

理化学研究所 特別招聘研究員

名取 俊二

「昆虫の生体防御分子機構とその応用」

1. 研究実施の概要

この研究は研究代表者が東京大学薬学部にて在任中に行っていた「センチクバエの生体防御機構に関する研究」の成果をもとに立案したもので、当初提出した提案書には、昆虫の自己と非自己の識別機構、新規生理活性物質 5-S-GAD および抗菌蛋白 sapecin B 由来の抗菌ペプチドの 3 項目に焦点を絞って、創薬を意識した基礎研究を実施すると記載されている。研究が終了した時点で振り返ってみると、ほぼこの提案に沿った形で研究が進行したと言える。

当初提出した 3 項目の研究提案の背景を若干述べておきたい。まず「昆虫の自己と非自己の識別機構」というテーマであるが、センチクバエは完全変態昆虫であり、蛹の時期には幼虫から成虫へと組織の交替が起きる。例えば、幼虫の体内で最もよく発達している脂肪体（哺乳動物の肝臓と腎臓の機能を併せ持つ）は崩壊し、新しく成虫の脂肪体が発生する。脂肪体の崩壊過程をよく調べてみると、実は蛹の体液細胞（哺乳動物の白血球に相当）が脂肪体組織に取りついて cathepsin B を放出し、その結果組織を包んでいる基底膜が壊され、組織が崩壊することが分かった。幼虫の時にも体液細胞はあるが、幼虫の体液細胞は脂肪体に取りつくようなことはない。この事実を見て思いついたのが、幼虫の体液細胞と蛹の体液細胞では、自己と非自己の認識が異なるのではないかという考えであった。すなわち、幼虫の時期には体液細胞にとって自己であった脂肪体組織が、蛹の時期には非自己として認識されることになる。この認識転換の分子機構機構の中に‘自己と非自己の識別’という免疫の基本原則を理解する鍵があるという思いが強くなり、このテーマを取り上げることにした。

次に、「新規生理活性物質 5-S-GAD」というテーマについてであるが、それまでの研究で、センチクバエの幼虫に注射針で傷をつけると、脂肪体や体液細胞の中で様々な生体防御蛋白の遺伝子が一斉に転写レベルで活性化され、合成された蛋白が体液中に分泌されること分かっていた。その大部分は抗菌蛋白やレクチンである。このような抗菌蛋白を調べている過程で、体に傷をつけた時のみに出現する、低分子量の抗菌物質の存在に気づいた。この物質を抗菌活性を指標に精製し構造を決定したところ、 β -alanyldopa の 5 位に glutathione のシステインが S を介して結合した新規物質であった。この物質を N- β -alanyl-5-S-glutathionyl-dopa (5-S-GAD) と命名した。その後の研究で 5-S-GAD は抗菌活性以外に、蛋白質チロシンキナーゼを強く阻害することが示された。この事実は、5-S-GAD が潜在的に様々な医薬のリードとなりうることを示している。そこで、新しい医薬の創出を念頭に置いて 5-S-GAD の研究を始めることにした。

最後に、「抗菌蛋白 sapecin B 由来の抗菌ペプチド」というテーマであるが、sapecin B はセンチクバエの抗菌蛋白のひとつでアミノ酸 34 個からなり、主としてグラム陽性菌に対して強力な殺菌作用を示す。この蛋白の構造を NMR を用いて解析した結果、アミノ酸 1 番から 6 番までがループ構造、7 番から 17 番までが α -ヘリックス構造、その後の 17 個のアミノ酸が 2 つの β -シート構造を形成していることが分かった。そこで、各構造に相当する 4 種類のペプチドを合成し、各ペプチドの抗菌活性を測定した。その結果、11 個のアミノ酸よりなる α -ヘリックス相当部分にのみ、もとの sapecin B と同程度の抗菌活性があることが明らかになった。この事実は、高分子の抗菌蛋白の活性中心を同定することにより、低分子の抗菌ペプチドの作出が可能であることを示

している。この研究は、昆虫の抗菌蛋白を基盤とする抗菌剤の創製に手掛かりを与えるのではないかと考え、テーマとして取り上げることとした。

以上、当初構想した研究テーマの背景について説明したが、具体的な研究は研究参加者を3つの研究グループに分け、各グループが1つのテーマを担当することとして研究がスタートした。この研究の前半の3年間は東京大学薬学部が研究の本拠地であったが、途中で研究代表者が東京大学を定年退官したため、後半の2年間は理化学研究所に本拠地を移して研究を継続した。また、この研究には多くの大学院生が参加した。そして、大学院生の自由で独創的な発想に基づく研究も数多く行われた。このような研究の成果については、『各グループの研究から派生した新しい研究テーマ』として本文中に詳しく記載したのでここでは割愛し、本概要では最初提案した3項目の研究成果の要約をグループごとに記すこととした。

