLと略）、抗菌ペプチドなどが顆粒内に貯蔵されており、リポ多糖（LPS）の刺激により細胞外に放出される。当研究グループは、現在まで顆粒細胞より4種の特異性の異なるレクチンを単離した。タキレクチン-2（TL-2）は、A型赤血球を特異的に凝集するレクチンで、水溶液中では単量体で存在する。TL-2は、単糖のなかでは、D-GlcNAcに対する特異性が最も高く、ある種のLPSやグラム陽性菌の表層成分であるリポテイコ酸に対する結合活性がある。TL-2は、236残基からなる単純タンパク質で、47残基の5回の繰り返し配列から構成されており、最近のTL-2のX線結晶解析により、その立体構造は、一次構造の5回繰り返し配列を反映し、4本の逆平行 $\beta$ -シートを構造単位とした5葉 $\beta$ -プロペラ構造であった（文献）。さらに、レクチン-リガンド複合体の構造解析から、それぞれのプロペラに1個のD-GlcNAcが結合していることが判明した。

一方、古くより血漿中のレクチンの存在が報告され、顆粒成分と協調しつつ生体防御反応に関与していると考えられる。最近、血漿から2種の強い赤血球凝集活性と細菌凝集活性をもつTL-5Aおよび5Bを精製した。その血球凝集活性は、糖に限らずアセチル基を含むすべての物質で阻害されたことから、TL-5は生物に普遍的に存在するアセチル基を認識していることが判明した。この活性は、これまで報告されたレクチンには見られない特異的なものである。一方で、TL-5は顆粒細胞由来の抗菌ペプチドの抗菌性を増大させた。したがって、TL-5は種々の感染菌侵入の際、菌の表層に結合し、感染防御の初期過程に重要な役割を果たしていると考えられる。TL-5の全塩基配列を決定した結果、哺乳類フィブリノーゲン（ $\beta, \gamma$ 鎖）やフィブリノーゲン類似タンパク質との間に40-50%のアミノ酸配列類似性が示された。さらに、TL-5の溶液中でのオリゴマー形成やその花束状の電子顕微鏡像は、哺乳類のcollectinsやficollinsといった異物認識レクチンとの機能類似性をも連想させる。

本シンポジウムでは、カプトガニレクチンの糖結合の多価性とレクチン表面に複数存在する糖結合部位の距離に非自己認識の秘密が隠されていることを紹介したい。

(文献) Beisel, H.-G., Kawabata, S., Iwanaga, S., Huber, R. & Bode, W. (1999) *EMBO J.* 18, 2313-2322.

Molecular mechanism to distinguish between self and none-self by horseshoe crab lectins

Shun-ichiro Kawabata

(Department of Biology, Kyushu University)

トランスフェリン(Tf)は血清中に存在する分子量約 80 K ダルトンの糖蛋白質で主に肝臓で合成される。Tf は鉄の輸送、鉄の吸収、細胞の増殖分化、免疫機能の調節および抗微生物の作用等があげられる。魚類の Tf に関する研究のほとんどは、アイソザイムの多型解析による多型性を調べたものであるが、サケ科魚類のギンザケの Tf は A, B, C の 3 タイプが存在し、その内 C タイプが細菌性腎臓病に対する抵抗性があることが報告されている。また、ニジマスにラクトフェリンを投与することにより、マクロファージあるいは好中球レセプターを介して食食作用および化学発酵能が高まり、魚類病原菌、*Vibrio anguillarum* および  $\beta$  溶血型レンサ球菌に対して抵抗性を示すことが明らかにされている。しかし魚類の Tf の機能については不明な点が多い。最近、魚類の Tf の遺伝子あるいは cDNA がクローニングされ、その遺伝子構造、発現調節機構が明らかにされつつある。今回はこれらの研究を紹介する。

メダカ Tf 遺伝子は約 8.5 kb 上に 17 個のエキソンと各エキソン間を介する 16 個のイントロンより構成され、エキソンの長さは、哺乳類と鳥類の Tf 遺伝子に比べてほぼ同じであったがイントロンの長さは短かった。メダカ Tf 遺伝子の転写調節を行っているプロモーター領域近辺には、転写因子 TFIID の結合部位である TATA Box および転写活性化因子 Sp1 の結合部位である GC box が 2 か所、エンハンサー領域として、エストロゲン応答領域、グルココルチコイド応答領域が 2 か所および金属応答領域が 4 か所存在していた。メダカおよびサケ科魚類の Tf のタンパク質翻訳領域のアミノ酸配列を他の Tf ファミリーのものと比較すると鉄結合に関与する 5 個アミノ酸 (アスパラギン酸、ヒスチジン、アルギニン、チロシンは 2 アミノ酸) およびジスルフィド結合を形成するシステインは種を越えてよく保存されていたが、アニオンを介して結合するアルギニンが N ロープにおいて、魚類および *Xenopus* ではリジンであった。魚類の Tf の基本的構造は N ロープと C ロープよりなり、両者間において相同性が認められることより遺伝子重複により形成された遺伝子であることが示唆された。

サケ科魚類の Tf の ORF (ギンザケ、ニジマス、ヒメマス、アマゴ、サクラマス、イワナ、カワマス、レイクトラウト、ブラウントラウトおよび大西洋サケ) をそれぞれ比較したところ 84% 以上の高い相同性が認められており、*Oncorhynchus* 属の 17 アミノ酸、*Salvelinus* 属の 10 アミノ酸、*Salmo* 属の 12 アミノ酸が各属に特異的なアミノ酸であった。これらのアミノ酸は属の分岐後に置換が起こったと考えられた。また、アミノ酸配列をもとに系統樹を作成し、サケ科魚類の分子進化について検討したところ、形態および染色体数による既知のサケ科魚類の分類とも同様の結果であったことより、Tf のアミノ酸配列を用いた系統分類は、サケ科魚類のみならず、魚類全般に応用できる可能性が示唆された。

Transferrins in teleost

Jong-Young Lee

(Laboratory of Genetics and Biochemistry, Tokyo University of Fisheries)

