

**PROCEEDINGS**  
**25th JAPANESE ASSOCIATION FOR**  
**DEVELOPMENTAL & COMPARATIVE IMMUNOLOGY**  
Okayama Japan  
August 26 to 28, 2013

---

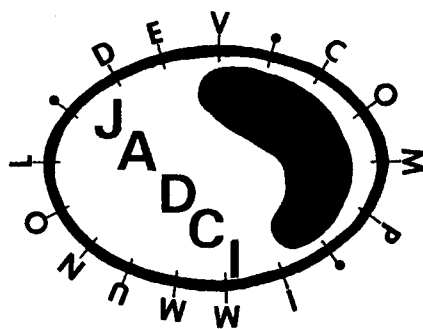
---

**日本比較免疫学会**  
**第 25 回 学術集会講演要旨**

---

---

会 期：2013 年 8 月 26 日（月）～28 日（水）  
会 場：岡山理科大学創立 50 周年記念館  
学 術 集 会 会 長：浅田 伸彦（岡山理科大学理学部）  
学 術 集 会 事 務 局 長：南 善子（岡山理科大学理学部）



日本比較免疫学会  
—2013—

# Contents

---

	ページ
目次 . . . . .	1
(Contents)	
日本比較免疫学会学術集会日程 . . . . .	2
(Meeting Schedule of JADCI)	
参加者へのご案内 . . . . .	3
(Information for Participants)	
役員名簿 . . . . .	5
(Officers of JADCI)	
講演プログラム (和文) . . . . .	6
(Programme in Japanese)	
講演要旨 (Abstract)	
・一般講演 Session A . . . . .	11
Session B . . . . .	22
Session C . . . . .	25
・古田賞受賞者講演 . . . . .	35
・特別講演 . . . . .	37
・シンポジウム . . . . .	39
学会会則 . . . . .	43
(Constitution & Bylaws of JADCI)	
英文役員名簿・会則等 . . . . .	45
(Officers, Constitution & Bylaws of JADCI)	
協賛企業・団体 . . . . .	48
(Contributors)	

---

# 日本比較免疫学会 第25回 学術集会

(2013年度)

会期：2013年8月26日（月）～28日（水）  
 場所：岡山理科大学創立50周年記念館  
 学術集会長：浅田伸彦（岡山理科大学理学部）

## 学術集会日程表

	時間	プログラム 内容
第1日目 (26日)	12:00	受付
	13:10	開会の辞
	13:15	一般講演 (14 演題)
第2日目 (27日)	9:15	一般講演 (11 演題)
	13:00	総会・学会賞表彰式
	14:30	<b>古田賞受賞講演「MHCとプロテアソーム PSMB8 遺伝子の二型性の進化」</b> 野中勝（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）
	15:10	<b>特別講演 「MHC多型の維持機構と進化的応用」</b> 高畑尚之（総合研究大学院大学）
	16:20	記念写真撮影
	17:00	懇親会場行きバス出発
	18:00	懇親会
第3日目 (28日)	9:15	<b>シンポジウム 「進化生物学から見た比較免疫学」</b> 1) 寄主寄生蜂間相互作用：ハチがコントロールするもの 田中利治（名古屋大学大学院生命農学研究科） 2) 細胞死（アポトーシス）の分子機構とその生理的役割 酒巻和弘（京都大学・生命科学研究科体制統御学部門） 3) フラビン酵素に由来する生体防御 頼田和子（徳島大学・疾患酵素学研究センター） 4) ウェルシュ菌の産生するフィブロネクチン結合タンパクについて 櫃本泰雄 <sup>1</sup> , 山崎勤 <sup>1</sup> , 片山誠一 <sup>2</sup> （ <sup>1</sup> 岡山理科大学・臨床免疫学教室, <sup>2</sup> 岡山理科大学・分子微生物学教室）
	11:15	総合討論 (15分)
	11:30	閉会の辞

## 参加者へのご案内

**学術集会会場**：岡山理科大学創立 50 周年記念館 4 階（岡山県岡山市北区理大町 1-1）

**連絡先**：〒700-0005 岡山県岡山市北区理大町 1-1 岡山理科大学理学部動物学科  
動物遺伝学研究室 浅田伸彦 TEL:086-256-8609 FAX: 086-256-8479  
E-mail:asada@zool.ous.ac.jp 大学 URL: <http://www.ous.ac.jp>

**受付**：会場にて、8 月 26 日（月）昼の 12 時 00 分より開始致します。ネームプレートを用意致しますので着用して下さい。なお、ネームプレートは学術集会終了後に必ずご返却願います。  
学会への入会手続き、年会費の納入受付も併せて行います。

**参加費**：学会参加費：5,000 円（会員，非会員，博士後期課程以上の学生）  
3,000 円（修士（博士課程前期）課程の学生）

懇親会参加費：5,000 円

【懇親会場のピュアリティまきび（岡山市北区下石井 2-6-41）は JR 岡山駅から南へ 700m、歩いて約 7 分です。当日は会場からバスを出しますのでご利用下さい。学生もお誘いの上、奮ってご参加下さい。】

**発表要領**：PC 用液晶プロジェクターにより投影して行います（Power Point 2003, 2007, 2010 で対応/WindowsXP あるいは Windows7 で対応）。OHP, スライドは使用できません。USB メモリー対応のパソコンを用意しますので、Power Point ファイルを事前に会場のパソコンにコピーするか、ご持参のメディアを接続して投影していただくことになります。試写用のパソコンを会場受付にご用意いたしますので、動作の確認は事前に行ってください。ご自身のパソコンの接続や Mac のご使用をご希望の場合は前もってその旨ご連絡ください。

**宿泊案内**：ご予約の斡旋は致しておりません。申し訳ございませんが、各自でご予約して下さい。会場付近にはホテルはありませんが、岡山駅付近には多数のホテルがあります。

### 会場へのアクセス（交通のご案内）

岡山理科大学キャンパスへは航空機、JR、バス、タクシーをご利用してお越し下さい。駐車スペースはございませんので自動車でのご来場はご遠慮下さい。以下の地図や「アクセス-岡山理科大学」を参照下さい。

### 航空機ご利用の場合：

岡山空港は岡山市北区内ですが、北西部にあります。岡山空港から岡山駅西口行きで岡山電気軌道（岡電）バスか中鉄バスをご利用下さい。いずれも片道運賃は740円で所要時間は約30分間です。詳細は各航空会社へお問い合わせされるか  
<http://www.okayama-airport.org/>をご覧ください。

### J Rをご利用の場合：

岡山駅には東西口がありますがお互いの移動は無料です。

### バスをご利用の場合：

岡山駅西口からは岡電バスの22番乗り場「岡山理科大学」行きをご利用されて終点の「岡山理科大学」でお降り下さい。片道運賃は200円で所要時間は約20分間です。

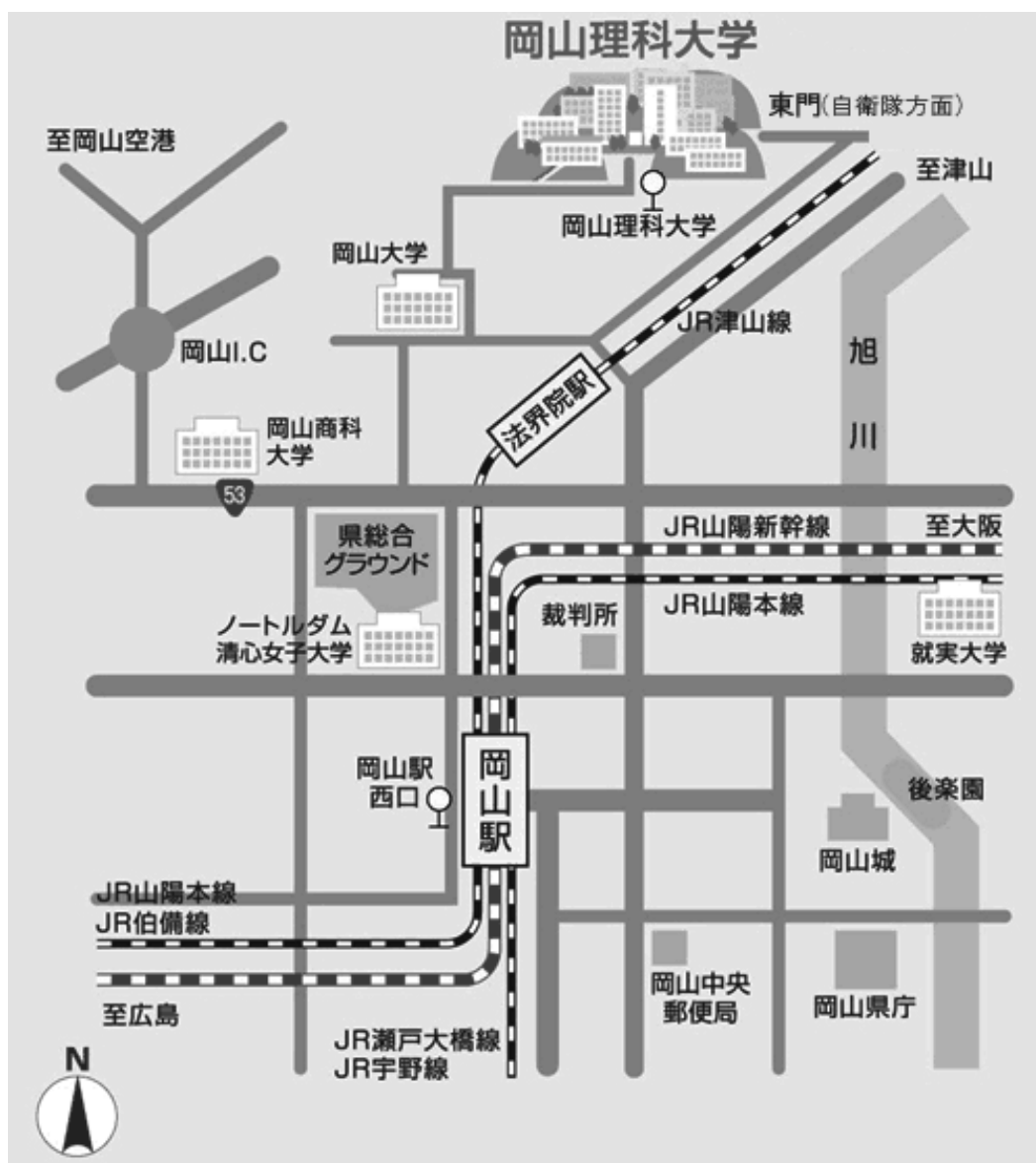
バス停からはエスカレーターで上がって下さい。正門前ロータリーの右手奥、緑色の建物の4階が会場です。（なお、岡山駅東口からもバスがございいますが、会場へは岡山駅西口からのバスが便利です。）

### タクシーをご利用の場合：

岡山駅の東西口のいずれからも岡山理科大学正門まで約15分間です。

### 徒歩の場合（健脚の方）：

JR岡山駅から北へ1駅の津山線法界院駅から約20分間です。



日本比較免疫学会・役員名簿  
(2013年度)

会 長	笠原 正典	北海道大学
副 会 長	中尾 実樹	九州大学
庶務・会計 【補助役員】	倉田 祥一朗	東北大学
	矢野 環	東北大学
学術集会担当	丸山 正	海洋研究開発機構
	末武 弘章	福井県立大学
会 計 監 査	中西 照幸	日本大学
	川畑 俊一郎	九州大学
広報担当	飯島 亮介	帝京大学
	広瀬 裕一	琉球大学

学会事務局：〒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  
 TEL：022-795-4555  
 FAX：022-795-6802  
 E-mail: jadci2office@gmail.com

# 第 25 回学術集会プログラム

第 1 日目 8 月 26 日 (月)

開会挨拶 13:10-13:15

## 【一般演題】

### Session A 魚類の免疫学

座長：小高智之（福井県立大学）

A1 13:15 **ヌタウナギ血清に含まれる抗原認識分子の同定**

○山口 智和<sup>1</sup>, 高宗 和史<sup>1</sup>, 近藤 昌和<sup>2</sup>, 高橋 幸則<sup>2</sup>, 鶴木(加藤) 陽子<sup>3</sup>,  
中尾 実樹<sup>4</sup>, 加藤 眞一<sup>5</sup>, 吉国 通庸<sup>5</sup>, 大野 薫<sup>6</sup>, 藤井 保<sup>7</sup>

(<sup>1</sup>熊本大学大学院・自然科学研究科, <sup>2</sup>水産大学校・生物生産学科,

<sup>3</sup>九州大学大学院・農学研究院研究教育支援センター, <sup>4</sup>九州大学大学院・

農学研究院生命機能科学部門, <sup>5</sup>九州大学大学院・農学研究院資源生物科学部  
門, <sup>6</sup>基礎生物研究所・多様性生物学研究室, <sup>7</sup>県立広島大学・人間文化学部)

A2 13:30 **Characterizations of membrane-bound complement regulatory protein in Ginbuna Crucian Carp *Carassius auratus langsdorfii***

○Indriyani Nur, Hikari Harada, Ryota Nakamura, Masakazu Tsujikura,  
Tomonori Somamoto, Miki Nakao

(Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University)

A3 13:45 **GVHD 誘導に伴うドナーT リンパ球における免疫関連遺伝子の発現解析**

○岡本修太<sup>1</sup>, 柴崎康宏<sup>1,2</sup>, 松浦雄太<sup>1</sup>, 藪健史<sup>1</sup>, 森友忠昭<sup>1</sup>, 中西照幸<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日本大学獣医学科魚病学研究室, <sup>2</sup>日本学術振興会特別研究員)

A4 14:00 **ギンブナにおけるインターフェロン $\gamma$  産生細胞の同定**

○有田希<sup>1</sup>, 柴崎康宏<sup>1,2</sup>, 松浦雄太<sup>1</sup>, 藪健史<sup>1</sup>, 森友忠昭<sup>1</sup>, 中西照幸<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>日本大学獣医学科魚病学研究室, <sup>2</sup>日本学術振興会特別研究員)

座長：柚本 智軌（九州大学）

A5 14:15 **トラフグ好塩基球の抗原提示細胞としての可能性**

○小高智之, 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)

A6 14:30 **トラフグ好塩基球は寄生虫感染に対して応答する**

○小高智之, 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)

- A7 14:45 **トラフグ腹腔 B 細胞の同定と機能解析**  
○齋藤匠, 小高智之, 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)

休憩 15:00 - 15:15

座長：近藤昌和（水産大学校）

- A8 15:15 **コイの各臓器における $\gamma\delta$ T 細胞の多様性について**  
○宮前二郎, 四反田聡, 山口卓哉, 森友忠昭, 中西照幸  
(日本大学獣医学科魚病学研究室)
- A9 15:30 **コイ IL-2 関連サイトカインの遺伝子クローニングと T 細胞培養系における発現解析**  
○銘苅裕二, 石原裕美, 染谷和江, 山口卓哉, 藪健史, 森友忠昭, 中西照幸  
(日本大学獣医学科魚病学研究室)
- A10 15:45 **The evolution of the three-member IL-2/15/15L cytokine family**  
○J. M. Dijkstra<sup>1</sup>, F. Takizawa<sup>2</sup>, U. Fischer<sup>2</sup>, K. Hashimoto<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>藤田保健衛生大学、<sup>2</sup>Friedrich Loeffler Institute)
- A11 16:00 **条鰭類における免疫プロテアソームサブユニット *PSMB8* 遺伝子の二型性の進化**  
○野呂恵, 野中勝  
(東京大学大学院理学系研究科免疫分子進化学研究室)

## Session B 恒温動物の免疫学

座長：澤田知夫（山口大学）

- B1 16:15 **ニワトリ IL-5 受容体  $\alpha$  鎖の同定と IL-5 様タンパク質との結合性解析, および mRNA の発現解析**  
○熊谷愛美, 福島祐二, 宮井智浩, 堀内浩幸, 古澤修一  
(広島大学・免疫生物学研究室)
- B2 16:30 **重症貧血マウスにおける胚子ヘモグロビン再発現の解析**  
○大塚裕忠, 中村雅典  
(昭和大学歯学部口腔解剖学教室)
- B3 16:45 **脂肪酸結合蛋白質 FABP7 によるマウス Kupffer 細胞の機能制御**  
○河村沙樹, 宮崎啓史, 澤田知夫, 大和田祐二  
(山口大学大学院医学系研究科器官解剖学)