「昆虫の自己と非自己の識別機構」研究グループ

このグループは、センチクバエの幼虫の体液細胞と蛹の体液細胞の間で、表面に露出している蛋白に質的な相違があるかどうかを中心に検討した。まず、蛹の体液細胞のみと反応するモノクローナル抗体の取得を試みた。マウスの腹腔に蛹の体液細胞を接種し免疫する。常法に従ってハイブリドーマを樹立し、培養上清と体液細胞との反応性を指標に dot blotting 法で陽性クローンをスクリーニングした。その結果、蛹体液細胞特異的な抗体を産生するハイブリドーマが得られ、その抗原は蛹の体液細胞の表面だけに発現する分子量 120 kDa の蛋白であった。複数のハイブリドーマが得られたが、全て抗原は同一蛋白に落ちた。次に、モノクローナル抗体の1つ 9C8 をリガンドとするアフィニティーカラムを作製し、このカラムを用いてセンチクバエの蛹体液細胞の膜画分から 120-kDa 蛋白の精製を行った。次いで、精製蛋白の部分アミノ酸配列を手掛かりに 120-kDa 蛋白の cDNA クローニングを行った。cDNA の解析から 120-kDa 蛋白は1回膜貫通型の蛋白で、C-末端側 47 残基が細胞内にあり、細胞外に突き出している部分には 18 個の EGF 様構造が存在することが分かった。現在、この蛋白の機能の解析が進行中であるが、この蛋白は崩壊した幼虫組織の断片や、不要となった幼虫細胞を排除するために蛹の時期だけに出現するスカベンジャーリセプターであることを示唆する知見が得られつつある。これまでにこのようなスカベンジャーリセプターの報告はなく、全く新しい知見と言える。

「新規生理活性物質 5-S-GAD」研究グループ

5-S-GAD は v-src の自己リン酸化反応を阻害することから、この物質のヒト癌細胞に対する増殖阻害効果を検討した。その結果、試験した 38 株の癌細胞の中、2 株の乳癌細胞と 1 株のメラノーマ細胞の増殖を顕著に抑制した。ヌードマウスにこれらの癌細胞を接種し、5-S-GAD で治療を試みると有意な治療効果が得られることが分かった。詳しく解析した結果、5-S-GAD 中の β -alanyl 基が癌細胞選択性に寄与すること、この物質が産生する活性酸素種が細胞毒性発現に重要であること、などが明らかになった。そして、5-S-GAD に抵抗性の癌細胞では抗酸化分子の産生量が多いことも示された。しかし、活性酸素種だけで 5-S-GAD の抗癌活性を説明できないことも実験的に

明らかになり、この物質のチロシンキナーゼ阻害活性が抗癌活性にどのように寄与するのか、現在検討中である。

一方、5-S-GAD はマウスの骨髄細胞から破骨細胞（酒石酸耐性酸性フォスファターゼ（TRAP）陽性細胞として検出）が分化する過程を著しく阻害することが分かった。この間、培養中の細胞の細胞死は殆ど認められなかった。おそらく、5-S-GAD により幹細胞のある種の蛋白質チロシンキナーゼが阻害され、破骨細胞への分化が停止するものと思われる。現在までに、マウスの破骨細胞の分化途上で発現する遺伝子の中で、5-S-GAD により発現に影響が見られるものを DNA マイクロアレイを用いていくつか同定している。

「抗菌蛋白 sapecin B 由来の抗菌ペプチド」研究グループ

このグループは sapecin B に限ることなく、センチニクバエの抗菌蛋白由来の活性ペプチドの研究を行った。特に、sapecin B の活性中心を改変して得られたペプチド L5 および L3 の研究から、L5 のみが好中球を活性化して活性酸素を放出させ、マウスの MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) 感染症の発症を抑制する能力があることが明らかになった。好中球上の L5 のリセプターを調べた結果、意外にも小胞体の分子シャペロンとして知られる calreticulin が好中球の細胞表面にも一部発現しており、この分子に L5 が結合すると GTP-結合蛋白質 (G-蛋白質) を経由する形でシグナルが細胞内に入り、活性酸素の放出が起きることが示された。calreticulin がシグナル伝達に関わることを見出したのはこれが初めてであり、この結果は分子シャペロンの研究にも新しい視点を与えることになった。

この研究を遂行するために雇用した研究員は総計で 3 名、研究補助員 1 名、事務員 1 名であり、研究参加者の大部分は大学院生と大学におけるスタッフでその数は総計 37 名であった。また、この研究は当初「創薬を意識した基礎研究」として提案しているので、終了に当たり、5 年間の成果をもとにどのような創薬が考えられるか項目のみを列記する。その具体化については、今後の課題である。

- ① 5-S-GAD をリードとする細胞選択性のある制癌剤
- ② 新規抗菌性ペプチドを基盤とする感染症治療薬
- ③ β -alanydopa をリードとする骨粗鬆症治療および予防薬の開発
- ④ 腸管マクロファージの *Sarcophaga* レクチンリセプターを抑制する薬物（クローン病の治療薬）

2. 主な研究成果

(1) 論文発表 (国内 22 件 ・ 海外 55 件)