## ニジマスのC-反応性蛋白質

見玉 洋

大阪府立大学農学部獣医免疫学講座

魚類および無脊椎動物の血液(血リンパ液)中には、高等脊椎動物と同様急性相蛋白質が存在し、C反応性蛋白質(C-reactive protein; CRP)がよく知られる。肺炎双球菌のC多糖体(C-polysaccharide; CPS)に親和性を有することから、CPSアフィニティークロマトグラフィーによる分離が行われる。我々は魚類における炎症マーカーを検討し、ニジマス血清中に2種類の急性相蛋白質(CRPおよびCPS結合ニジマス蛋白(trout CPS-binding protein-1; TCBP-1))を見出した。それらの生物性状、および生理機能の変化あるいは細菌感染に伴う血中濃度の変化を調べた結果をもとに、生体防御および恒常性維持における急性相蛋白質の意義について述べる。

1. CRPおよびTCBP-1の理化学性状: 精製したニジマスCRP N末端アミノ酸配列を、ツノガレイ、ウサギおよびヒトCRPのそれと比較すると、それぞれ48%、52%、48%の相同性を示した。一方、TCBP-1と類似性をもつ既知の蛋白質は、データベースからは検索されなかった。電気泳動および電子顕微鏡解析により、両者とも5個のサブユニットから成る5量体を形成すると推測された。CRP、TCBP-1は互いに抗原性を異にすることが、特異抗血清による解析で示された。

2. CRP、TCBP-1の生物活性: 両者とも、肝臓において産生されるものと推測された。マクロファージ活性化を検討したところ、頭腎マクロファージの遊走性は、CRPにより顕著に促進された(ケモカインesis)。また、マクロファージのプラスチックビーズ貪食は、CRP添加により顕著に促進された。CRP処理ビーズに対しても貪食率が上昇することから、これがオプソニン作用によることが示された。

一方、TCBP-1はCPS存在下で、また、TCBP-1を多量に含む急性相血清はそれ自身でニジマス補体を活性化した。*Vibrio anguillarum*の*in vitro*増殖を抑制するとともに、マクロファージの食菌活性を高めた。末梢血リンパ球の約25%、また頭腎リンパ球の4%に細胞表面TCBP-1が検出された。ConA、PHAあるいはLPSでリンパ球を刺激するとTCBP-1陽性細胞率が上昇し、さらに、TCBP-1陽性リンパ球は、非特異的に標的細胞を傷害した。

3. 個体レベルにおけるTCBP-1産生: ニジマス血清中のTCBP-1濃度は、*V. anguillarum*や*Aeromonas salmonicida*感染後の体内での菌の増殖の度合いをよく反映した。菌を腹腔内接種するとTCBP-1濃度が急激に上昇したが、浸漬感染ではその上昇は緩慢であった。また、LPSやフロインドアジュバント接種、水温上昇、闘争、浅水飼育など、魚にストレスを与えた場合にもTCBP-1産生をみたことから、感染以外にもTCBP-1を産生させる刺激が存在することが示唆された。

4. このように、細菌感染などに伴ってCRPやTCBP-1が産生されると、補体やマクロファージを活性化して食菌を促進し、急性相蛋白質が感染防御に役割を果たしていると考えられた。

C-reactive protein of rainbow trout

Hiroshi KODAMA

(Lab. Veterinary Immunol., College Agricult., Osaka Prefecture Univ.)

○遠藤雄一<sup>1</sup>、高橋 実<sup>1</sup>、中尾実樹<sup>2</sup>、野中 勝<sup>3</sup>、松下 操<sup>1</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> 福島医大・二生化、<sup>2</sup> 九大・海洋生命化学、<sup>3</sup> 東大大学院・生物科学

補体系には免疫複合体が活性化の引き金となる古典的経路と、微生物上で直接活性化が起こる第二経路が知られていた。近年、血清中のマンノース結合レクチン (MBL) が微生物上の糖鎖に結合して、補体系を活性化する第三の補体活性化経路が発見された。この経路はレクチン経路と呼ばれ、感染初期の生体防御において重要な役割を果たしていると考えられている。ヒトMBLには古典的経路のC1r/C1sと類似性をもつ2種類のセリンプロテアーゼMASP-1とMASP-2が結合しており、MBLが糖鎖に結合することに伴いMASPが活性型に転じ補体系を活性化する。

我々は、レクチン経路の起源とMASP/C1r/C1sファミリーの分子進化を明らかにするため、各種の脊椎動物のMASP cDNAのクローニングを行った。この結果、哺乳類 (マウス) と両生類 (ゼノパス) においてはMASP-1とMASP-2の2種類のcDNAが得られ、ヒトと同様のレクチン経路が存在することが示唆された。一方、硬骨魚類 (コイ)、軟骨魚類 (ドチザメ) および円口類 (ヤツメウナギ) においては1種類のMASP cDNAが得られ、ヒトとは異なるレクチン経路の存在が示唆された。このようにMASPで惹起されるレクチン経路は、もっとも下等な脊椎動物である円口類から高等動物に至るまで広く存在することが明らかになった。ヤツメウナギにMASPが存在するという事実は、古典的経路が軟骨魚類以上の高等動物にのみ存在することと比較すると、レクチン経路が古典的経路よりも古い起源をもつことを示唆している。近年、無脊椎動物のマボヤにおいてMASP cDNAが報告され、レクチン経路の起源は無脊椎動物にまで遡ると推定される。

次に、MASP/C1r/C1sファミリーの分子進化を明らかにするために、cDNAから推定されるMASPの一次構造、活性中心セリンのコドン、遺伝子のエクソン構造などを比較した。その結果、このファミリーは共通の祖先から2つの系統に別れて進化してきたことが明らかになった。1つの系統はTCNタイプ (セリンのコドンがTCN) で、このグループにはマボヤMASPとMASP-1が含まれる。他方はAGYタイプで、このグループにはMASP-2、C1r/C1sおよび下等動物 (コイ、ドチザメ、ヤツメウナギ) のMASPが含まれる。AGYタイプは、原型であるTCNタイプから脊椎動物出現以前に分岐して生じ、その後少なくとも2度の遺伝子重複を経てMASP-2、C1rおよびC1sが作り出されたと推定された。

現在、ヒトMASP-1とヒトC1s遺伝子のプロモータを解析しており、両遺伝子の発現調節を比較することによって、レクチン経路と古典的経路の進化と生物学的意義をさらに明らかにできるものと考えている。