## 第2日目 8月27日(火)

### 【一般演題】

#### Session C 無脊椎動物の免疫学

座長：柴田俊生（九州大学）

- C1 9:15 深海性二枚貝シマイシロウリガイのモノクローナル抗体ライブラリー  
○大石和恵<sup>1</sup>, 中村欽光<sup>1</sup>, 日下智保<sup>1</sup>, 本郷悠貴<sup>1</sup>, 多米晃裕<sup>2</sup>, 中澤正年<sup>3</sup>,  
藤島政博<sup>4</sup>, 藤倉克則<sup>1</sup>, 吉田尊雄<sup>1</sup>, 丸山正<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>海洋研究開発機構・海洋生態環境, <sup>2</sup>(株) マリンワーク・ジャパン,  
<sup>3</sup>横浜市大・医, <sup>4</sup>山口大・理)
- C2 9:30 シチヨウシンカイヒバリガイ PGRP 遺伝子の同定と  
発現パターン  
○生田哲朗<sup>1</sup>, 大石和恵<sup>1</sup>, 本郷悠貴<sup>1</sup>, 長井裕季子, 丸山正<sup>1</sup>, 吉田尊雄<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>(独) 海洋研究開発機構, <sup>2</sup>東京海洋大学)
- C3 9:45 甲殻類の血球：無血球甲殻類および単血球十脚甲殻類  
○近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則  
(水産大学校生物生産学科)

座長：古川亮平（岩手医科大学）

- C4 10:00 クルマエビのサイトカインに関する研究：VEGF および Astakine に  
ついて  
○稲田真理<sup>1</sup>, 湯井敏文<sup>2</sup>, 河野智哉<sup>3</sup>, 廣野育生<sup>4</sup>, 近藤秀裕<sup>4</sup>, 酒井正博<sup>1</sup>,  
伊丹利明<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>宮崎大学農学部, <sup>2</sup>宮崎大学工学部, <sup>3</sup>宮崎大学 IR 推進機構,  
<sup>4</sup>東京海洋大学ゲノム科学研究室)
- C5 10:15 架橋酵素による腸管上皮の情報伝達制御と腸内細菌叢の維持機構  
○柴田俊生<sup>1</sup>, 関原早苗<sup>2</sup>, 藤川匠<sup>2</sup>, 楨光輝<sup>2</sup>, 石原健<sup>1,2</sup>, 小柴琢己<sup>1,2</sup>,  
川畑俊一郎<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>九州大学大学院・理・生物科学, <sup>2</sup>九州大学大学院・システム生命科学)
- C6 10:30 ショウジョウバエ細菌認識分子 PGRP-LE による菌感染依存的  
オートファジー誘導機構  
○矢野環, 若林康介, 白田陽一, 村野聡, 倉田祥一朗  
(東北大大学院・薬)
- C7 10:45 ホソヘリカメムシ共生器官で特異的に発現する遺伝子群の同定  
○大林翼<sup>1,2</sup>, 二橋亮<sup>2</sup>, 菊池義智<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>北大・農, <sup>2</sup>産総研・生物プロセス)

座長：稲田真理（宮崎大学）

- C8 11:00 共生細菌が誘導する昆虫共生器官の形態変化  
○菊池義智<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>産総研・生物プロセス, <sup>2</sup>北大・農)
- C9 11:15 ヒトデ幼生の2種のマクロファージ遊走阻止因子は異物に集積する  
間充織細胞数を調節する  
○古川亮平<sup>1,2</sup>, 玉木香菜<sup>2,3</sup>, 金子洋之<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>岩手医科大学・いわて東北メディカルメガバンク機構,  
<sup>2</sup>慶應義塾大学・自然科学研究教育センター, <sup>3</sup>名古屋大学・医学部)
- C10 11:30 節足動物における TEP ファミリー遺伝子の進化  
○関口玲生, 野中勝  
(東京大学・大学院理学系研究科・免疫分子進化学研究室)
- C11 11:45 カタユレイボヤにおける補体成分 C3 遺伝子の再探索  
○日比野拓<sup>1</sup>, 野中勝<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>埼玉大・教育学部, <sup>2</sup>東京大学大学院・理・生物科学)

昼食 12:00 - 13:00

総会・表彰式 13:00 - 14:15

休憩 14:15 - 14:30

**古田賞受賞講演**（座長：笠原正典）

14:30 **MHC とプロテアソーム *PSMB8* 遺伝子の二型性の進化**  
野中勝  
(東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)

休憩 15:00 - 15:10

**特別講演**（座長：浅田伸彦）

15:10 **MHC 多型の維持機構と進化学的応用**  
高畑尚之  
(総合研究大学院大学)

16:20 写真撮影

17:00 懇親会場行き無料バス出発

18:00 懇親会（ピュアリティまきび, 岡山市北区下石井 2-6-41）

## 第3日目 8月28日(水)

### シンポジウム 「進化生物学から見た比較免疫学」

司会：佐々木年則（国立感染症研究所）

- S1 9:15 寄主寄生蜂間相互作用：ハチがコントロールするもの  
田中利治  
(名古屋大学大学院生命農学研究科)
- S2 9:45 細胞死（アポトーシス）の分子機構とその生理的役割  
酒巻和弘  
(京都大学・生命科学研究科体制統御学部門)
- S3 10:15 フラビン酵素に由来する生体防御  
頼田和子  
(徳島大学・疾患酵素学研究センター)
- S4 10:45 ウエルシュ菌の産生するフィブロネクチン結合タンパクについて  
櫃本泰雄<sup>1</sup>、山崎勤<sup>1</sup>、片山誠一<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>岡山理科大学・臨床免疫学教室、<sup>2</sup>岡山理科大学・分子微生物学教室)

総合討論：11:15 - (11:30 終了予定)

閉会の辞：11:30

一般演題：

A1 ~ A11

B1 ~ B3

C1 ~ C11

## ヌタウナギ血清に含まれる抗原認識分子の同定

山口 智和<sup>1</sup>, 高宗 和史<sup>1</sup>, 近藤 昌和<sup>2</sup>, 高橋 幸則<sup>2</sup>, 鶴木(加藤) 陽子<sup>3</sup>, 中尾 実樹<sup>4</sup>, 加藤 眞一<sup>5</sup>,  
吉国 通庸<sup>5</sup>, 大野 薫<sup>6</sup>, 藤井 保<sup>7</sup>

<sup>1</sup>熊本大学大学院・自然科学研究科, <sup>2</sup>水産大学校・生物生産学科, <sup>3</sup>九州大学大学院・農学研究院研究教育支援センター, <sup>4</sup>九州大学大学院・農学研究院生命機能科学部門, <sup>5</sup>九州大学大学院・農学研究院資源生物学部門, <sup>6</sup>基礎生物研究所・多様性生物学研究室, <sup>7</sup>県立広島大学・人間文化学部

### Identification of antigen recognition molecules in hagfish serum

Tomokazu Yamaguchi<sup>1</sup>, Kazufumi Takamune<sup>1</sup>, Masakazu Kondo<sup>2</sup>, Yukinori Takahashi<sup>2</sup>, Yoko Kato-Unoki<sup>3</sup>,  
Miki Nakao<sup>4</sup>, Shin'ichi Kato<sup>5</sup>, Michiyasu Yoshikuni<sup>5</sup>, Kaoru Ohno<sup>6</sup>, Tamotsu Fujii<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University, <sup>2</sup>Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, <sup>3</sup>Faculty of Agriculture, Kyushu University, <sup>4</sup>Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University, <sup>5</sup>Faculty of Agriculture, Animal & Marine Bioresource Sciences, Kyushu University, <sup>6</sup>Laboratory of Biological Diversity, National Institute for Basic Biology,

<sup>7</sup>Department of Health Sciences, Hiroshima Prefectural University

#### 【目的】

円口類で発見された可変性リンパ球受容体の存在は、無脊椎動物から脊椎動物へと進化する過程で、免疫機構の劇的な変化が生じたことを示している。尾索類ホヤと円口類ヤツメウナギの間において補体系の活性化に関与すると思われるパターン認識分子の構造及び結合特性に差異がみられることから、同分子群もまた獲得免疫の確立に伴ってその特性を変化させたことが考えられる。我々は、パターン認識分子の進化を解明するため、円口類ヌタウナギの血清中に含まれる同因子群の探索を行った。

#### 【材料と方法】

ヌタウナギ血清を N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) を担体としたアガロースカラムに添加することで、血清中のパターン認識分子の単離を試みた。その後、GlcNAc を含むバッファー、及び EDTA を同カラムに順次加えることでカラムに結合している因子群の溶出を行った。溶出された画分中に含まれるタンパク質の解析は、SDS-PAGE、Edman 法によるアミノ酸配列解析、RACE 法による cDNA の探索により行い、当該タンパク質の実体を明らかにした。

#### 【結果】

アフィニティークロマトグラフィーにより GlcNAc 溶出画分中に 19, 26, 27, 31 kDa の 4 つのタンパク質を、EDTA 溶出画分中に 26 kDa のタンパク質を得た。このうち EDTA 溶出画分中の 26 kDa について cDNA を明らかにした結果、同タンパク質は C1q に相同性を持つ分子であることが分かった。同タンパク質の抗体を作出し、結合特性について調べたところ、カルシウム依存的に病原菌へ結合する C 型レクチン様の活性を示した。MBL 等の既存のパターン認識分子と異なり、単糖類への結合活性を示さず、アガロビオースへの密度依存的な結合を示した。

一方で、最近 GlcNAc 溶出画分中に含まれる 4 つのタンパク質についても解析を行ったので、その結果についても報告を行う。

#### 【結論】

本研究では、ヌタウナギ血清中に含まれる抗原認識に関与すると思われる因子群の存在を明らかにした。今後は、同分子群の結合特性や他の免疫因子との相互作用を明らかにし、これらがどのように同種免疫に寄与するのか明らかにする必要がある。

## Characterizations of membrane-bound complement regulatory protein in Ginbuna Crucian Carp *Carassius auratus langsdorfii*

Indriyani Nur, Hikari Harada, Ryota Nakamura, Masakazu Tsujikura, Tomonori Somamoto, Miki Nakao  
Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

### 【Objective】

Regulators of complement activation (RCA) are classified into the soluble and membrane-bound proteins, and play a role in protecting cells from excessive complement activation in humans<sup>[1]</sup>. In bony fish, those two classes of RCA have also been found. However, functions of membrane-bound RCA protein remain to be characterized. Recently, complement regulatory membrane proteins (Tecrem) has been found in carp and zebrafish (GenBank Accession Number: AB723858, AB723859) in our laboratory. The present study aimed at identifying Tecrem orthologues in ginbuna crucian carp, and analyzed their diversity, expression, and function at mRNA and protein levels.

### 【Materials and methods】

*Identification of Tecrem cDNA from ginbuna crucian carp.* A primer, corresponding to a sequence containing the predicted 5'-untranslated region (UTR), was designed on the basis of the Tecrem sequence from common carp. 3'-RACE PCR was performed and the amplified cDNA was sequenced.

*Expression analysis at mRNA level.* Total RNA were extracted from eleven tissues and blood cells (erythrocytes, total leucocytes, CD4<sup>+</sup>T cells CD8<sup>+</sup>T cells and IgM<sup>+</sup>B cells) and subjected to expression analysis of Tecrem isoforms by RT-PCR.

*Functional analysis at protein level.* Monoclonal antibody specific for carp Tecrem (anti-Tecrem mAb) has been established and shown to cross-react Tecrem of ginbuna crucian carp (gTecrem). Expression of gTecrem on leucocyte and erythrocyte was determined by FCM analysis using anti-Tecrem mAb. To understand whether gTecrem is involved in T cell immunity, we investigated

regulation of gTecrem on PBL after stimulation with PHA, a known T cell mitogen. Furthermore, the effect of anti-Tecrem mAb on proliferation of PBL triggered by the PHA-stimulation was examined by MTT assay.

### 【Results】

Three isoforms of membrane-bound RCA have been identified in ginbuna crucian carp (gTecrem-1, gTecrem-2, and g-Tecrem3). The gTecrem isoforms showed different mRNA expression patterns; only gTecrem-1 mRNA was expressed in both peripheral blood leukocytes (PBLs) and erythrocytes and was also expressed in T cell subsets. Moreover, gTecrem-1 has a tyrosine phosphorylation site in its cytoplasmic tail, while other isoforms lack its site.

gTecrem protein was detected on both erythrocyte and leucocyte. Expression of gTecrem on PBL was upregulated following stimulation with PHA. The proliferative response was inhibited by addition of anti-Tecrem mAb, suggesting that gTecrem are involved in T cell activation.

### 【Conclusion】

Three isoforms of membrane-bound RCA have been identified in ginbuna crucian carp. gTecrem-1 may be functionally equivalent to mammalian CD46, in that mammalian CD46 is expressed on T cells and promotes T cell activation<sup>[2]</sup>.

### 【References】

1. Zipfel PF, Skerka C (2009) Nat Rev Immunol, 9:729–40
2. Astier A, Trescol-Biemont, MC, Azocar O, Lamouille B, Roubourdin-Combe, C (2000) J Immunol, 164:6091–5

## GVHD 誘導に伴うドナーTリンパ球における免疫関連遺伝子の発現解析

岡本 修太<sup>1</sup>, 柴崎 康宏<sup>1,2</sup>, 松浦 雄太<sup>1</sup>, 藪 健史<sup>1</sup>, 森友 忠昭<sup>1</sup>, 中西 照幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 日本大学・魚病学研究室

### Expression analysis of immune-related genes in donor T lymphocytes of GVHD induced recipient fish.

Shuta Okamoto<sup>1</sup>, Yasuhiro Shibasaki<sup>1,2</sup>, Yuta Matsuura<sup>1</sup>, Takeshi Yabu<sup>1</sup>, Tadaaki Moritomo<sup>1</sup>, Teruyuki Nakanishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, Nihon University, <sup>2</sup>JSPS Research Fellow

#### 【目的】

移植片対宿主病(GVHD)は移植時にドナー免疫担当細胞がレシーピエントのアロ抗原を認識して組織を攻撃する反応に伴う疾病であり、哺乳類ではTリンパ球の関与が示されている。魚類においても、感作白血球の移植によるGVHDの誘導が報告されており<sup>[1]</sup>、GVHD誘導時にドナーCD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞の増加が認められている<sup>[2]</sup>。そこで本研究では、ドナー白血球を移植したレシーピエントより、CD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞をセルソーターを用いて分取し、GVHDの進行に伴うドナーリンパ球における免疫関連遺伝子の発現を解析した。

#### 【材料と方法】

3倍体クローンギンブナ(ドナー, S3N)及びS3Nとキンギョを掛け合わせた4倍体雑種(レシーピエント, S4N)を用いた。S4NからS3Nに鱗移植による前感作を行い、S3Nの頭腎及び体腎より分離したリンパ球分画を、感作に用いたS4Nの尾部血管に投与した。移植後、レシーピエントの頭腎及び体腎より分離したリンパ球分画を、Hoechst33342染色およびCD8 $\alpha$ 鎖、CD4に対するmAbを用いて免疫染色を行い、セルソーターを用いてCD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞を回収後、回収した細胞からcDNAを合成し、リアルタイムPCR法により免疫関連遺伝子の発現を解析した。免疫関連遺伝子として、CD4<sup>+</sup>T細胞では、IFN $\gamma$ 1, IFN $\gamma$ 2, IFN $\gamma$ rel 1, IFN $\gamma$ rel 2, T-betを、CD8<sup>+</sup>T細胞で

は、IFN $\gamma$ 1, IFN $\gamma$ 2, IFN $\gamma$ rel 1, IFN $\gamma$ rel 2, Granzyme $\beta$ , Perforin1, Perforin2, Perforin3を解析した。

#### 【結果】

移植後のレシーピエントにおいてドナーCD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞の著しい増加が認められた。ドナーCD4<sup>+</sup>T細胞では、移植後7日にIFN $\gamma$ rel 1発現の顕著な増加が、14日にIFN $\gamma$ rel 2発現の顕著な増加が認められた。しかし、他の遺伝子においては、顕著な変化が認められなかった。一方、CD8<sup>+</sup>T細胞では、いずれの遺伝子においても、CD4<sup>+</sup>T細胞で認められたような顕著な変化が認められなかった。

#### 【結論】

魚類におけるGVHDにおいて、組織障害が起こる移植後7日以降にIFN $\gamma$ rel 1およびIFN $\gamma$ rel 2遺伝子の発現が顕著に増加していることから、魚類におけるGVHDの組織障害には、IFN $\gamma$ relが関与していることが示唆された。

#### 【参考文献】

1. Nakanishi, T. et al. (1999) Dev. Comp. Immunol. 23 (1) 15-26
2. Shibasaki, Y. et al. (2010) Dev. Comp. Immunol. 34 (10), 1075-1081

## ギンブナにおけるインターフェロン $\gamma$ 産生細胞の同定

有田 希<sup>1</sup>、柴崎 康宏<sup>1,2</sup>、松浦 雄太<sup>1</sup>、藪 健史<sup>1</sup>、森友 忠昭<sup>1</sup>、中西 照幸<sup>1</sup>

