

## B-2. 1995年度総合理学研究所プロジェクト研究報告

### 1. テーマ 「海産無脊椎動物における体腔細胞の凝集に関する基礎研究」

### 2. 研究メンバー

代表者	日野 晶也	(神奈川県立理学部 助教授)
共同研究者	松井 太衛	(藤田保健衛生大学 助手)
	北嶋 隆	(テルモ株医科学研究所 主任研究員)
研究協力	榊原 徳昭、家島大輔	(卒業研究生)

### 3. 研究期間 平成7年4月1日 ~ 平成8年3月31日

### 4. 研究の背景および結果の概要

海産無脊椎動物の体腔液や体腔細胞には血球凝集活性を示すものが多く、高等動物の免疫系と基本的には同様のシステムがあり、生体防御機構としてはたらいっていると考えられている。これらの動物を材料に、細胞の凝集作用機構を明らかにすることによって、動物細胞にみられる基本的な認識機構が解明できる可能性がある。棘皮動物や原索動物などの体腔液には細胞凝集活性のあるいわゆるレクチンが存在するが、その作用機構までは明らかになっていない。最近、echinoidinと名付けられたムラサキウニの体腔レクチンに、R G D (Arg-Glu-Asp)配列が存在し、培養細胞に対してこの配列依存性の細胞接着作用があること、またこの作用がechinoidinの認識糖であるasialofetuin-glycopeptideによって阻害を受けないという興味深い現象が明らかになった。さらに、マナマコの体腔細胞からCタイプのレクチンが精製され、体腔細胞の凝集がR G D配列を持つペプチドで阻害されることが明らかになった(松井ら1994)。そこで本研究では、ムラサキウニを材料に、その体腔液を用い *in vitro*系で細胞の凝集を観察できる実験系を確立し、echinoidinの生理的作用を明らかにして細胞の認識機構を解明する手がかりを得ようと試みた。

初期の段階では、48穴プレートに各種試薬を混合させた人工海水をあらかじめ25ul注入しておき、そこにウニを解剖して得られた体腔液を各225ulずつ分注し攪拌しながら培養し固定後観察した。この方法では、実験開始直後から溶液の粘度が上昇する液性の反応も含めて細胞の凝集がすばやく起こり50mMEDTAのみに凝集を阻害する効果を確認できたにとどまった。体腔液中で細胞が自発的な凝集がおこらない実験系が必要となった。このために、ウニを解剖せずに、あらかじめ10mMEDTAや他の試薬を入れた注射器を用いて体腔細胞を抜き取る方法に切り換えた。この方法で体腔細胞の凝集を阻害する糖を検討したところ、他の無脊椎動物で知られていたGlcUA, GlcNA, GalMAc等ではなく、ガラクトロン酸が特異的に阻害をおこし、かつこれを取り除くと細胞が凝集を開始することが明らかになった。

上記の方法により、細胞凝集を人為的に制御しながら実験することが可能になり、この系を用いてR G D配列を持つペプチドの効果の検討を進めている。