

は大型のアメーボサイトで、細胞質が豊富で、 $50\mu\text{m}$ ほどになり $10\mu\text{m}$ の核をもつ。

血球の機能

無脊椎動物は脊椎動物でなされているように、体内に侵入してくる微生物に対して対抗できる、いわゆる生体防御系を持っているが、彼らの体内には免疫グロブリンも補体もない。軟体動物特に腹足類では、体液中の血球の機能について、いくつかの報告がみられる。

食食作用

陸棲軟体動物のヤマナメクジ (*Incilaria fruhstorferi*) やフツウナメクジ (*Incilaria bilineata*) では、実験的に体腔内に注入された色々な大きさ、および性質の異なった異物を食食することがわかっている (ヒツジ赤血球、酵母、炭素粒子、ラテックスビーズ等)。この食食に関与する細胞はマクロファージのみで、リンパ球様細胞の取り込み像は認められないだけでなく、大量の異物を注入した時には、リンパ球様細胞や線維芽細胞様細胞も体液中に見られなくなる。また、同じ大きさで異なった種類の異物も同一の細胞内には取り込まれない。より小さい粒子の異物の場合にはたやすく食食される。

陸棲のカタツムリ (*Achatina achachina*, *A. fulica*, *Helix aspersa*, *H. pomatia*) ではアメーボサイトが異物や多種細胞を食食することがわかっている。これら食食細胞の異物取り込みの仕方は、偽足を伸ばして異物をその中に巻き込むやり方と原形質膜の陥入、細胞質突起による飲み込みからなるジッパー形式 (zipper model) とがある。取り込まれた異物はファゴゾームに取り入れられ、水解酵素等によって消化されていく。ナメクジ類のマクロファージは、ペルオキシダーゼをもっていないが、非特異的エステラーゼをもっている。

異物の排除

食作用による異物の取り込みは、種々の動物でよく知られた現象である。その異物の行

方についてはそれぞれ異なっている。陸棲のカタツムリ (*H. aspersa*) の足部血洞に X 線を通さない物質 (Thorium dioxide) を注入し、X 線照射法と組織学的な手法を使ってこの物質の動きを追った報告がある。二酸化トリウム注入後、4-5 日でカタツムリの全体に shadow が見られるようになり、その後次第に薄れ、10 日前後にはやっと識別できるほどの shadow になる。トリウムを取り込んだ血球は生殖器官の下方部に集まってきて、11 日ごろまでにはこの血球は陰やペニスで消失していくという。この報告に対して循環血球ではなく、異物排除に常在食細胞系が関与するとの説を唱える研究者もみられる。カタツムリ体腔内に注入された細菌は体液中から 1 時間以内に除かれるが、その時、循環血球中には注入細菌は見られず、またその血球中で消化された形跡もない。細菌は非循環細胞によって循環系から排除されるといわれている。この現象に関わる重要な器官は消化腺であるらしい。

軟体動物は脊椎動物のように IgG や T-cell、MHC、抗原リセプターなどはもっていないが、自己・非自己を識別する能力だけではなく、非自己物質の化学的な特徴の違いすら認識可能であることがわかっている。異物排除の基本的機構は食作用が存在するということであろう。

食作用を増強する液性因子

無脊椎動物は脊椎動物のもつ免疫グロブリンと対比できるような物質はもっていないが、機能的には類似する体液因子をいくつかもっていることがわかっている。その分子は種々の抗原に対して凝集活性をもち、自己・非自己認識に役立つ。無脊椎動物の凝集素はレクチンであり、それにはオプソニンが含まれているといわれる。

陸棲軟体動物腹足類のタンパク (albumin gland) には、ヒト A および B 型赤血球を凝集するレクチンが含まれている。*Helix pomatia* (カタツムリ) では A 型赤血球凝集素が含まれ、N-アセチルガラクトサミン

