

微生物量の変化がコオロギヘモサイトの 貪食活性に与える影響の定量解析

関西学院千里国際高等部3年 山下夏葉
指導： 生物部顧問 荻原さち N高等学校研究部アドバイザー 返町洋祐

1. 背景・先行研究

- ・昆虫は獲得免疫を持たず、自然免疫のみを持つ
 - ・ヘモサイトは異物の貪食を担う
 - ・貪食は微生物の存在によって活性化する
 - ・異物の大きさにより免疫応答が異なる
- フタホシコオロギヘモサイト
(400×)
- カルボキシル化ポリスチレンラテックスビーズに対し、

120μm	カプセル化、結節形成
1μm	貪食



微生物の存在下でのヘモサイトの貪食の変化は不明

2. 研究意義

昆虫は自然免疫のみを持つため、免疫応答を単純な系で解析できる。
微生物存在下での貪食応答の変化の解析により、

- ・菌血症時の貪食応答や異物認識機構の理解
- ・異物認識や貪食機能の制御機構の理解

につながる可能性がある。

3. 評価方法

フタホシコオロギのヘモサイトを用いて、微生物の存在下でのマイクロビーズへの貪食の変化を貪食率を指標に定量的に評価する。

$$\text{貪食率} = \frac{\text{ビーズを取り込んだヘモサイト数}}{\text{観察できた総ヘモサイト数}}$$

4. 仮説

考えられる微生物の存在の影響

- ①ヘモサイトは微生物を優先的に認識・貪食する
→微生物存在下ではビーズの貪食が抑制される可能性
- ②微生物刺激によってヘモサイトが活性化される
→貪食能が上昇、ビーズ貪食が促進される

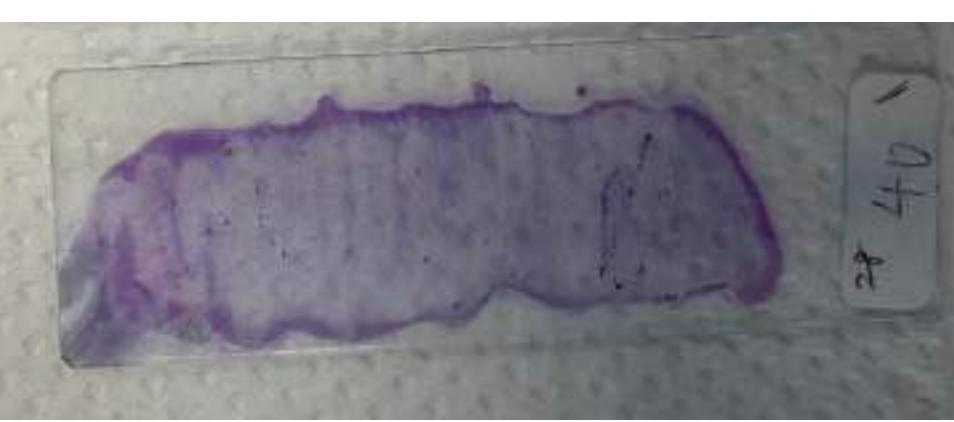
- ・納豆菌は比較的小さく、②の影響が大きくなる
- ・ミドリムシは大きく、貪食を行うヘモサイトが減り、①の影響が大きくなる

よって貪食率は、

ビーズ・納豆菌	高くなる
ビーズ・ミドリムシ	低くなる

5. 実験方法

- 1、コオロギの腹部に、作成した液体を0.3ml注射する。
- 2、一定時間後に後ろ脚をカミソリで切断し、ギムザ染色を用いて塗抹標本を作成する。



- 3、光学顕微鏡を用いて観察し、貪食率を調べる。
ビーズの濃度は変えず、以下の条件で複数回実験する。

ビーズのみ	ビーズ＋納豆菌	ビーズ＋ミドリムシ
-------	---------	-----------

参考文献

- [1]Cho, Y., & Cho, S. (2019). Hemocyte-hemocyte adhesion by granulocytes is associated with cellular immunity in the cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Scientific Reports*, 9(1), 18066.
[2]Cho, Y., & Cho, S., 2024. Granulocyte dynamics: a key player in the immune priming effects of crickets. *Frontiers in Immunology*, 15, 1383498.