1. T. Kubo, M. Sasaki, J. Nakamura, H. Sasagawa, K. Ohashi, H. Takeuchi and S. Natori. (1996) Change in the expression of hypopharyngeal-gland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role. *J. Biochem.* **119**, 291- 295
2. H. Sugiyama and S. Natori. (1996) Transmethylation reaction is essential for *Sarcophaga* lectin gene expression. *J. Biochem.* **119**, 354-359
3. K. Kawasaki, T. Kubo and S. Natori. (1996) Presence of the *Periplaneta* lectin-related protein family in the American cockroach *Periplaneta americana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **26**, 355-364
4. K. Ohashi, M. Sawata, H. Takeuchi, S. Natori and T. Kubo. (1996) Molecular cloning of cDNA for α -glucosidase from the hypopharyngeal gland of the honeybee *Apis mellifera* L. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **221**, 380-385
5. T. Ito, Q. Xu, H. Takeuchi, T. Kubo and S. Natori. (1996) Spermatocyte-specific expression of the gene for mouse testis-specific transcription elongation factor S-II. *FEBS Lett.* **385**, 21-24
6. T. Horio, T. Kubo and S. Natori. (1996) Purification and cDNA cloning of the alcohol dehydrogenase of the flesh fly *Sarcophaga peregrina*: A structural relationship between alcohol dehydrogenase and a 25-kDa protein. *Eur. J. Biochem.* **237**, 698-703
7. J. Y. Leem, C. Niahimura, S. Kurata, I. Shimada, A. Kobayashi and S. Natori. (1996) Purification and characterization of N- β -alanyl-5-S-glutathionyl-3,4-dihydroxyphenylalanine, a novel antibacterial substance of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). *J. Biol. Chem.* **271**, 13573-13577
8. K. Homma, T. Matsushita and S. Natori. (1996) Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel growth factor from the conditioned medium of NIH-Sape-4, an embryonic cell line of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). *J. Biol. Chem.* **271**, 13770-13775
9. S. Haq, T. Kubo, S. Kurata, A. Kobayashi and S. Natori. (1996) Purification, characterization, and cDNA cloning of a galactose-specific C-type lectin from *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Chem.* **271**, 20213-20218
10. Y. Sekizawa, N. Ohta, S. Natori and H. Kobayashi. (1996) Immunocytochemical localization of lysenin, a novel protein isolated from the coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida*. *Biomed. Res.* **17**, 327-330
11. K. Homma and S. Natori. (1996) Identification of substrate proteins for cathepsin L that are selectively hydrolyzed during the differentiation of imaginal discs of *Sarcophaga peregrina*. *Eur. J. Biochem.* **240**, 443-447
12. Y. Hirakura, J. Alvarez-Bravo, S. Kurata, S. Natori and Y. Kirino. (1996) Selective interaction of synthetic antimicrobial peptides derived from sapecin B with lipid bilayers. *J. Biochem.* **120**, 1130-1140
13. N. Adachi, T. Kubo and S. Natori. (1996) Purification, characterization, and cDNA cloning of ABP-2 (arylphorin gene-specific binding protein-2) that specifically binds to the ABP-1-binding sequence in the arylphorin gene of *Sarcophaga peregrina*. *J. Biochem.* **120**, 1239-1246
14. T. Kunieda, S. Kurata and S. Natori. (1997) Regeneration of *Sarcophaga* imaginal discs *in vitro*: implication of 20-hydroxyecdysone. *Dev. Biol.* **183**, 86-94
15. S. Ohtsuki, K. Homma, S. Kurata and S. Natori. (1997) Molecular cloning of cDNA for *Sarcophaga* prolyl endopeptidase and characterization of the recombinant enzyme produced by an *E. coli* expression system. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **27**, 337-343
16. T. Yano, A. Kobayashi, S. Kurata and S. Natori. (1997) Purification and characterization of cathepsin B mRNA 3'-untranslated-region-binding protein (CBBP), a protein that represses cathepsin B mRNA translation. *Eur. J. Biochem.* **245**, 260-265
17. Y. Sekizawa, T. Kubo, H. Kobayashi, T. Nakajima and S. Natori. (1997) Molecular cloning of cDNA for lysenin, a novel protein in the earthworm *Eisenia foetida* that causes contraction of rat vascular smooth muscle. *Gene* **191**, 97-102
18. S. Ohtsuki, K. Homma, S. Kurata and S. Natori. (1997) Nuclear localization and involvement in DNA synthesis of *Sarcophaga* prolyl endopeptidase. *J. Biochem.* **121**, 1176-1181