(GalNAc) と N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) と結合するレクチンをもつ。オナジマイマイ (*Cepaea nemoralis*) のタンパク抽出液で処理した A 型赤血球は処理しないものに比べてより速く排除される。一方、ヤマナメクジ (*Incilaria fruhstorferi*) においても、体液および体表粘液に A 型および B 型赤血球を凝集するレクチン活性がみられる。またこの粘液中には B 型赤血球を溶血する溶血素も含まれている。この溶血素は易熱性であり、56℃で 30 分間の熱処理で失活するが、逆に凝集活性は上昇し 80℃で 10 分間の熱処理で完全に失活する。この意味は不明であるが、何らかのタンパク質によってブロックされていた部分が熱によって剥き出しにされて活性が上昇したのであろうか。さらに、体表粘液中にはオプソニンが含まれ粘液水溶液で処理したヒツジ赤血球の貪食作用を増強する。

この粘液水溶液中にはいくつかの分子量をもつタンパク質が含まれ、そのうちの 15Kd をもつレクチンは Ca イオン依存型の C 型レクチンで、この 15Kd 中にさらに 3 種類のレクチンが含まれていることが判明した。それらのアミノ酸配列が決定され、インシラリン A、B、C と名付けられた。

興味深いことにインシラリン C は、S-S 結合 2 個のうち、片方が消失していることがわかった。ごく最近、棘皮動物においても同様のレクチン活性が見出されていることから、レクチン活性には必ずしも S-S 結合が必要ではないのではないかとと思われる。

ナメクジ背側および腹側表皮には、2 種類の分泌細胞が見られ、背側部分分泌細胞は、酸性ムコ多糖を主に分泌する長い頸を持った細胞が多く、腹側部では表皮直下に球型分泌細胞が多くみられ、タンパク性物質を主に分泌している。ヒト赤血球に対するレクチン活性は、背側分泌物より腹側分泌物の方に活性が高い。

アフリカマイマイの体表粘液中にも、アカチニン 78KdC 型レクチンが含まれている。このレクチンは GalNAc を識別するが、そ

の他の N-アセチルアミノ酸もある程度識別する。

包囲化作用

1 個の食細胞で処理するには大きすぎるような異物に対しては、間葉系細胞の反応によって異物が取り囲まれ隔離される。この現象を包囲化(encapsulation)といい、寄生虫や移植片に対しても明瞭な形で現れてくる。

広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) は陸棲の腹足類を中間宿主としていることはよく知られている。本来ネズミの肺動脈に寄生する線虫であるが、中間宿主である陸棲腹足類をヒトが食することで、好酸性髄膜炎を起こす。しかし、4 週間以内に回復する場合もある。致命率は低いものの、決定的な治療法がないやっかいな寄生虫である。ネズミの便より排泄される幼虫 (1 期幼虫) を 6 週令のアフリカマイマイに感染させたところ、24 時間後に 80-90% が足部と肺に見られた。マイマイ側の生態防御系の発動は、12 時間で始まり、幼虫は多数のマイマイ血球によって包囲され、3 日後には血球の形は紡錘形となり、最外層は非薄した細胞によって取り囲まれる。中心層の細胞は核融解を起こし、その結果中心部位には「空間」が生じてくる。堀等の報告によると、関東地方の港湾周辺のチャコウラナメクジにはこの線虫の感染率が高く、またこのナメクジ内での寄生虫は、線維芽細胞によって包囲化されているという。

線虫が自然感染しているヤマナメクジに酵母を注入し、3 日後に観察すると、多数のヤマナメクジマクロファージ (血球) が動員され、線虫を取り巻いていることがわかる。この時、すでに酵母を貪食している血球も包囲化に加わり、最外層には血球が分泌したコラーゲンが十重二十重に巻きついているのが観察される。アフリカマイマイ感染時のように、中心部位には広い「空間」が生じ、線虫は死ぬことなく、体液側から栄養分を吸収して生長し、表皮から放出されるらしい。

