P81W1-11

IL-5ノックアウトマウスを用いた日本住血吸虫感染実験 ○松田聡子^{1,4}、天野皓昭¹、伊藤隆明²、中澤正年¹、富永 明³、斉藤康秀⁴、朝日博子⁵、Manfred Kopf⁶ (¹横浜市大・医・寄生虫、²同・第1病理、³高知医大・生物、⁴麻布・獣医・寄生虫、⁵国立感染研・寄生動物、⁶Basel Institute Immunology)

我々は、IL-5サイトカイン遺伝子を導入したIL-5トランスジェニックマウス（以下、IL-5/TG）に、日本住血吸虫（中国株）を感染させた場合、コントロール群のC3H/Heマウスの生存率よりも良い結果が得られた。組織学的検討では、高好酸球血症を示すIL-5/TGマウスはより早期（感染5週目）に肝臓内で虫卵肉芽腫を形成した。慢性期には、肉芽腫内の虫卵内に好酸球が浸潤する像が観察され、肉芽腫形成や虫卵破壊に好酸球が大きく関与していることが解った。

今回、IL-5サイトカイン遺伝子を欠損したマウス（以下、IL-5/Ko：野性株C57BL/6）に、日本住血吸虫（山梨株）の感染実験を行った。IL-5/Koマウスは、末梢血中の好酸球数は著しく少ないもののゼロではなかった。感染6週目までは、IL-5/Koマウスでは好酸球の変動は見られなかったものの、以後徐々に増加したが、コントロール群と同値には至らなかった。生存率では両群間に差は認められなかった。この結果は、IL-5/TGマウスで認められた結果とは異なったが、サイトカインのネットワーク的な相互補助作用の刺激や代償機能が働き、結果としてIL-5/Koマウスで顕著な差が生じなかったものと推測された。

P82

無血清培養液を用いた *Babesia caballi* 連続培養の検討 ○後井宏実¹、Muinde D.M.²、五十嵐郁男³、長澤秀行³、藤崎幸蔵³、見上 彪³、工藤 上¹、小山田 隆¹ (¹北里大・獣医寄生虫、²ケニア・農業省獣医学調査研究所、³帯広大・原虫病研究センター)

馬の赤血球内寄生原虫である *Babesia caballi* の培養に *Plasmodium falciparum* で報告されている無血清培養液を用いたところ連続培養が可能であったので、その結果を報告する。

培養には40%馬血清添加 RPMI 1640 で継代維持されている *B. caballi* を用いた。培養液は RPMI 1640、Daigo's T、GIT を使用し、それぞれ馬血清 0% (RPMI, DT, GIT) 及び 40% (RPMI-HS, DT-HS, GIT-HS) の割合で加えた。赤血球内寄生率 (PPE) を 0.5% にし、感染赤血球を 0.1ml、培養液を 0.9ml ずつ 24well プレートに分注し、5% CO₂、37°C 条件下で培養した。24 時間毎に培養液 0.9ml を交換し、それぞれの PPE を算出した。血清無添加 RPMI、DT では 3-4 日目に虫体は確認されなくなったが、GIT は 4 日目において PPE が 3.9% を示した。さらに 4 日毎に継代培養を続けた結果、培養開始後 24 日目でも PPE が 3.6% を示し連続培養は可能であった。また、血清添加 RPMI-HS、DT-HS、GIT-HS では、4 日目において PPE がそれぞれ 5.9、5.7、8.1% であり、GIT-HS の PPE が有意に高かった。次に、GIT は DT に 10% の Daigo's GF21 (GF21) が含まれている培養液であることから DT に 1、5、10、20% の GF21 を加え GIT と比較した。培養 4 日目において 1、5、10、20% GF21 添加 DT と GIT の PPE はそれぞれ 0.3、1.5、3.6、4.3、3.9% であり、10、20% GF21 と GIT では PPE に差が見られなかった。また、20% GF21 においては馬赤血球に若干の溶血が見られた。