19. S. Hori, A. Kobayashi and S. Natori. (1997) Monoclonal antibodies against pupa-specific surface antigens of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) hemocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **236**, 497-501
20. M. Hijikata, A. Kobayashi, J. Y. Leem, H. Fukasawa, Y. Uehara and S. Natori. (1997) Inhibition of protein tyrosine kinase by 5-S-GAD, a novel antibacterial substance from an insect. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **237**, 423-426
21. Y. Nakajima, Y. Tsuji, K. Homma and S. Natori. (1997) A novel protease in the pupal yellow body of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). Its purification and cDNA cloning. *J. Biol. Chem.* **272**, 23805-23810
22. Y. Nakajima, J. Alvarez-Bravo, J. H. Cho, K. Homma, S. Kanegasaki and S. Natori. (1997) Chemotherapeutic activity of synthetic antimicrobial peptides: correlation between chemotherapeutic activity and neutrophil-activating activity. *FEBS Lett.* **415**, 64-66
23. M. Shimoaraiso, T. Nakanishi, T. Kubo and S. Natori. (1997) Identification of the region in yeast S-II that defines species specificity in its interaction with RNA polymerase II. *J. Biol. Chem.* **272**, 26550-26554
24. K. Ohashi, S. Natori and T. Kubo. (1997) Change in the mode of gene expression of the hypopharyngeal gland cells with an age-dependent role change of the worker honeybee *Apis mellifera* L. *Eur. J. Biochem.* **249**, 797-802
25. A. Kamikouchi, H. Takeuchi, M. Sawata, K. Ohashi, S. Natori and T. Kubo. (1998) Preferential expression of the gene for a putative inositol 1,4,5-triphosphate receptor homologue in the mushroom bodies of the brain of the worker honeybee *Apis mellifera* L. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **242**, 181-186
26. M. Okamoto, I. Mitsuhashi, M. Ohshima, S. Natori and Y. Ohashi. (1998) Enhanced expression of an antimicrobial peptide sarcotoxin IA by GUS fusion in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* **39**, 57-63
27. T. Ishino, S. Ohtsuki, K. Homma and S. Natori. (1998) cDNA cloning of prolyl endopeptidase and its involvement in DNA synthesis by Swiss 3T3 cells. *J. Biochem.* **123**, 540-545
28. Y. Tsuji, Y. Nakajima, K. Homma and S. Natori. (1998) Antibacterial activity of a novel 26-kDa serine protease in the yellow body of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) pupae. *FEBS Lett.* **425**, 131-133
29. Y. Fujita, S. Kurata, K. Homma and S. Natori. (1998) A novel lectin from *Sarcophaga*. Its purification, characterization, and cDNA cloning. *J. Biol. Chem.* **273**, 9667-9672
30. Y. Taira, T. Kubo and S. Natori. (1998) Molecular cloning of cDNA and tissue-specific expression of the gene for SII-K1, a novel transcription elongation factor SII. *Genes Cells* **3**, 289-296
31. H. Okuyama, S. Kurata, K. Homma and S. Natori. (1998) Selective inactivation of elongation factor-2 (EF-2) in free adipocytes obtained by treating *Sarcophaga* larval fat bodies with chymotrypsin. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **28**, 301-307
32. J. Y. Leem, H. Y. Park, H. Fukazawa, Y. Uehara and S. Natori (1998) Inhibitory effects of 5-S-GAD on phosphorylation of V-SRC and BCR-ABL tyrosine kinase. *Biol. Pharm. Bull.* **21**, 784-785
33. J. Nakajima-Shimada, S. Natori and T. Aoki. (1998) Effects of synthetic undecapeptides on *Trypanosoma cruzi* in vitro. *Parasitol. Int.* **47**, 203-209
34. A. Nomura-Kitabayashi, T. Arai, T. Kubo and S. Natori. (1998) Molecular cloning of cDNA for p10, a novel protein that increases in the regenerating legs of *Periplaneta americana* (American cockroach). *Insect Biochem. Mol. Biol.* **28**, 785-790
35. S. Y. Lee, M. Y. Cho, J. H. Hyun, K. M. Lee, K. Homma, S. Natori, S. Kawabata, S. Iwanaga and B. L. Lee. (1998) Molecular cloning of cDNA for pro-phenol-oxidase-activating factor I, a serine protease is induced by lipopolysaccharide or 1,3- β -glucan in coleopteran insect, *Holotrichia diomphalia* larvae. *Eur. J. Biochem.* **257**, 615-621
36. T. Ito, M. F. Seldin, M. M. Taketo, T. Kubo and S. Natori. (1998) Gene organization and chromosome mapping of the testis-specific S-II. *Mamm. Genome* **11**, 915-917
37. T. Arai, T. Kubo and S. Natori. (1998) Cloning of cDNA for regenectin, a humoral C-type lectin of *Periplaneta americana*, and expression of the regenectin gene during leg regeneration. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **28**, 987-994
38. Natori S. (1998) Insect lectins and defense mechanism. *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* **43 (16 Suppl)**, 2435-2441.