広東住血線虫やコスタリカ住血線虫

(*Angiostongylus costaricensis*) は、中間宿主の体内から積極的に排除されることなく、14-19 日間で 1 期幼虫から 2 期幼虫を経て 3 期幼虫になる。寄生虫は感染幼虫 (3 期幼虫) になるまでに 2 回の脱皮が必要であるが、この虫では脱皮が見られず、3 期幼虫は組織学的には外皮の他に 2 層の膜構造をもっている。このことが宿主からの攻撃をかかわす戦術になっているのかも知れない。

移植片に対する包囲化の実験は、手技的にきわめて困難で、その報告もあまり数を見ない。無寄生虫性の条件下に飼育されたカタツムリ (*Helisoma durui normale*) の体腔内に、同種または異種 (*H. trivolutus*) の消化腺を移植すると、同種移植片よりも異種移植片の方がすみやかに障害される。移植後 24 時間で体液細胞 (血球) が浸潤し 98 時間後には、すでに移植片の壊死・崩壊・肉芽形成が見られ、移植片外周部は密に増殖した線維芽細胞で覆われ、肉芽中心部は細胞崩壊物を貪食したマクロファージが観察される。しかし、同種移植では 96 時間後でも変化はなく、わずかに体液細胞の浸潤が見られるのみである。移植片の包囲化作用は 354 時間後に始まり、移植片組織の間には線維芽細胞や類上皮細胞が反応してきている。チャコウラナメクジ (*Limax marginatus*) の未成熟両性腺を外套下膜に同種移植する実験では 21 日で体液細胞の浸潤、移植組織の細胞核崩壊が顕著に見られ、2 ヶ月後では移植組織は萎縮して細胞塊となり、4 ヶ月後にはほぼ完全に移植片は消失し、その痕は結合組織に置き変わった。

淡水産のモノアラガイでの実験では、包囲化に関わる扁平化した体液細胞の間には間隙を埋めるように細かい結合組織線維が存在し、中間層と外層を分けるようになる。この細胞間物質は線維芽細胞様に変化した体液細胞が分泌していることが分かった。このことはコラーゲン合成のマーカーである 3H-プロリンを用いて蛋白合成を追跡した結果判明したものである。この包囲化にみられる筋線維芽細胞 (myofibroblast) もまた体液細胞由来であった

創傷治癒

軟体動物における外傷の最初の生体反応は平滑筋の収縮による傷口のシールで、次いで血球による血栓の形成であるが、ナメクジの場合は、通常体液中に存在する血球数がきわめて少ないために初期の生体反応は少し異なっている。まず筋の収縮、血小板様小体の凝集が起こり、ほとんど同時に体液の凝固が始まる。創傷 5 時間後には血球 (マクロファージ) が傷口の表面に伸展してくる。この一連の初期反応によって、体液の漏出、異物侵入阻止および細胞破壊片の貪食など傷の再生に向かって始動する。4 日後、上皮細胞が直接筋組織の上に乗った状態で傷口は一応ふさが

る。淡水産のモノアラガイでは、創傷後 9-24 時間以内に血球が浸潤、凝集して傷口を完全に覆う。傷口の周辺では血球が盛んに細胞の破片を貪食し、3-5 日後には扁平化した血球の間にきわめて細いコラーゲン線維が現れてくる。表皮の上皮は創傷後早い時期に扁平細胞として出現してくるが、14 日後では円柱細胞となって血栓を覆うようになる。30 日後では修復した上皮細胞の下にははっきりと基底膜が観られるようになる。

血球の起源

軟体動物は数種類の血球を持ち、そのうちの少なくとも一種類は貪食作用をもつ血球である。貪食作用は血球によってなされるが、その細胞は遊走能をもち、それが貪食を容易にしている。腹足類の体腔内に異物や線虫を注入すると、それらに対して防御反応を示す血球がきわめて速やかに増加してくる。ヒラマキミズマイマイ (*Biomphalaria glabrata*) の血液産成器官は、外套膜の後方上皮と囲心囊の間にあり、通常 20 μ m ほどの厚さしかないが、棘口吸虫類の *Echinostoma paraensei* が感染すると、細胞が増殖し好塩基性細胞塊を作り、数日後には 5 倍ほどの厚さになる。またモノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*) では全身の結合組織と脈管系でつくられるといわれる。カタツムリ (*Helix aspersa*) では、血球