#### Evolution of the complement lectin pathway

Yuichi ENDO<sup>1</sup>, Minoru TAKAHASHI<sup>1</sup>, Miki NAKAO<sup>2</sup>, Masaru NONAKA<sup>3</sup>, Misao MATSUSHITA<sup>1</sup> and Teizo FUJITA<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept. of Biochemistry, Fukushima Medical University School of Medicine, <sup>2</sup>Lab. of Marine Biochemistry, Kyusyu University, <sup>3</sup>Dept. of Biological Sciences, University of Tokyo)

## 第3日目

一般講演：C 1～C 4

D 1～D 3



C 1

ナツメボヤ *Ascidia ahodori* における異種拒絶反応

○白江麻貴・齊藤麻典

筑波大学下田臨海実験センター

原索動物の単体ホヤ *Ascidia ahodori* (ナツメボヤ) が群体ホヤのイタボヤ類 *Botryllus scalaris* との接触部において、血球浸潤を伴う異種拒絶反応を起こすことを報告する。

イタボヤ類は同種異群体や同類異種群体との接触により拒絶反応をおこすことが知られている。イタボヤ類では群体を構成する個虫は共同血管系によって互いに連絡しており、この拒絶反応は群体の辺縁部にある血管盲端 (アンブラ) を中心に行われる。多くのイタボヤ類で、拒絶反応時に血球がアンブラ先端から被囊へ浸潤し、崩壊して壊死することが報告されている。

ナツメボヤもまた、基質に固着した被囊の辺縁部に血管盲端を持っている。ナツメボヤ血管盲端と *B. scalaris* のアンブラが接触した 3-6 時間後、ナツメボヤ血球の血管盲端から被囊への浸潤が観察された。さらに光学顕微鏡による観察では、浸潤した血球種は様々であること、これらの血球は自身の被囊を通り抜け *B. scalaris* の被囊上へも移動していること、浸潤血球の周囲で被囊が崩壊していることがわかった。

以上の結果は、血管盲端における血球参加型の拒絶反応がイタボヤ類のみの特徴ではなく、個体辺縁部に血管盲端を持つ他の単体ホヤにも起こりうることを示唆する。従ってこれはイタボヤ類における群体特異性との関連性や、ホヤ血球の免疫機構の生態学的意義を考察する上で重要な現象であると考えられる。

Xenorejection reaction in a solitary ascidian, *Ascidia ahodori*

○Maki Shirae and Saito Yasunori

Shimoda Marine Research Center, University of Tsukuba

C 2 Viriform cell はマボヤの被囊細胞で被囊形成に関与する可能性がある

○大竹伸一・阿部健之・石井照久\*・宍倉文夫・田中邦男

日大医学部生物・秋田大教文生物\*

マボヤ (*Halocynthia roretzi*) の viriform cell は、好酸性、高電子密度の顆粒をもつ大型の細胞で、表皮のすぐ外側の被囊基質に多数存在するが、機能は不明である。また、in vitro で他の血球と異なった行動を示すので、寄生物の可能性も指摘されていた。同一個体の筋膜・血球・viriform cell のゲノム DNA を鋳型に、RAPD 法により解析した結果、OPA-9,18 をプライマーに用いた PCR 産物のフィンガープリントは全く一致した。これは、viriform cell がマボヤの細胞で、被囊に局在することから被囊細胞であることを示している。Viriform cell は、変態直後の被囊には認められないが、被囊が褐色になるに従って現れてくるようである。また、viriform cell は被囊から生えてきた白い根の被囊血管 (=表皮の突出) の周囲とクチクラ直下にも多数認められた。古い根と比較すると、基本的な構造は同じだが、新しい根にはサブクチクラが発達しておらず、かわりに viriform cell が高密度で存在していること、根全体にわたって viriform cell の数が多いことが特徴的だった。これらの結果は、viriform cell が被囊の形成と根の成長に深く関与している可能性をうかがわせる。

Viriform cell, a kind of tunic cells, participates in the tunic formation of *H. roretzi*

S. Ohtake, T. Abe, T. Ishii\*, F. Shishikura and K. Tanaka

Dept. of Biol., Nihon Univ. Sch. Med., and Div. of Biol., Akita Univ.\*

C 3 マボヤの対異物反応におけるgranular cell type 2 (G2 / LG / fibroblastic cell)の役割

○沢田知夫<sup>1)</sup>・西川晶子<sup>2)</sup>・徳田信子<sup>1)</sup>・王玉雪<sup>1)</sup>・友永進<sup>2)</sup>・福本哲夫<sup>1)</sup>

山口大学医学部解剖学第一<sup>1)</sup>・医療技術短期大学<sup>2)</sup>

原索動物マボヤの体液細胞は多種多様であり、感染防御・異物排除において重要な役割を持つと考えられているが、個々の細胞がどのような役割を果たすかについては、phagocytic cells (p1, p2 / SG) 細胞群が示す明らかな食作用を除いてほとんど分かっていない。我々は「異物侵入に際して結合組織内に浸潤し、組織全体を収縮させることによって異物を局所に封じ込め拡散を防ぐしくみ」がマボヤに存在すると考えている。今回、ラットの固定・生赤血球 (RRBC) をマボヤの体壁および endocarp 内に注入し、血リンパ洞内で血球と混合して形成されたRRBC塊をとりまく結合組織内に、血球細胞が多数浸入し集まっていることを観察した。結合組織内に浸入した細胞はかなり細胞質果粒を失っており、TEM 観察でG2-cell と断定できる像は比較的少なかったが、光学顕微鏡下の形態・染色性からその血球の多くがG2-cellであると判断した。結合組織内に浸入したVacuolated cell やPhagocytes は比較的分散する傾向が見られたことから、RRBC塊の周囲には留まらず結合組織内を遊走するものと考えられた。Giant cell (G3) はまばらで分布に関して異物との関連は見られなかった。我々は、G2-cell が同型細胞同士で凝集すること、マボヤG2-cell と形態・行動が類似するエボヤのbasophilic granular cell がゲル状の基質を引っ張り収縮させることを、既に本学会において報告している。今回の観察と合わせ、マボヤ組織内に侵入した異物の封じ込めに関してG2-cell 細胞は主要な役割を担うものと推測した。

Role of type 2 granular cells (G2 / LG / fibroblastic cells) in the defence of tunicate *Halocynthia roretzi*.

