

JADCI

News



No.47 2017.12.25

Contents

2 ご挨拶

日本比較免疫学会会長 日本大学 中西 照幸

3 第29回学術集会のご報告

5 学術集会参加記

7 受賞者からの寄稿文

10 第30回学術集会のご案内

11 特別寄稿

日本比較免疫学会との29年間のお付き合い 日本大学 大竹 伸一

雑感: 木や血球の研究を振り返って 山口大学大学院 澤田 知夫

15 私の実験動物 #3

クルマエビ 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 稲田 真理

17 留学体験記 -ドイツにおけるポストドク生活-

-第2回 ドイツのクリスマス- Friedrich-Loeffler-Institut 山口 卓哉

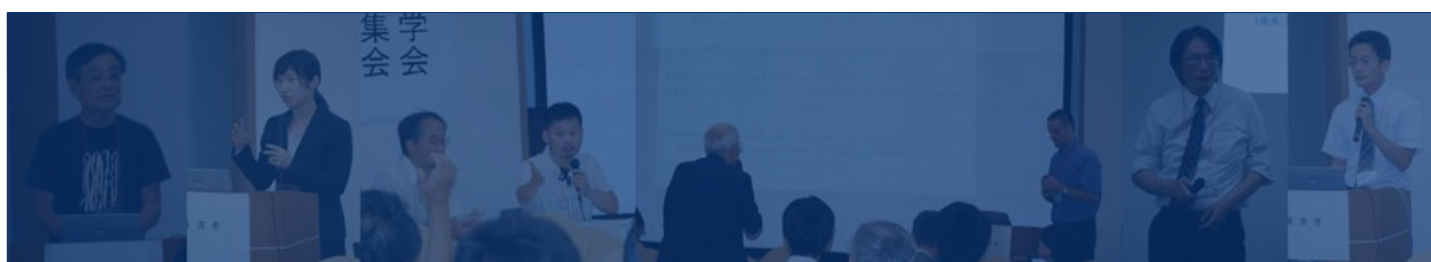
18 実験のコツ #2

-魚類組織からの細胞浮遊液調製のコツ- 日本大学 中西 照幸

20 事務局からのお知らせとお願い

Collection #3

クルマエビ





ご挨拶

日本比較免疫学会会長
日本大学生物資源学部
中西 照幸

師走を控え慌しくなってきました。会員の皆様にはいかがお過ごしでしょうか。お元気にてご活躍のこととお察しいたします。日頃より、学会の運営にご支援・ご協力を賜り感謝申し上げます。

本年度の学術集会は、笠原正典集会長のもと、8月24日から26日の3日間北大医学部において開催されました。本年度は、19の一般演題に加え、教育講演、古田優秀論文賞受賞講演、特別講演及びシンポジウムと連日魅力的な講演やシンポジウムが続き、充実した学術集会となりました。

本年度は古田賞の受賞者はおりませんでした。古田優秀論文賞には2名の応募があり、いずれも甲乙つけがたい優秀な論文であることから、九州大の槇光輝さんと東北大の見目裕之さんの2名の受賞となりました。また、一般演題の中から内容及び発表ともに優秀な発表を選ぶ古田奨励賞には日本大の松浦雄太さんが受賞しました。受賞者の皆様には、この場をお借りしてお祝いを申し上げます。若手研究者の皆様には今後とも積極的に応募していただきますようお願いいたします。

シンポジウムでは、「比較免疫学への新しい視座」と題して、多様な分野で活躍されている若手及び中堅の研究者5名による発表がありました。こうした取り組みを通じて比較免疫学の幅を広げるとともに、学会をさらに発展させることを意図した笠原先生のご配慮を感じた次第です。第2日目の懇親会における医学部の学生の皆さんの演奏が印象的でした。このような素晴らしい学術集会を開催して下さった笠原先生をはじめ北大の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

今期の重点課題として取り上げている他学会との連携については、生体防御学会とはニュースレターの交換や合同学術集会の開催に加え、学術集会への相互の参加等を含めた両学会の連携・協力の強化について話し合いを進めています。しかし、今後の協力関係の構築を考えるうえで、会費や学術集会への参加費が異なること、学術集会開催時期が異なることなど、解決すべき課題が残されています。少し時間をかけて、両学会内での議論を踏まえたうえで両学会間で意見交換を行い、両学会がともに発展していく

方向を探っていく必要があると考えています。なお、本年度の学術集会の総会において、平成31年度の学術集会（九州大学川畑先生が集会長の予定）を生体防御学会との合同学術集会として開催することが決まりました。

来年6月17日から21日にかけて米国のニューメキシコで第14回国際比較免疫学会が開催されます。古田トラベルアワードを募集しますので、若手研究者の皆様は奮ってご応募ください。また、本号の10ページにご案内のように、来年度の学術集会は、森友忠昭教授を集会長として日本大学生物資源科学部（藤沢市）にて開催されます。多くの皆様のご参加をお願いいたします。



第29回学術集会長からのご挨拶



この度、平成 29 年 8 月 24 日(木)～8 月 26 日(土)の日程で北海道大学医学部学友会館「フラテ」を会場として第 29 回学術集会を開催いたしました。北海道での開催は横沢 英良先生(当時、北海道大学大学院薬学研究科教授)が第 13 回集会を開催されて以来のことでした。初日は夕方から雨が降りましたが、二日目、三日目は好天に恵まれ、皆様には学術集会での学術的な内容とともに北海道の晩夏を楽しんでいただけたと思います。

今回はあいにく古田賞受賞講演はありませんでしたが、他は例年に準じてプログラムを組みました。まず、特別講演は、補体活性化のレクチン経路の発見者として国際的に著名な藤田 禎三 福島県立総合衛生学院長(福島県立医科大学名誉教授)と胸腺研究の第一人者である高濱 洋介 徳島大学先端酵素学研究所教授にお願いしました。藤田名誉教授は「補体レクチン経路とその役割について」と題して、先生のライフワークであるレクチン経路に関する研究の集大成を話されました。高濱教授は「免疫シ

日本比較免疫学会
第29回学術集会のご報告

北海道大学大学院医学研究院
分子病理学教室
笠原 正典



藤田 禎三名誉教授

ステムのななめ「胸腺」の形成と機能」と題して、最近特にホットな話題となっている胸腺プロテアソームのT細胞選択における役割を中心に最新の研究成果を紹介されました。いずれも学術的にきわめてレベルの高い講演であり、このような第一級の講演をいただけたことを集会長として感謝している次第です。

教育講演は、平野 雅之 先生(米国エモリー大学医学部病理学部, エモリーワクチンセンター)に「ヤツメウナギのリンパ球: 適応免疫の進化」と題してお話いただきました。この講演は、先生の師である Max D. Cooper 教授による T/B 細胞発見の歴史から、ご自身で精力的に推進されてい