### Identification of interferon gamma producing cells in ginbuna crucian carp.

Nozomi Arita<sup>1</sup>, Yasuhiro Shibasaki<sup>1,2</sup>, Yuta Matsuura<sup>1</sup>, Takeshi Yabu<sup>1</sup>, Tadaaki Moritomo<sup>1</sup>, Teruyuki Nakanishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary, Nihon University, <sup>2</sup>JSPS Research Fellow

#### 【目的】

インターフェロン $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) は細胞性免疫における重要なサイトカインである。魚類では2種類の IFN $\gamma$  (哺乳類と相同な IFN $\gamma$  と魚類特有の IFN $\gamma$ rel) が存在する。さらに、ギンブナでは IFN $\gamma$ 、IFN $\gamma$ rel それぞれに2つのアイソフォームが存在する。これら4種類の IFN $\gamma$  が抗ウイルス活性を有することは分かっているが<sup>[1]</sup>、その産生機構は不明である。そこで、本研究では新規 IFN $\gamma$  産生細胞の同定を試みた。

#### 【材料と方法】

ギンブナの体腎、頭腎および脾臓細胞よりパーコールを用いた密度勾配比重遠心法にて白血球を分離した後、poly(I:C)あるいはPMAおよびイオノマイシンで刺激し、リアルタイムPCR法により継時的に mRNA の発現量を測定した。

ギンブナ IFN $\gamma$ rel 1 および IFN $\gamma$ rel 2 の組み換え蛋白質を作製し、ウサギを用いて抗ギンブナ IFN $\gamma$ 1、IFN $\gamma$ 2、IFN $\gamma$ rel 1 および IFN $\gamma$ rel 2 抗体を作製した。

Poly(I:C)刺激または PMA とイオノマイシンによる共刺激後、上記4種類の IFN $\gamma$  に対するウサギ抗体および抗ギンブナ CD4 および CD8 に対するモノクローナル抗体を用いて二重染色を行い、フローサイトメトリー(FCM)により解析した。なお、作成した抗体のうち、抗 IFN $\gamma$ 1 と抗 IFN $\gamma$ 2 抗体はいずれも IFN $\gamma$ 1、IFN $\gamma$ 2 の両者を認識したため、FCM 解析には抗 IFN $\gamma$ 2 抗体を用いた。

#### 【結果】

mRNA の発現量は、poly(I:C)で刺激した場合 IFN $\gamma$  および IFN $\gamma$ rel 1 は24時間後、IFN $\gamma$ rel 2 は6時間後より発現量が増加した。PMA とイオノマイシンで刺激した場合4種類の IFN $\gamma$  すべてにおいて3時間後から mRNA の発現量が増加した。

FCM 解析では、poly(I:C)で刺激した場合、産生細胞が認められなかった。PMA とイオノマイシンで刺激したところ、IFN $\gamma$  産生細胞の大半が CD4 または CD8 陽性 T 細胞であった。一方、IFN $\gamma$ rel 1 および IFN $\gamma$ rel 2 産生細胞の内、CD4,CD8 陽性 T 細胞が占める割合は20~30%であった。

#### 【結論】

poly(I:C)あるいは PMA とイオノマイシンによる刺激により、IFN $\gamma$ 、IFN $\gamma$ rel 1 および IFN $\gamma$ rel 2 の mRNA の発現量が増加した。また、poly(I:C)による刺激では、IFN $\gamma$ rel 2 は IFN $\gamma$  や IFN $\gamma$ rel 1 よりも早期に mRNA の発現量が上昇したことから、IFN $\gamma$  アイソフォーム間においても poly(I:C)に対する応答機構に違いが存在することが示唆された。

IFN $\gamma$  の主要な産生細胞は CD4,CD8 陽性 T 細胞であった。一方、IFN $\gamma$ rel 1 および IFN $\gamma$ rel 2 の主要な産生細胞は CD4,CD8 陽性 T 細胞以外の細胞集団と考えられる。

#### 【参考文献】

1. Yabu et al., (2011) J Biochem., 150:635-48.



## トラフグ好塩基球の抗原提示細胞としての可能性

小高智之、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

### Possibility as antigen-presenting cells of fugu basophils.

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

#### 【目的】

哺乳類の好塩基球は、寄生虫抗原を取り込み T 細胞へ提示し、Th2 分化を誘導することから、寄生虫免疫において重要な白血球であることが知られている。一方、魚類では好塩基球に相当する細胞がトラフグやコイに存在するが、その機能については明らかにされていない。本研究では、魚類好塩基球の抗原提示能を明らかにするため、トラフグから好塩基球を単離し、抗原取り込み能について調べた。さらに、抗原提示に重要な分子である MHC class II 及び共刺激分子の発現について解析した。

#### 【材料と方法】

トラフグ末梢血を遠心分離すると、赤血球の下に沈降する高比重白血球が認められた。この高比重白血球を本研究の対象とした。この細胞の形態をメイグリュンワルド・ギムザ (MGG) 染色により観察した。哺乳類好塩基球はトルイジンブルー (TB) に対し異染色性を示すことから、この細胞を TB 染色し、異染色性を調べた。また、RT-PCR によって細胞マーカー遺伝子の発現を解析した。

この細胞の抗原取り込み能を明らかにするため、可溶性抗原 (KLH-FITC)、もしくは粒子性抗原 (蛍光ラテックスビーズ) と共に培養した後、フローサイトメーター (FCM) を用いて解析した。

次に、MHC class II 及びトラフグにおいて既に同定されている共刺激分子である B7-H1/DC、-H3、-H4 の発現を調べるため、この細胞を KLH と共に培養し、抗原を取り込ませた後、RT-PCR 及び FCM 解析を行った。

#### 【結果】

この細胞は大小 2 種類の好塩基性顆粒を有し、TB に対して異染色性を示した。また、RT-PCR により T 細胞、B 細胞、マクロファージ、樹状細胞、好中球、マスト細胞のマーカーを発現していないことが明らかとなった。これらのことから末梢血から得られた高比重細胞は好塩基球であると考えられた。

トラフグ好塩基球における抗原取り込み能を調べたところ、KLH を取り込んでおり、可溶性抗原に対する取り込み能を有していることが明らかとなった。一方で、ラテックスビーズに対する貪食能はマクロファージに比べ、かなり弱いことが示された。

次に、MHC class II 遺伝子の発現を解析した結果、抗原取り込みの有無にかかわらず、恒常的に発現していることが明らかとなった。また、共刺激分子の発現を FCM によって解析した結果、トラフグ好塩基球は B7-H1/DC を発現しており、さらに KLH を取り込んだ後、その発現量が増加していることが明らかになった。

#### 【結論】

本研究により、トラフグ好塩基球は可溶性抗原に対する取り込み能を持つこと、さらに MHC class II 及び共刺激分子である B7-H1/DC を発現していることが示された。これらのことから、トラフグ好塩基球は哺乳類と同様に、抗原提示細胞として機能することが示唆された。

## トラフグ好塩基球は寄生虫感染に対して応答する

小高智之、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 basophils respond to parasite infection.

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

#### 【目的】

哺乳類の好塩基球は、刺激によりヒスタミンなどの炎症性メディエーターを放出する。さらに、IL-4を産生しTh2反応を惹起するため、寄生虫免疫において極めて重要な白血球である。我々はトラフグ好塩基球が哺乳類と同様、抗原提示能を持つ可能性を示した。しかし、寄生虫免疫に関与しているかどうかは未だ不明である。本研究では、魚類好塩基球の免疫系における役割を明らかにすることを目的として、寄生虫感染を想定し、その免疫応答能を調べた。

#### 【材料と方法】

哺乳類のIL-4及びIL-13に相当するIL-4/13a、bの好塩基球における発現をRT-PCRにより解析した。ヒスタミンの検出は、EIA及びヒスタミンに反応して蛍光を発するo-phthalaldehyde (OPA)染色により行った。さらに、寄生虫感染を模して、キチン及びパパインで好塩基球を刺激し、放出されるヒスタミンをEIAにより定量した。同時に、脱顆粒の様子をMGG染色により観察した。次に、脱顆粒によって放出される因子に白血球の遊走誘導能があるか否かを、キチンで刺激した好塩基球の培養上清を用いたケモタキシス試験により調べた。さらに、トラフグの鰓腔壁に寄生する*Heterobothrium okamotoi*寄生部位の切片を作製し、寄生部位に好塩基球が存在するか否かを観察した。

#### 【結果】

RT-PCRの結果、好塩基球はIL-4/13a、bを発現していた。EIAにより細胞内のヒスタミンを測定した結果、この細胞は $8.0 \pm 1.1 \text{ ng}/10^6 \text{ cells}$ のヒスタミンを有していた。さらに、OPA染色の結果、蛍光が観

察された。これらの結果はトラフグ好塩基球がヒスタミンを有していることを示している。さらに、好塩基球をパパインで刺激すると、ヒスタミンが放出された。一方で、キチン刺激ではヒスタミン放出は起こらなかった。この細胞は染色性の異なる2種類の顆粒を有しており、パパインで刺激した場合と、キチンで刺激した場合では脱顆粒の生じる顆粒が異なっていた。また、パパイン刺激時のみヒスタミンが放出されていたことから、2種類の顆粒はその内容物が異なることが示唆された。ケモタキシス試験の結果、キチン刺激した好塩基球の培養上清は、未刺激の上清と比較して有意にリンパ球の遊走を誘導した。これは好塩基球が寄生虫を認識後、大型顆粒中の因子を放出し、リンパ球の遊走を誘導していることを示している。また、*H. okamotoi*寄生部位を観察した結果、虫体近傍にTBに異染色性を示し、OPA染色により蛍光を発する好塩基球のクラスターが認められた。一方、未感染魚ではこのようなクラスターは観察されなかったことから、*H. okamotoi*の感染によって好塩基球のクラスター形成が誘導されたものと考えられる。

#### 【結論】

本研究により、トラフグ好塩基球は寄生虫感染を模した因子に応答し、脱顆粒が誘導され、ヒスタミンを放出すること及びリンパ球の遊走を誘導することが示された。さらに、寄生虫感染部位に好塩基球のクラスターが形成されていた。以上の結果から、トラフグ好塩基球は寄生虫感染に対する免疫応答能を持つことが明らかになった。

## トラフグ腹腔 B 細胞の同定と機能解析

齋藤匠、小高智之、前田知己、末武弘章、宮台俊明  
福井県立大学・海洋生物資源学部

### Identification and Functional Analysis of Fugu Peritoneal Cavity B cells.

Takumi Saito, Tomoyuki Odaka, Tomoki Maeda, Hiroaki Suetake, Toshiaki Miyadai

Faculty of Marine Bioscience, Fukui Prefectural University

#### 【目的】

日本では養殖魚へのワクチン投与は可食部すなわち筋肉に注射することは認められず、腹腔に投与されることが義務づけられている。一方、哺乳類ではワクチンは筋注されることが多く、また B 細胞が形質細胞やメモリー B 細胞に分化することがワクチンによる感染症予防を成立させる前提であることがわかっている。腹腔に投与される魚類ワクチンは哺乳類と同様の作用機序を経て免疫記憶に至るのだろうか。あるいは、魚類または腹腔特有の獲得免疫機構が存在するのだろうか。我々は既にトラフグ腹腔内に非常に多くのリンパ球が存在することを見出しており、腹腔 B 細胞が獲得免疫の起点となっている可能性が高いと考えている。そこで本研究では腹腔 B 細胞の同定と機能解析を行った。

#### 【材料と方法】

トラフグを開腹し、腹腔内を PBS で洗浄して腹腔白血球を回収した。回収した腹腔白血球をフローサイトメトリーによって腹腔白血球の細胞集団の構成及びその割合を解析した。

次に、抗トラフグ IgM 抗体を用いた MACS により腹腔白血球から B 細胞を単離した。得られた B 細胞と蛍光ラテックスビーズを用いて貪食能について検証した。

次に、腹腔 B 細胞の遊走因子を明らかにするため、ケモカインレセプターの発現を解析した。また同時に腹腔内マクロファージにおけるケモカインの発現も調べた。

#### 【結果】

腹腔内白血球全体の約 27% を IgM 陽性 B 細胞が占めていた。IgM 陰性リンパ球が 21%、顆粒球系の細胞が 13%、単球系の細胞が 12% であったことから、IgM 陽性 B 細胞が腹腔内で最大の集団であることが明らかとなった。また、この腹腔 B 細胞はラテックスビーズに対する貪食能をもつことが明らかになった。さらに、RT-PCR の結果、腹腔 B 細胞はケモカインレセプター CXCR5 を発現していた。一方で腹腔内のマクロファージはこのレセプターに対応するケモカイン CXCL13 を発現していた。

#### 【結論】

本研究により腹腔内では抗原刺激前では B 細胞が主要な細胞集団であり、この細胞は腹腔内のマクロファージが産生する CXCL13 によって腹腔に遊走していることが示唆された。さらに貪食能力を有していたことから、腹腔 B 細胞は抗体産生に重要なだけでなく、マクロファージなどと同様に抗原を取り込み、獲得免疫系の起点となることが示唆された。今後は抗原を取り込んだ腹腔 B 細胞が、その後どのように抗体産生、免疫記憶につなげるのかということを明らかにしたい。

## コイの各臓器における $\gamma$ $\delta$ T 細胞の多様性について

宮前 二郎、四反田 聡、山口 卓哉、森友 忠昭、中西 照幸  
日本大学獣医学科・魚病学研究室

### Diversity of $\gamma$ $\delta$ T cells in different organ in carp, *Cyprinus carpio*.

Jiro Miyamae, Satoshi Shitanda, Takuya Yamaguchi, Tadaaki Moritomo, Teruyuki Nakanishi  
Laboratory of Fish Pathology, Department of Veterinary Medicine, Nihon University

#### 【目的】

哺乳類の  $\gamma$   $\delta$  T 細胞は MHC を介さずに抗原認識する特殊な T 細胞亜集団である。また  $\gamma$   $\delta$  T 細胞の特徴として特異的な臓器分布があげられ、主に皮膚や腸管上皮などに多く分布していることから、外界と接する局所の生体防御に貢献していると考えられている。さらに、マウスの  $\gamma$   $\delta$  T 細胞では V 断片ごとに分布する臓器が異なっていることが知られている。魚類においても遺伝子解析などの結果により  $\gamma$   $\delta$  T 細胞の存在が示唆されているが、生体内における分布やその機能に関する知見が乏しい。そこで、本研究ではコイの  $\gamma$   $\delta$  T 細胞の分布を調べるとともに、さらに TCR  $\gamma$  および TCR  $\delta$  の V 断片について哺乳類と同様に臓器特異性が認められるかどうか検討した。

#### 【材料と方法】

コイ (*Cyprinus carpio*) の頭腎、体腎、脾臓、胸腺、鰓、皮膚および腸管からそれぞれ mRNA を抽出し、TCR  $\gamma$  および TCR  $\delta$  の定常領域に特異的なプライマーを用いてそれぞれの発現量を RT-PCR 法にて比較した。また、発現の強かった組織から 5' RACE 法により、TCR  $\gamma$  および TCR  $\delta$  鎖可変領域をクローニングし、配列を決定した。

#### 【結果】

各臓器における TCR  $\gamma$  および TCR  $\delta$  遺伝子の発現を調べたところ、コイの主要なリンパ器官であるとされている頭腎、胸腺に加え、外界に接する臓器である鰓、腸管、皮膚において強い発現が認められた。これらの内、胸腺、鰓、腸管における TCR  $\gamma$  および

TCR  $\delta$  の可変領域の配列解析を行ったところ、TCR  $\gamma$  の塩基配列は全部で 77 種類認められ、その中で V $\gamma$  断片の配列は 28 種類確認された。一方、TCR  $\delta$  の塩基配列は全部で 60 種類認められ、その中で V $\delta$  断片の配列は 45 種類認められた。また、得られた V 断片を臓器ごとに分類したところ、異なる臓器間での重複は殆どなく、V $\gamma$  断片は胸腺では全 8 種類中 7 種類が、鰓では全 11 種類中 8 種類が、腸管では全 13 種類中 12 種類が、それぞれの臓器で特異的に見られた。さらに V $\delta$  断片は、胸腺では全 9 種類中 8 種類が、鰓では全 19 種類中 17 種類が、腸管では全 19 種類中 18 種類が、各臓器に特異的であった。さらに胸腺と腸管では特定の断片が優占することが確認された。

#### 【結論】

鰓、腸管および皮膚において TCR  $\gamma$  および TCR  $\delta$  の発現が強く見られたことから、魚類においても外界と接している臓器に  $\gamma$   $\delta$  T 細胞が多く存在しており、外界と接する臓器における生体防御機構に貢献していると考えられた。またコイの  $\gamma$   $\delta$  T 細胞の多様性は哺乳類と同様に V 断片の選択と、VJ 断片または VDJ 断片の接合部であり多様性を生じやすい CDR3 領域により決定されていると考えられた。さらに各臓器において V 断片に偏りが生じたことから、V 断片ごとに分布する臓器が異なると考えられた。