以上の結果より、GIT や 10% GF21 添加 DT を用いる事により *B. caballi* の無血清培養は可能で、GF21 は *B. caballi* の増殖因子である事が示唆された。

P83

植物葉肉細胞から抽出された *Entamoeba dispar* 増殖促進因子の精製 ○小林正規、今井栄子、田辺将信、竹内勤 (慶大医・熱帯医・寄生虫)

ヒト腸管内で *E. dispar* は細菌を必須な栄養源として増殖する。この細菌に含まれる増殖促進因子の本態が不明であったこともあり *E. dispar* の無菌培養は Clark (1995) が YI-S 培地 (Diamond, 1995) を用いて培養に成功した 1 株の報告があるのみであった。我々は、緑膿菌の monoxenic 培養システム (Kobayashi et al., 1998) で細菌がもつ解糖系経路 (Entner-Doudoroff pathway) と *E. dispar* の解糖系経路との間に共通性を見だしグルコースの代わりにジヒドロキシアセトンとグルコン酸を加えた培地 (YIGADHA-S 培地) を考案し、新たに *E. dispar* 1 株の無菌培養に成功した。また、この YIGADHA-S 培地に細菌が起源と云われるミトコンドリア、ヒドロゲノゾームそして葉緑体をもつ細胞を加えると複数株 (5 株) に増殖促進活性を示すこともわかってきた。この結果から我々はこれらに共通したアメーバのエネルギー代謝にも関与できる物質としてフェレドキシンを推定し、増殖促進物質としては鉄-硫黄中心のような安定した構成成分を考えた。そしてフェレドキシンを豊富に含む植物の葉肉細胞 (葉緑体) 抽出液にその増殖促進活性を見いだしたことからその精製を試みた。その結果フェレドキシンそのものではなく、フェレドキシン抽出液を音波処理して得られた分解産物に顕著な増殖促進活性を認めた。この結果は細菌である *Clostridium pasteurianum* のフェレドキシン (SIGMA F-7629) を音波処理することでも確認されたため現在さらに物質の同定を試みている。

P84

プロテインキナーゼ C 阻害剤による *Entamoeba invadens* の増殖およびシスト形成の抑制 ○牧岡朝夫¹、熊谷正広¹、大友弘士¹、小林正規²、竹内 勤² (¹慈恵医大・熱帯医学、²慶大・医・熱帯医学・寄生虫)

プロテインキナーゼ C (PKC) は情報伝達系分子として種々の蛋白をリン酸化することにより細胞増殖、細胞分化を担うことが明らかになっている。そこで今回、*Entamoeba invadens* を用い、その増殖およびシスト形成に対する PKC 阻害剤の効果を調べた。PKC 阻害剤として staurosporine、chelerythrine、calphostin C および *D-erythro-sphingosine* の 4 種を用いた。前 2 者は PKC の catalytic domain に作用し、一方、後 2 者は regulatory domain に作用することが明らかになっている。1) 増殖に及ぼす効果：種々の濃度の阻害剤存在下で 7 日間培養後の虫体数を比較した結果、staurosporine と chelerythrine は増殖を抑制したが、calphostin C は抑制せず、*D-erythro-sphingosine* は高濃度でのみ抑制効果がみられた。2) シスト形成に及ぼす効果：増殖の場合と同様、staurosporine と chelerythrine がシスト形成を抑制した。また、chelerythrine によるこの抑制は増殖抑制よりも強かった。増殖、シスト形成の抑制ともに staurosporine が最も強力であったが、PKC に対する特異性が低いことから以後 chelerythrine を用いた。3) 効果の可逆性：chelerythrine の効果の可逆性を検討した結果、栄養型の増殖に対しては可逆的であったが、シスト形成に対しては非可逆的であった。

以上の結果から、*E. invadens* の増殖ならびにシスト形成に PKC が関与していることが示唆された。