は外套の結合組織や上皮から形成される。陸棲軟体動物ナメクジ (*Incilaria fruhstorferi*) では、異物を注入すると、およそ1時間後には通常時の5~7倍に血液中の血球数が増加してくる。ナメクジの体腔内に酵母を注入し、1時間後に電子顕微鏡で観察すると、体腔の内皮様細胞(lining cell)および動脈の内皮様細胞が突出し始め、3時間後には血液中に浮遊してくる。この細胞は単球やマクロファージのマーカ?の一つである非特異的エステラーゼに陽性であり、かつ食能をもっている。さらにプロモデオキシウリジン (BrdU) を投与して標識細胞を検索すると、体腔を構成する結合組織内、特に結合組織内に見られる血液循環の役割を果たす間隙 (hemal space) を取り巻く線維芽細胞の核内に標識 BrdU が観察された。また酵母注入後の体腔壁を *in vitro* で観察すると、培養4時間後の遊出細胞は形態学的にほとんど全てがマクロファージ様細胞で、非特異的エステラーゼは陽性となる。この結果から、異物侵入後の急速な血球増加は、生体内のいたるところに存在する線維芽細胞(間葉系細胞)が活性化されて分裂し、血管系の内腔面から突出遊離し、マクロファージ様細胞(食食細胞)に転換しているためと考えられる。この血球増加時のマクロファージは、TNF- α 、IL-1 α 陽性で、結合組織培養1時間では、細胞遊出数がTNF- α 、IL-1 α 存在下では非存在時の20倍になる。また、TNF- α 、IL-1 α の抗体を用いた時は、遊出がきわめて有意に阻害されることが分かった。軟体動物腹足類、特にナメクジ等の血液中に存在する食食細胞は、非特異的に異物を取り込み、これを処理する能力をもっている。この作用を増強する因子は体液および体表粘液中に含まれる数種のレクチンであり、また異物侵入時に分泌されるサイトカインの誘導によって食食細胞が増加するという生体防御のすばらしいネットワークは、必ずしも衛生的とはいえない環境における彼らの繁栄を可能にしている。

参考文献

- 1) Ratcliffe, N. A. and Powley, A. F. (eds): *Invertebrate Blood Cells*. Vol.1. Academic Press (1981)
- 2) 古田恵美子: 無脊椎動物の生体防御、名取金二、野本亀久雄、古田恵美子、村松繁編 学会出版センター (1992)
- 3) Ford, A. L.: Host Defense Mechanisms of Cephalopods. *Annual Rev. of Fish Diseases*, 2:25-41 (1992)
- 4) Ottaviani, E., Franchini, A. and Franceschi, C.: Presence of Several Cytokine-like Molecules in Molluscan Hemocytes. *Bioch. Biophys. Res. Commun.*, 195:984-988 (1993)
- 5) 古田恵美子: 動物免疫学入門、和合治久編著、朝倉書店、pp143-150 (1994)
- 6) Furuta, E., Yamaguchi, K., et al.: *J. Exp. Zool.*, 271:340-347 (1995)
- 7) 古田恵美子、山口恵一郎: 動物の血液細胞と生体防御、和合治久編著、菜根出版
- 8) Yuasa, H. J., Furuta, E., et al.: *Comp. Biochem. Physiol. B*119:479-484 (1998)
- 9) Yamaguchi, K., Furuta, E., et al.: *Zool. Sci.* 16:485-495 (1999)

1.2.1.2. 貝類

(吉田貴彦)

生物には外的生物(細菌、ウイルス、原虫、真菌、寄生虫など)や不要自己体成分(死細胞、感染細胞、損傷細胞、変成細胞、異化細胞など)の異物を排除する全ての生物に普遍的に存在する生体防御機構、すなわち免疫機能が備わっている。