高濱 洋介教授

るヤツメウナギの適応免疫系研究の最前線を網羅したものであり、教育講演の名にふさわしい素晴らしいものでした。

三日目に開催されたシンポジウムは「比較免疫学への新しい視座」をテーマとして、非会員の方を中心にお招きしました。石野 智子(愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・寄生虫病原体学部門)、井筒 ゆみ(新潟大学・理学部・生物学科)、菊池 義智(産業技研総合研究所・北海道センター・生物プロセス研究部門)、名川 文清(東京大学大学院・理学系研究科生物科学専攻)、三浦 恭子(北海道大学・遺伝子病制御研究所・動物機能医科学研究室)の各先生にご講演いただきました。いずれも比較免疫学研究の新しい展開を考えるうえで大変示唆に富んだ講演でした。このほか、九州大学大学院・システム生命科学 槇光輝氏、東北大学大学院・薬学研究科 見目 裕之氏による古田優秀論文賞受賞講演と 20 題の一般講演があり、盛況のうちに三日間にわたる学術プログラムを終了しました。なお、



平野 雅之先生

学術集会への参加者は42名でした。

懇親会は二日目の夕方に本学のファカルティハウス「エンレイソウ」を会場として、38名の参加を得て開催されました。医学部学生らで構成されるアンサンブル・フラテ(ちなみに、フラテは兄弟を意味するイタリア語で、北大医学部同窓の意。学会の会場名もこれに由来)の皆さんに弦楽四重奏を演奏してもらいました。本学恵迪寮の寮歌「都ぞ弥生」、葉加瀬太郎の「エトピリカ」(日本では北海道東部でしかみられないアイヌ語名の鳥)



アンサンブル・フラテの皆さん

など北海道にゆかりの深い曲を聴いていただきました。

本学術集会を開催するにあたって、たくさんの方々からご支援・ご協力をいただきました。会長の中西照幸先

生をはじめ学会関係者の皆様、快く講演を引き受けてくださった招待演者の皆様、そして何よりも遠路、札幌までお越しください、本集会で発表・討論に加わってくださいました会員の皆様に心からお礼申し上げます。



学術集会参加記



慶應義塾大学 生物学教室 林 良信

平成29年8月23日から25日にかけて第29回日本比較免疫学会学術集会が北海道大学札幌キャンパスで開催され、私は一般講演での発表を申し込んで参加しました。私は日本比較免疫学会の学術集会はこれが初めての参加です。私はこれまで、社会性昆虫とよばれ巣内の個体間で分業をおこなうシロアリを研究材料に、主に遺伝子の研究によって昆虫の社会がどのように・なぜ形成されるのか解き明かそうとしてきました。これまで“社会性”が研究テーマだったのに今回どうして“免疫”の学術集会に参加したかという、シロアリの網羅的遺伝子解析の過程で、免疫関連遺伝子に興味をもったからです。それらの遺伝子のいくつかでは、兵隊アリや働きアリの間で発現量が大きく異なることがわかり、個体間での免疫に関する分業の可能性が示唆されます。本当に免疫の分業があれば、これは社会性昆虫ならではの現象であり、とても興味深いことです。まだ始めたばかりのシロアリの免疫研究ですが、これまでの成果を学会で発表したいと考えていました。ちょうどその折に、職場の同僚であり本学会会員である古川亮平先生から日本比較免疫学会のことを聞きました。そこで、初めてではあるけれど、せっかくなら免疫の専門家たちに聞いてもらおうと思い、今回の学術集会に参加することにしました。

集会初日、会場に着くまでは集会がどのような雰囲気なのかわからず、不安もありました。免疫学の初心者である私が最先端の免疫研究を理解できるのか、そして、私のシロアリの研究に興味を持ってもらえるか。会場に着いて受付を済ませ、他の研究者



の方々の講演を聞いていると、研究材料は非モデル生物も多く、注目する現象も研究手法も様々でした。集会は、参加人数から言えば比較的小規模ではありますが、研究テーマの多様性がとても高いと感じました。そして、これならシロアリという変な生き物の発表でもそれほど違和感なく聞いてもらえるかもしれないと思い始めました。そして、いざ発表。シロアリなんてこれまでなかった材料だとは思いますが、その研究を真剣に聞いてくださっていると感じました。数名の方から質疑がありましたが、笑顔でご質問してくださり、好奇心でいっぱいの表情が印象的でした。質問内容は研究の核心に迫るものばかりで、今後取り組むべき研究課題が明確になりました。

日本比較免疫学会の学術集会は免疫学初学者でも比較的入りやすいと感じました。おそらくこれまでにシロア리를材料にした研究発表はなかったのではないかと思います。“免疫”の学会であるにもかかわらず、シロアリのような“異物・非自己”も排除されません。だからこそ、学会内の研究の多様性が高いのだと思います。そして、そのために免疫の多様性と奥深さ、そして面白さを存分に味わえる集会であると感じました。私は今後もこの学術集会に参加したいと考えていますが、もちろんいつまでも初学者で許してもらえるわけではないでしょうから、今後さらに免疫学を勉強していこうと思います。そして、シロアリの免疫研究で皆さんを唸らせるような成果を挙げたいと思います。



北里大学大学院 海洋生命科学研究科 田口 瑞姫

私は第29回日本比較免疫学会学術集会で、多くのことを経験し、学ぶことができました。以前から比較免疫学会のことは存じておりましたが、参加したことはありませんでした。昨年の第28回学術集会を初めて聴講した際、自分の研究テーマに近いものから全く異なるものまで免疫学について幅広く学ぶことができ、自分自身も発表できるような研究成果が出たらその時はぜひ参加したいと思っておりました。今回の学術集会に参加させていただけたこと、心から感謝しております。

今回、私はマナマコの体腔球凝集反応についての研究成果を発表しました。本研究テーマは学会で発表することを一つの目標として早く成果をあげられるよう専心してきたこともあり、口頭発表での参加が決まった時はとても嬉しく、先生方からご意見をいただけることを楽しみにしておりました。ところが実際に会場に到着すると途端に緊張してしまい、そのまま自分の発表をむかえました。準備はしてきたものの、満足のいく発表とはならず、悔しい思いが残りました。しかし、質疑応答では先生方からたくさんのご質問、ご意見をいただくことができました。自分の研究にこんなにも興味を持ってもらえるのかと本当に嬉しく感じました。発表後にも何人もの先生が私に声をかけてくださり、発表や研究についてたくさんのご指導、ご鞭撻を賜りました。そのような経験は今までしたことがありませんでした。本当にありがたく、大変貴重な経験をさせていただきました。

また学術集会では、免疫学に関する最先端の研究を聴講し、多くのことを学ぶことができました。論文を読んで自らの知識の幅を広げることは普段当たり前に行っていることですが、研究された方のお話を直接伺う機会はなかなかありません。学会は研究者の方の生の声やディスカッションを聞いて学ぶことができる学生にとって非常に重要な場であると感じています。そして今回の比較免疫学会で、私はずっとお話