OT. Sawada<sup>1)</sup>, S. Nishikawa<sup>2)</sup>, N. Tokuda<sup>1)</sup>, Y-H. Wang<sup>1)</sup>, S. Tomonaga<sup>2)</sup> and T. Fukumoto<sup>1)</sup>

School of Medicine<sup>1)</sup>, School of Allied Health Sciences<sup>2)</sup> of Yamaguchi University

C 4

ホヤ被囊中における強酸：酸性度・分布・含有量

広瀬裕一、森康彰

琉球大学理学部海洋自然科学科

アスキジア科の単体ホヤ*Phallusia nigra*の被囊は強酸を含有しており、捕食忌避や外傷時の殺菌に機能していると考えられている。この強酸の実体は被囊中に分布する巨大な液胞細胞 (bladder cell)に蓄えられている硫酸であることがわかっている。

注射針(16ゲージ針)形pH電極を用いて、本種の被囊内pHの測定を行った。ホヤの各部7ヶ所 (入水管、体の右・左・背・腹側、後端) について測定したところ、ホヤの部域に関わらずpH 1~2であった。また、湿重量3~20gの様々な大きさの個体の間でも被囊内pHに違いは認められなかった。季節によるpHの変動も認められていない。通常、本種の被囊は黒い色素顆粒を含む細胞が分布するので黒色を呈するが、暗所で生育した個体は色素があまり形成されないため白い被囊を持つ。この白い被囊の個体においても被囊内pHは黒い個体と同様であり、色素形成は強酸に関連しないと考えられる。

被囊のパラフィン切片を試料として被囊および液胞の面積を計測したところ、被囊の20%以上を液胞が占めていることから、被囊全体の体積の20%以上がpH2以下の含硫酸溶液であると推定された。さらに、被囊内で液胞細胞は主にクチクラ近くで高密度に分布しているので、クチクラから300 $\mu$ mの領域では、実に70%近くを液胞が占めていた。

Strong acid in ascidian tunic: pH, distribution and amount in the tunic

Euichi Hirose and Yasuaki Mori

Dpt. of Chem., Biol. & Mar. Sci., Fac. of Science, Univ. of the Ryukyus.

D1

紫外線 B 照射のマウス好中球機能に及ぼす影響

○笠原 進司<sup>1)</sup>・相澤 香織<sup>2)</sup>・岡宮 雅美<sup>2)</sup>・数野 直美<sup>2)</sup>・武藤 忍<sup>2)</sup>・和合 治久<sup>2)</sup>

東京農工大学大学院農学研究科環境資源学環境生理化学<sup>1)</sup>

埼玉医科大学短期大学臨床検査学科免疫学<sup>2)</sup>

近年成層圏オゾンの枯渇が全世界的に観察されており、それによる紫外線 B の地上への照射量増大が及ぼす生物への悪影響が懸念されている。紫外線 B は、ヒトや動物の生体防御機構を乱し、様々な感染症や腫瘍の原因になることが知られている。これまでの研究から、マウスに紫外線 B を照射することで、腹腔マクロファージの食食能、活性酸素産生能、インターロイキン 1 及び 12 産生能が低下することが判明している。本研究ではマクロファージに引き続きマウスの初期生体防御を担う末梢血中の好中球の防御機能に紫外線 B 照射が及ぼす影響を及ぼすかを調べる目的で、好中球の食食能、活性酸素産生能並びにインターロイキン 1 産生などの機能に注目して調べた。1 日 1 回、5 日間に渡り紫外線 B をマウスに  $100 \mu\text{w}/\text{cm}^2$  の強度で 20 分間照射した後、肝静脈より採血して、好中球を分離した。この好中球の食食能をイースト粒子の取り込みで調べた結果、紫外線 B 照射によって食食活性が低下した。一方、NBT 還元能を指標に活性酸素の産生を調べてみると、紫外線 B 照射によって活性酸素産生能が低下することが判った。さらに、紫外線照射をしたマウスの好中球を培養し、インターロイキン 1 の産生を ELISA 法で測定した結果、紫外線 B 照射によりインターロイキン 1 の産生が抑制されることが判明した。以上の結果から、紫外線 B 照射によってマウスの好中球機能が低下し、免疫機能が抑制されることが示唆された。したがって、成層圏オゾンの破壊による紫外線 B の照射増大は哺乳動物の初期生体防御を担うマクロファージや好中球など、食細胞系に大きな影響をもたらす可能性があると考えられる。

Ultraviolet Radiation Reduces Neutrophil Functions and Other Immune Responses in Mice

Shinji Kasahara, Kaori Aizawa, Masami Okamiya, Naomi Kazuno, Shinobu Muto, Haruhisa Wago

<sup>1)</sup> Department of Environmental Science, Tokyo University of Agriculture & Technology, Fuchu, Tokyo, 183-0054, Japan

<sup>2)</sup> Laboratory of Immunology, Department of Medical Technology, Saitama Medical School Junior College, Moroyama, Saitama 350-0495, Japan

D2 抗アレルギー性お茶類によるスギ花粉投与マウスのアレルギー抑制作用

○和合治久・木村奈津子・沼口朋子・浜崎政美・石井詠子・熊谷恵・栗原美子

埼玉医科大学短期大学・臨床検査学科・免疫学

スギ花粉で代表される花粉により、毎年多くのヒトが鼻水、クシャミなどの花粉症症状で苦しめられていることが、大きな社会問題になっている。この花粉症の症状を軽減させるためには、アレルギー 1 型に関与する IgE 抗体を抑制すること並びに肥満細胞の脱顆粒化を阻害することに加え、アレルギーの炎症増大に関与する腫瘍壊死因子 (TNF) を抑制することが重要と考えられる。本研究では、花粉症をお茶類で抑制する方法を探る目的で、特に近年注目されている甜茶と羅漢茶に注目し、その経口投与がスギ花粉エキスを経鼻投与されたマウスの血中 IgE 濃度と腹腔マクロファージの TNF- $\alpha$  産生並びに脾臓細胞のインターロイキン 4 (IL-4) 産生にどのような影響を及ぼすかについて調べたので、その結果を報告する。4~5 週齢の BALB/c 系の雌マウスを準備し、蒸留水 100 ml にお茶の葉 3 g を入れ 5 分間煮沸した後、濾過した抽出液を 7 日間、1 日 1 回 0.5 ml ずつゾンデにより経口投与した。この前投与に続き、お茶エキスを同様に投与すると同時に、1 日 1 回スギ花粉エキス (鳥居薬品) をマイクロピペットで  $25 \mu\text{l}$  ずつマウス鼻腔内に滴下してスギ花粉投与マウスを作出した。これらの投与を 10 日間連続して行い実験に用いた。最初に血清中の IgE 抗体を ELISA 法によって定基した結果、対照群を 1 とすると甜茶群では 0.66、羅漢茶群では 0.56 となり IgE 産生が抑制された。一方、腹腔マクロファージを採取して、産生される TNF- $\alpha$  を ELISA 法によって測定した結果、対照群を 1 とすると、甜茶群は 0.014、羅漢茶群は 0.057 になり強く抑制された。さらに、脾臓細胞による IL-4 産生を ELISA 法で調べた結果、対照群を 1 とすると、甜茶群は 0.041、羅漢茶群は 0.22 となり IL-4 産生が抑制された。以上より、甜茶や羅漢茶の摂取により、Th2 細胞の IL-4 産生が抑制され IgE 産生が減少されることおよび TNF- $\alpha$  産生の抑制がおり、アレルギー反応が抑制されると考えられた。