## コイ IL-2 関連サイトカインの遺伝子クローニングと T 細胞培養系における発現解析

銘苅 裕二, 石原 裕美, 染谷 和江, 山口 卓哉, 藪 健史, 森友 忠昭, 中西 照幸  
日本大学・獣医学科・魚病学研究室

### Expression analysis of IL-2 family cytokines in carp T cell culture

Yuji Mekar, Hiromi Ishihara, Kazue Someya, Takuya Yamaguchi, Takeshi Yabu,  
Tadaaki Moritomo and Teruyuki Nakanishi

#### 【目的】

我々の研究室ではコイ T 細胞の長期に亘る増殖が可能な培養系を確立している。すなわち、コイ由来の細胞株を支持細胞として用い、その上にコイ白血球を播種し培養すると T 細胞が選択的に増殖するが、その増殖のメカニズムについては不明である。哺乳類では IL-2 関連サイトカイン(IL-2, IL-15, IL-21)などが T 細胞の増殖因子として知られているが、近年魚類においてもこれら遺伝子のホモログが同定されてきた<sup>[1][2][3]</sup>。そこで、培養下でのコイ T 細胞増殖のメカニズムを調べるため、コイ IL-2、IL-15、IL-21 などの遺伝子クローニングを行い、性状を解析した。

#### 【材料と方法】

ゼブラフィッシュなどの IL-2、IL-15、IL-21 の塩基配列を基に特異的なプライマーを設計し、ダイレクトシーケンス法によりコイ IL-2、IL-15、IL-21 の部分配列を決定した。さらに部分配列を基に 5'3'RACE 法を行いこれらの全長配列を決定した。また RT-PCR 法により、コイの組織(頭腎、体腎、脾臓、鱗、鰓、肝臓、腸、脳)及び PHA 刺激をした腎臓の白血球における各遺伝子の発現解析を行った。

#### 【結果】

コイにおいて IL-2、IL-15、IL-21 遺伝子を単離した。コイの IL-2 のアミノ酸配列は魚類で既に報告されているフグ(ゼブラフィッシュでは単離されていない)と 25%の相同性を示した。また IL-15、IL-21

遺伝子はゼブラフィッシュとそれぞれ 60%、65%の相同性を示した。組織における各遺伝子の発現解析の結果、コイ IL-2 は全組織において発現が認められなかったが、コイ IL-15 は全組織において発現が認められた。またコイ IL-21 は頭腎、体腎、鰓、腸において高い発現が認められた。PHA 刺激後の腎臓の白血球ではコイ IL-2、IL-21 は刺激前と比較して明らかに高い発現を示したが、コイ IL-15 では発現の上昇は認められなかった。これらの事から、既に報告されているフグ、ゼブラフィッシュやニジマスの IL-2 関連サイトカイン(IL-2, IL-15, IL-21)の発現解析の結果と似た結果を得る事ができた<sup>[1][2][3]</sup>。

現在、コイの T 細胞培養系で用いる支持細胞や培養によって増殖した T 細胞におけるコイ IL-2、IL15、IL-21 遺伝子の発現解析を行う事により培養下でのコイ T 細胞増殖のメカニズムを調べている。

#### 【参考文献】

1. J.X. Bei. et al (2006) Mol Immunol. 43 . 860-869
2. I. Gunimaladevi et al (2007) Fish Shelfish Immunol. 22. 351-362
3. T. Wang. et al (2011) J Immunol. 186. 708-721

## The evolution of the three-member IL-2/15/15L cytokine family

J.M. Dijkstra(speaker)<sup>1</sup>, F. Takizawa<sup>2</sup>, U. Fischer<sup>2</sup>, K. Hashimoto<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>藤田保健衛生大学 (Fujita Health University, Toyoake, Aichi)

<sup>2</sup>Friedrich Loeffler Institute, Insel Riems, Germany,

### 【目的】

Interleukins 2 and 15 (IL-2 and IL-15) are highly differentiated but closely related cytokines with overlapping, yet also distinct functions, and established medical potential. Both cytokines interact with heterotrimeric receptor complexes comprising the heterodimer IL-2R $\beta$ ·IL-2R $\gamma$  and a third receptor chain, IL-2R $\alpha$  or IL-15R $\alpha$ , respectively. The binding affinity of IL-15 for IL-15R $\alpha$  is exceptionally high ( $K_d = \sim 50$  pm), and IL-15 predominantly functions with co-expressed IL-15R $\alpha$  in either membrane-bound or released form as a stable heterodimer that can stimulate other cells which express IL-2R $\beta$ ·IL-2R $\gamma$  (e.g. Bergamaschi et al. 2012). This mode of presentation is called “trans-presentation”, indicating that IL-15R $\alpha$  is not expressed by the same cell as IL-2R $\beta$ ·IL-2R $\gamma$ . The binding affinity of IL-2 for IL-2R $\alpha$  is much lower ( $K_d = \sim 20$  nM), and IL-2R $\alpha$  tends to function within co-expressed IL-2R $\alpha$ ·IL-2R $\beta$ ·IL-2R $\gamma$  complexes, of which all receptor chains are inserted in the same membrane (“cis-presentation”) and so together can bind free secreted IL-2. Signaling through IL-2 and IL-15 receptors is mediated intracellularly by the cytoplasmic tails of IL-2R $\beta$  and IL-2R $\gamma$ .

In teleost fish a gene for IL-15-like (IL-15L) had been found as a third member of the IL-2/15/15L family (Bei et al. 2006), but its properties were not well characterized.

\*\*\*\*\*

### 【材料と方法】

We extensively investigated databases for presence of *IL-15L* genes. We expressed recombinant IL-15L and IL-15R $\alpha$  and checked their interaction.

\*\*\*\*\*

### 【結果】

IL-15L was identified in a number of unexpected species. Recombinant IL-15L was found to bind IL-15R $\alpha$ . Despite enormous overall sequence diversification, receptor binding motifs appear well conserved within the IL-2/15/15L family.

\*\*\*\*\*

### 【結論】

Comparison of sequence motifs indicates that capacity for binding IL-15R $\alpha$  represents an ancestral IL-2/15/15L family characteristic, in accordance with a recent study that showed that fish IL-2 also binds IL-15R $\alpha$  (Wen et al. 2011). Considering the very poor overall sequence conservation within the IL-2/15/15L family, it is remarkable that several residues for binding the sushi domain containing receptor chain, IL-15R $\alpha$  or IL-2R $\alpha$ , are perfectly conserved.

\*\*\*\*\*

### 【参考文献】

1. Bergamaschi et al. 2012 *Blood* 120:e1-8.
2. Bei et al. 2006 *Mol Immunol* 43:860-869.
3. Wen et al. 2013 *Cell Mol Life Sci* 68:2615-26.

## 条鰭類における免疫プロテアソームサブユニット

### PSMB8 遺伝子の二型性の進化

野呂 恵<sup>1</sup>、野中 勝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院理学系研究科 免疫分子進化学研究室

#### The evolution of dimorphic proteasome subunit beta type 8(PSMB8) gene in Actinopterygii

Megumi Noro<sup>1</sup>, Masaru Nonaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of evolutionally immunology, Graduate School of Science,  
The University of Tokyo

#### 【目的】

免疫プロテアソームサブユニット PSMB8 には、切断特異性を決定する 31 番目のアミノ酸が側鎖の小さい疎水性アミノ酸である Ala または Val である A タイプと、芳香族アミノ酸である Phe または Tyr を持つ F タイプの二型がある。既知 PSMB8 遺伝子配列の系統解析の結果、下位条鰭類であるポリプテルス目、コイ目やサケ目の持つ A タイプ、F タイプはそれぞれ A 系統と F 系統に分かれるが、上位条鰭類であるダツ目やフグ目の二型は A 系統に属しており F 系統を失った後に独立に A 系統内で二型を再生したと考えられている。

本研究では条鰭類において F 系統が失われた時期の特定を目指した。

#### 【材料と方法】

サンプルの肝臓または脾臓から RNA を抽出して合成した cDNA を用い、PSMB8 の良く保存されている領域に作製した縮退プライマーで 31 番目のアミノ酸を含む部分配列を増幅した。その後 RACE 法により 5' 3' 配列を決定し、全長配列を増幅して系統解析を行った。

#### 【結果】

本研究ではこれまで条鰭類 7 目 10 種の PSMB8 遺伝子の全長配列を決定し系統解析を行った。キュウリウオ目ワカサギとヒメ目ヒメから A タイプ F タイプが見つかり、それぞれ A 系統 F 系統に分かれた。ハダカイワシ目からカレイ目の 7 目 9 種では A 系統に属する A タイプのみが見つかり、F タイプはまだ見つかっていない。

ウナギ目 4 種からも二型が見つかり、系統解析したところ A タイプ F タイプ共に全て F 系統内に属する結果となり、真骨類ではウナギ目で初めて F 系統に属する二型が見つかった。

#### 【結論】

キュウリウオ目、ヒメ目において A/F 系統が存在することから、ウナギ目を除きポリプテルス目からヒメ目まで約 4 億年以上に渡り強い平衡選択を受けて A/F 系統は維持されてきたと考えられる。しかしながら、F 系統はヒメ目が分岐した後ハダカイワシ目が分岐するまでの間に失われた可能性が高い。また、ウナギ目では二型が F 系統内に属することから、ウナギ目共通祖先において A 系統を失い各種独立に二型を再生した可能性が示唆される。

ニワトリ IL-5 受容体  $\alpha$  鎖の同定と IL-5 様タンパク質との結合性解析、

## および mRNA の発現解析

熊谷愛美、福島祐二、宮井智浩、堀内浩幸、古澤修一

広島大学・免疫生物学研究室

**Identification of chicken interleukin- 5 receptor alpha chain, and analysis of its binding property to chicken IL-5-like proteins and their mRNA expression**

Manami Kumagae, Yuji Fukushima, Tomohiro Miyai, Hiroyuki Horiuchi, Shuichi Furusawa

Department of Immunobiology, Hiroshima University

## 【目的】

インターロイキン-5 (IL-5) とその受容体 (IL-5R) は哺乳類において好酸球の分化や増殖、IgA 産生 B 細胞の分化に関与し、寄生虫感染に対する重要な制御分子であるが鳥類では未解析である。本研究では、ニワトリ IL-5R  $\alpha$  鎖 (chIL-5R  $\alpha$ ) を同定し、リコンビナント IL-5 および鳥類独自の IL-5 様分子 KK34 との結合性を解析し、さらに各 mRNA の発現様式を解析して、鳥類における IL-5/IL-5R 機構の重要性について検討することを目的とした。

## 【材料と方法】

・ chIL-5R  $\alpha$  cDNA の塩基配列決定

塩基配列情報は NCBI のデータベースから取得し、プライマーを設計した。chIL-5R  $\alpha$  cDNA は PCR および RACE 法によって増幅し、塩基配列を決定した。

## ・ リコンビナントタンパク質の調製

chIL-5R  $\alpha$  と KK34 の coding sequences は脾臓 cDNA から、chIL-5 の遺伝子配列はゲノム DNA からそれぞれ PCR 法によって増幅し、pcDNA4 ベクターの CMV プロモーター下流へ挿入した。pcDNA4 ベクターは 293F 細胞へ導入し、リコンビナントタンパク質を強制発現させた。

## ・ Biacore による結合性解析

リコンビナント chIL-5R  $\alpha$  は myc タグを介してセンサーチップ上に固定し、chIL-5、KK34 およびマウス IL-5 との結合性を測定した。

## ・ mRNA の発現解析

chIL-5R  $\alpha$  と chIL-5 の発現は、real-time PCR および半定量的 PCR によってそれぞれ解析した。内部標準として GAPDH を増幅した。

## 【結果】

・ chIL-5R  $\alpha$  の同定

chIL-5R  $\alpha$  cDNA のクローニングを行った結果、予想されるアミノ酸配列はほ乳類と 41% ~ 43% の同一性を有していた。

・ chIL-5R  $\alpha$  と chIL-5 および KK34 との結合性

chIL-5R  $\alpha$  は chIL-5 とのみ結合性を示し、KK34 とは結合しなかった。またマウス IL-5 と交差反応は見られなかった。

## ・ 発現解析

chIL-5R  $\alpha$  mRNA は骨髄において最も発現量が高く、肝臓、腎臓、卵巣はほとんど検出されなかった。さらに chIL-5 mRNA に関しても骨髄において最も強くバンドの増幅が見られた。また、シーケンスにより増幅産物が chIL-5 mRNA であることを確認した。

## 【考察】

ニワトリでは IL-5R  $\alpha$  が発現しており、リコンビナントタンパク質を用いた解析から IL-5 と特異的に結合することが示された。一方、KK34 は結合せず、特異的なリガンドではないことがわかった。また、主として塩基配列情報から偽遺伝子と予想されていた chIL-5 の発現が mRNA レベルで確認されたため、ニワトリでも IL-5/IL-5R 機構が生理的に作用している可能性が示唆された。白血球が分化・成熟する骨髄で chIL-5R  $\alpha$  と chIL-5 の発現がともに見られたため、造血との関連が予想される。chIL-5 も哺乳類と同様に好酸球分化に関与しているかもしれない。

## 【参考文献】

1. Fukushima, Y., Miyai, T., Kumagae, M., Horiuchi, H., and Furusawa, S. (2012) Dev. Comp. Immunol. 37: 354-362



## 重症貧血マウスにおける胚子ヘモグロビン再発現の解析

大塚 裕忠<sup>1</sup>、中村 雅典<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭和大学歯学部口腔解剖学教室

### Simultaneous detection of primitive and definitive erythropoiesis in adult mice.

Hirotsuda Otsuka<sup>1</sup>, Masanori Nakamura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Oral Anatomy and Developmental Biology, Showa University

#### 【目的】

哺乳類の個体発生における造血には2つの異なる様式が存在する。すなわち、卵黄嚢由来の一次造血と造血幹細胞由来の二次造血である。成体において、この2つの造血が同時進行することはない。

今回我々は、ある重症貧血マウスモデルにおいて、成体でも一次造血と同じ胚子ヘモグロビンの発現を確認したため、発現細胞と発現機構について解析を行うこととした。

#### 【材料と方法】

骨吸収抑制剤である窒素含有型ビスホスホネート (NBP) は、骨髄内赤血球造血のストローマである骨髄マクロファージを駆逐することにより骨髄での赤血球造血を抑制し、髄外造血の亢進が知られている(1)。

我々は、脾臓摘出マウスにフェニルヒドラジン (PHZ) 50mg/kg を腹腔内投与し急性貧血を誘導した上で、NBP40  $\mu$ mol/kg を腹腔内投与することにより骨髄内赤血球造血を抑制し、マウスに重症貧血を誘導した。

このマウスから血液、骨髄及び肝臓を採取し、血液検査、形態学的及び分子生物学的解析を行った。

#### 【結果】

脾臓摘出マウスにPHZ及びNBPを併用することで、PHZ 単独の場合より、有意にヘマトクリット値が減少し、重篤な貧血が誘導されることが確認された。また、これらのマウスの末梢血中には有核の未成熟

な赤血球が多く認められた。肝臓内では有核のTER119陽性細胞がコロニーを形成しており、これらの細胞は胚子ヘモグロビンである mRNA を発現していることが、in situ hybridization 及び RT-PCR により確認された。また KLF1、KLF2、Bcl11a や GATA1 などの赤血球造血に関連する因子の発現も認められた。さらに、抗 KLF 抗体を用いたクロマチン免疫沈降反応により、 $\beta$  様胚子ヘモグロビンの転写制御領域が活性化していることが確認された。

#### 【結論】

以上の結果から考えて、今回の様な重篤な貧血時には、胚子期のヘモグロビンを発現した有核赤血球の造血が起こっている可能性が示唆された。これら胚子期ヘモグロビンは成体ヘモグロビンよりも酸素親和性が高いため、緊急的な低酸素状態を回復するために有効な成体反応であると考えられる。

また、今回の胚子ヘモグロビン発現には、KLF や Bcl11a などの転写制御因子が関与していると考えられた。

#### 【参考文献】

1. Masanori Nakamura et al. (1999) British J. Haematology 107: 779-790

## 脂肪酸結合蛋白質 FABP7 によるマウス Kupffer 細胞の機能制御

河村沙樹 宮崎啓史 澤田知夫 大和田祐二

山口大学大学院 医学系研究科 器官解剖学

### Functional regulation of mice Kupffer cells by Fatty Acid Binding Protein 7

Saki Kawamura, Hirofumi Miyazaki, Tomoo Sawada, Yuji Owada

Department of Organ Anatomy, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