39. Z. B. Zheng, S. Nagai, N. Iwanami, A. Kobayashi, M. Hijikata, S. Natori and U. Sankawa. (1998) Selective inhibition of Src protein tyrosine kinase by analogues of 5-S-glutathionyl- β -alanyl-L-dopa. *Chem. Pharm. Bull.* **46**, 1950-1951
40. Z. B. Zheng, S. Nagai, N. Iwanami, D. Y. Sun, A. Kobayashi, M. Hijikata, S. Natori and U. Sankawa. (1999) Different inhibitory effects of 5-S-glutathionyl- β -alanyl-L-dopa (5-S-GA-L-D) analogues on autophosphorylation and substrate phosphorylation of Src protein tyrosine kinase. *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 136-137
41. H. S. Lee, M. Y. Cho, K. M. Lee, T. H. Kwon, K. Homma, S. Natori and B. L. Lee. (1999) The pro-phenoloxidase of coleopteran insect, *Tenebrio molitor*, larvae was activated during cell clump/cell adhesion of insect cellular defense reactions. *FEBS Lett.* **455**, 255-259
42. S. Yamaguchi, K. Homma and S. Natori. (1999) A novel egg-derived tyrosine phosphatase (EDTP), that participates in the embryogenesis of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). *Eur. J. Biochem.* **259**, 946-953
43. M. Ohshima, I. Mitsuhara, M. Okamoto, S. Sawado, K. Nishiyama, H. Kaku, S. Natori and Y. Ohashi. (1999) Enhanced resistance to bacterial diseases in transgenic tobacco plants overexpressing sarcotoxin IA, a bactericidal peptide of insect. *J. Biochem.* **125**, 431-435
44. Y. Fujimoto, A. Kobayashi, S. Kurata and S. Natori. (1999) Two subunits of 26/29-kDa proteinase are probably derived from a common precursor protein. *J. Biochem.* **125**, 566-573
45. I. Fujii, Y. Tanaka, K. Homma and S. Natori. (1999) Induction of *Sarcophaga* central nervous system remodeling by 20-hydroxyecdysone *in vitro*. *J. Biochem.* **125**, 613-618
46. A. Kobayashi, P. T. Brey, K. Katsube, A. D. Torre, C. W. Roth, S. Natori and R. Ollo. (1999) Identification and characterization of a putative sevenless homologue in the malaria insect vector *Anopheles gambiae*. *Insect Mol Biol.* **8**, 277-285
47. M. Y. Cho, H. W. Choi, G. Y. Moon, M. H. Kim, T. H. Kwon, K. Homma, S. Natori and B. L. Lee. (1999) An 86-kDa diapause protein 1-like protein is a component of early-staged encapsulation-relating proteins in coleopteran insect, *Tenebrio molitor* larvae. *FEBS Lett.* **451**, 303-307
48. Z. B. Zheng, S. Nagai, N. Iwanami, A. Kobayashi, S. Natori and U. Sankawa. (1999) Inhibition effects of 5-S-glutathionyl- β -alanyl-L-dopa analogues against Src protein tyrosine kinase. *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 777-782
49. M. Y. Cho, H. S. Lee, K. M. Lee, K. Homma, S. Natori and B. L. Lee. (1999) Molecular cloning and functional properties of two early-stage encapsulation-relating proteins from the coleopteran insect, *Tenebrio molitor* larvae. *Eur. J. Biochem.* **262**, 737-744
50. U. Theopold, M. Rissler, M. Fabbri, O. Schmidt and S. Natori. (1999) Insect glycobiology: a lectin multigene family in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **261**, 923-927
51. M. Hijikata, H. N. Matsumoto, A. Kobayashi, A. Nifuji, M. Noda and S. Natori. (1999) Induction of apoptosis of monocyte-macrophage lineage cells by 5-S-GAD. *FEBS Lett.* **457**, 405-408
52. W. S. Price, A. Kobayashi, H. Ide, S. Natori and Y. Arata. (1999) Visualizing the postembryonic development of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) by NMR microscopy. *Physiological Entomol.* **24**, 386-390
53. K. Ohashi, S. Natori and T. Kubo. (1999) Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *Eur. J. Biochem.* **265**, 127-133
54. R. Iijima, S. Yamaguchi, K. Homma and S. Natori. (1999) Stage-specific Inhibition of *Xenopus* embryogenesis by aprotinin, a serine protease inhibitor. *J. Biochem.* **126**, 912-916
55. Natori S. (1999) Tissue remodeling in insect metamorphosis. *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* **44**, 2041-2048.
56. T. Miura, A. Kamikouchi, M. Sawata, H. Takeuchi, S. Natori, T. Kubo and T. Matsumoto. (1999) Soldier-caste specific gene expression in the mandibular glands of *Hodotermopsis japonica* (Isoptera: termitidae). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 13874-13879
57. J. H. Cho, K. Homma, S. Kanegasaki and S. Natori. (1999) Activation of human neutrophils by a synthetic antimicrobial peptide, KLKLLLLLKLK-NH₂, via cell surface calreticulin. *Eur. J. Biochem.* **266**, 878-885
58. K. Baba, T. Kubo and S. Natori. (2000) Molecular cloning of cDNA coding *Sarcophaga* deprexin family. *Yakugaku Zasshi.* **120**, 132-135

59. N. Akiyama, M. Hijikata, A. Kobayashi, T. Yamori, T. Tsuruo, S. Natori. (2000) Anti-tumor effect of N- β -alanyl-5-S-glutathionyl-dihydroxyphenylalanine (5-S-GAD), a novel anti-bacterial substance from an insect. *Anticancer Res.* **20**,357-362
60. A. Kamikouchi, H. Takeuchi, M. Sawata, S. Natori and T. Kubo. (2000) Concentrated expression of Ca²⁺/ calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C in the mushroom bodies of the brain of the honeybee *Apis mellifera* L. *J. Comp. Neurol.* **417**, 501-510
61. T. Ito, M. F. Seldin, M. M. Taketo, T. Kubo and S. Natori. (2000) Gene structure and chromosome mapping of mouse transcription elongation factor S-II (Tceal). *Gene* **244**, 55-63
62. T. Arai, T. Kubo and S. Natori. (2000) Identification, characterization and cDNA cloning of two novel proteins secreted into the external space of the regenerating leg of *Periplaneta americana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **30**, 287-295
63. M. H. Kim, C. H. Cho, M. Y. Cho, T. H. Kwon, K. M. Lee, S. Natori, T. H. Lee and B. L. Lee. (2000) Bacterial-injection-induced syntheses of N- β -alanyldopamine and Dopa decarboxylase in the hemolymph of coleopteran insect, *Tenebrio molitor* larvae. *Eur. J. Biochem.* **267**, 2599-2608
64. Y. Nakajima and S. Natori. (2000) Identification and characterization of an anterior fat body protein in an insect. *J. Biochem.* **127**, 901-908
65. H. Shiraishi, A. Kobayashi, Y. Sakamoto, T. Nonaka, Y. Mitsui, N. Aozasa, T. Kubo and S. Natori. (2000) Molecular cloning and characterization of SRAM, a novel insect rel/ankyrin-family protein present in nuclei. *J. Biochem.* **127**, 1127-1134
66. I. Mitsuhara, H. Matsufuru, M. Ohshima, H. Karu, Y. Nakajima, N. Murai, S. Natori and Y. Ohashi. (2000) Induced expression of sarcotoxin IA enhanced host resistance against both bacterial and fungal pathogens in transgenic tobacco. *Mol. Plant Microbe. Interact.* **13**, 860-868
67. Y. Fujita, K. J. Homma and S. Natori. (2000) Activation of murine macrophage-like cells by granulocytin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **275** 850-853
68. I. Fujii-Taira, Y. Tanaka, K. J. Homma and S. Natori. (2000) Hydrolysis and synthesis of substrate proteins for cathepsin L in the brain basement membranes of *Sarcophaga* during metamorphosis. *J. Biochem.* **128**, 539-542
69. S. Hori, A. Kobayashi and S. Natori. (2000) A novel hemocyte-specific membrane protein of *Sarcophaga* (flesh fly). *Eur. J. Biochem.* **267**, 5397-5403
70. M. Shimoaraiso, T. Nakanishi, T. Kubo and S. Natori. (2000) Transcription elongation factor S-II confers yeast resistance to 6-azauracil by enhancing expression of the SSM1 gene. *J. Biol. Chem.* **275**, 29623-29627
71. Y. Taira, T. Kubo and S. Natori. (2000) Participation of transcription elongation factor XSI-K1 in mesoderm-derived tissue development in *Xenopus laevis*. *J. Biol. Chem.* **275**, 32011-32015
72. T. Matsushita, I. Fujii-Taira, Y. Tanaka, K. J. Homma and S. Natori. (2000) Male-specific IDGF, a novel gene encoding a membrane-bound extracellular signaling molecule expressed exclusively in testis of *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Chem.* **275** 36934-36941
73. K. Ohashi, M. Sasaki, H. Sasagawa, J. Nakamura, S. Natori and T. Kubo. (2000) Functional flexibility of the honey bee hypopharyngeal gland in a dequeened colony. *Zoological Science.* **17**, 1089-1094
74. T. Nishikawa, A. Kobayashi and S. Natori. (2001) Cloning of cDNA for Cathepsin B mRNA 3'-Untranslated-Region-Binding Protein (CBBP), and Characterization of Recombinant CBBP. *J. Biochem. (Tokyo).* **129**, 485-490.
75. S. Natori (2001) Antimicrobial proteins of insects: a speculation of their origin and functions. *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* **46** (4 Suppl), 373-381.
76. N. Aozasa, H. Shiraishi, M. Nakanishi-Matsui, A. Kobayashi, K. Sekimizu, T. Kubo and S. Natori. (2001) Activation of the *Sarcophaga* lectin gene promoter by (A + T)-stretch binding protein. *Eur. J. Biochem.* **268**, 2506-2511.
77. S. Natori (2001) Insect lectins and Innate Immunity. in "Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate Immune System." (G. Beck, M. Sugumaran, E. Cooper eds.) Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 223-228.