貝類において、血リンパ液は貝体内の開放血管系内を循環しつつ栄養素や老廃物の運搬と、異物の排除による生体防御の役割を担い内部環境の恒常性を維持している。このうち後者の異物の排除は貝類における免疫機能である。高等生物においては異物抗原を認識し、それに対応する特異的なクローンの選択的増殖が生体防御機構の主役となるが、軟体動物に属する貝類などの下等生物ではこれら特異的な生体防御機構が備わっておらず免疫機構は分化が未熟な段階にとどまっている。すな

わち特異的免疫機構は発達しておらず非特異的免疫機構のみが存在する。血リンパ液は、液性成分と細胞性成分に分けることが出来る。貝類の免疫機構にもこの両者が関与している(森、1995)。

(A) 液性免疫

液性免疫は体液中に溶解している蛋白質を主体とした成分が働くことによって達成される免疫機構であり、高等生物においては異物侵入の初期に働く非特異的な免疫応答である。これらは常に体内を循環するか異物進入が起こりやすい体表面に存在している。そのために異物に対して即座の対応が可能となる。したがって特異的免疫機構が存在しない貝類における生体防御機能において液性免疫機構の占める役割は大きい。液性免疫の中心的な役割を担う蛋白質は免疫担当細胞群である血リンパ球によって産生されと考えられている。

1) レクチン(凝集素)

血リンパ液の液性成分中に存在し細胞凝集活性を持つタンパク質が存在する。そのうち凝集素のある部位と特異的に結合して凝集活性を阻害する糖質が決定されている、逆に言う糖と結合する凝集素の構造が知られているものをレクチンという。レクチンは軟体動物をはじめ多くの海棲生物において存在が確認されており原始的な免疫系を形成している。レクチンの生物活性は各種哺乳類動物の赤血球に対する凝集活性によって評価され、数種類の糖と特異的に結合する複数の構造を持つ事が知られている。貝の種により、糖結合特異性が異なる。一方、レクチンの抗原性(高等生物の免疫系に認識される構造)は一部のものを除き類似性があると報告されている。レクチンの免疫系に於ける役割は、異物表面の糖質への結合により異物塊を形成することで、外来微生物の運動能を奪い血球による食作用の効率を高めていると考えられる。異物と血球を架橋し食作用を受けやすくするオプソニン効果の有無は統一見解が無い。レクチン活性が貝の生理活性の高さ、すなわち健康

度と良く相関するとの報告がある。

2) 抗菌物質

血リンパ液の液性成分中には細菌類の増殖や生存を抑制する因子が含まれ、リゾチームと同等のものと異なるものの2種類があると報告されている。生体内に侵入した有害微生物、あるいは過剰に増殖した常在微生物の排除の役割を担っていると考えられている。

(B) 細胞性免疫

貝類における細胞性免疫を担当する細胞は、血リンパ液中に浮遊する血球とそれらが体内の特定部位に浸出しとどまった細胞群に分けられる。後者の組織における免疫担当細胞の存在は高等生物においても認められる現象と同じである。高等動物と同様に免疫担当細胞が細胞性免疫を担っているが、貝類においては特異的免疫すなわち認識異物の記憶は成り立たず、非特異的免疫のみが確認されており、免疫学的に原始的な状況にある。

血リンパ液中に存在する血リンパ球数、およびそれら細胞の分画、遊走能、貪食能、H₂O₂産生量などの測定により細胞性免疫能が評価される。

1) 血リンパ球数

血リンパ液は心臓ないし閉殻筋を尖刺して採取され、その中に存在する血リンパ血球は貝類体内を循環している血球である。容積当りの数が計測されるが、貝全体の血リンパ球数と表現する場合には循環血球と組織にとどまる血球の合計となるが、現実的に測定は出来ない。これは高等動物においても同じ事である。

分担者は、心臓採血あるいは閉殻筋採血後に、血算板にて顕微鏡下に全リンパ血球を計測している。一部、幾つかの細胞が凝集塊を形成している場合があるが、正確な数が把握できないので測定対象から省いて数えている。

2) 血リンパ球分画

血リンパ球の分類については、赤血球を持