#### 【背景】

マクロファージの機能については従来、生体防御における役割が注目されてきたが、近年、炎症制御においてマクロファージが持つ2面性に関する研究の進歩と共に、代謝性疾患発症におけるマクロファージ役割、特に炎症性サイトカイン産生と動脈硬化や糖尿病との密接な関係が知られるようになった。その中で、肥満や体内脂質環境の異常によるマクロファージの機能変化が、代謝性疾患の発症を促進することに加え、一部の脂肪酸の摂取・投与がおそらくマクロファージ機能の制御を介して症状改善をもたらすという報告もなされている。脂肪酸の直接投与がマクロファージ機能に直接的な影響を与えるという報告もあるが、どのようにして脂肪酸がマクロファージ機能を修飾するかという細胞内分子機構はほとんど解明されていない。

我々は、マクロファージが分布する組織によりことなるサブタイプの脂肪酸結合蛋白質 FABP を発現していることに注目し、FABP がマクロファージの機能制御に関与することによって、マクロファージのそれぞれの微小環境への適応をもたらしているのではないかと考えている。FABP は細胞内で長鎖脂肪酸の細胞内キャリアーとして働くだけでなく、転写シグナル伝達を通して細胞機能の調節に関与する例も知られている。すでに FABP4 と FABP5 がマクロファージを炎症促進的に修飾すると報告はあるが、肝 Kupffer 細胞 (KC) に特異的に発現する FABP7 とマクロファージ機能との関連については、我々による報告しかない。

#### 【目的】

これまで我々は FABP7 ノックアウトマウス (KO) で KC によるアポトーシス細胞の食食が低下していること、また四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) 投与による肝傷害領域へのクッパー細胞の行動に変化が見られることを報告した。今回はさらに、KC の食食受容体の発

現、および CCl<sub>4</sub> 肝傷害モデルにおけるサイトカイン産生の違いについて検討した。

#### 【材料と方法】

C57BL/6 の野生型 (WT) と FABP7 ノックアウトマウス (KO) の 8-11 週齢のものを用いた。0.05% コラゲナーゼ灌流法により得た KC の粗精製分画を用いて F4/80 および各種食食関連レセプターの mRNA 発現を qPCR により測定した。また、CCl<sub>4</sub> 投与による肝傷害時のサイトカイン産生、および KC の分布変化について比較した。

#### 【結果】

KC 粗精製分画を用いた mRNA 測定では、食食関連レセプター (CD204, CD36, TAM レセプター) の発現が KO マウスにおいて低下傾向を示したが、有意差は検出できなかった。KO マウスでは CCl<sub>4</sub> 投与後の TGF- $\beta$  および TNF- $\alpha$  の産生に低下がみられた。また、MCP-1 の産生と KC の数も低下していた。

#### 【結論】

KO マウス KC での食食受容体 CD36 の発現は低下傾向が認められたものの、有意差は確認できなかった。KO マウスの肝傷害モデルでの TGF- $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及び MCP-1 の発現低下は、炎症反応やマクロファージ遊走の惹起において FABP7 欠損が KC の機能に影響を及ぼすことを示唆している。

## 深海性二枚貝シマイシロウリガイのモノクローナル抗体ライブラリー

大石和恵<sup>1</sup>、中村欽光<sup>1</sup>、日下智保<sup>1</sup>、本郷悠貴<sup>1</sup>、多米晃裕<sup>2</sup>、中澤正年<sup>3</sup>、藤島政博<sup>4</sup>  
藤倉克則<sup>1</sup>、吉田尊雄<sup>1</sup>、丸山正<sup>1</sup>

<sup>1</sup>海洋研究開発機構・海洋生態環境, <sup>2</sup>(株) マリンワーク・ジャパン, <sup>3</sup>横浜市大・医, <sup>4</sup>山口大・理

### Monoclonal antibody library to deep-sea clam, *Calyptogena okutani*.

Kazue Ohishi<sup>1</sup>, Hiromitsu Nakamura<sup>1</sup>, Chiho Kusaka<sup>1</sup>, Yuki Hongo<sup>1</sup>, Akihiro Tame<sup>2</sup>, Masatoshi Nakazawa<sup>3</sup>,  
Masahiro Fujishima<sup>4</sup>, Hiroshi Miyake<sup>5</sup>, Katsunori Fujikura<sup>1</sup>, Takao Yoshida<sup>1</sup>, Tadashi Maruyama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, Marine ecosystem<sup>2</sup> Marine Works Japan, Ltd., <sup>3</sup>Yokohama City University, School of Medicine, <sup>4</sup>Yamaguchi University, School of Science and Engineering

#### 【目的】

深海の湧水域や熱水噴出域に形成される高密度群集に優占する動物群集の生命活動は、化学合成細菌との共生システムによって支えられている。シマイシロウリガイ (*Calyptogena okutani*) は、その鰓の内部領域に位置する菌細胞内に共生細菌を有し、それらが産生する有機物やエネルギーに依存していると考えられている。宿主と共生細菌の間には緊密な相互作用があると考えられるが、宿主がどのように外来性抗原と共生細菌を認識し、排除または維持するのかについては、明らかになっていない。私たちはこれらを理解することを最終目的として、モノクローナル抗体のライブラリーを構築している。本学会では、その中の幾つかについて発表する。

#### 【材料と方法】

2009年に研究船「なつしま」による相模湾の研究航海(NT09-06)で得られたシマイシロウリガイの鰓ホモジェネートを BALB/c マウスに3回接種した。その脾臓リンパ球を同系ミエローマ細胞(NS-1)とPEG法により融合させてハイブリドーマを作製した。HAT培地により選択し、クローニングを行った。ハイブリドーマの上清培地と鰓組織凍結切片を用いた蛍光間接免疫染色法により抗体の結合する抗原物質の局在を確認した。この局在解析に用いた鰓組織は、採取直後の個体ならびに、*E. coli* LPSを接種した個体から得た。

#### 【結果】

構築したライブラリーの中に、菌細胞が多くを占める鰓内部領域の細胞膜上や細胞外の分泌物に特異的なシグナルを示すクローン(ID:CokG3-B3C10)を得た。このシグナルは、細菌感染を模したリポ多糖(LPS)の刺激を施した鰓において、菌細胞の存在する鰓内部領域に加え、絨毛細胞が存在する鰓表面領域にも認められるようになった。また、鰓の菌細胞内に多数の顆粒状のシグナルを示すクローン(ID:CokG3-D1D3)も得られた。このシグナルは市販の抗大腸菌 GroEL 抗体のシグナルと一致し、鰓から粗抽出した共生細菌に対しても認められた。この結果から、共生細菌に特異的なモノクローナル抗体である可能性が考えられた。また、鰓の体腔内を遊走する血球に結合するクローンも複数得られた。

#### 【結論】

得られたモノクローナル抗体は、宿主の血球や共生細菌の局在を知り、LPS刺激によって変化のあった宿主の分子を明らかにした。これらは、外来性抗原の認識や排除を知るツールとなりうる。今後、深海性二枚貝の生体防御や、翻って、共生細菌を維持するメカニズムについて理解を深めたい。

謝辞：研究船「なつしま」のクルーの皆様、サンプリングに関わった皆様に感謝いたします。

## シチヨウシンカイヒバリガイ PGRP 遺伝子の同定と発現パターン

生田 哲朗<sup>1</sup>, 大石 和恵<sup>1</sup>, 本郷 悠貴<sup>1,2</sup>, 長井 裕季子<sup>1</sup>, 丸山 正<sup>1,2</sup>, 吉田 尊雄<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>(独)海洋研究開発機構, <sup>2</sup>東京海洋大学

### Isolation and expression pattern of PGRP genes in a deep-sea mussel, *Bathymodiolus septemdierum*

Tetsuro Ikuta<sup>1</sup>, Kazue Oishi<sup>1</sup>, Yuki Hongo<sup>1,2</sup>, Yukiko Nagai<sup>1</sup>, Tadashi Maruyama<sup>1,2</sup>, Takao Yoshida<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, <sup>2</sup>Tokyo University of Marine Science and Technology

#### 【目的】

深海性二枚貝シチヨウシンカイヒバリガイ (*Bathymodiolus septemdierum*) は、鰓上皮細胞内に化学合成細菌（以後、共生菌と呼ぶ）を共生させており、共生菌は環境中から取り込まれると考えられている。ペプチドグリカン認識タンパク質 (PGRP) は、一部のモデル動物において、バクテリアの侵入を認識して生体防御反応を誘起することが知られている。本研究では、シチヨウシンカイヒバリガイ共生系の成立機構を生体防御の視点から理解するために、細菌の認識に関わる PGRP 遺伝子の同定と、鰓組織における発現パターンの解析を行なった。

#### 【材料と方法】

2010 年および 2011 年の小笠原での研究航海 (NT10-08, NT11-09) で得られたシチヨウシンカイヒバリガイを材料に用いた。まず同貝の鰓組織 expression sequence Tag (EST) の配列に対して、近縁二枚貝の PGRP の遺伝子配列をクエリとして Blast 検索を行ない、相同と考えられる配列を抽出した。これらについて分子系統解析、ドメイン解析等を行ない、PGRP 遺伝子を同定した。続いてこれらの遺伝子について鰓組織切片を用いた *in situ* ハイブリダイゼーション法による発現パターンの解析を行なった。

#### 【結果】

鰓組織 EST の配列から抽出した配列を検討した結果、シチヨウシンカイヒバリガイは鰓組織において

少なくとも 2 つの PGRP 遺伝子を発現していることが分かった。一方は N 末端側に膜貫通ドメインをもつ long タイプであり、もう一方は N 末端にシグナルペプチドを持つ short タイプであった。これらについて鰓組織での発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法で観察したところ、long タイプは共生菌をもつ菌細胞に、short タイプは abfrontal 領域の共生菌をもたない一部の細胞に、それぞれ特異的に発現している事が明らかとなった。

#### 【結論】

シチヨウシンカイヒバリガイは少なくとも 2 つのタイプの異なる PGRP 遺伝子を持ち、それぞれ鰓組織において異なる細胞で発現し、おそらく long タイプは細胞膜に局在し、一方 short タイプは細胞外へ分泌され、外界からのバクテリアあるいは共生菌の侵入に対して各々個別の機能をもつことが推測された。

謝辞：研究航海でのサンプリングに御尽力いただいた乗船者の皆様に感謝の意を表する。

## 甲殻類の血球：無血球甲殻類および単血球十脚甲殻類

近藤 昌和, 安本 信哉, 高橋 幸則  
水産大学校・生物生産学科

### Hemocytes of Crustacean: Hemocyteless Crustacean and monohemocytic Decapoda

Masakazu Kondo, Shinya Yasumoto, Yukinori Takahashi  
Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University

#### 【目的】

甲殻類は一般に5綱に分類されている。我々は、これまでに3綱に属する甲殻類の血球形態について調べ、甲殻類は血球種数の違いから、単血球類（1種類の血球）と多血球類（複数種の血球）に大別されることを報告した。単血球類には低位群である鰓脚綱や顎脚綱の甲殻類が含まれ、また、高位群である軟甲綱においても、原始的なコノハエビ（コノハエビ亜綱）は単血球類に属する。一方、多血球類には軟甲綱トゲエビ亜綱口脚目のシャコ類や、真軟甲亜綱ホンエビ上目の十脚目、同亜綱フクロエビ上目の等脚目および端脚目が含まれる。これらのことから、甲殻類の祖先種は単血球類であり、トゲエビ亜綱と真軟甲綱の共通の祖先種において血球種の複数化が起こったと推察される。この推察を証明するために、数種の甲殻類について調べたところ、推察に合致しない結果が得られたのでここに報告する。

#### 【材料と方法】

顎脚綱カイアシ亜綱のシオダマリミジンコ、オナガケンミジンコおよびコモフグに寄生していたシュードカリグス・フグ、ヒライソガニに寄生していた同綱鞘甲亜綱のウンモンフクロムシ、およびタイラギ（海産二枚貝）の外套腔に寄生していたカクレエビ（十脚目）を実験に供した。シオダマリミジンコ、オナガケンミジンコおよびシュードカリグス・フグは顕微鏡下で生体を観察した。ウンモンフクロムシでは外套の plasma space 内の plasma を、カクレエビでは胸洞から血液を採取して観察した。

#### 【結果】

シュードカリグス・フグには血球が観察されたが、

シオダマリミジンコ、オナガケンミジンコおよびウンモンフクロムシには血球は認められなかった。カクレエビの血液中には、大型の淡橙色顆粒と小型の濃赤色顆粒を有する1種類の血球が観察された。

#### 【結論】

本研究において血球が認められなかった甲殻類には心臓が無いことから、血球の存否には血液循環の程度（流速）が関係するのかもしれない。シュードカリグス・フグも心臓を持たないが、生殖節内の生殖巣の運動にあわせて血球が循環していたことから、生殖巣の運動が心臓と同様に血液循環を引き起こしていると考えられる。血球を持たない甲殻類を無血球類と呼ぶことを提唱する。無血球類の生体防御機構に血球様の細胞が関与するの否かを明らかにするために、現在、他の心臓を有さない甲殻類についても組織学的検討を行なっている。

多血球類はⅠ群（8種類の血球；クルマエビやガザミなどの十脚目、シャコ類、オカダンゴムシなどの等脚目、端脚目）、Ⅱ群（4種類の血球；イセエビなどの十脚目）、Ⅲ群（3種類の血球；アメリカザリガニやモクズガニなどの十脚目）、Ⅳ群（2種類の血球；テナガエビなど十脚目、ミズムシ（等脚目））およびⅤ群（Ⅳ群とは異なる2種類の血球；オオシロピンノ（十脚目））に分類されているが、カクレエビの血球は、いずれの群のいずれの血球とも形態（顆粒の組成）が異なっていた。また、血球種が1種類であることから、カクレエビは単血球類に分類され、目的の項で述べた「血球種の複数化はトゲエビ亜綱と真軟甲綱の共通の祖先種において起こった」との推察に合致しない。

## クルマエビのサイトカインに関する研究：VEGF および Astakine について

稲田 真理<sup>1</sup>、湯井 敏文<sup>2</sup>、河野 智哉<sup>3</sup>、廣野 育生<sup>4</sup>、近藤 秀裕<sup>4</sup>、酒井 正博<sup>1</sup>、伊丹 利明<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>宮崎大学農学部, <sup>2</sup>宮崎大学工学部, <sup>3</sup>宮崎大学 IR 推進機構, <sup>4</sup>東京海洋大学ゲノム科学研究室

### Cytokine Homologue Genes, VEGFs and Astakine, in Kuruma Shrimp *Marsupenaeus japonicus*.

Mari Inada<sup>1</sup>, Toshifumi Yui<sup>2</sup>, Tomoya Kono<sup>3</sup>, Ikuo Hirono<sup>4</sup>, Hidehiro Kondo<sup>4</sup>, Masahiro Sakai<sup>1</sup>, Toshiaki Itami<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, <sup>2</sup>Faculty of Engineering, University of Miyazaki,

<sup>3</sup>Interdisciplinary Research Organization, University of Miyazaki, <sup>4</sup>Laboratory of Genome Science, Tokyo University of Marine Science and Technology

#### 【目的】

サイトカインは細胞間の情報伝達を担う重要なタンパク質である。脊椎動物では、サイトカインが細胞の増殖、分化、機能発現、細胞死などを制御し、生体機能の形成・維持することにより、免疫、神経、内分泌系で重要な役割を果たしていることが知られている。本研究では、エビ類のサイトカインネットワークによる生体防御機構の一端を解明することを目的とし、クルマエビにおいて、脊椎動物のサイトカインとして知られている血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) <sup>[1]</sup> および、造血器において血球を増殖・分化させる働きを担い、無脊椎動物である甲殻類で初めて見つかったサイトカイン様の分泌系タンパク質である Astakine <sup>[2]</sup> に焦点を当てて研究を行った。

#### 【材料と方法】

昆虫の各遺伝子におけるアミノ酸配列の保存性が高い領域に縮重プライマーを設計し、PCRを行った。得られた部分配列をもとに、5'および3'-RACE法を用いて全長配列を明らかにした。得られた全長配列をもとにそれぞれの遺伝子においてアミノ酸配列を推定し、相同性解析、ドメイン解析および分子系統解析を行った。また、比較モデリング法を用いて、クルマエビの VEGF の立体構造の予測を行った。感染試験において、ビブリオ病の原因菌である *Vibrio penaeicida* または、クルマエビ類の急性ウイルス血症原因ウイルス (penaeid rod-shaped DNA virus; PRDV) をクルマエビに接種後、鰓、リンパ様器官および血リンパをサンプリングし、遺伝子発現の定量解析を行った。さらに、それぞれの遺伝子に相補的な二本鎖 RNA (dsRNA) を作製し、遺伝子のノックダウンを行った。

