

平成 26 年度 共同研究報告書

研究課題		発癌レトロウイルス感染病態における分子生物学的解析
研究区分		特別共同研究
申請者	所属	旭川医科大学
	氏名	教授 若宮伸隆
受け入れ教員名	氏名	志田 壽利
研究目的		コレクチンは、構造内部にコラーゲン様領域とカルシウム依存的に糖鎖と結合する糖認識領域を有しており、微生物の糖鎖に結合することにより、それらを排除する生体防御分子として機能することが知られている。血中の MBL や肺の SP-A、SP-D が知られているが、申請者らは、これまでに 3 種の新規コレクチン分子（CL-L1, CL-P1, CL-K1）を見出し、遺伝子改変マウスを作製して生体における役割について解析を進めている。本研究では、微生物感染に対する CL-K1 の役割について、CL-K1 遺伝子ノックアウトマウスを用いた細菌感染実験やレトロウイルス感染実験により明らかにすることを目的とした。
研究内容・成果		これまでの <i>in vitro</i> の検討により、コレクチン CL-K1 は、細菌の表面糖鎖構造に結合し、さらに、不活化した細菌との結合実験を行った結果、大腸菌や肺炎球菌と結合することを見出している。両者の比較では肺炎球菌と強く結合することが観察され、本結合は、カルシウム非依存的な電荷による結合であることが推測された。CL-K1 が細菌感染においてどのような役割を担うのかを明らかにするため、肺炎球菌 D39 株 (<i>Streptococcus pneumonia</i> D39) を用いて、感染実験を行った。 CL-K1 遺伝子ヘテロマウス同士の交配から wild、hetero、null のマウスを作成し、wild と null のマウスを用いて細菌を接種することにより評価を行った。今年度は、遺伝子病制御研究所において 2 回交配を行い、得られたマウスは以下の実験に使い、一部ヘテロマウスは、再交配に供した。当実験において、マウスに回避できない重度のストレスや耐えがたい苦痛を伴っていると判断した場合、適切な時期に安楽死措置をとるなどの人道的エンドポイントを考慮して実験を行った。接種は菌液を経鼻接種することにより行った。接種菌量は、wild マウスに $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$ CFU/20 μ L 接種することにより予備検討を行い決定した。①生存率の比較、②肺および血液中の菌数の比較、③肺における炎症スコアの比較により行った。②、③の評価は、投与量および接種後の時間に関しても検討を行った後に実験を行った。検討により最適な条件を見出し、反復実験により再現性も確認した。生存率の比較の結果、null のマウスにおいて生存率が有意に低値であり、肺における炎症スコアが高値になる

	ことから、CL-K1 が欠損することにより、肺における炎症が惹起され生存率低下につながることが明らかとなった。 さらに、小動物実験用イメージング装置 Latheta LCT-200 (ALOKA 社製) を用いて wild、null のマウスの形質について検討を行った。まずは、骨格について断層像から 3D 構築を行い、両者の差異を見出し、CL-K1 の骨格形成へ役割について明らかにする取り組みを行った。現在解析を行っている。
成果	【学会報告】 ■発表者名 黄 仁秀、森 健一郎、松田 泰幸、ロイ ニタイ、大谷 克城、若宮 伸隆 ■発表タイトル コレクチン CL-K1 の生体防御機能に関する検討 ■学会名 第 79 回 日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 ■開催場所 札幌市 北海道大学 ■開催日 2014 年 6 月 19 日～20 日 ■発表形態 ポスター発表 ■発表者名 Nobutaka Wakamiya, Katsuki Ohtani, Mykol Larvie, Patience Moyo, Lorencia Chigweshe, Elizabeth M. Van Cott, Kazue Takahashi ■発表タイトル The New Biological Function in CL-K1 (Collectin Kidney 1) ■学会名 13th Bratislava Symposium on Saccharides ■開催場所 スモレニツェ (スロバキア) スモレニツェ城 ■開催日 2014 年 6 月 22 日～26 日 ■発表形態 口頭発表 ■発表者名 大谷 克城、森 健一郎、黄 仁秀、吉崎 隆之、松田 泰幸、ロイ ニタイ、若宮 伸隆

■発表タイトル

コレクチン CL-K1 の生化学的解析

■学会名

第 33 回 日本糖質学会年会

■開催場所

名古屋市 名古屋大学

■開催日

2014 年 8 月 10 日～12 日

■発表形態

口頭発表

■発表者名

黄 仁秀、森 健一郎、松田 泰幸、ロイ ニタイ、大谷 克城、
若宮 伸隆

■発表タイトル

コレクチン CL-K1 の生体防御機能に関する検討

■学会名

第 51 回 補体シンポジウム

■開催場所

神戸市 神戸常盤大学

■開催日

2014 年 8 月 22 日～23 日

■発表形態

口頭発表

■発表者名

Nobutaka Wakamiya, Kazue Takahashi, Katsuki Ohtani, Mykol
Larvie, Patience Moyo, Lorencia Chigweshe, Elizabeth M. Van
Cott

■発表タイトル

The New Biological Aspects in CL-K1 (Collectin Kidney 1)

■学会名

25th International Complement Workshop

■開催場所

リオデジャネイロ (ブラジル) ウィンザー アトランティカ ホテル

■開催日

2014 年 9 月 14 日～18 日

■発表形態：ポスター発表

	【論文発表】 該当なし
	【プロジェクト】 該当なし
	【新聞報道】 該当なし