を伺いたいと思っていた先生にお会いすることができました。緊張でなかなか考えていることをお伝えすることは難しかったのですが、研究についてご意見をいただけただけでなく、先生の研究についてもお話やお考えを伺うことができたこと、本当に有意義な時間を過ごさせていただきました。

学術集会の休憩時間や集会後には、同年代の研究者の方々と研究の話やそれ以外のこともいろいろな話をさせていただきました。自分が所属している研究室以外の研究者の方と意見交換する機会は減多にないため、他の研究室の状況や研究への姿勢など、自分への刺激になることがたくさんありました。今回学んだことを今後の研究生活に生かして邁進し、一つ成長した姿で、再び学術集会に参加させていただきたいと思っております。



受賞者から



古田優秀論文賞を受賞して

九州大学大学院
システム生命科学府
榎 光輝

この度は、このような栄誉ある賞を頂き、大変うれしく思っております。お忙しい中、論文賞の選考に携わって下さった先生方、学術集会長の笠原先生、会長中西先生、故古田恵美子名誉会長、学会関係者の皆様には深く感謝申し上げます。

今回受賞の対象となった論文は「Transglutaminase-catalyzed Amine Incorporation Masks the Factor Relish」というタイトルで、*J. Biol. Chem.*, **292**, 6369 (2017) に掲載されたものです。架橋酵素であるトランスグルタミナーゼ(TG)がどのように宿主免疫応答を制御しているのか、詳細な分子機構を明らかにした論文になります。

私が初めて比較免疫学会に参加したのが、2014年に仙台市で開催された第26回学術集会になります。一般口頭発表をさせていただきましたが、ちょうど第26回目の学術集会は、日本生体防御学会との合同集会で参加者の人数も多く、とても緊張しながら発表をした記憶があります。続けて、2015年の小浜市、2016年の東京での学術集会にて、いずれも一般口頭発表で参加させていただきました。そして今年、積み重ねてきたデータが論文にまとまり、今回の受賞につながったことは、学会の皆様からの活発な討論やアドバイスを頂けたおかげだと感じています。

私は、研究室に配属されてから現在まで、TGの架橋反応がもたらす生理的意義について、ショウジョウバエをモデル動物に進めてまいりました。TGはタンパク質のGln残基とLys残基(または第一級アミン)との側鎖との間に共有結合を形成させる架橋酵素です。タン

パク質同士の架橋反応は、私たち生体内における生理的現象に必須であり、哺乳類TGは、血液凝固、創傷治癒、皮膚の角化、アポトーシスなどに関与していることが知られています。哺乳類TGは8種類のアイソエンザイムが存在しており、各組織で多様な働きを担っています。一方、ショウジョウバエのTG遺伝子は1種類のみであり、一つのTGが多様な機能を示すことが明らかになっています。当研究室でこれまでに、ショウジョウバエTGが、表皮や翅の形成、腸管の物理的防御膜(囲食膜)の形成、自然免疫応答の抑制に関与することを報告しました。今回受賞対象となった論文は、自然免疫応答の抑制におけるTGの役割について詳細な解析を行った内容になります。先行研究としまして、ショウジョウバエ自然免疫経路の一つであるIMD経路下流のNF- κ B様の転写因子RelishがTGの基質となり、タンパク質同士の架橋反応が起こることが判明していました。しかし、すべてのRelishがTGにより、タンパク質架橋体を形成するわけではなく、一部架橋されないRelishも存在することが分かっていました。生体内には、TGの基質となりうる第一級アミンを有した

ポリアミンとよばれる物質が存在しています。ポリアミンは、細胞の分裂や増殖に必須であり、細胞内では数mMの濃度で常に生合成されています。そこで、組換え体タンパク質を作製し、試験管内での反応を行ったところ、TG依存的にポリアミンがRelishに修飾されることが分かりました。さらに、ショウジョウバエにポリアミンを摂食させ、生体内での免疫応答を調べたところ、TG依存的に免疫の抑制が起こることが判明しました。TGやポリアミンは、細菌からヒトまで進化的に保存されています。今回の論文をきっかけに、他の生物におけるTGやポリアミンの生理的重要な現象の分子機構解明につながることを期待しています。

最後になりましたが、本研究を推進するにあたり、実験計画から論文作成まで、親身な指導して下さった川畑俊一郎先生、実験指導や論文の細かな校正をして下さりました柴田俊生先生にはこの場をかりて厚く御礼申し上げます。また、会員皆様の御研究と日本比較免疫学会の益々の御発展をお祈り申し上げます。





古田優秀論文賞を受賞して

東北大学大学院
薬学研究科
見目 裕之

この度は栄えある日本比較免疫学会古田優秀論文賞を賜り、誠にありがとうございます。本受賞にあたり、比較免疫学会会長の中西照幸先生をはじめ、学術集会長の笠原正典先生、学術集会事務局長の宮武由甲子先生、並びに選考委員の先生方に深く感謝申し上げます。また、本論文賞創設の機会をお作り下さった故古田恵美子名誉会長に厚く御礼申し上げます。

「病は気から」の経験的な事実にある通り、脳・神経系は生体防御機構や免疫系を直接制御している可能性が示唆されています。しかしその生物学的基盤はほとんど解明されていません。受賞論文「A Subset of neurons controls the permeability of the peritrophic matrix and midgut structure in *Drosophila* adults」(Kenmoku et al., *J Exp Biol.* 219, 2331-2339, 2016) では、ショウジョウバエ成虫において病原細菌の経口感染抵抗性に必須の機能を果たす神経細胞群(NP3253-GAL4 陽性神経細胞群)を同定し、それらが腸管形態や囲食膜などの腸管バリア機能の維持に必要である可能性を示すことができました。

第29回学術集会の講演でもお話いたしました。本研究は私が学生時代に行った内容であり、元々は石川先生(現 OIST 免疫シグナルユニット准教授)の着想から始まりました。神経-免疫クロストーク機構は存在こそ示唆されていますが、科学的な証明は未だ不十分です。そのような状況に一石投じようと、石川先生は病原細菌感染時における自然免疫系の制御に脳・神経系が関与していると予測し、モデル生物ショウジョウバエを用いた神経細胞群のスクリーニングを計画・実施しました。結果として、腸管恒常性の維持に必須の役割を果たす神経細胞群を同定することができましたが、結果が出るかわか

らない、いわば「賭け」のようなスクリーニング(スクリーニングはそういうものかもしれませんが)に踏み切った石川先生、その判断を下した倉田教授のセンスに脱帽でした。



NP3253-GAL4 陽性神経細胞群が同定されてからも、その機能解析には困難を伴いました。NP3253 神経の活動を阻害したショウジョウバエ成虫は特に表現型を示しませんが、細菌を経口感染させると腸管から体液中へ漏出する劇的な表現型を示すため、もはや何が起きているのかわかりませんでした。研究が行き詰まりを見せた中、倉石先生の研究内容や九州大学川畑先生の囲食膜の研究内容からヒントを得ることができました。その後、NP3253 神経を阻害した個体で囲食膜のバリア機能が崩れていることや腸管上皮組織の構造が崩れている様子を観察できたとき、私は喜びと研究の面白さを感じました。