#### 【結果】

同定されたクルマエビの 4 種類の VEGF (1~4) および Astakine 遺伝子の ORF はそれぞれ 594bp、579bp、915bp、966bp、および 375bp であり、198、193、305、322、および 125 アミノ酸残基をコードしていた。立体構造解析において、クルマエビの VEGF1 はヒトの VEGF と同様に、2 量体を形成する可能性が示唆された。感染試験について、*V. penaeicida* 接種後 6 時間において、鰓およびリンパ様器で VEGF1 の遺伝子発現が平常時の 37 および 21 倍に増加し、接種 24 時間以降において平常時の発現レベルに低下した。PRDV 接種後 108 時間以降において、鰓、リンパ様器官および血リンパで VEGF1 の遺伝子発現が平常時の 81、41 および 11 倍に増加した。また、PRDV 接種後 132 時間において、リンパ様器官で Astakine の遺伝子発現が 8 倍に増加した。遺伝子ノックダウンについて、Astakine 遺伝子ノックダウン後 72 時間と 75 時間において同一個体から計 2 回採血を行った結果、血球数の著しい減少が認められた。

#### 【結論】

病原体感染試験の結果より、VEGF1 遺伝子はクルマエビの生体防御において重要な働きを担っている可能性が示唆された。また、遺伝子ノックダウンおよび病原体感染試験の結果より、Astakine 遺伝子はクルマエビの造血能だけでなく、生体防御においても関与している可能性が示唆された。

#### 【参考文献】

1. Ferrara *et al.*, *Nat Med*, 2003; 669-676
2. Söderhäll *et al.*, *J Immunol*, 2005; 6153-6160

## 架橋酵素による腸管上皮の情報伝達制御と腸内細菌叢の維持機構

柴田 俊生<sup>1</sup>, 関原 早苗<sup>2</sup>, 藤川 匠<sup>2</sup>, 榎 光輝<sup>2</sup>, 石原 健<sup>1,2</sup>, 小柴 琢己<sup>1,2</sup>, 川畑 俊一郎<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九大院・理・生物科学, <sup>2</sup>九大院・システム生命科学

### Transglutaminase-catalyzed Protein Crosslinking Suppresses Innate Immune Signaling in the *Drosophila* Gut.

Toshio Shibata<sup>1</sup>, Sanae Sekihara<sup>2</sup>, Takumi Fujikawa<sup>2</sup>, Kouki Maki<sup>2</sup>, Takeshi Ishihara<sup>1,2</sup>, Takumi Koshiba<sup>1,2</sup>,

Shun-ichiro Kawabata<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University, <sup>2</sup>Graduate School of Systems Life Sciences, Kyushu University

#### 【目的】

トランスグルタミナーゼ (TGase) は、タンパク質の架橋反応を触媒する酵素である。最近、キイロショウジョウバエ *TGase* の RNAi 実験により、TGase は腸管免疫の制御に関与していることが示唆された。腸管免疫制御の分子機構は未解決の問題である。そこで、本研究では腸管免疫における TGase の機能を調べた。

#### 【結果・考察】

*TGase* を RNAi した系統とコントロール系統を用いて、腸管における各種免疫関連因子の産生量をリアルタイム PCR 法により定量化した。その結果、主要な免疫経路である IMD 経路の抗菌ペプチドが、RNAi 系統において著しく亢進していることが判明した。また、腸管特異的に *TGase* を RNAi した系統では、コントロール系統と比較して生存率が有意に減少し、腸管上皮細胞のアポトーシスが高頻度で誘発されていた。興味深いことに、RNAi 系統を無菌状態にすると、生存率は大幅に回復し、アポトーシスも認められなかった。さらに、*TGase* の RNAi 系統の腸管抽出物を、無菌化した野生型系統に経口投与すると、*TGase* を RNAi したときと同様に生存率が低下した。以

上より、TGase は腸管免疫を負に制御し、腸内細菌叢の維持を行っている可能性が示唆された。そこで、16S rRNA に基づく腸内細菌叢の解析を行った。その結果、コントロールの系統では *Acetobacter* 属の細菌が主要であったのに対し、RNAi 系統では *Pseudomonas* 属の細菌が主要であることが明らかとなった。続いて、TGase による IMD 経路制御の分子機構を明らかにする目的で、TGase の合成基質であるダンシルカダベリンやピオチンペンチルアミンの TGase 活性によるタンパク質への取り込みを指標にして、IMD 経路の基質タンパク質 (転写因子) を同定した。この転写因子は、TGase により高度に架橋されることが、組換え体および成虫を用いた実験により明らかとなった。以上のことから、TGase は IMD 経路の転写因子を架橋して不活性化させ、常在細菌による IMD 経路の異常な活性化を抑制することで、腸管恒常性維持に寄与していることが判明した。

## ショウジョウバエ細菌認識分子 PGRP-LE による菌感染依存的

### オートファジー誘導機構

矢野 環, 若林 康介, 白田 陽一, 村野 聡, 倉田 祥一朗  
 東北大・院・薬

#### Mechanism of autophagy induction *via* the accumulation of PGRP-LE around *Listeria*

Tamaki Yano, Kosuke Wakabayashi, Yoichi Shirata, Satoshi Murano and Shoichiro Kurata<sup>1</sup>  
 Grad. School Pharm. Sci., Tohoku Univ.

#### 【目的】

自然免疫は哺乳類を含むほぼすべての多細胞生物が有する生体防御機構であり、ショウジョウバエでは、Peptidoglycan Recognition Protein (PGRP)ファミリー因子が病原体を認識し、自然免疫応答を誘導する。我々は、PGRPファミリー因子の一つであるPGRP-LEが体液細胞の細胞質において細胞内寄生細菌であるリステリア菌を認識し、認識依存的にオートファジーを誘導してその増殖を抑制することを明らかにしてきた。オートファジーは酵母からは乳類細胞にまで保存された、細胞内物質代謝に機能する非特異的分解系であるが、菌感染依存的に誘導される場合は、菌周囲に選択的に誘導される。これまでに、我々が示した細菌認識分子に加え、菌周辺のユビキチン認識分子、菌を包囲する膜の損傷を認識する分子など、菌特異的オートファジー誘導のトリガーは複数存在することが明らかとなってきたが、オートファゴゾーム形成の機構は依然として不明である。我々はこれまでに、ユビキチン結合タンパク質 Ref(2)P がPGRP-LEと細胞質に侵入したリステリア菌の周囲に共局在すること、また、PGRP-LE依存的なオートファジー誘導に機能することを示している。そこで、PGRP-LEとRef(2)Pによるオートファジー誘導機構を検討した。

#### 【材料と方法】

ショウジョウバエ培養細胞 S2 細胞を用いて、リステリア菌に対する PGRP-LE、および Ref(2)P

のリステリア菌への集積、およびオートファジー誘導に関するドメイン解析を行った。

#### 【結果】

PGRP-LEとRef(2)PはPGRP-LEのRHIM-likeドメイン中のオートファジー誘導に必要なアミノ酸を介して複合体を形成すること、さらに、PGRP-LEとRef(2)Pが相互依存的にリステリア菌周囲に集積することを明らかにした。また、Ref(2)P依存的なPGRP-LEの菌への集積はRef(2)Pタンパク質のPB1, UBA両ドメインを介していた。

#### 【結論】

オートファジーの無秩序な亢進は自己成分の不必要な分解につながるため、病原体排除に機能する際は、病原体の周囲に空間的に厳密に制御される。この誘導のトリガーはリステリア菌に対するショウジョウバエ細胞の場合PGRP-LEであるが、PGRP-LEが菌を認識するだけでは、ダイナミックな膜動態であるオートファゴゾームのリクルートには不十分であり、PGRP-LEによる菌の認識がRef(2)Pをリクルートし、Ref(2)PのPB1ドメインを介した会合により、さらにPGRP-LEの菌周囲への集積をもたらすという増幅機構が重要であると考えられた。これまで、菌特異的なオートファジー誘導は、Ref(2)Pホモログ因子の、菌周囲に局在する分子とオートファゴゾーム膜上の因子の両者への結合でおきるというモデルが考えられていたが、今回の結果は菌周辺への誘導因子複合体の集積という新しい概念を提起する。



## ホソヘリカメムシ共生器官で特異的に発現する遺伝子群の同定

大林 翼<sup>1,2</sup>, 二橋 亮<sup>2</sup>, 菊池 義智<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北大・農, <sup>2</sup>産総研・生物プロセス

### Identification of genes specifically expressed in the gut symbiotic organ of the bean bug *Riptortus pedestris*

Tsubasa Ohbayashi<sup>1</sup>, Ryo Futahashi<sup>2</sup>, Yoshitomo Kikuchi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Graduate school of Agriculture, Hokkaido University, <sup>2</sup>AIST, Bioproduction

#### 【目的】

ホソヘリカメムシは中腸後端部の共生器官に *Burkholderia* 属の共生細菌を保持している。ホソヘリカメムシから共生細菌を除去すると、宿主の体サイズや産卵数が大幅に減少することから、共生細菌は宿主の栄養代謝において重要な役割を果たしていると考えられている。ホソヘリカメムシの共生器官には *Burkholderia* のみが定着しているが、その感染特異性に関わる分子基盤はほとんど分かっていない。これまでに我々は、共生細菌の感染・非感染時におけるホソヘリカメムシ共生器官のトランスクリプトーム解析を行い、新規分泌タンパクが共生器官で特異的に発現していることを明らかにした<sup>1</sup>。

この新規分泌タンパクは C-末端にシステイン残基を多く含んでいた（システインリッチタンパク）。このようなシステインリッチタンパクは、マメ科植物-根粒菌の共生系において根粒内で特異的に高発現していることが知られており、根粒菌を窒素固定に特化した形態（バクテロイド）へ誘導し、根粒菌に抗菌活性を示すことから、根粒菌個体群の制御機能が示唆されている<sup>2</sup>。本研究では、ホソヘリカメムシから見つかった新規システインリッチタンパクについて、その共生に果たす機能を明らかにすることを目的にした。

#### 【材料と方法】

ホソヘリカメムシ幼虫の共生細菌感染体および非感染体を用意し、共生初期の 2 齢 1 日目、2 日目、3 日目および共生成熟後の 5 齢 3 日目幼虫の共生器官から mRNA を抽出し、RNA-seq を行うとともに定量 RT-PCR によってシステインリッチタンパクの発現

量変化を調べた。また、システインリッチタンパクの空間的な発現を確認するために DIG 標識したプローブを用いて *in situ* hybridization を行った。

#### 【結果】

複数のシステインリッチタンパクが共生細菌感染 2 日後以降の共生器官で特異的に発現することが RNA-seq および定量 RT-PCR により明らかとなった。システインリッチタンパクの空間的な発現を確認するために *in situ* hybridization を行ったところ、これらのシステインリッチタンパクは共生器官のみ特異的に発現していることが明らかとなった。

#### 【結論】

複数のシステインリッチタンパクが共生細菌感染 4 8 時間後から共生器官で特異的に発現していることが明らかとなった。非感染個体ではほとんど発現していなかったことから、共生細菌の感染によってシステインリッチタンパクの発現が誘導されることが強く示唆された。今後、RNAi を用いたノックダウン試験、組換えシステインリッチタンパクの産生を通じて、システインリッチタンパクがホソヘリカメムシ-*Burkholderia* 共生系に果たす役割の解明を目指す。

#### 【参考文献】

1. Futahashi *et al.*, (2013) PLoS One 8(5): e64557
2. Van de Velde *et al.*, (2010) Science 327 (5969): 1126-1129

## 共生細菌が誘導する昆虫共生器官の形態変化

菊池 義智<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>産総研・生物プロセス, <sup>2</sup>北大・農

### Morphogenesis in gut symbiotic organ of an insect triggered by symbiotic bacteria

Yoshitomo Kikuchi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>AIST, Bioproduction, <sup>2</sup>Graduate school of Agriculture, Hokkaido University

#### 【目的】

マメ科植物の根粒形成やミミイカ発光器官の形態変化にみられるように、共生細菌はときに宿主の形態形成を誘導し器官形態を劇的に変える事が知られている。最近のマウスやゼブラフィッシュにおける研究では、腸内常在菌が消化管の上皮形成や血管形成に重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。

ダイズの害虫として知られるホソヘリカメムシは消化管後端部（M4 部位）に盲嚢と呼ばれる袋状組織を多数発達させており、その内腔中に *Burkholderia* 属の共生細菌を保持している。このカメムシは共生細菌を母子間伝播する事はなく、孵化した幼虫が環境土壤中に生息する *Burkholderia* 属細菌を経口的に取り込むことで共生が成立する<sup>1,2</sup>。今回我々はホソヘリカメムシ-*Burkholderia* 腸内共生系において、共生細菌の感染により宿主消化管の細胞分裂が活性化しこれにより形態が大きく変化することを明らかにしたので報告する。

#### 【材料と方法】

ホソヘリカメムシ幼虫に緑色蛍光タンパク (GFP) 発現共生細菌を与えて、その感染過程を観察した。共生細菌の体内動態観察に加え、Phalloidin 染色による細胞骨格の可視化、および 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) を用いた細胞分裂の検出を行った。感染個体と同時に、コントロールとして非感染個体における共生器官（消化管 M4）の形態変化を観察・比較した。

#### 【結果】

緑色蛍光タンパク (GFP) 発現共生細菌を用いてその感染過程を詳細に観察したところ、共生細菌が M4 へ到達すると M4 前部が閉じることが明らかとなった。また非感染個体との詳細な形態比較から、この変化が共生細菌の感染によって引き起こされる事が強く示唆された。EdU を用いた観察では感染時の宿主消化管において活発な細胞分裂が検出された。

#### 【結論】

本研究によって、ホソヘリカメムシ共生器官の形態形成が共生細菌によって誘導されていることが強く示唆された。どのような分子メカニズムによってこのような形態変化が引き起こされるのか、今後の研究が待たれる。ホソヘリカメムシの腸内共生系は 1 種類の共生細菌から成るシンプルかつ有用なモデル系であり、今後の研究によって共生の分子基盤の解明が期待される。

#### 【参考文献】

1. Kikuchi *et al.*, (2007) *Appl. Environment. Microbiol.* 73(13): 4308–4316.
2. Kikuchi and Yumoto, (2013) *Appl. Environment. Microbiol.* 79(6): 2088–2091.

## ヒトデ幼生の2種のマクロファージ遊走阻止因子は 異物に集積する間充織細胞数を調節する

古川亮平<sup>1,2</sup>、玉木香菜<sup>2,3</sup>、金子洋之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学・いわて東北メディカルメガバンク機構、<sup>2</sup>慶應義塾大学・自然科学研究教育センター  
<sup>3</sup>名古屋大学・医学部

### Opposite effects of two macrophage migration inhibitory factors on the accumulation of mesenchyme cells in starfish larval immune response.