Suppressive Effects of Oral-Administration of Anti-Allergic Teas on Allergic States in Sugi-Pollinosis Mice

Wago, H., Kimura, N., Numaguchi, T., Hamazaki, M., Ishii, E., Kumagai, M. and Kurihara, Y.

Department of Medical Technology, Saitama Medical School Junior College

D 3

高翻訳型インターロイキン 15遺伝子トランスジェニックマウスの解析

○西村仁志<sup>1)</sup>・内記良一<sup>1)</sup>・角淵浩央<sup>1)</sup>・鈴木操<sup>2)</sup>・吉開泰信<sup>1)</sup>  
(名大・医・病態研・生体防衛<sup>1)</sup>、熊大・医・遺伝発生研<sup>2)</sup>)

【目的】インターロイキン15(IL-15)は、上皮やマクロファージから産生されるT細胞増殖因子である。このため、innate immunityとacquired immunityを結び付けるサイトカインとして注目されている。これまでに、活性化マクロファージにおいて選択的スプライシングによる複数のIL-15mRNAアイソフォームが存在することを見出した。また、それらのうちタンパク質として高翻訳されるアイソフォームは分泌のシグナル配列を欠くため、他のアイソフォーム由来のIL-15とは異なり、細胞内に局在することを明らかにした。今回、各種IL-15mRNAアイソフォームを組み込んだトランスジェニックマウスを作製し、その役割を検討した。

【方法】ゲノムDNAから、イントロンおよび高翻訳エレメントΦを含むエクソン4から5の領域をクローニングした。これを発現ベクターpCR3に組み込み、各種細胞株に一過性に発現させ、Φを含む高翻訳型アイソフォームのスプライシングの有無を調べた。マクロファージ細胞株J774A.1をLPSで刺激し、mRNAを抽出してcDNAを作製した。PCRで各種アイソフォームのクローニングを行った。それぞれをトランスジェニックベクターpHSE-3'に組み込み、トランスジェニックマウスを作製した。

【結果および考察】高翻訳エレメントΦを含むスプライシングは、マクロファージ特異的に認められた。一方、Φを含まないスプライシングは、ほとんどの細胞株で認められた。エクソン1とエクソン8のプライマーを用いてPCRを行ったところ2つのバンドが認められた。それらのDNA塩基配列を決定したところ、エクソン2を含まないエクソン1-3-4-5-および高翻訳エレメントΦを含むエクソン1-3-4-Φ-5-の選択的スプライシング産物が認められた。これら2つのアイソフォームのトランスジェニックマウスを作成したところ、いずれのマウスにおいても、mRNAレベルでトランスジーンの顕著な発現が確認された。しかし、高翻訳mRNAを発現させたトランスジェニックマウスにおいて、内因性のIL-15mRNAの発現が低下していた。さらに、細胞外へのIL-15タンパク質の産生が認められなかった。また、このトランスジェニックマウスにおいて、IL-15依存的に分化することが知られているNK細胞、NKT細胞および $\gamma\delta$ 型T細胞の分化に異常が見られた。これらのことから、高翻訳型mRNAアイソフォームは分泌型IL-15の産生を調節しているものと考えられる。

Analysis of IL-15 mRNA isoforms transgenic mice

○Hitoshi Nishimura<sup>1)</sup>, Yoshikazu Naiki<sup>1)</sup>, Hironaka Tsunobuchi<sup>1)</sup>, Misao Suzuki<sup>2)</sup>, Yasunobu Yoshikai<sup>1)</sup>  
(Nagoya Univ. Sch. Med.<sup>1)</sup>, Kumamoto Univ. Sch. Med.<sup>1)</sup>)

賛助会員・会則・学会の英文案内

および講演発表者名簿



## 賛 助 会 員

1)白井松新薬株式会社：〒528 滋賀県甲賀郡水口町大字宇川字稲場37-1  
TEL:0748-62-3258, FAX:0748-62-9061

2)和研薬株式会社：〒606 京都市左京区北白川西伊織町25  
TEL:075-721-8111, FAX:075-721-8189

3)ミツワ理化学工業株式会社：〒755 宇部市朝日町2番21号  
宇部支店 TEL:0836-21-4146

4)ミドリ十字中央研究所：〒573 大阪府枚方市招提大谷2丁目1180番地の1  
TEL:0720-50-0100, FAX:0720-57-5020

# 日本比較免疫学会・会則

## I. 名称

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

## II. 目的

1. 本会は、比較免疫学に関する研究の進歩をはかることを目的とする。

## III. 事業

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

## IV. 会員

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

## V. 役員

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

## VI. 会議

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

## VII. 会計

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

## VIII. 会則改正

1. 本会則の改廃は、総会において出席者の2/3以上の賛成を必要とする。

### 附則

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

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

## OFFICERS

April 1998-March 2000

### PRESIDENT

**Emiko FURUTA**  
Department of Anatomy  
Dokkyo University  
School of Medicine  
Mibu Tochigi 321-0293

### VICE PRESIDENT

**Haruhisa WAGO**  
Laboratory of Immunology  
Department of Medical  
Technology  
Saitama Medical School  
Junior College  
Saitama 350-0495

