

Title	ヒトデ成体におけるアロ免疫反応の動態解析
Sub Title	Dynamics of alloreactive immune response in adult starfish, <i>Patiria pectinifera</i>
Author	田口, 瑞姫(Taguchi, Mizuki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では、イトマキヒトデ成体の免疫細胞である体腔細胞によるアロ免疫反応（同種異個体認識反応）の動態を解析した。</p> <p>体腔細胞による免疫応答は、凝集塊の形成という非常にわかりやすい現象で観察できるが、アロ免疫反応の場合は同種異個体由来の細胞（ドナー）と同種同個体由来の細胞（レシピエント）を視覚的に判別することは困難であったため、まずは体腔細胞の標識法を検討した。生細胞の染色試薬であるCFSE（5-(and -6)-Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester）で体腔細胞を染色したところ、明瞭に蛍光シグナルを検出することができた。これをドナー細胞とし、レシピエントとなるヒトデ体腔に注射したところ、いくつもの巨大な凝集塊が形成された。凝集塊内には、CFSEの蛍光シグナルが散在して検出され、ドナー細胞は、レシピエントの体腔細胞によるアロ免疫反応により凝集塊内部で貪食されていることが示唆された。この体腔細胞の移植実験について、体腔液成分を除いたin vitro条件下においても同様に検証したが、凝集塊は形成されるものの、in vivo条件下に比べると有意に凝集塊サイズが低下し、アロ免疫機構に体腔液成分が関与している可能性が示された。</p> <p>次に、凝集塊の内部構造を観察するために、凝集塊の薄切切片を作製したところ、凝集塊は細胞が密に接着して形成されているのではなく、所々に隙間が存在することが明らかになった。凝集塊内は、ほとんどがアメーバ状の細胞で占められており、細胞質には貪食された細胞の存在が認められた。</p> <p>本研究により、体腔細胞によるアロ免疫反応の動態を明らかにすることができた。今後は、アロ免疫反応のメカニズムを明らかにするために、体腔液成分を網羅的に解析する予定である。</p> <p>In this study, we analyzed the dynamics of alloreactive immune response by coelomocytes, which are immune cells of adult <i>Patiria pectinifera</i>. Although the immune response by the coelomocytes can be clearly observed by a phenomenon of cellular aggregation, in the case of alloreactive immune response, it is difficult to visually distinguish between genetically distinct the donor cells and recipient cells. Therefore, we first examined the labeling method for coelomocytes. When coelomocytes were stained with CFSE (5- (and -6) -Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester), which is a staining reagent for the viable cells, a clearly fluorescent signal was detected in the cytoplasm. The injection of the CFSE-labeled coelomocytes as donor cells into the recipient starfish body cavity induced the formation of a number of giant aggregates in which the fluorescent signals scattered, suggesting that the donor cells were phagocytosed by the recipient coelomocytes as the alloreactive immune response. Interestingly, the mixing of the coelomocytes derived from two individuals under in vitro conditions without coelomic fluid components also induced aggregate formation, but the size of aggregates was significantly reduced as compared with in vivo. These results indicate that the coelomic fluid components may be involved in the allorecognition mechanism.</p> <p>Next, in order to observe the internal structure of the aggregates, the thin-sliced sections were prepared. It was revealed that the aggregates were not formed by tightly adhering cells, but that there were gaps in some places. Most of the aggregates was occupied by amoebic cells, and the presence of phagocytosed cells was observed in the cytoplasm.</p> <p>This study revealed the dynamics of alloreactive immune response by the coelomocytes. In the future, we plan to comprehensively analyze the components of coelomic fluid in order to obtain important candidate molecules for the allorecognition.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200188

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	文学部	職名	助教(有期)(自然科学)	補助額	300 (A) 千円
	氏名	田口 瑞姫	氏名 (英語)	Mizuki Taguchi		

研究課題 (日本語)

ヒトデ成体におけるアロ認識反応の動態解析

研究課題 (英訳)

Dynamics of alloreactive immune response in adult starfish, *Patiria pectinifera*

1. 研究成果実績の概要

本研究では、イトマキヒトデ成体の免疫細胞である体腔細胞によるアロ認識反応(同種異個体認識反応)の動態を解析した。体腔細胞による免疫応答は、凝集塊の形成という非常にわかりやすい現象で観察できるが、アロ認識反応の場合は同種異個体由来の細胞(ドナー)と同種同個体由来の細胞(レシピエント)を視覚的に判別することは困難であったため、まずは体腔細胞の標識法を検討した。生細胞の染色試薬である CFSE (5-(and -6)-Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester) で体腔細胞を染色したところ、明瞭に蛍光シグナルを検出することができた。これをドナー細胞とし、レシピエントとなるヒトデ体腔に注射したところ、いくつもの巨大な凝集塊が形成された。凝集塊内には、CFSE の蛍光シグナルが散在して検出され、ドナー細胞は、レシピエントの体腔細胞によるアロ認識反応により凝集塊内部で貪食されていることが示唆された。この体腔細胞の移植実験について、体腔液成分を除いた *in vitro* 条件下においても同様に検証したが、凝集塊は形成されるものの、*in vivo* 条件下に比べると有意に凝集塊サイズが低下し、アロ認識機構に体腔液成分が関与している可能性が示された。

次に、凝集塊の内部構造を観察するために、凝集塊の薄切切片を作製したところ、凝集塊は細胞が密に接着して形成されているのではなく、所々に隙間が存在することが明らかになった。凝集塊内は、ほとんどがアーバー状の細胞で占められており、細胞質には貪食された細胞の存在が認められた。

本研究により、体腔細胞によるアロ認識反応の動態を明らかにすることができた。今後は、アロ認識反応のメカニズムを明らかにするために、体腔液成分を網羅的に解析する予定である。

2. 研究成果実績の概要 (英訳)

In this study, we analyzed the dynamics of alloreactive immune response by coelomocytes, which are immune cells of adult *Patiria pectinifera*. Although the immune response by the coelomocytes can be clearly observed by a phenomenon of cellular aggregation, in the case of alloreactive immune response, it is difficult to visually distinguish between genetically distinct the donor cells and recipient cells. Therefore, we first examined the labeling method for coelomocytes. When coelomocytes were stained with CFSE (5-(and -6)-Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester), which is a staining reagent for the viable cells, a clearly fluorescent signal was detected in the cytoplasm. The injection of the CFSE-labeled coelomocytes as donor cells into the recipient starfish body cavity induced the formation of a number of giant aggregates in which the fluorescent signals scattered, suggesting that the donor cells were phagocytosed by the recipient coelomocytes as the alloreactive immune response. Interestingly, the mixing of the coelomocytes derived from two individuals under *in vitro* conditions without coelomic fluid components also induced aggregate formation, but the size of aggregates was significantly reduced as compared with *in vivo*. These results indicate that the coelomic fluid components may be involved in the allorecognition mechanism.

Next, in order to observe the internal structure of the aggregates, the thin-sliced sections were prepared. It was revealed that the aggregates were not formed by tightly adhering cells, but that there were gaps in some places. Most of the aggregates was occupied by amoebic cells, and the presence of phagocytosed cells was observed in the cytoplasm.

This study revealed the dynamics of alloreactive immune response by the coelomocytes. In the future, we plan to comprehensively analyze the components of coelomic fluid in order to obtain important candidate molecules for the allorecognition.

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)