生命機能解析学分野は自然免疫と発生生物の研究室であり、当時神経系に関する研究はあまりなされていませ

んでした。そのような中で神経系の解析を必要とする本研究の進展は、多くの先生や先輩方のお力添えがなければ実現しなかったと感じております。研究の世界は常に競争で閉鎖的ではありますが、学会などを通して同業界はもちろん他業界の先生方や研究者とディスカッションする機会が非常に重要だと実感しております。

ご存知の通りショウジョウバエは自然免疫研究の知見が厚いだけでなく、分子生物学的手法により神経細胞の活性化や抑制を任意のタイミングかつ単一細胞レベルで操作可能なモデル生物です。病は気からの研究、というところでは哺乳類を想像するかもしれませんが、しかし、哺乳類での自然免疫の発見はショウジョウバエでの研究が発端となったように、「病は気から」の証明も哺乳類以外の生物種から証明されるかもしれません。今後そのような研究成果が当学術領域から発表され、哺乳類に対しても有用な知見が得られることを期待しています。

末尾になりますが、本研究を推進するにあたりご指導ご鞭撻を賜りました、生命機能解析学分野の倉田祥一朗教授、矢野環准教授、金沢大学の倉石貴透准教授、そして共著者の皆様に深く感謝申し上げます。比較免疫学会の皆様におきましても、今後ともどうぞよろしくお願い申し上げます。



古田奨励賞 受賞の御礼とご挨拶



国立研究開発法人 水産研究・教育機構
増養殖研究所 魚病研究センター
日本学術振興会特別研究員 PD
松浦 雄太

この度、「魚類白血球の細胞傷害機構に与するセリンプロテアーゼの同定」についての発表に対し、日本比較免疫学会古田奨励賞を賜りました、増養殖研究所(学振特別研究員 PD)の松浦雄太と申します。このような大変栄誉ある賞を賜り、身に余る光栄でございます。受賞に際しては、日本比較免疫学会会長の中西照幸先生をはじめ、選考委員の先生方、大会事務局の先生方ならびに学会運営に携われた会員の皆様方に厚く御礼申し上げます。また、古田奨励賞の創設者であります故古田恵美子名誉会長に深く感謝申し上げます。

私は、細胞性免疫研究のモデル魚であるギンブナを用いて、魚類の細胞性免疫、中でも細胞傷害機構に関わる分子についての研究を行ってきました。魚類の細胞傷害機構はその多くが未だ解明されておりません。哺乳類で知られている細胞傷害関連因子のホモログ遺伝子は多数報告されていますが、どの分子が機能的でそこにどのような作用機序があるかについて調べることは容易ではありませんでした。そこで、哺乳類のホモログ遺伝子を参考に遺伝子を見つけるという従来のアプローチを転換し、生体内において実際に活性を有する「内因性タンパク質」に着目しました。

白血球の細胞傷害活性を阻害するセリンプロテアーゼ阻害剤を用いて、細胞傷害に与する酵素の探索を試みたところ、合成ペプチド基質 α -GPR-MCAを加水分解するトリプシン様セリンプロテアーゼが細胞傷害に与していることが示唆されたため、この酵素を精製することにしました。これにより、酵素性状の解明、N 末端アミノ酸配列の解読が実現しました。さらに、解読したアミノ酸配列を参考に遺伝子の単離を行

なったところ、本遺伝子は myofibril-bound serine proteinase という魚類の筋肉由来酵素と最もよく類似していることがわかりました。この遺伝子は現在のところ魚類でのみ見つかり、その機能はよくわかっておりません。さらに、筋肉由来の酵素が免疫に関与している点は大変新奇性の高い話題であると言えます。本研究は未だ始まったばかりですが、将来的には、魚類で初めて発見された本酵素を哺乳類等でも同定し、様々な生物においてその生物学的意義を証明できたらと夢見ております。

魚類においても、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が細胞傷害を担う細胞として知られています。しかし、今回精製した酵素の遺伝子は CTL に発現しておらず、一方で、顆粒球並びにマクロファージに発現していることが判明しました。各細胞集団の酵素活性を測定した結果も同様、顆粒球並びにマクロファージでのみ活性が確認されました。このことから、本酵素は顆粒球あるいはマクロファージによる細胞傷害に関与する分子であることが想定されます。他にも、CTL 等の細胞傷害を補助するような、何か間接的な機能があるのかもしれませんが。今後はこのような点に着目し、本酵素の作用機序について解明していきます。

と考えております。また、近縁魚種であるゼブラフィッシュにおいても本遺伝子の単離に成功しましたので、トランスジェニック魚の作出など分子生物学的なアプローチも活用していきたいと考えております。

今回初めて日本比較免疫学会学術集会にて発表させていただきましたが、日本比較免疫学会は様々な生物種、様々な学問領域が混ざり合う非常に有意義な学会だと感じました。このような環境の中で多くのことを勉強させていただき、さらには、多くの先生方からご意見を頂戴し議論できたことが、自身の研究内容に還元されることは言うまでもありません。今後は、古田奨励賞の名に恥じぬ様、これまで以上に研究活動に邁進する所存です。

最後になりましたが、本研究を遂行するにあたりご指導頂いた、日本大学大学院獣医学研究科の中西照幸特任教授ならびに森友忠昭教授、日本大学大学院在学中に共に研究に励んだ研究室の皆様、増養殖研究所 魚病研究センター 免疫グループの皆様には心より感謝申し上げます。今後ともなお一層のご指導、ご鞭撻を賜ります様よろしくお願い申し上げます。



第30回学術集会長からのご挨拶



第30回学術集会のご案内

日本大学
生物資源科学部
森友 忠昭

皆様にはご清祥のことと存じます。この度、第30回学術集会のお世話をさせていただくことになりました。日本大学での開催は、現会長の中西照幸先生が第21回学術集会を開催されて以来ですので、9年ぶりです。今回の学術集会は、免疫学における最近の進歩を比較免疫学分野の導入し、共有する場としたいと考えています。皆様のご参加をお待ちしております。