6. 結果

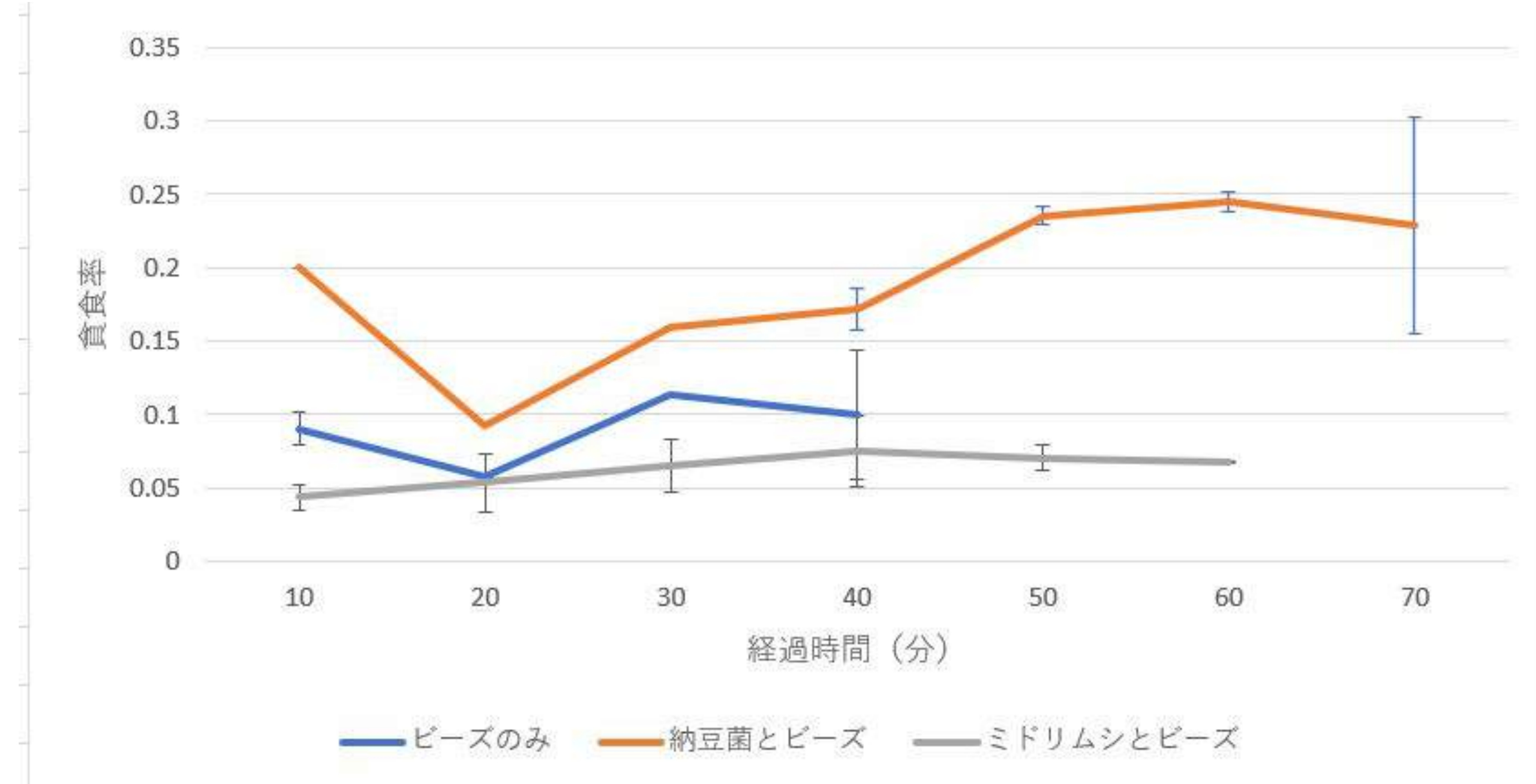


図1. 経過時間による貪食率の変化

平均±標準偏差 (n=2,3 一部n=1)