### SECRETARY/TREASURER

**Kunio TANAKA**  
Department of Biology  
Nihon University  
School of Medicine  
Itabashi-ku Tokyo 173-8610

### PROGRAM OFFICERS

**Mutuo KOBAYASHI**  
Department of Medical  
Entomology  
The National Institute  
of Health  
Shinjuku-ku Tokyo 162-8640

**Haruhisa WAGO**  
Laboratory of Immunology  
Department of Medical  
Technology  
Saitama Medical School  
Junior College  
Saitama 350-0495

### ABSTRACT OFFICER

**Masatoshi YAMAZAKI**  
Faculty of Pharmaceutical  
Sciences  
Teikyo University  
Sagamiko Kanagawa 199-0195

### TRUSTEES

**Hiroshi WATANABE**  
Tokyo Kaseigakuin  
Tukuba Women's University  
Tukuba Ibaraki 305-0031

### Itaru MORO

Department of Pathology  
Nihon University  
School of Dentistry  
Chiyoda-ku Tokyo 101-8310

## CONSTITUTION

### Article I. Name

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

### Article II. Object

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

### Article III. Business

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

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

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

### Article IV. Membership

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

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

**Article V. Officers**

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

**Article VI. Meeting**

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

**Article VII. Financial**

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

**Article VIII. Amendments**

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

**APPENDIX**

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

---

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

---

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

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

講演発表者名簿 (AUTHOR INDEX)

A

Abe, T. C2  
Agui, N. A2, A3  
Aida, K. B2, B6  
Aizawa, K. D1  
Arakawa, K. A4

B

Bayne, Christopher J. IL

D

Demers, Nora. IL

E

Endo, Y. S5

F

Fujii, R. A6, A7  
Fujiki, K. B7, B8, B9, B10  
Fujino, H. B4  
Fujita, T. S5  
Fukumoto, T. C3  
Furuta, E. A8

G

Gerwick, Lena. IL

H

Hamazaki, M. D2  
Hirose, E. C4

I

Iida, T. B3  
Ikeda, M. A1  
Inoue, T. B4  
Ishii, E. D2  
Ishii, T. C2

K

Kamiya, H. B5  
Kasahara, S. D1  
Kato, Y. B7, B8  
Kawabata, K. B6  
Kawabata, S. S2  
Kawazoe, I. B6  
Kazuno, N. D1  
Kikuchi, S. B1  
Kimura, M. B8, B9  
Kimura, N. D2  
Kobayashi, M. A1, A2, A3  
Kodama, H. S4  
Kondo, M. A6, A7  
Kumagai, M. D2  
Kurihara, Y. D2  
Kurogi, J. B3

L

Lee, Bok Luel A5  
Lee, Jong-Young S3

## M

Mamiya,S. B4  
Matsushita,M. S5  
Matsuyama,T. B3  
Minami,A. B4  
Mori,Y. C4  
Moritomo,T. B4  
Muramoto,K. B5  
Muto,S. D1  
Mutsuro,J B7, B8

## N

Nagai,T. B8  
Naganuma,F. A4  
Naiki,Y. D3  
Nakamura,H. B1  
Nakamura,O. B5  
Nakanishi,T. SL2  
Nakaya,M. B6  
Nakao,M. B7, B8, B9, B10, S5  
Nishikawa,S. C3  
Nishimura,H. D3  
Numaguchi,T. D2  
Nonaka,M. S5

## O

Ohira,T. B6  
Ohtake,S. C2  
Okamiya,M. D1  
Okamoto,N. SL1  
Okubo,K. B2

## S

Saito,N. A2  
Saito,Y. C1  
Sasaki,T. A1, A2, A3  
Sawada,T. C3

Seo,N. A8  
Shin,Dong-Ho. B9, B10  
Shirae,M. C1  
Shishikura,F. C2  
Suetake,H. B2, B6  
Suzuki,M. D3  
Suzuki,Y. B2, B6

## T

Takahashi,M. S5  
Takahashi,Y. A6, A7  
Tamura,Y. B4  
Tanaka,K. C2  
Tasumi,S. B6  
Tsunobuchi,H. D3  
Tojo,S. A4  
Tokuda,N. C3  
Tomonaga,S. A6, A7, C3

## U

Usami,T. B2

## W

Wago,H. D1, D2  
Wang,Y-H. C3  
Watanabe,T. B5

## Y

Yahata,S. B1  
Yamaguchi,K. A8  
Yamakawa,M. S1  
Yamamoto,A. A6  
Yano,T. B7, B8, B9, B10  
Yokoo,S. A4  
Yoshikai,Y. D3

---

日本比較免疫学会  
第11回学術集会講演要旨

原稿受付 1999年6月10日  
発行日 1999年7月12日  
発行者 日本比較免疫学会  
編集者 学術集会プログラム委員  
(責任者：和合治久)  
印刷所 ヨーコー印刷株式会社  
(埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷52-1)

---

# おいしさと栄養が生まれます。

## 調味料類

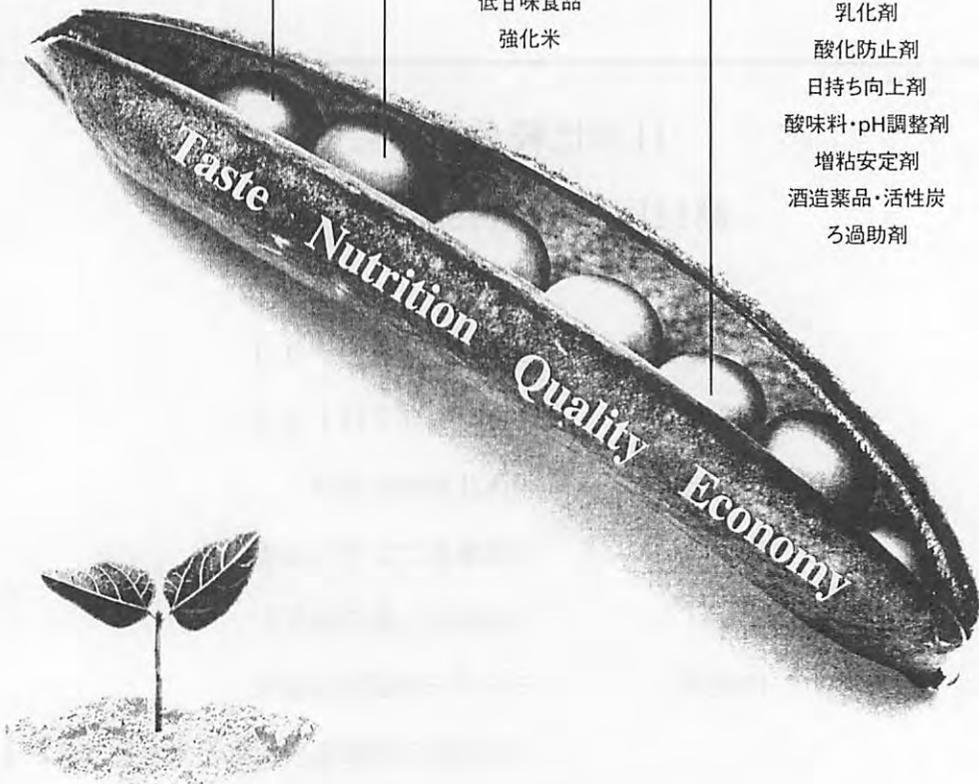
うま味調味料  
たん白加水分解物  
酵母エキス  
発酵調味液  
エキス調味料  
調合調味料