記

1. 会期:平成 30 年 8 月 21 日(月)~23 日(水)
2. 会場:日本大学生物資源科学部 湘南キャンパス
3. 連絡先:本大会に関するお問い合わせは、下記の大会事務局にお願いします。
第 30 回日本比較免疫学会学術集会事務局
〒252-0880 神奈川県藤沢市亀井野 1866
日本大学 生物資源科学部獣医学科 魚病／比較免疫学研究室
Tel: 0466-84-3381
Fax: 0466-84-3384
事務局長:片倉文彦
4. 日程および内容(内容については現時点での予定です)
第 1 日目 8 月 21 日(月)
午後 <開会の辞>
<一般講演>
第 2 日目 8 月 22 日(火)
午前 <一般講演>
午後 <総会, 古田賞, 奨励賞, 優秀論文賞発表ならびに表彰>
<古田賞受賞者講演>
<古田優秀論文受賞者講演>
<特別講演>
<記念撮影>
<懇親会> 日本大学湘南キャンパス・本館ガレリア階「スエヒロ」
第 3 日目 8 月 23 日(水)
午前 <シンポジウム>
<閉会の辞>
5. 参加費
正会員, 非会員:5,000 円
博士課程後期学生:3,000 円
修士課程(博士課程前期)学生, 学部学生:無料
6. 懇親会費
正会員:4,000 円
博士課程後期学生:3,000 円
修士課程(博士課程前期)学生、学部学生:無料

特別寄稿 I



日本比較免疫学会との 29年間のお付き合い

日本大学医学部 一般教養系 生命倫理分野
大竹 伸一

札幌で開催された日本比較免疫学会第29回学術集会から戻り、講義や学生のようなケアをしなければならない現実に戻されてしばらくした頃、JADCI News への寄稿依頼のメールをいただきました。山口大学の澤田さんと私が現役最後の学術集会参加で、ホヤの生体防御の研究グループが比較免疫学会から消滅？してしまうかもしれない存在となってしまったこと、私たちは日本比較免疫学会設立時からのメンバーだったこと、加えて日本大学医学部生物学で数年間事務局をお引き受けしていたことなどの事情から過去に寄稿された多くの著名な先生方(こよなくお酒を愛し、延々と続く懇親会でざっくばらんに接して下さるので、つい意識しなくなります)のような示唆とユーモアに富んだ原稿は書けませんが、思い出すままに書かせていただこうと筆を起しました。

1985年田中邦男先生が教授に就任されて2年後、宍倉文夫先生が着任して日本大学医学部生物のホヤの生体防御機構の研究が本格的に始まり、私もチームに加えていただきました。全くの独学自己流で電顕を使っていたので、田中先生の指導のもと血球の微細構造

による分類と食細胞の同定から、私のホヤの生体防御研究が始まりました。それまで、石田寿老先生の指導で細々と「オタマジャクシに胃があるか」どうか調べていましたので、ホヤの血球を誰がどこまで調べているのかさえ全く知らない状態からのスタートでした。

1989年日本比較免疫学会第一回学術集会は、11月28日から30日までエーザイホールで行われ、私も2日目の13時に一般講演を行いました。発表時間は16分、質問4分。10月の日本動物学会でホヤの仕事を初めて発表していましたが、比較免疫学会の先生方とは初顔合わせ、おまけに質問時間も他の学会と異なり制限時間があって無いように白熱しており、随分緊張したのを覚えております。そして、何より驚いたのは、会場の後ろに缶ビールが置いてあったこと。私は全くアルコールを受け付けないので、とんでも無い学会に来てしまったと後悔した次第でした。第二回もエーザイホール、第三回は東京医科歯科大学でした。昨年の第28回学術集会は、埼玉医大の和合治久先生が懐かしいこの場所で開催して下さいました。第四回には初めて東京を離れ、山口大学の友永進先生と澤田さんの担当で秋吉台のホテルに泊まり込みで開催されました。この夜の懇親会は、比較免疫学会の歴史に残る活発な議論が夜を徹して戦われ、夏季合宿をしていた有名進学校だったか進学塾の先生に静かにするよう注意を受けたほどでした。この夜を機に学会恒例の夜を徹した議論の伝統が始まったようです。

1998年から、初代会長村松繁先生に代わり、古田恵美子先生が会長に就任

されました。これに伴い、学会の誕生に絶大な貢献をされた獨協医科大学古田先生、小林睦生、山口恵一郎、中村弘明先生のチームを引き継ぎ、日本大学医学部で事務局をお引き受けすることになりました。その後8年間、会計やJADCI Newsの発行など微力ではありましたが、田中、宍倉、阿部健之、大竹の4名で学会の運営に関わらせていただきました。登録上の会員と実質的な会員数に乖離があり、会費納入率が低く頭が痛かったこと。JADCI Newsの編集を一手に引き受けてくれた阿部さんと、学部教務課の印刷機を借りて原稿をプリントアウトし総出で発送したこと、役員会で集会長の先生から色々話を聞くのが楽しかったことなど仕事は大変でしたが懐かし思い出されます。

そのころのJADCI Newsには、古田会長の学会に対する熱い思いはもちろん、村松先生が酉年に絡めてファブリキウス囊の話を書いておられたり、渡邊浩先生がミダレキクイタボヤの群体特異性を発見した際の思い出が寄稿されていたり、はたまた、和合先生が学会前に先乗りして訪れた石垣島で台風に閉じ込められ(私も当事者でしたが)、あわや古田会長が学術集会に参加できなかったかもしれない話など、比較免疫学会の楽しさを彷彿とさせてくれるような文章が毎号掲載されていて、何度も読み返しております。学会の発足当初は、友永先生や帝京大学の山崎正利先生、飯島亮介の御尽力で学術集会の講演要旨がDCIにMeeting Reportとして掲載されており、JADCIの活動を発信するのに大きな効果があったように思います。少人数の手作りの学会という感じでしたが、文字通り同好の士が集まり熱気を

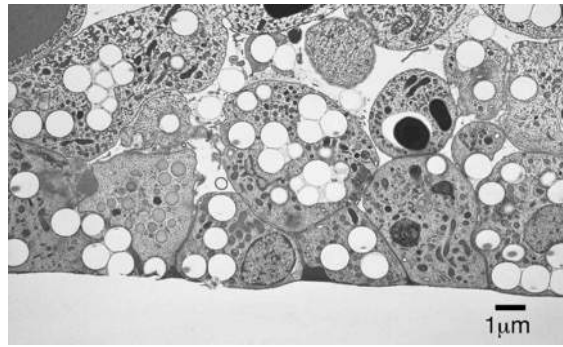


マボヤ

帯びた草創期の活気に満ちた雰囲気だったように思います。しかし、2005 年の JADCI News には吉田彪先生が、学術集会の一般演題が集まりにくいということとを心配されて、活性化委員会を立ち上げることを提案した経緯が記されています。そういえば、学術集会の申し込み期限が近づくと、プログラム委員の中村先生から、演題提出の依頼メールが届いたものでした。九州大学の中尾実樹先生を委員長にして、埼玉医大の木村美智代、北大の安住薫先生、阿部さんなど若手(当時の)メンバーによる「活性化委員会」が立ち上げられ、学会の活性化が計られました。これを期に事務局の活性化も実行して学会の発展に寄与していただこうと、2006 年に九州大学の中尾先生に事務局を引き継いでいただくことになりました。