(2) 口頭発表

① 招待、口頭講演 (国内 10 件・ 海外 4 件)

1. Ayako Kobayashi 5-S-GAD, A novel antibacterial substance of the flesh fly *Sarcophaga peregrina*.
Keystone symposia Innate Immunity (U.S.A.) '97.1
2. Koichi Homma Activation of human neutrophils by synthetic antibacterial peptides.
Keystone symposia Innate Immunity (U.S.A.) '97.1
3. 名取俊二 昆虫(センチニクバエ)の生体防御機構に関する研究
日本薬学会(東京) 97年3月
4. 小林綾子 昆虫生体防御因子と活性酸素
比較免疫学会(仙台) 97年8月
5. 久保健雄 感染防御と器官再生に働く昆虫の体液性レクチン
生体防御学会シンポジウム(東京) 97年9月
6. 名取俊二 先天性生体防御とレクチン
日本薬学会(京都) 98年4月
7. 澤田美由紀 ミツバチキノコ体の小型 kenyon 細胞特異的に発現する Ks 遺伝子
日本生化学会(名古屋) 98年10月
8. 大橋一晶 ミツバチの行動変化に伴う下咽頭腺細胞の機能転換: 2種類の糖代謝酵素の cDNA クローニング
と発現解析
日本生化学会(名古屋) 98年10月
9. 下荒磯誠 酵母 S-II 遺伝子破壊株の 6-アザウラシル感受性を解除する遺伝子 SSM 1 の発現の解析
日本生化学会(名古屋) 98年10月
10. Shunji Natori Glutathion-linked antimicrobial peptides from flies.
2nd Gordon Research Conference on Antimicrobial peptides (U.S.A.) '99.4
11. Shunji Natori Insect lectins and innate immunity.
FASEB Summer Research Conference (U.S.A.) 99. 7
12. 秋山伸子 昆虫由来抗菌物質 5-S-GAD のヒト乳がん細胞に対する増殖抑制効果と PKC 阻害活性の関与
日本癌学会(広島) 99年9月
13. 名取俊二 昆虫における発生と生体防御の分子連携
日本生化学会(横浜) 99年10月
14. 名取俊二 昆虫レクチンと自然免疫
日本生化学会(横浜) 2000年10月

② ポスター発表 (国内 77 件・ 海外 2 件)