## 栄養素材類

水溶性ビタミン  
脂溶性ビタミン  
各種ミネラル  
乳酸菌食品  
セルロース  
食物繊維  
低甘味食品  
強化米

## 品質改良剤類

カードラン  
乳化剤  
酸化防止剤  
日持ち向上剤  
酸味料・pH調整剤  
増粘安定剤  
酒造薬品・活性炭  
ろ過助剤



▲ 武田薬品工業株式会社 フード・ビタミン カンパニー

〒103-8668 東京都中央区日本橋二丁目12番10号 TEL(03)3278-2296 FAX(03)3278-2244

JASCO

## 細胞内イオン測定による細胞の機能動態の解析に。

蛍光プローブを用いて、細胞内の各種イオン濃度を生きたままリアルタイムに測定します。2波長励起、2波長蛍光測定とも可能であり、fura2、indo1を用いた細胞内Ca<sup>2+</sup>測定をはじめ、pH、Na<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>の測定や、血小板凝集の同時測定も可能です。

### 特 徴

高エネルギー2波長分光励起システム内蔵  
300~649nmの任意の2波長が選択できます

より高速な2波長測光  
細胞内Ca<sup>2+</sup>の速い動きをキャッチします

浮遊細胞、培養細胞、組織、臓器まで対応  
豊富な付属品とアプリケーションが用意されています

マイクロプロセッサ内蔵  
より使いやすく高機能になっています

筋収縮と細胞内Ca<sup>2+</sup>の同時測定  
有用な情報が同時に得られます

データ処理装置  
パーソナルコンピュータによる簡便な処理ができます

### 応 用

細胞内Ca<sup>2+</sup>測定に  
多種類の蛍光試薬に対応します

細胞内pH測定に  
BCECFによる2波長測定ができます

各種細胞内イオン測定に  
細胞内Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>の測定が可能です

血小板凝集能の同時測定に  
細胞内Ca<sup>2+</sup>と凝集能が同時に測定できます

細胞膜電位測定に  
膜電位感受性蛍光色素の利用が可能です

各種生物・化学発光測定に  
ATPから活性酸素まで応用が広がります

細胞内イオン測定装置

# CAF-110



JASCO は日本分光株式会社の登録商標です。



コロンビア貿易株式会社

本社 101-0064 東京都千代田区錦糸町1-2-1  
TEL (03) 3291-0647 代表

●光と技術で未来を見つめる

# 日本分光

JASCO

日本分光株式会社

本社 192-8537 東京都八王子市石川町2967-5  
TEL (0426) 46-4111 代表



ISO14001 ISO9001  
JSAE 024 JQA-0777



時間を大切にする研究者のために・・・

独国バイオメトラ社製  
PCR法条件検討用遺伝子増幅装置  
T Gradient 96  
(1ブロック温度グラディエントタイプ  
グラディエント温度幅：40℃)



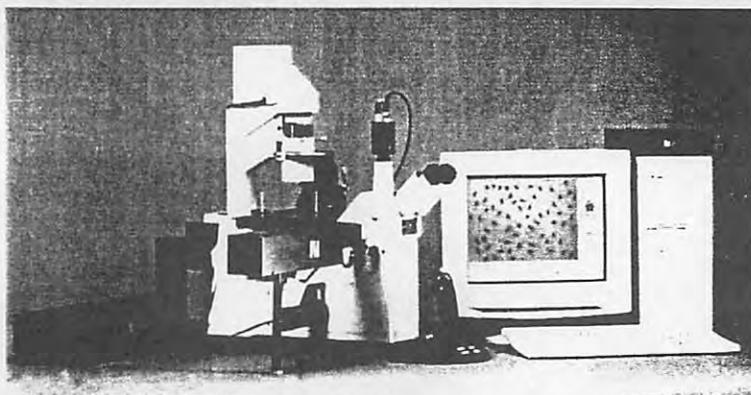
## 株式会社 プロ・デバイス

本社 福岡市西区豊浜2丁目20番12号  
TEL092-881-1413 FAX092-881-2194  
佐賀営業所 佐賀市高木瀬東5丁目20番9号  
TEL0952-34-1795 FAX0952-34-1796  
久留米営業所 久留米市東合川3丁目11番14号102  
TEL0942-41-1401 FAX0942-41-1402

熊本営業所 熊本市長嶺東5丁目5番15-1号  
TEL096-386-4586 FAX096-386-4587  
鹿児島営業所 鹿児島市桜ヶ丘2丁目19番18号  
TEL099-284-4135 FAX099-284-4136

★★★お求めやすい価格です★★★

## レーザーマイクロマニピュレーションシステム



### レーザーによる単一細胞の遺伝子解析

- 光(レーザー)ピンセット・レーザーシザーズ・高精度電動マイクロピペットの各モジュールとそれらをモニター画面上でコントロールするワークステーションから構成されています。
  - 生きた細胞、染色体、微生物、リボソーム、などを光学トラップ技術により非接触でマニピュレーションすることができます。
- 例：顕微受精、細胞膜の穿孔、細胞内小器官やたんぱく質などの捕捉、精子などの捕捉と移動、ピコリットル単位の薬液の注入・採取