学会が誕生してしばらくの間は活気もあります、10 年すぎたあたりからはマンネリ化してくるのが一般的かも知れません。私たちが事務局を担当させていただいた時期の後半は、そろそろ学会のアクティビティーが低下し始める時期だったようにも思います。活性化の為に会員数を増やすなどの対策を考えることも大切ですが、会員数が増えて細分化したセッションが多くなるより、適度な会員数、1 会場で参加者全員の講演を聴き、名前すら知らない動物(今年、札幌でもハダカデバネズミなるとんでもなく面白い動物を知りました)の話を知ることができるスタイルが、「比較」という学会のスタイルにマッチしているようにも思います。

さて、第 20 回学術集会記念誌「飛翔」を参考に比較免疫学会における「ホヤ」グループの発表を振り返ってみますと、毎回複数の演題があり、20 回学術集会までに 65 の演題数があったようです。学会発足当初ホヤの生体防御機構に関する研究は、アクティビティーが高く、全くの新参者の私も、この学会での一般公演や懇親会を通して、血球のコンタクトリアクションの富家雅子先生、渡邊浩先生門下の下田臨海の齋藤康典先生や種田保穂先生、北大の横澤英吉先生や安住薫先生、長年共同研究の仲間に入れてもらった澤田さんや秋田大学の石井照久さんをはじめ多くの優れたユニークなホヤ仲間の研究者と知り合うことができたことは幸せでした。一般公



ラテックスビーズを貪食したマボヤの食細胞

演の数から比較免疫学会会員の研究対象になっている動物群をみてみると、魚類、節足動物、軟体動物、原索動物、哺乳類が多いことが分かりました。ただ近年は、原索動物の生体防御に関する演題は一般公演で1 演題か発表が無い年もあるという寂しい状態が続いています。また、両生類や爬虫類の講演が少ないことも意外でした。これらの研究対象の中で原索動物の比較免疫学分野の研究者は、残念ながら学会発足当時に比べ減少傾向にあるように思います。この状況は、日本動物学会における一般講演を見ても同様なようです。研究には、テーマ、対象とする材料、研究手法に大きな流行のようなものがあり、近年は特に研究費獲得に結びつかなければ研究を維持できないことから、流行り廃りのあることは仕方ないものかも知れません。若い研究者がこの分野に興味を持ってもらえるような、魅力的な研究を発信できなかった責任を痛感しています。

生物学において「比較」という言葉の中には、階層性や系統、進化といった問題が含まれていることは当然であり、異なった生物群を比較する共通のツールや言語が必要になります。比較免疫学会が発足した 30 年前は、まだ、それぞれの研究者が自分の研究対象を、独自のツールで研究し発表するという傾向が強かったように思います。従って専門外の動物については興味深い現象であっても、共通基盤での比較は難しかったように思われます。しかし、最近の一般公演をみると扱う動物群はかけ離れていても「遺伝子」という共通ツールまたは言語が確立されているのが分かり、深い部分での「比較」という大きなテーマに取り組みやすくなっています。反面、現象の観察や詳細な記載、機能と形態学的な研究に対する地道な取り組み

みが軽視される傾向があるような気がしています。若い研究者諸君には、渡邊浩先生がミダレキクイタボヤの血管出芽を発見した時、興奮のあまり顕微鏡の接眼レンズが曇ったというお話のように、壮大な研究も美しく巧妙な自然現象の緻密な観察と感動、そして透察から始まることを忘れないでほしいと思います。また、北大の柝内新先生が 1995 年 JADCI News への寄稿で、「当学会の英語は The Japanese Association of Developmental and Comparative Immunology である。発生と比較は、もともと比較免疫学研究の二大柱として認識されていたのだ。」と指摘していることは重要だと思います。日本語名称に「発生」という言葉がないので免疫学が視野の中心にくるように思いますが、新しいツールを用いて免疫系の系統発生学的研究にも大きな貢献がなされることを期待します。

若い研究者もベテランも分け隔てなくアットホームな雰囲気、居心地良く本音で討論でき、多くの人間的な繋がりができることが、日本比較免疫学会の最も良いところだと思います。学術集会に参加することで、古田先生はじめ多くの先達の研究に対する姿勢を肌で感じ、励まされました。そのことが細々とではありますが研究を続ける支えになってきたように思います。現会長中西照幸先生はじめ役員の方のご負担は大変だと思いますが、引き続き若い方も毎年参加したくなるような学術集会を企画していただきたいと期待します。

ホヤのゲノムも公開されて久しいので、系統的にも重要な位置にあるホヤ類の比較免疫機構をテーマにした議論が、比較免疫学会でまた学会発足当時のように活発になるように期待してやみません。

特別寄稿Ⅱ



雑感：ホヤ血球の研究を振り返って

山口大学大学院 医学研究科 器官解剖学講座
澤田 知夫

「札幌での大竹・澤田の発表を最後に、ホヤ関係の発表がJADCIから消えるのでは？」と言われ、一頃はホヤの生体防御・アロ認識の話がJADCIでいくつも聞かれたことを思い出しました。退職前に機会を与えていただいたので、“血球の分類という最初の一步から先に進めなかった”、自身の「ホヤ血球の研究」への反省を含めて振り返ってみました。

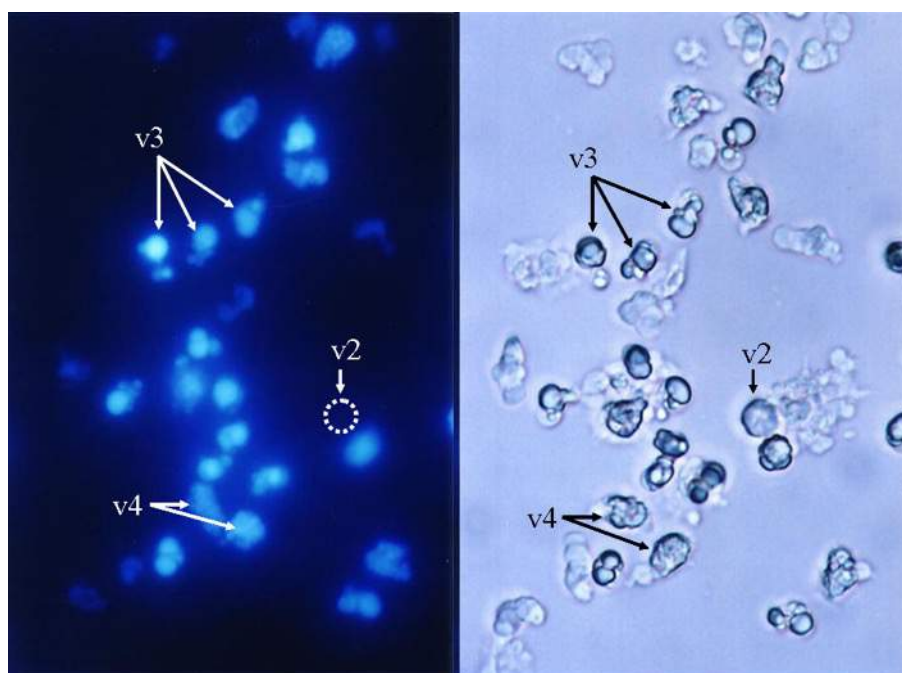
私がホヤの血球を研究対象にして約30年が経ちます。マボヤの血球をはじめて見たとき、その量の多さと種類の多さに驚き、とりあえずは何がなにやら分からないままに観察をやめたことを覚えています。血球分類に関する文献も何十年も前の手書きスケッチくらいしかなく、また、ホヤ類に共通する血球分類のカテゴリーも名称も確立されたものが無いことも知りました。私は生きた状態で血球の反応を見たいと思っていたので、まず光学顕微鏡下で生きたままの血球の識別を考えました。ショ糖密度勾配で血球を分けるのも試みましたが、かなり収率が悪い上に純度も低くて諦め、結局、採取したままの体液をスライドグラスに載せて観察する原始的方法を選びました。位相差やノマルスキー観察で血球を睨み続け、何とか10種類くらいに分けることにしたわけです。