1. 本間光一 昆虫抗菌ペプチドをリードとする新規合成ペプチドの感染防御メカニズム
日本薬学会(東京) 97年3月
2. 小林綾子 昆虫由来抗菌ペプチド 5-S-GAD の破骨細胞への作用
日本薬学会(東京) 97年3月
3. 荒井俊光 ゴキブリ再生肢に出現する 26-kDa レクチンの一次構造解析とその分子進化的考察
日本薬学会(東京) 97年3月
4. 竹内秀明 ミツバチ (*Apis mellifera*) 脳のキノコ体の Large type Kenyon cell に特異的に発現する M5 遺伝子の
解析
日本生化学会(金沢) 97年9月
5. 石野智子 マウス培養細胞における prolyl endopeptidase の機能解析
日本生化学会(金沢) 97年9月
6. 中島由紀 センチニクバエ最終令幼虫の前部脂肪体に局在する 34-kDa 蛋白
日本生化学会(金沢) 97年9月
7. 国枝武和 センチニクバエ幼虫肢原基近位領域に発現する遺伝子の同定
日本生化学会(金沢) 97年9月
8. 荒井俊光 ワモンゴキブリ *Periplaneta americana* の肢再生芽に一過的に発現する蛋白 (Rsp60) の同定と解析
日本生化学会(金沢) 97年9月
9. 土方真理子 血球細胞の分化・増殖に対する昆虫由来抗菌物質 5-S-GAD の影響
日本生化学会(金沢) 97年9月
10. 藤本康之 センチニクバエ体液細胞由来 2 分子性 26・29kDa プロテアーゼのショウジョウバエ、ワモンゴキ
ブリの単離
日本生化学会(金沢) 97年9月
11. 田中康弘 センチニクバエ変態期中枢神経における蛋白の変動
日本生化学会(金沢) 97年9月
12. 山口真二 初期胚発生におけるセンチニクバエカテプシン L 基質蛋白の cDNA cloning
日本生化学会(金沢) 97年9月
13. 西川毅 センチニクバエカテプシン B(29kDa プロテアーゼ)翻訳抑制因子の解析
日本生化学会(金沢) 97年9月
14. 藤井郁子 センチニクバエ変態期における中枢神経系再編成に関する研究
日本生化学会(金沢) 97年9月

15. 澤田美由紀 ミツバチ (*Apis mellifera*) 脳でキノコ体の Small type Kenyon cell 特異的に発現する遺伝子に関する研究
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
16. 伊藤貴浩 マウス S-II ファミリーのゲノムクローニングと染色体マッピングによる遺伝子構造の解析
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
17. 平裕一郎 臓器特異的 S-II (SII-K1) の発現の解析
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
18. 藤田義文 センチニクバエ体液細胞内顆粒に含まれるレクチン様 20-kDa 蛋白の機能解析
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
19. 堀昌平 センチニクバエ蛹体液細胞表面を特異的に認識するモノクローン抗体の作製
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
20. 大橋一晶 ミツバチのコロニーの状況変化に伴う下咽頭腺細胞の分化制御
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
21. 白石博久 センチニクバエ生体防御遺伝子群の 5' 上流 KB 様配列に結合する新規 Rel/ANK family 59-kDa 蛋白の cDNA クローニング
日本生化学会 (金沢) 97 年 9 月
22. 青笹尚彦 センチニクバエ由来(A+T)-stretch 結合蛋白 (ATBP) の機能解析とショウジョウバエホモログの単離
日本分子生物学会 (京都) 97 年 12 月
23. 上川内あづさ セイヨウミツバチの脳のキノコ体に特異的に発現する遺伝子の同定と単離
日本分子生物学会 (京都) 97 年 12 月
24. 荒井俊光 ゴキブリの肢再生芽に特異的に出現する新規蛋白 Rsp60 と Rsp40 の構造と遺伝子発現の解析
日本薬学会 (京都) 98 年 3 月
25. 土方真理子 昆虫由来新規抗菌物質 5-S-GAD の癌細胞増殖抑制効果
日本薬学会 (京都) 98 年 3 月
26. 大橋一晶 ミツバチの行動変化に伴う下咽頭腺細胞の機能転換
日本薬学会 (京都) 98 年 3 月
27. 松下武史 ショウジョウバエ精巣に特異的に発現する新規細胞増殖因子 male-specific IDGF の同定と遺伝子発現解析
日本発生生物学会 (熊本) 98 年 5 月
28. 辻弓子 センチニクバエの変態期に出現する 26-kDa protease の抗菌スペクトル
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
29. 山口真二 センチニクバエの卵特異的チロシンホスファターゼのショウジョウバエホモログ cDNA の単離
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
30. 土方真理子 昆虫由来生理活性物質 5-S-GAD によるアポトーシスの誘導
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
31. 西川毅 センチニクバエ変態期における CBBP の発現解析
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
32. 藤井郁子 昆虫の中樞神経系再編成における ecdysone の役割
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
33. 飯島亮子 アフリカツメガエルの胚発生に関与する分泌性プロテアーゼ
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
34. ジョウ 長鉉 抗菌ペプチドの好中球活性化に関する構造活性相関
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
35. 堀昌平 センチニクバエの「自己」と「非自己」を識別する候補分子 (120-kDa 蛋白) の cDNA クローニング
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
36. 上川内あづさ ミツバチのキノコ体における、カルシウムシグナル伝達にかかわる蛋白群の選択的な遺伝子発現
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
37. 石野智子 マウス prolyl endopeptidase の細胞増殖における機能解析
日本生化学会 (名古屋) 98 年 10 月
38. 秋山伸子 昆虫由来新規抗菌物質 5-S-GAD のヒトメラノーマに対する *in vivo* 増殖抑制効果
日本薬学会 (徳島) 99 年 3 月
39. ジョウ 長鉉 抗菌ペプチドによるヒト好中球活性化における calreticulin の役割
日本薬学会 (徳島) 99 年 3 月
40. 飯島亮子 アフリカツメガエルの胚発生に関与する分泌性・表在性プロテアーゼ
病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会 (名古屋) 99 年 8 月
41. 本間光一 センチニクバエ 26-kDa protease が示す抗菌活性ドメインの同定とその作用メカニズム
病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会 (名古屋) 99 年 8 月
42. 土方真理子 昆虫由来生理活性物質 5-S-GAD の細胞内標的分子の同定
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
43. 山口真二 ショウジョウバエ卵由来チロシンファスファターゼ (EDTP) の合成細胞の同定
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
44. 田中康弘 センチニクバエ変態期におけるカテプシン L 基質蛋白の構造