### 盟和商事株式会社

大阪：TEL(06)6674-2222(代) FAX(06)6674-2323 福岡：TEL(092)412-6622(代) FAX(092)412-6633  
〒558-0047大阪市住吉区千林2丁目4番25号 仙台：TEL(022)218-0560(代) FAX(022)218-0561  
東京：TEL(03)5379-0051(代) FAX(03)5379-0811 E-mail：infoh@meiwa.dp.u-netsurf.ne.jp  
〒160-0022東京都新宿区新宿1-14-2(KI御苑前ビル) [URL] http://www.meiwanet.co.jp

# “サイエンス”の新たな躍進をサポートします

営業品目：

電子顕微鏡、原子間力顕微鏡、X線応用分析装置、質量分析計、分光分析装置、フーリエ変換赤外分光装置、クロマト分析装置、遠心分離機、PHメータ、LA関連機器、カラーアナライザー、ICP発光分析装置、原子吸光光度計、レーザー顕微鏡、超高真空成膜装置、レーザー時間分解分光装置、半導体評価装置、物性試験装置、滴定装置、金属分析装置、フーリエ変換ラマン分光測定装置、核磁気共鳴装置、自動無菌装置他

## 株式会社日製サイエンス

本社 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町 3-3-6 (ワカ末ビル)

TEL:03-3231-3811 FAX:03-3231-3800

営業所 商品センター、北関東営業所(大宮)、西関東営業所(八王子)、横浜営業所  
静岡支店、富士営業所、浜松営業所  
関西支店、京都営業所

**抗菌剤に頼る養殖は終わりました！**

これからは、

健全な魚を育成するために、協和発酵の水産用製品をおすすめします。

**水産用ポトチーム (塩化リゾチーム製剤)**

**水産用アトモレート (還元型グルタチオン製剤)**

**強健シリーズ (ペプチドグリカン製剤)**



製品についてのお問い合わせは

協和発酵工業株式会社 水産事業センター

〒755-8501 山口県宇部市大字藤曲2548

TEL 0836-22-5516

FAX 0836-22-5537

お客様の声に耳を傾ける良きパートナーとして。

●生命科学の未来像を先取りし  
的確な情報を研究開発をバックアップ。

●より正確に、よりスムーズに。  
より快適な研究環境をお約束します。

トラブル発生時の  
処理体制

定期検査による  
予防体制

九州に広がるサービスエリア



## 株式会社 新興精機

●本社

〒812 福岡市東区馬出1丁目18番3号

TEL (092) 641-8451

●北九州営業所

〒807 北九州市八幡西区大浦3丁目7番18号

FAX (092) 641-8786

●久留米営業所

〒830 久留米市長石1丁目5番39号

TEL (093) 603-5680

●佐賀営業所

〒849 佐賀市鍋島3丁目9番6号

TEL (0942) 35-6256

●鹿島営業所

〒862 鹿島市月出4丁目4番130号

TEL (0952) 31-1095

●宮島営業所

〒890 宮島市真砂本町1番3号

TEL (096) 385-6001

●工

〒889-16 鹿島宮島郡武多区大字給引492-1

TEL (099) 255-7733

〒816 福岡市博多区大字隈323の37

TEL (0985) 85-3840

TEL (092) 503-5327

# 「正晃があります」

TOTAL SUPPORTING SEIKO



事業内容 基礎研究用試薬・体外診断用医薬品・動物用医薬品・化学工業薬品の販売/理化学機器・医療用機器  
分析用機器・その他機器、器具の販売、修理/家電製品・コンピュータ及び関連ソフトウェアの開発、販売

お近くの正晃が多様化するお客様のニーズにお応えします。

■本社

TEL (092) 621-8199 FAX (092) 611-4415

■営業本部【試薬・診断薬】

TEL (092) 611-7411 FAX (092) 611-8011

■営業本部【電子材料・化成品・器材】

TEL (092) 621-8139 FAX (092) 611-7445

■営業本部【情報機器】

TEL (092) 621-9217 FAX (092) 622-9755

■営業本部【家電】

TEL (092) 621-8167 FAX (092) 621-8571

■理化学機器部

TEL (092) 621-9215 FAX (092) 624-3594

■医療機器部

TEL (092) 611-5761 FAX (092) 621-8384

■福岡第一営業所

TEL (092) 611-8131 FAX (092) 621-5025

■福岡第二営業所

TEL (092) 611-5335 FAX (092) 621-8384

■北九州営業所

TEL (093) 521-9008 FAX (093) 541-6348

■久留米営業所

TEL (0942) 45-1331 FAX (0942) 45-1335

■大分営業所

TEL (0975) 58-0025 FAX (0975) 58-9080

■佐賀営業所

TEL (0952) 22-7841 FAX (0952) 22-7849

■筑豊営業所

TEL (0947) 42-6545 FAX (0947) 44-5168

■山口営業所

TEL (0839) 72-0215 FAX (0839) 72-2942

■下関営業所

TEL (0832) 48-3662 FAX (0832) 48-3072

■熊本営業所

TEL (096) 380-0055 FAX (096) 380-0369

■沖縄営業所

TEL (098) 888-3666 FAX (098) 888-3669

■沖縄正晃株式会社

TEL (098) 888-3688 FAX (098) 888-3669

■物流本部 配送センター

TEL (092) 611-5339 FAX (092) 611-1149



正晃株式会社

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



株式会社 **ゴトー養殖研究所**

本社 〒350-1332 埼玉県狭山市下奥富 8 8 3

TEL 042-955-0555 FAX 042-952-0027

営業所 垂水・東町・天草・北松・五島・佐伯・南予

【 協 賛 】

(株) インターバイオテクノ

(株) メド城取

萬有製薬 (株)

ヨーヨー印刷 (株)

# 協賛企業

平成11年7月10日現在

---

(株) インターバイオテクノ

(株) メド城取

(株) ゴトー養殖研究所

ヨーコー印刷 (株)

盟和商事 (株)

協和発酵工業 (株)

(株) 日製サイエンス北関東営業所

武田薬品工業 (株)

萬有製薬 (株)

フード・ビタミンカンパニー  
(株) 新興精機

正晃 (株) 福岡営業所

(株) プロデバイス

コロンビア貿易 (株) 福岡営業所 (日本分光)

---

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

平成11年7月

日本比較免疫学会会長

古田 恵美子

第11回学術集会会長

矢野 友紀

