

カイコを用いた自然—細胞性免疫力の向上の研究

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 岡部紗佳, 岸本愛, 金詩穂, 篠原聡汰, 田澤京子

研究の動機

現在、ヒトの感染症の予防方法において、獲得免疫を利用したワクチンの様な医療技術は進歩している。しかし、自然免疫を用いた感染症予防法については、未だ画期的なものが考えられていない。

私達は、自然免疫は獲得免疫と違って全ての病原体に抗することができるという点から、ヒトの自然免疫力を向上させる方法を調べることが、新たなヒトの感染症予防法の開発に繋がると考え、この研究を行うことにした。

研究の目的

どのような物質を生物に投与すれば、自然免疫力が向上するのかを調べる。

※今回は、免疫系に自然免疫、特に細胞性免疫のみを持つカイコを研究に用いることにした。

実験内容

カイコ(3齢幼虫)に対して、以下に示す物質を注射投与する。

・生理食塩水(質量パーセント濃度0.8%に調製)
→対照実験の為

・墨汁(硯に生理食塩水を加え、墨を磨り、分光光度計で600nmで0.2~1.0の範囲で調製)
→免疫系が異物と認識する非タンパク質を投与することで免疫力が向上するかを調べる為

・乳酸菌(Lactobacillus casei YIT 9029 (以下LBと表記))
(生理食塩水に混合させ200,000個体/mLの濃度に調製)
→免疫系が異物と認識する、生存時にはカイコに対して無害な細菌の表面構造をしたタンパク質を投与することで免疫力が向上するかを調べる為

・Bacillus Thuringiensis (以下BTと表記)
(生理食塩水に混合させ200,000個体/mLの濃度に調製)
→免疫系が異物と認識する、生存時にはカイコに対して有害な細菌の表面構造をしたタンパク質を投与することで免疫力が向上するかを調べる為

・LB, BTの死滅は、UVライトの照射を行う。
・以下生存したLB, BTはそれぞれLB-a, BT-aと、死滅したBTはBT-dと表記

実験内容

実験1

第一投与...生理食塩水
第二投与...BT-a

実験3

第一投与...LB-d
第二投与...BT-a

実験2

第一投与...墨汁
第二投与...BT-a

実験4

第一投与...BT-d
第二投与...BT-a

実験の条件

- ・カイコの飼育環境は気温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度80%以上とする。
- ・カイコの餌には桑の葉と寒天を混合させた人工飼料を用いる。
- ・注射投与前に、カイコに30分間低温麻酔を施す。
- ・注射投与の際は体液、投与物の漏出を防ぐ為に、体表にワセリンを塗る。
- ・カイコには毎度50 μL /個体を注射投与する。
- ・注射投与には、テルモシリンジツベルクリン用 1mLを使用する。
- ・第一投与と第二投与の間隔は24時間とする。
- ・カイコ間での病原体の伝染を防ぐ為に、1個体ずつカップに入れて飼育する。
- ・第二投与後、カイコが繭を形成するまでの死亡率、または死亡するまでの日数を記録し、カイコの免疫力が向上したかを調べる。

仮説

(生理食塩水のみを投与した場合の死亡率、死亡日数と比較)
(以下は死亡率で比較した場合の予想)

予想1

・墨汁 ...変化なし
・LB-d ...変化なし
・BT-d ...変化なし
→異物に対する免疫反応に伴う免疫力向上は見られない。

予想2

・墨汁 ...変化なし
・LB-d ...変化なし
・BT-d ...減少
→生存時にカイコに有害な病原体に対する免疫反応でのみ免疫力が向上する。

予想3

・墨汁 ...変化なし
・LB-d ...減少
・BT-d ...減少
→異物と認識されるタンパク質に対する免疫反応であれば、同程度の免疫力の向上が起きる。

予想4

・墨汁 ...変化なし
・LB-d ...減少
・BT-d ...大きく減少
→異物と認識されるタンパク質に対する免疫反応であれば、免疫力が向上される。
また、免疫系はタンパク質の表面構造を認識し、カイコに有害な病原体であると認識した場合、免疫力向上の度合いは大きくなる。

予想5

・墨汁 ...減少
・LB-d ...減少
・BT-d ...減少
→異物がタンパク質であるかにかかわらず、免疫力は同程度に向上される。

予想6

・墨汁 ...減少
・LB-d ...減少
・BT-d ...大きく減少
→異物がタンパク質であるかにかかわらず、免疫力は向上する。
また、免疫系が異物をカイコに対して有害なものであると認識した場合のみ、免疫力向上の度合いは大きくなる。

予想7

・墨汁 ...減少
・LB-d ...大きく減少
・BT-d ...大きく減少
→異物がタンパク質であるかにかかわらず、免疫力は向上する。
また、異物がタンパク質であった場合、カイコに対して有害かに関係なく、免疫力向上の度合いは大きくなる。

予想8

・墨汁 ...減少
・LB-d ...大きく減少
・BT-d ...更に大きく減少
→異物がタンパク質であるかにかかわらず、免疫力は向上する。
また、異物がタンパク質であった場合、免疫力向上の度合いは大きくなる。
また、異物がカイコに対して有害であると認識した場合、免疫力向上の度合いは大きくなる。

今後の課題

- ・死因が不明(病原体によるものではないと考えられる)であった個体がいたので、死因と死亡した際の状態を調べ、結果に例外が無いようにする。
- ・免疫力が向上したことを判断する基準が確立できていないので、基準を明確にする。

参考文献

- ・ゲノム創薬研究所, "他の乳酸菌と比べると..." 11/19-B1乳酸菌普及委員会 <http://www.genome-pharm.jp/b1/comparison.html>
- ・関水久, 浜本洋 "カイコの食品。医薬品の評価動物としての利用" マイコトキシン, <https://doi.org/10.2520/myco.70-1-1>
- ・石井健一, 関水久, 浜本洋 "カイコをモデルとする宿主とする自然免疫・感染症研究の最前線"
・堤要造, "蚕の血球数とその割合"
・京都産業技術研究所, 和田潤, 泊直宏, 高阪千尋, 清野珠美, 廣岡青矢, 山本佳宏 "食品製造に適した乳酸菌用培地作製に関する検討"