相前後して、マボヤ血球のアロ接触反応を見つけた金沢大の富家先生、電顕でマボヤ血球を観察した日大の大竹さんもそれぞれ血球分類を発表されました。それぞれで一致する処と食い違う処が出て来る状況となり、ホヤの発生学研究者の方々から、何故食い違うのか？一致させて共通見解を出して欲し

いと要望も出てきました。大阪市大の団先生の呼びかけで皆が集まったこともありましたが、「観察法や分類基準を統一できなければ、研究者の数だけ分類法が生まれる」という現実を実感しました。その解決には、複数の分類表を付き合わせて一致させるよりも、先ず共通理解を持てる特徴や現象・機能を通して一つずつ確認していく必要を考えさせられる結果となりました。その後、液胞細胞にはUV照射で強く蛍光を発するものとそうでないものが居る(写真)、塩化アンモニウム処理で液胞が顆粒化するものもある、phagocytesの一つ(澤田：p1、大竹：SG)は細胞質融合によって巨大なシートを作る、fibroblastic cells(澤田：sg、大竹：LG)が同種細胞だけ

の大きな凝集塊を作るなどいくつかの特徴を見つけたものの、それらを機能的側面と合体させた仕事に成熟させられないままになってしまいました。

血球分類については、UCLAでエボヤ血球を扱った時にも、以前に切片観察などで分類された血球分類とは別に、生きた状態と*in vitro*での染色・識別を基にして新たに分類し直すことから始めました。私は主な血球グループだけに注目して4種類に簡略化してしまったのですが、その後の研究者は再び10種類近くに増やしています。こんな状況を他分野から見ると、何か自分勝手に不毛な“分類のための分類”を繰り返しているようにしか見えなと思いますし、



UV照射：v1、v3、v4の液胞が強い蛍光を発する

透過光観察：v2の液胞はコントラストが弱い

かつて私も自分で分類を始める前には同じ感想を抱いたことがあります。マボヤ血球を 10 種類に分けたとき、発生を研究するホヤグループの方々に「ヒトには数種類の血球しかないのに、何故ホヤにはそんなに多くの種類が必要なのか？ 細かな違いにこだわり過ぎじゃないのか？」と言われたこともあります。しかし免疫・生体防御の研究者であれば、ヒトの血球(血球系細胞)が 10 種類どころではなく、さらに細分化されていることをご承知と思います。問題は種類の多さではなく、分かりやすい機能や形態的特徴と、分ける意義(機能的分化)の明確化にあるのだと考えています。

無脊椎動物での血球分類は、よく哺乳類の血球分類と比較されてしまいます。しかし現在では多分、哺乳類の“血球分類”の方が、はるかに細かく複雑で多種類です。ヒトの血球は赤血球、血小板、3つの顆粒球、リンパ球、単球だけと一見単純に見えるのかもしれないけれど、肥満細胞や樹状細胞のような血管外の“血球”、組織に遊走したマクロファージ、B 細胞の変化した形質細胞などを入れれば数は増えます。開放血管系のホヤでは血球の居場所に組織・血管の区別がないと考えれば、種類数はほぼ同じ。ホヤ血球の一つに「fibroblastic cells」と名付けて怪訝な顔をされたこともありますが、90 年代に哺乳類・循環血中で

見つかった骨髄由来の「circulating fibrocytes : CD45⁺ collagen I⁺ CXCR4⁺ cells」が組織修復に動員されるという報告からすれば、組織修復の為に“線維芽細胞っぽい(?)血球”がホヤ体液中にあって当然とも思われます。また、細胞質に乏しい小さな細胞が hemoblasts と lymphocyte-like cells (LLCs) のどちらなのかという議論もありましたが、どちらにしてもそれぞれを確認できる識別法を確立するまでは便宜上の名称に過ぎないと思います。通常の血液検査や組織学実習にしても、“リンパ球”の項目には形状で識別できない少数の造血幹細胞や circulating fibrocytes が含まれているし、私が医学部に来て現在までに表面抗原で識別可能となった NK 細胞、B 細胞、NK 細胞や数種の Th 細胞・CTL 細胞などには分けられていないのですから。

医学部に来るまでは受精現象を扱い卵と精子だけの識別でよかった私は、学生・院生時代を通して哺乳類の血球すらまともに知らず、解剖・組織学の教室でホヤ血球と同時にヒト血球の分類も勉強することになりました。当初は「哺乳類では既に血球の分類や機能が判明しているが、ホヤでは何も分かっていないので、早く分類も機能も分かるようにしたい・・・」という思いがありました。でもその後哺乳類・血球を知るにつれ、哺乳類でもそうでもなかったかと思うよ

うになりました。未だに良く分からない好塩基球の必要性?や、“リンパ球系”由来のマクロファージの可能性などについて学生に講義していると、哺乳類もマボヤも「とかく血球(自由細胞)の研究はなかなか難しい」と感じるようになりました。そして、免疫学会などでマウス・ヒトの研究者の多さを見ると、「片手の指くらいしか研究者が居ないマボヤ血球の研究は、まあこんな処かも」とも感じてしまいます。

何故か、ホヤのゲノム情報が明らかになる一方でホヤ血球やホヤの生体防御の研究者が減ってしまい、遂に、マボヤ血球を使った遺伝子レベルでの解析を JADCI で聞かないまま、とりあえず私も大竹さんも現役を終えることになったのは残念な気がします。しかし、ホヤが脊椎動物の祖先であること、マボヤが手に入りやすく大量の血球細胞を得られること、ゲノム情報が解読されている事、ホヤの発生学では遺伝子導入など遺伝子レベルで実験的解析が行われている事に期待し、遠からず新時代のホヤ血球研究者が現れることを信じています。できれば、血球の形態を見てきた研究者が消え去る前に(・・・でないと、また、血球分類の一から始めなくては行けない)。