Ryohei Furukawa<sup>1,2</sup>, Kana Tamaki<sup>2,3</sup>, Hiroyuki Kaneko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Iwate Tohoku Medical Megabank Organization, Iwate Medical University

<sup>2</sup>Research and Education Center for Natural Sciences, Keio University

<sup>3</sup>Graduate School of Medicine, Nagoya University

#### 【目的】

幅広い動物種に存在するマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) は、免疫系のみならず、個体の恒常性維持システムに広く関わる最も原始的なサイトカインの一つと考えられている。しかしその生理機能に関しては未だ不明な点も多い。

これまで我々は、ヒトデ幼生から2種のMIFを同定し、個体発生過程では、両者とも細胞増殖の制御機能を司っている可能性を報告した。本研究では、免疫応答における機能に焦点を絞り、それぞれのMIFが幼生の間充織細胞に与える影響を *in vivo* ならびに *in vitro* で解析する。

#### 【材料と方法】

2種のMIF (*ApMIF1* 及び2) に対するモルフォリノアンチセンスオリゴ (MO) を用いてイトマキヒトデ幼生の各MIFの機能を阻害し、異物 (油滴) 注射部位にリクルートされる間充織細胞数の経時変化を定量的に調べた。次に、コントロール幼生及び両MIFのダブルノックダウン幼生から培養下に単離した間充織細胞を材料に、両MIFのリコンビナントタンパク質 (*rApMIF1* 及び2) を用いてジグモンドチャンバー法による migration assay を行い、間充織細胞の移動を定量的に解析した。

#### 【結果】

(1) *ApMIF1*-MO 幼生では、油滴注射部位にリクルートされる間充織細胞数が、コントロール幼生よりも有意に増加した。一方、*ApMIF2*-MO 幼生では、全くリクルートされなかった。

(2) 培養間充織細胞において、*rApMIF2* の濃度勾配に対する走化性は認められなかったが、移動速度の有意な上昇が認められた。

(3) *ApMIF1* が *ApMIF2* と逆の機能を有するかを調べるために、ダブルノックダウン個体の培養間充織細胞を *rApMIF1* 及び2で同時に処理した。その結果、*rApMIF2* による間充織細胞の速度上昇が *rApMIF1* によって有意に抑制されることが明らかとなった。

#### 【結論】

*ApMIF1* 及び2は、異物へ移動する間充織細胞の移動速度をそれぞれ加減速的に制御することにより、異物存在領域に集積する間充織細胞の量を決定している可能性が示唆された。発生過程では共通の機能を有し、免疫系では逆の機能を示すにも関わらず、これらの2つの局面における両MIFの機能発現の結果は、意味的には共に細胞数の制御であるようにも感じられる。この仮説も含め、ヒトデ幼生におけるMIFの機能について、今後の解析戦略を議論したい。

## 節足動物における TEP ファミリー遺伝子の進化

関口玲生<sup>1</sup>、野中勝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大学・大学院理学系研究科・免疫分子進化学研究室

### Evolution of the TEP family genes in arthropod

Reo Sekiguchi<sup>1</sup>, Masaru Nonaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Evolutionary immunology, Graduate School of Science, The University of Tokyo

#### 【目的】

補体系の中心成分である C3 は分子内チオエステル結合を有し、その構造を共有する非補体成分の  $\alpha$ 2-マクログロブリン (A2M) 等とともに TEP (thioester-containing protein) ファミリーを形成している。節足動物では、カブトガニに C3, A2M 遺伝子が存在する<sup>[1],[2]</sup>。一方で、ゲノム解析が完了しているショウジョウバエやハマダラカには C3, A2M 遺伝子が存在せず代わりにオプソニン活性を持つ insect TEP (iTTP) が確認されている<sup>[3]</sup>。このように、TEP ファミリー遺伝子は節足動物内の様々な系統で複数回二次的に失われていることがわかっている。本研究では、節足動物に属する動物種を用いて TEP 遺伝子の網羅的クローニングを行い、節足動物における TEP 遺伝子の進化を明らかにすることを目的とした。

#### 【材料、方法】

鋏角類のアダンソンハエトリ (*Hasarius adansoni*) とシマウミグモ (*Ammonthea hilgendorfi*)、多足類のマクラギヤスデ (*Niponia nodulosa*) とアオズムカデ (*Scolopendra subspinipes*) から RNA を抽出し、cDNA を合成し、既知の TEP 遺伝子間で保存されているチオエステル領域の配列に基づいて作製した縮退プライマーを用いて RT-PCR をを行い、各動物について TEPcDNA の部分塩基配列約 200bp を得た。この部分配列に基づく BLAST search 及び系統解析により TEP 遺伝子の種類を推定した後、RACE-PCR による各 TEP 遺伝子の全長配列の決定とアミノ酸配列によ

る系統樹の作製を試みた。

#### 【結果】

アダンソンハエトリ、シマウミグモ、アオズムカデから C3 遺伝子を同定した。また、実験に用いた全ての動物から A2M 遺伝子が同定でき、アダンソンハエトリ、マクラギヤスデ、ムカデからは iTTP 遺伝子が同定できた。

#### 【結論】

節足動物内において、多足類内と、多足類が分岐した後の甲殻類と六脚類の共通祖先で少なくとも 2 回の C3 遺伝子の喪失が起こったと考えられる。

また、シマウミグモからは iTTP 遺伝子は確認されなかった。甲殻類の TEP 遺伝子の解析においてエビ、カニ類から A2M 遺伝子のみが確認されていること、また、ゲノム解析が完了しているミジンコからは iTTP 遺伝子のみが確認されていることから、C3 遺伝子以外の TEP 遺伝子も節足動物内の様々な系統で二次的に失われていることが考えられる。

#### 【参考文献】

1. Zhu Y, Thangamani S, Ho B, Ding JL (2005) *Embo J*, 24, 382-394
2. Iwaki D, Kawabata S, Miura Y, Kato A, Armstrong PB, Quigley JP, Nielsen KL, Dolmer K, Sottrup-Jensen L, Iwanaga S (1996) *Eur J Biochem*, 242, 822-831.
3. Levashina EA, Moita LF, Blandin S, Vriend G, Lagueux M, Kafatos FC (2001) *Cell*, 104, 709-718.

## カタユウレイボヤにおける補体成分 C3 遺伝子の再探索

日比野 拓<sup>1</sup>, 野中 勝<sup>2</sup><sup>1</sup>埼玉大学・教育学部, <sup>2</sup>東京大学・院理・生物科学Re-annotation of the third complement component C3 gene of *Ciona intestinalis*Taku Hibino<sup>1</sup>, Masaru Nonaka<sup>2</sup><sup>1</sup>Faculty of Education, Saitama University, <sup>2</sup>Department of Biological Sciences, The University of Tokyo

## 【目的】

カタユウレイボヤは、発生学のモデル生物として百年以上前から用いられ、また近年のゲノム研究により、ナメクジウオではなく、ホヤが脊椎動物と姉妹群を形成することが明らかになった。ゆえに、カタユウレイボヤは脊椎動物の起源と進化を理解するための重要な生物といえる。補体系の進化を考える上でもホヤは重要であり、補体系の中心的な成分である C3 について、これまで多くの研究がなされてきた。ホヤ C3 はオプソニン化し食作用を促進し、C3a 断片がホヤ血球の走化性を誘導することから、脊椎動物 C3 とは分子構造だけでなく機能も保存されていることが明らかになった。

カタユウレイボヤのゲノム解読により発見された 2 つの C3 遺伝子 (*CiC3-1*, *CiC3-2*) は、変態後の稚ボヤから発現が開始する。発生過程において C3 の発現が見られないことに大いに疑問を持ち、ホヤゲノムにおける C3 遺伝子の再探索を行った。

## 【材料と方法】

推測されたカタユウレイボヤの全タンパク質のアミノ酸配列を元に HMM 解析を行い C3 に特徴的なドメインを保有する遺伝子を探索したところ、既知の C3 (*CiC3-1*, *CiC3-2*) の他に、新規の C3 遺伝子を発見した。この配列を元に成体の鰓と血球 cDNA から全長塩基配列をクローニングした。分子系統解析からこの遺伝子を *CiC3-3* と命名した。終止コドンを含む 0.5 kbp を元に DIG ラベル RNA プローブを作成し、

Whole-mount *in situ* hybridization を行い、カタユウレイボヤ初期発生における発現パターンを解析した。

## 【結果】

新規にクローニングされた C3 相同遺伝子 *CiC3-3* は、脊椎動物 C3/C4/C5 と姉妹群を形成し、*CiC3-1*, *CiC3-2* よりも高い相同性を示した。一方、*CiC3-3* は病原体表面と共有結合するチオエステル基が保存されておらず、近隣に Lys/Arg-rich な 70 アミノ酸残基からなる挿入が見られた。

*CiC3-3* は、初期発生において発現し、変態後はほとんど発現しないという、*CiC3-1* や *CiC3-2* とは対照的な発現パターンを示した。*in situ* hybridization により、原腸形成期に陥入部位で発現が開始し、その後内胚葉でのみ発現することが明らかになった。

## 【結論】

カタユウレイボヤから 3 番目の C3 遺伝子が発見され、分子系統解析からホヤの祖先は 2 つの C3 遺伝子グループを保有していたことが明らかになった。

C3 遺伝子はサンゴやイソギンチャクでも発見され、発生途中の内胚葉で発現する。内胚葉で発現する *CiC3-3* と刺胞動物 C3 は共通の役割を果たしている可能性がある。もしそうなら、刺胞動物 C3 の発生と免疫の 2 つ役割を *CiC3-3* と *CiC3-1*, -2 が分担しているのかもしれない。



# 古田賞受賞講演

# MHC とプロテアソーム *PSMB8* 遺伝子の二型性の進化

野中 勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

## Evolution of MHC and Dimorphism of Proteasome Subunit Beta Type 8 (PSMB8) Gene

Masaru Nonaka

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science

The University of Tokyo

MHC は顎口類に固有のゲノム領域で、獲得免疫、自然免疫で重要な役割を担う多くの遺伝子が存在する。このようなゲノム構造の、生理的または進化的な意味は十分に理解されていないが、クラス I 抗原提示経路及び補体古典経路で働く、構造的には無関係ながら機能的には密接に関連する遺伝子が互いに緊密に連鎖していることは注目される。

免疫プロテアソームサブユニット PSMB8 は、クラス I 上に提示されるペプチドの産生に関与し、その切断特異性が変わると、C 末の残基の異なるペプチドがクラス I に提供されると考えられる。2 種類の近交系のメダカの MHC 領域約 500kb の塩基配列を決定して比較した所、PSMB8 遺伝子と隣接する PSMB10 遺伝子の一部のアミノ酸配列は両系統間で約 20% も異なっていることが示された<sup>1), 2)</sup>。周囲の遺伝子の両系統間のアミノ酸配列の違いは数%程度であり、驚異的なアレル間の違いを示したのは PSMB8, PSMB10 遺伝子のみであった。二つのタイプの PSMB8 は日本各地の集団中に多型として存在し<sup>3)</sup>、更には東南アジアに分布するメダカ属各種にも共有され<sup>4)</sup>、数千万年に渡って平衡淘汰によって保たれてきた trans-species polymorphism であることが明らかになった。同様の二型はサメ、ゼブラフィッシュ、ニジマス、ゼノパスにも見つかかり、どの種の二型も切断特異性を決定する 31 番目のアミノ酸が、側鎖の小さい Ala または Val であるか、芳香

族アミノ酸である Phe または Tyr であったため、前者を A タイプ、後者を F タイプと名付けた。系統樹解析を行うと、サメや下位条鰭類であるコイ目やサケ目の A タイプ、F タイプは、タイプ毎のクラスターを形成したため、それぞれを A 系統と F 系統と名付けた。メダカやゼノパスの両タイプはともに A 系統に属し、上位条鰭類や四足類では、一度 F 系統が失われた後、A 系統内 F タイプを復活したことが示唆された<sup>5)</sup>。条鰭類の基部で分岐したポリプテルスからもアレルとして振る舞う両タイプが見つかかり、それぞれ両系統に属し、下位条鰭類では 4 億年以上にわたって二型を維持する極めて強い平衡選択が働いていることが示唆された<sup>6)</sup>。一方、爬虫類やフグ目各種の二型は、A 系統内で何度も独立に復活している様に見えた。哺乳類では A 系統に属する A タイプの遺伝子しか見つかかっておらず、PSMB8 の二型の有無と、MHC 内の遺伝子配置との関連について論じたい。

1) Matsuo, M. Y. et al. (2002) *Immunogenetics* 53, 930.

2) Tsukamoto, K. et al. (2005) *Immunogenetics* 57, 420.

3) Tsukamoto, K. et al. (2009) *Mol. Biol. Evol.* 26, 769.

4) Miura, F. et al. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 21599.

5) Tsukamoto, K. et al. (2012) *Mol. Biol. Evol.* 29, 3071.

6) Fujito, N. T. et al. (2012) *Immunogenetics* 64, 447-453.





# 特別講演

# MHC 多型の維持機構と進化的応用

高畑 尚之  
総合研究大学院大学

## Maintenance mechanisms of MHC polymorphism and its evolutionary applications

Naoyuki Takahata

The Graduate University for Advanced Studies

今年、J. B. S. Haldane がジャクソン研究所の C. C. Little を訪れ、そこで知った腫瘍の移植に関する遺伝的研究成果を「The genetics of cancer」と題して *Nature* 誌に紹介して以来ちょうど 80 年になる。Haldane はその時持ち帰った 3 系統のマウスを、学生の一であった P. A. Gorer に与えたが、これが主要組織適合性抗原 II (H-2) の発見につながった (J. Klein, *The Natural History of the Major Histocompatibility Complex*, 1986)。ところで、我々生物学者は 3 種類の問いしかしていない。それは、機能、構造と進化に関する問いである。こう述べたのは S. Brenner (1991) であるが、この 80 年間に於ける MHC に関する研究はこれら 3 種類の問いが他に類例のない程密接に関係して発展してきた。この意味で、MHC の研究は異分野結合のひとつの模範であったといえる。本講演では、異常な多型性を示す MHC に進化的な興味をもった者として、MHC の研究史を概観しつついくつかの今日的な課題を述べてみたい。進化的な課題としては、MHC を司令塔とする獲得性免疫機構 (AIS) のそもそもの「はじまり」や MHC 多型の維持機構に関するものがある。また、MHC 多型や他の遺伝的

多型に基づいて生物集団の個体数の変動や種分化のモードを究明する課題がある。ここでは主に、大量に蓄積している HLA の塩基配列データや集団遺伝学的な理論とシミュレーションの結果を用いて、その多型の維持機構や人類進化との関係を考察する。



シンポジウム

# 進化生物学から見た比較免疫学

S1～S4

## 寄主寄生蜂間相互作用：ハチがコントロールするもの

田中利治

名古屋大学大学院生命農学研究科

### Physiological relationship between hosts and parasitoids: host regulation by endoparasitoids

Toshiharu Tanaka

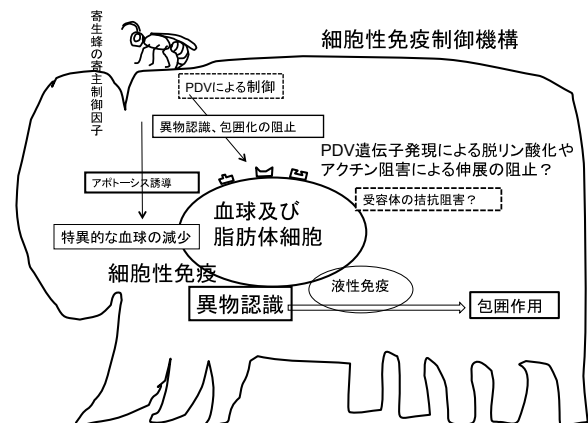
Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

昆虫類は体が小さいこともあって、現在地球上に約 100 万種は存在していると言われていいる。その中でも寄生バチ類は 20 万種も存在し、様々な相互関係を作り上げている。これら寄生バチは、様々な分け方をされているが、現在は従来と違った視点として寄主資源の利用の違いに着目し、2 つのグループに分けるのが受け入れられている。寄生時に毒液により麻酔したり殺したりすることで、寄主が持っていた養分を利用して卵が発育する *koinobont* といわれるタイプと、寄生後も寄主が発育することで、その間に寄主が取った養分も利用して育つ *idobiont* といわれるタイプに分ける。それぞれに外部寄生も内部寄生も存在する。Idiobiont 種の内部寄生バチは、寄主体腔中に卵を注入することから、寄主のもつ生体防御反応を回避する必要がある。寄主特異性が存在し、寄主の生体防御反応を回避出来る種が寄生を成功させることが出来る。寄生している間は、寄主に発育してもらうために大きなダメージを与えないようにしながら養分を搾取している。

まず昆虫は異物が体内に侵入すると、細胞性防御反応及び液性防御反応により、異物を排除する事は知られているところである。異物が血球より大きな場合は、主に顆粒細胞やプラズマ細胞という血球がおもに異物の周りを取り囲み包圍作用を行う。少なくとも 1-2 時間以内には包圍化が完成する。このとき包圍化されている異物の周りには、必ずメラニンが形成されている。細胞性及び液性免疫が起こっている。いずれにしても寄生バチの卵及び幼虫は、これを回避しなければ寄生は成

功できない。

内部寄生バチは毒液も持っているが卵巢の細胞で共生ウイルスであるポリドナウイルス (PDV) を生産し、卵と共に寄主体内に送りこむ。卵と共に寄主体内に入った PDV は、主に血球や脂肪体に侵入して様々な遺伝子を発現する。寄主血球の伸展を阻害する遺伝子の発現や、異物認識に関与するレクチンを生産していることが最近わかってきている。産卵してから寄主体内で PDV が発現するまでの 1-2 時間は同時に注入された毒液がその作用をもち、一時的に回避させていることもわかってきた。また、PDV を持たないタンパク顆粒を PDV のような顆粒 (virus like particle) にして寄主体内に注入している寄生バチを調べたところ、同様に血球の伸展阻害を行っていることがわかってきた。しかし PDV または VLP の中に存在するタンパクが寄主の同じ働きをするタンパクと拮抗阻害を行うことで寄主の機能を阻害していると言われていいるが、その仕組みはまだ未解明である。



## 細胞死（アポトーシス）の分子機構とその生理的役割

酒巻和弘

京都大学・生命科学研究科体制統御学部門

### Molecular mechanism of apoptotic cell death and its physiological role

Kazuhiro Sakamaki

Department of Animal Development and Physiology, Graduate School of Biostudies, Kyoto University