7. 考察

全体的に時間経過によって貪食率は増加傾向にある

①納豆菌存在下での貪食率がビーズのみの条件と比較して、高い傾向にある。

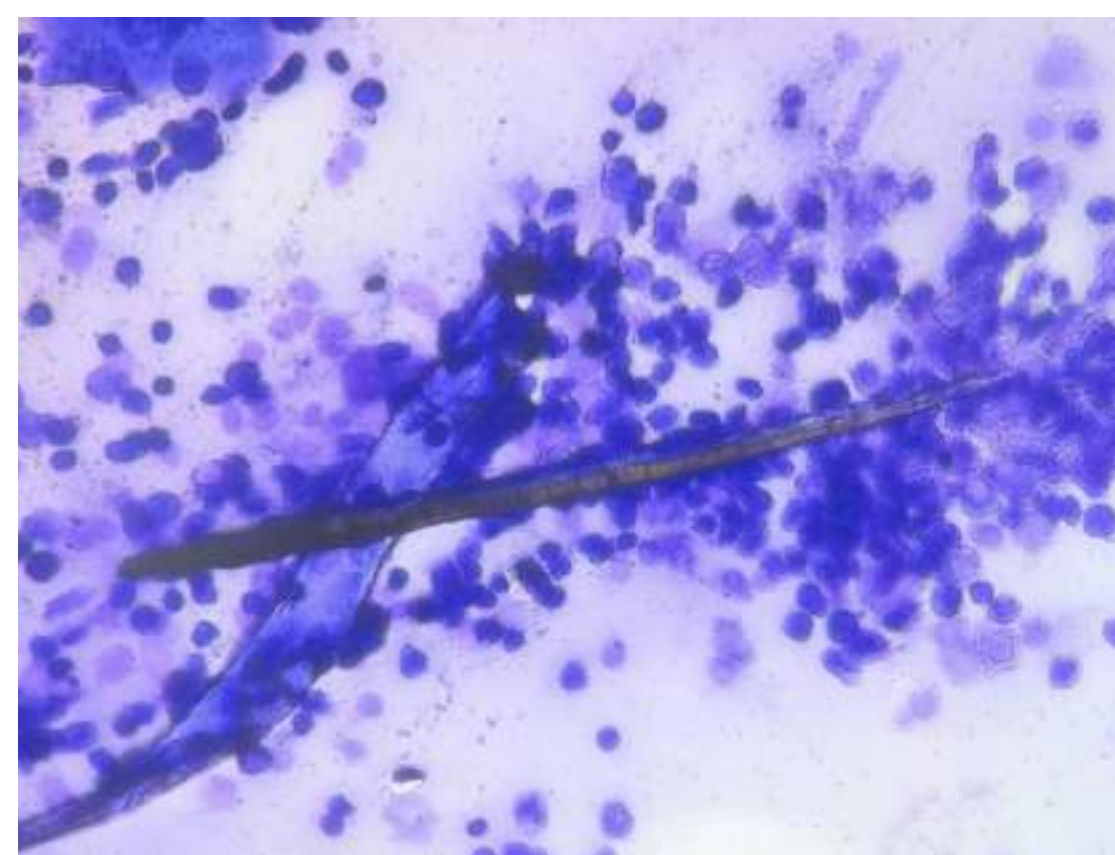
貪食率が上昇した理由

- ・納豆菌を優先的に貪食するため、納豆菌を貪食する経路にビーズが存在し、ビーズの貪食率が上昇した。
- ・仮説の通り、納豆菌の存在によるヘモサイトの貪食自体の活性化の影響が、貪食で競合することによる影響より大きかった

②ミドリムシ存在下では①より大きな差はない。

考えられる理由

- ・貪食の活性化はされているが、同じ顆粒細胞が行うカプセル化、結節形成が起こり、貪食率への活性化の影響が少なかった。



フタホシコオロギヘモサイトとミドリムシ(400×)→

誤差が起こりえる理由

- ・他の微生物が混入している可能性がある。
- ・観察できたヘモサイトが少ない塗抹標本もあり、観察したヘモサイト数が約25～130と標本数が小さく偏りがある。
- ・生理食塩水で希釈しているため、納豆菌、ミドリムシが死滅していく影響を考慮していない。
- ・腹部に注射した際に、足まで届く量が異なる可能性がある。

8. 結論

納豆菌の存在下で、貪食が活性化することが示唆された。
また、ミドリムシでは、貪食を活性化する影響と、カプセル化・結節形成が行われることによる他の異物に対する貪食に与える影響の大きさが近いことが示唆された。

9. 展望

本研究:70分程度までの短時間観察

- ・微生物量の変化による、貪食の変化を調べるために加えたミドリムシ・納豆菌の量の算定を行う
- ・今後はSEEDSプログラム等を通じて、先行研究で大腸菌に対し貪食応答がピークに達した4時間後までの観察がしたい。
- ・微生物量や微生物種を変化させ、ヘモサイトの貪食活性を制御する要因を明らかにしたい。