- 日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
45. 奥山由紀子 U937 活性化における細胞表面 Calreticulin (CR) の役割
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 46. 桶本和男 昆虫抗真菌タンパク質 (AFP) の活性中心ペプチド
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 47. 青山倫久 センチニクバエの変態期に出現する 26-kDa protease の抗菌活性部位の同定
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 48. 青笹尚彦 ATBP による *Sarcophaga* レクチン遺伝子プロモーターの(A+T)-stretch 依存的な活性化
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 49. 竹内秀明 ミツバチ脳のキノコ体の大型ケニヨン細胞に特異的に発現する KI-1 遺伝子の単離と発現解析
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 50. 飯島亮子 アフリカツメガエルの胚発生に関与するセリンプロテアーゼ
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 51. 平裕一郎 アフリカツメガエルの新規な転写伸長因子 S-II (XSII-K1) の同定と XSII-K1 による中枢葉誘導
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 52. 中島由紀 センチニクバエ最終令幼虫の前部脂肪体に局在する 34-kDa 蛋白
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 53. 平郁子 昆虫中枢神経系の ecdysone に対する応答の自律性
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 54. 下荒磯誠 酵母 SSM1 遺伝子中の転写中断部位の同定と S-II による転写中断の解除
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 55. 石野智子 アフリカツメガエル 35-kDa 血清レクチンの同定、cDNA クローニングと遺伝子発現解析
日本生化学会 (横浜) 99 年 10 月
 56. 伊藤貴浩 転写伸長因子 S-II のゲノムクローニングと染色体マッピングによる遺伝子構造の解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 57. 丹治貴博 ショウジョウバエを用いた *Sarcophaga* Lectin 遺伝子の発現制御機構の解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 58. 小林綾子 昆虫の生体防御に関わる新規 Rel/Ankyrin Family 転写制御因子 SRAM (59-kDa 蛋白) の組織特異的発現
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 59. 石野智子 アフリカツメガエル幼生の尾の再生芽で選択的に発現する遺伝子の単離と解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 60. 坂本泰光 センチニクバエ由来新規 Rel/Ankyrin Family 転写制御因子 SRAM の発現系構造
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 61. 佐相薫葉子 S-II と Hox 蛋白質との相互作用の解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 62. 西川毅 センチニクバエ翻訳抑制蛋白 CBBP の大腸菌による組換え蛋白の産生と解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 63. 竹内秀明 ミツバチ (*Apis mellifera*) 脳のキノコ体で大型ケニヨン細胞特異的に発現する Ks-1 遺伝子の解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 64. 上川内あづさ ミツバチ脳のキノコ体における Ca^{2+} 情報伝達系に関与する蛋白群の遺伝子発現解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 65. 吉野大輔 ミツバチ脳のキノコ体の小型ケニヨン細胞特異的に発現する Ks-1 遺伝子の解析
日本分子生物学会 (福岡) 99 年 12 月
 66. 中島由紀 センチニクバエ由来抗菌ペプチドの低分子化と構造活性相関
日本薬学会 (岐阜) 2000 年 3 月
 67. Fujii-Taira Ikuko Non-genomic responses of *Sarcophaga* neuronal cells against ecdysone stimulus.
14th Ecdysone Workshop (Swiss) '00 3
 68. Kazuo Okemoto Activation of mammalian macrophages by cecropins
8th Congress of the International society of developmental and Comparative Immunology(Australia) '00 7
 69. 飯島亮子 アフリカツメガエルの胚発生に関与するセリンプロテアーゼ
病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会 (名古屋) 2000 年 8 月
 70. 秋山伸子 昆虫由来抗菌物質 5-S-GAD のヒトメラノーマおよび乳がん細胞に対する増殖抑制区かと活性酸素の関与
日本癌学会 (横浜) 2000 年 10 月
 71. 飯島亮子 アフリカツメガエルの胚発生に関与するセリンプロテアーゼ —合成基質を用いた解析—
日本生化学会 (横浜) 2000 年 10 月
 72. 中島由紀 センチニクバエの抗菌ペプチド sarcotoxin IA の抗真菌作用
日本生化学会 (横浜) 2000 年 10 月
 73. 藤岡聡之 L929 細胞の形態および増殖におよぼす *Sarcophaga* lectin の効果
日本生化学会 (横浜) 2000 年 10 月
 74. 奥山由紀子 細胞表面 calreticulin を介した情報伝達機構の研究
日本生化学会 (横浜) 2000 年 10 月
 75. 田中康弘 昆虫由来新規細胞増殖因子 IDGF における分子メカニズムの解析
日本分子生物学会 (神戸) 2000 年 12 月

76. 藤岡聡之 *Sarcophaga* lectin の哺乳類細胞に対する作用
日本薬学会（札幌） 2001 年 3 月
77. 秋山伸子 昆虫由来抗菌物質 5-S-GAD のヒトメラノーマと乳癌細胞に対する増殖抑制作用と活性酵素の関与
日本薬学会（札幌） 2001 年 3 月
78. 奥山由紀子 細胞表面 calreticulin を介した情報伝達機構の研究
日本薬学会（札幌） 2001 年 3 月
79. 田中康弘 昆虫由来新規細胞増殖因子 IDGF の分子機構の解析
日本薬学会（札幌） 2001 年 3 月

（３）特許出願

東京大学	2 件
理化学研究所	7 件

（４）受賞等

①新聞報道

日経産業新聞	平成 12 年	4 月	13 日
日刊工業新聞	平成 13 年	4 月	6 日