細胞死は、様々な生物種で観察される普遍的な生命現象であり、哺乳類においてはアポトーシスとネクローシスの二つに大別されていた。しかし、近年過剰なオートファジーや細胞分裂の破綻によっても細胞死が起きることが明らかとなっている。これら細胞死のうちアポトーシスは、発生過程の器官・形態形成、生体のホメオスタシス、自己反応性免疫細胞の除去等に関わっている。アポトーシスのシグナル伝達経路では、“カスパーゼ”と総称されたシステイン-プロテアーゼがシグナル伝達分子として働く。ヒトでは12種類のカスパーゼが同定されており、そのうちアポトーシスに関与するカスパーゼとして、イニシエーター(initiator)-カスパーゼに分類されるカスパーゼ2、8、9、10と、エフェクター(effector)-カスパーゼに分類されるカスパーゼ3、6、7が存在する。一方、カスパーゼ1、4、5は、炎症反応に関わることが知られている。

カスパーゼ8は、ヒトにおいて、Fasなどのデスレセプター(death receptor)によるアポトーシスシグナルを下流の分子に伝達するイニシエーターカスパーゼとして見出された分子である。我々は、カスパーゼ8の生理機能を解明するために、カスパーゼ8ノックアウトマウスを作出し、その表現型を解析したところ、心臓形成に異常が生じて胚性致死となることを見つけた。このカスパーゼ8ノックアウトマウス胚から樹立したMEF細胞を使って、デスレセプターによるアポトーシス誘導の有無について調べたところ、抑制されることが判明した。さらに、カスパーゼ8を欠くことでアポトーシスが抑制されたと想定されるにも関わらず、ノックアウトマウス胚の心臓異常はアポトーシス以外の細胞死によるこ

とを追加研究によって確かめている。最近の研究によって、この細胞死は、カスパーゼ8によって胚発生の間抑制されていたRIP3キナーゼが、カスパーゼ8の欠如で活性化した結果起きるネクローシスであることが証明された。カスパーゼ8とRIP3キナーゼを共に欠くノックアウトマウスは、胚性致死とならずに生まれてくる。これらのことから、ウイルス感染等でカスパーゼ8によるアポトーシスが抑制されても、感染細胞の除去のため、ネクローシスの活性化が起きて細胞死が実行される可能性が示唆されている。

しかし、カスパーゼ8変異体が胚性致死となるのは、マウスにおいて特異的に認められる現象であるかもしれない。カスパーゼ8の機能を欠いたヒトでは、免疫機能に異常が生じながらも生存している。また我々は、カスパーゼ8遺伝子に変異が生じたホモ接合型のメダカを作製したところ、同様に胚性致死とはならなかった。その違いを理解するには、カスパーゼ10を考慮する必要がある。この分子は、カスパーゼ8と類似した機能を有し、ヒト染色体上では隣同士に存在する。遺伝子重複により祖先型カスパーゼ8から分岐した分子であると考えられている。魚類ではヒトと同じくカスパーゼ10が存在するのに対し、マウスでは遺伝的にカスパーゼ10を欠いている。今回、アポトーシスに関わるカスパーゼ8に着目し、その類似分子、並びに生物種間の相違点について論じながら、分子機構と生理的役割を理解していきたい。

## フラビン酵素に由来する生体防御

頼田 和子

徳島大学・疾患酵素学研究センター

### Defense Responses by flavoenzymes

Kazuko YORITA

Institute for Enzyme Research, University of Tokushima

ミルクや卵から見出された黄色の (*flavus*) 物質はリビチル鎖を有することからリボフラビンと名づけられた。これがビタミン B<sub>2</sub> の本体である。そして2つのリボフラビン誘導体 FMN (フラビンモノヌクレオチド) および FAD (フラビンアデニンジヌクレオチド) が黄色の蛋白質であるフラビン酵素から抽出された。前者は、リボフラビンのリビチル鎖の末尾のヒドロキシル基がリン酸化した分子であり、1933年にビヤ樽の底に残っていたビール酵母から精製された旧黄色酵素 (Old Yellow Enzyme) に見出された。後者は FMN に AMP が縮合したより大きな分子であり、1935年に哺乳類の組織から精製された D-アミノ酸酸化酵素から分離同定された。

その後今日までに報告された数百種におよぶフラビンたんぱく質はバクテリアからヒトまで広く生物界に存在しているが、その殆どがこの FMN もしくは FAD を有した機能性たんぱく質であり、生体酸化に関わる各種酸化還元酵素、DNA 修復を司る光回復酵素、植物における屈光性の青色受容体、細胞膜修復に関与する酵素、ミトコンドリアのアポトーシス

誘導因子 (AIF) 等として生物活動を行なっている。

動物由来の NADPH 酸化酵素は FAD を活性中心に有するフラビン酵素であり、好中球やマクロファージなどの食細胞内に存在して活性酸素 (ROS) を生成して殺菌作用を行ない自然免疫機構の一端を担っている。この酵素は様々な器官や組織にも存在し、また動物のみならず植物や菌類ほかにも類似酵素が報告されて NOX ファミリーと呼ばれる一群のフラビン酵素ファミリーの代表酵素と位置づけられている。

自然免疫による生体防御は獲得免疫とは異なりバクテリアから脊椎動物までの生物界に広くみられることから、この自然免疫による生体防御機構を様々な生物種の NADPH 酸化酵素で比較することは興味深い。本発表では NAD(P)H 酸化酵素の関わる生体防御を紹介し、各生物界における同属酵素、類縁酵素類の機能および構造との比較をおこなう。



## ウエルシュ菌の産生するフィブロネクチン結合タンパクについて

櫃本 泰雄<sup>1</sup>、山崎 勤<sup>1</sup>、片山 誠一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学・臨床免疫学教室、<sup>2</sup>岡山理科大学・分子微生物学教室

### Fibronectin-binding proteins produced by *Clostridium perfringens*

Yasuo Hitsumoto, Tsutomu Yamasaki, Seiichi Katayama

Department of Life Science, Okayama University of Science

#### 【目的】

種々の病原細菌は、宿主のマトリクスタンパクの一つであるフィブロネクチン(Fn)に結合するタンパク(Fbp)を産生していることが知られている。Fbpは細菌の感染、病原性に大きな役割を果たしていると考えられている。我々は、ガス壊疽や食中毒原因菌として知られている *Clostridium perfringens* (ウエルシュ菌) 由来の Fbp を研究してきた。今回それらのタンパクがユニークな生物活性を示すことを見出したので報告する。

#### 【材料と方法】

ウエルシュ菌としては、ガス壊疽臨床分離株 13 株を GAM 培地で嫌気培養した。Fn はヒト血清からグラチンカラムにより精製した。ウエルシュ菌由来 FbpA 及び FbpB は、それぞれウエルシュ菌ゲノムから 2 種類の遺伝子 CPE0703 (*FbpA*) 及び CPE1847 (*FbpB*) をクローニングし、その遺伝子組換え体を大腸菌に作らせた。各種タンパク同士の結合、菌体とタンパクとの結合は ELISA によって測定した。タンパクの性状や抗原性は SDS-PAGE、Western blotting によって解析した。ヒト末梢血から分離した好中球の fMLP に対する走化性を、アガロース平板法で測定した。

#### 【結果】

ウエルシュ菌は、レセプターを介して Fn を菌体表面に結合することが示された<sup>1</sup>。

ウエルシュ菌由来の FbpA および FbpB をクローニングし、それらが Fn に結合することが明らかになった<sup>2</sup>。FbpA および FbpB はいずれも Fn の III<sub>1</sub>-C 部分に結合した<sup>3</sup>。FbpA および FbpB は、菌体表層には表出していない可能性が高かった<sup>4</sup>。しかし、菌体から放出された FbpA および FbpB は、菌体表層に結合することが示された。また、FbpA および FbpB が菌体に結合することにより、菌体表層への Fn 結合が阻害された。

ウエルシュ菌自体は、collagen type I、type II、gelatin

には結合しないが、Fn を介してそれらに結合することが示された。この Fn を介した gelatin へのウエルシュ菌結合は、FbpA および FbpB によって競合的に阻害された<sup>5</sup>。

プラスチックに coating した FbpA は、その上での好中球の遊走を阻害した。この活性は FbpB には認められなかった。好中球遊走阻止活性は、FbpA 分子の N 末から 30 個までのアミノ酸からなるペプチドに認められた<sup>6</sup>。

#### 【結論】

ウエルシュ菌にも Fn が結合することが分かった。今回取り上げた FbpA、FbpB はいずれも菌体表層にある Fn レセプターではなく、Fn 分子内で cryptic とされる III<sub>1</sub>-C 部分に結合することが判明した。しかし、菌体から放出された FbpA、FbpB は細菌の表層に結合することにより、細菌の結合先を変化させている可能性がある。また FbpA には、好中球の遊走を阻害する活性が認められた。これは、細菌のもつ宿主防御機構からの新たな回避メカニズムの一つとして注目に値する。

#### 【参考文献】

1. S. Katayama, N. Nozu, M. Yokoyama, and Y. Hitsumoto (2006) Acta Med. Okayama 60:351-355
2. S. Katayama, N. Nozu, M. Okuda M, S. Hirota, T. Yamasaki, and Y. Hitsumoto (2009) Anaerobe. 15:155-159
3. T. Yamasaki, Y. Hitsumoto, S. Katayama, and Y. Nogami (2010) Microbiol. and Immunol. 54:221-7.
4. T. Yamasaki, Y. Hitsumoto, S. Katayama, and Y. Nogami (2010) J Anal Bio-Sci 33:173-178.
5. Y. Hitsumoto, Y. Nakamura, R. Yamazoe, N. Morita, M. Tagomori, and S. Katayama (2011) 13<sup>th</sup> International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (abst)
6. 中嶋一秋、山下初津雄、森田 奈緒美、山崎 勤、片山 誠一、櫃本 泰雄 (2013) 第23回生物試料分析学会年時学術集会 p76 (大阪)

和 文 ・ 英 文 会 則

# 日本比較免疫学会会則

## I. 名称

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

## II. 目的

1. 本会は、比較免疫学に関する研究の進歩をはかることを目的とする。

## III. 事業

1. 本会は、その目的を達成するため、次の事業を行う。
  - 1) 学術集会の開催
  - 2) 学術集会 Abstract 集の発行
  - 3) News の発行
  - 4) 国際比較免疫学会との交流
  - 5) アジア・オセアニア地区研究者との交流
  - 6) 日本比較免疫学会古田賞および古田奨励賞受賞者の選考と表彰
  - 7) その他、本会の目的に必要なと認められる事業

## IV. 会員

1. 本会の会員は、その趣旨に賛同し所定の入会手続きを経たものとする。
  - 1) 個人会員：個人会費を納める者。
  - 2) 賛助会員：本会の趣旨に賛同し賛助会費を毎年継続的に納める者。
  - 3) 2年以上会費を滞納し、催告に応じないときは会員の資格を失う。
2. 名誉会長・名誉会員は本人の承諾を得て、役員会が推薦し、総会で承認を得て決定する。
  - 1) 名誉会長・名誉会員は年会費および学術集会費を免除される。
  - 2) 名誉会員は選挙権および被選挙権を有しない。

## 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、学術集会担当2名、広報担当2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、再任を妨げない。ただし再任は1回までとする。会計監査は他と重任できない。

## VI. 会議

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

## VII. 会計

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

## **Ⅷ.会則改正**

1. 本会則の改廃は、総会において出席者の 2/3 以上の賛成を必要とする。

### **附則**

1. 個人会員の年会費のうち、一般会員は年額 5000 円、博士課程大学院生は年額 3000 円とする。
2. 学生会員（博士課程未満の学生）および外国会員の年会費は無料とする。
2. 賛助会員の会費は、1 口 20000 円とする。
3. 本会の事務局は、庶務・会計役員が所属する機関の施設におく。
4. 事務局には役員に準ずる補助役員を置くことができる。
5. 講演者は本会員に限る。
- 6 古田賞および古田奨励賞の選考に係る詳細は別途定める。

(平成 21 年 8 月 4 日 一部修正)

(平成 24 年 7 月 9 日 一部改正)

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

**OFFICERS**

**September 2012-August 2014**

**PRESIDENT**

**Masanori KASAHARA**  
Department of Pathology,  
Graduate School of Medicine,  
Hokkaido University,  
Sapporo, 060-8638

**VICE PRESIDENT**

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

**SECRETARY/TREASURER**

**Shoichiro KURATA**  
Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences,  
Tohoku University,  
Sendai, 980-8578

**SECRETARY/TREASURER  
(assistant)**

**Tamaki YANO**  
Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences,  
Tohoku University,  
Sendai, 980-8578

**PROGRAM OFFICERS**

**Tadashi MARUYAMA**  
Institute of Biogeosciences,  
JAMSTEC,  
Yokosuka, Kanagawa, 237-0061

**Hiroaki SUETAKE**

Faculty of Marine Bioscience,  
Fukui Prefectural University,  
Obama, Fukui, 917-0003

**ABSTRACT OFFICER**

**Ryosuke IJIMA**  
Faculty of Pharmaceutical  
Sciences,  
Teikyo University,  
Itabashi, Tokyo, 173-8605

**TRUSTEES**

**Teruyuki NAKANISHI**  
Department of Veterinary  
Medicine,  
College of Bioresource  
Sciences,  
Nihon University,  
Fujisawa, Kanagawa, 252-0880

**Shun-ichiro KAWABATA**

Department of Biology,  
Faculty of Sciences,  
Kyushu University,  
Fukuoka, 812-8581

**HOME PAGE OFFICER**

**Euichi HIROSE**  
Faculty of Science,  
University of the Ryukyus,  
Nishihara, Okinawa, 903-0213

# CONSTITUTION

## **Article I . Name**

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

## **Article II . Object**

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

## **Article III . Business**

1. The Association shall conduct business described below to achieve the Object of the Association.
  - 1) Scientific meeting.
  - 2) Publication of Abstracts of papers read in the Scientific Meeting.
  - 3) Publication of a News Letter.
  - 4) Communications with International Society for Developmental and Comparative Immunology (ISDCI).
  - 5) Communications with scientists in the Asia-Pacific Area.
  - 6) Selection and conferment of Furuta Award and Furuta Young Investigator Award.
  - 7) Other business which considered essential to achieve the Object of the Association.

## **Article IV . Membership**

1. Membership in the Association shall be open to scientists who share the stated purpose of the Association. The membership shall be authorized by registration.
  - 1) Active (Individual) members shall pay yearly dues.
  - 2) Corporate Affiliate. Any individual, company, agency, or organization interested in accomplishing the purposes of the Association may become a Corporate Affiliate on the payment of a fee for annual dues to be set at the Business Meeting.
  - 3) Members whose annual dues remain unpaid for 2 fiscal years or more are to be notified in writing by the Treasurer, and if still unpaid such a member shall forfeit membership.
2. An executive board composed of the Association officers can nominate a person with distinctive contributions to the Association as a candidate for Honorary member and Honorary President, upon nominee's agreement. The candidate shall be approved and authorized by the Association members in business meeting.
  - 1) Honorary members and Honorary President are not subjected to payment of fee for annual membership and for scientific meetings.

## **Article V . Officers**

1. Officers of the Association shall be a President, a Vice-President, a Secretary-Treasurer, two Trustees, two Program Officers and an Abstract Officer.
2. The President will always serve as a Chairperson. The President will preside over the Council composed of officers of the Association.
3. Candidates of the President shall be recommended in the Council, and then the President shall be elected by a majority vote of all Active (Individual) members of the Association.
4. Honorary member is neither eligible for the President election nor has a vote.
5. All Officers except the President shall be asked and nominated by the President.
6. Terms of all Officers shall be 2 years, however, they can be reappointed only for one more successive term. 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 due of the active (individual) members excluding PhD students is 5,000 Japanese yen, and that of PhD students is 3,000 Japanese yen.
2. Annual dues of the students (undergraduate and master course) members and foreign members are free.
3. Annual dues of the corporate affiliate are 20,000 Japanese yen an affiliate.
4. Secretary-Treasurer shall be in charge of the Business Office of the Association.
5. The Secretary-Treasurer can nominate his/her assistant(s).
6. Only the members of JADCI are permitted to have a talk about the investigation.
7. Detailed procedures for selection and conferment of Furuta Award and Furuta Young Investigator Award are defined in a fine print.

---

Approved: November 28, 1989; Revised: August 28, 1991; Revised August 23, 1999; Revised August 29, 2003; Revised August 24, 2006; Revised August 25, 2008; Revised August 4, 2009; Revised July 9, 2012.

---

*\*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 make contact by e-mail to jadci2office@gmail.com .

## 協賛企業・団体

平成 25 年 7 月 31 日現在

---

【協賛】 財団法人 八雲環境科学振興財団

公益社団法人 おかやま観光コンベンション協会

---

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

平成 25 年 7 月

日本比較免疫学会会長 笠原正典  
第 25 回学術集会会長 浅田伸彦



日本比較免疫学会

第 25 回学術集会 講演要旨

原稿受付：2013 年 6 月 10 日

発行日：2013 年 8 月 1 日

発行者：日本比較免疫学会

編集者：学術集会プログラム委員会

委員：丸山正，末武弘章

印刷所：(株) 国際文献社

東京都新宿区高田馬場 3-8-8