広報からのお願い

広報では、会員の皆様からの JADCI News へのご寄稿を募集しております！

実験動物の紹介や、実験手法のちょっとしたコツの紹介は、レギュラーコンテンツとして継続中です。皆さまのご寄稿をお待ちいたしております。

その他、エッセイ、JADCI へのご意見・ご提言をはじめ、書評や書籍の紹介、論文紹介なども歓迎いたします。また、会員のユニークな取り組み(研究だけでなく教育も含め)についても紹介していきたいと考えています。自薦・他薦問いませんので、どうぞよろしくお願いいたします。

ご寄稿の際は、事務局(jadci2office@gmail.com)までお寄せ下さい。

私の実験動物 #3

クルマエビ

国立研究開発法人 水産研究・教育機構
増養殖研究所 魚病診断・研修センター
稲田 真理

クルマエビは、日本で最も盛んに養殖されている大型のエビです。クルマエビの特徴については「ガイドブック クルマエビ類の成熟・産卵と採卵技術(奥村ら, 平成 26 年 2 月農林水産省委託事業)」に詳しい記載があり、この書物から生物としての基本的な情報や個人的に面白いと思った内容を紹介させて頂きたいと思います。

◆生物としての特徴

ライフサイクルについて、メスが脱皮直後で殻が柔らかい状態のとき交尾が行われることから、産卵に関してオスは関与しないと考えられている。産卵は夜間、主に灘海域の水深 20~100m において行われ、海水中に放出された受精卵は 13~14 時間かけてふ化してノープリウス幼生になり、その後、ゾエア→ミシス→ポストラーバ(私たちが目にするクルマエビの形態)へ成長し、ポストラーバ期になりたての頃は浮遊生活を送る(図1)。クルマエビは夜行性の生物であり、浮遊生活を終えたのちに干潟へ移動して

日中は潜砂し、夜、活動するという稚エビ時代を過ごす。その後、成長するに伴って沖合へと生息場を移し、深場に移動する過程で性成熟が進み、4~10 月に複数回、産卵する(寿命は3年程度)。

食性について、エビ類は小型甲殻類、二枚貝、多毛類など様々なものを食することから海の掃除屋として知られているが、それはポストラーバ期~成体の食性を指しており、浮遊生活を送る幼生期においては、ゾエア期では珪藻などの植物性プランクトンを、ミシス期ではブラインシュリンプなどの動物性プランクトンを捕食する(ノープリウス期は摂食しない)。

◆クルマエビ類の分類、クルマエビの生息域と遺伝的集団の関係

クルマエビ(*Marsupenaeus japonicus*)は、現在、*Marsupenaeus* 属に 1 属 1 種として位置づけられている。以前は、クルマエビと近縁種であり主に東南アジアで盛んに養殖されているバナメイエビ

(シロアシエビ)、ブラックタイガー(ウシエビ)などとともにクルマエビも *Penaeus* 属(*Penaeus* 属; 6 亜属、28 種)に分類されていた。しかし、海域や気候等の生息環境や交接器、額角、肝隆起等の形態的特徴、日周活動、潜砂習性、交尾行動等の生態的特徴の違いから以前は亜属として扱われていたものが属に格上げされた。その結果、*Penaeus* 属は 6 属に細分され(*Marsupenaeus* 属、*Litopenaeus* 属、*Penaeus* 属、*Farfantepenaeus* 属、*Fenneropenaeus* 属、*Melicertus* 属)、属名についてクルマエビは *Marsupenaeus* 属、バナメイエビは *Litopenaeus* 属、ブラックタイガーは *Penaeus* 属に改められた。

分布と種類について、自然界においてクルマエビは、日本周辺では太平洋側は松島湾、日本海側は陸奥湾まで分布していることから、日本はクルマエビ分布の北限と考えられている。日本周辺以外にも、インド洋、地中海東部~紅海、太平洋西岸域に分布していると考えら

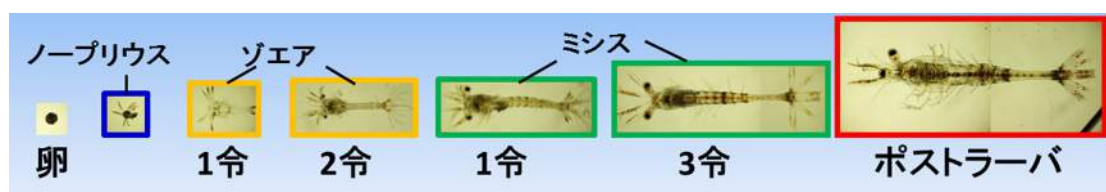


図1:クルマエビの幼生期

れていたが、2004 年、Tzeng らによって日本、東シナ海、南シナ海、台湾海峡に生息するクルマエビのミトコンドリア DNA の塩基配列の解析が行われ、日本のクルマエビは他の海域に生息するクルマエビと異なる地域集団を構成している可能性が示唆された¹⁾。2005 年、Tsoi らによると、頭胸甲の紋様によってクルマエビをⅠ型とⅡ型に区別することができた。遺伝子多型解析の結果においてⅠ型とⅡ型間では明らかな遺伝組成の差が認められたことからクルマエビは一種でなく二種に分けられ、日本にはⅠ型、シンガポールにはⅡ型、香港には両方が生息していると考えられた²⁾。さらなる解析の結果、クルマエビのⅡ型が別種 (*Penaeus pulchricaudatus*) であり、東南アジアやインド洋、地中海、オーストラリアに生息していたのは日本周辺のクルマエビではなく、*Penaeus pulchricaudatus* であると、2014 年に Tsoi らは報告している³⁾。

私はこれまでエビ類の疾病や生体防御因子に関する研究を行っており、病原体の宿主特異性と宿主の生体防御機構に大変興味を持っている。クルマエビ類は多くの疾病に罹ることが知られているが、海外で発生している疾病のほとんどが日本に未侵入である。様々なエビ類の疾病の中でも、我が国の水産業に大きな被害をもたらすおそれのある疾病を農林水産省が「輸入防疫対象疾病」または「特定疾病」として定めており、エビ類については現在 10 種類の疾病がその対象となっている³⁾。クルマエビ類の中でも、エビの種類によって病原体に対する感受性が異なることがこれまでの研究で報告されており、例えばイエローヘッド病 (YHD) は、クルマエビ類に病原性を示すが、特にブラックタイガーに対して高い病原性を発揮する⁴⁾。もし日本のクルマエビ

が他の地域のクルマエビと別種とすると、他国のクルマエビと日本のクルマエビの病原体に対する感受性に違いがあるのか気になる所存である。

◆性成熟とホルモン

甲殻類の眼柄を除去すると成熟が進むことが知られており、この基礎的知見を応用して、眼柄除去によってエビ類の性成熟を人工的に促進させる技術が開発された。眼柄の中にある内分泌器官によって成熟を調節するホルモンが分泌されるため、眼柄を切断することで卵黄形成抑制ホルモンの分泌を抑えることができる。その結果、メスでは卵巣が発達し、オスでは造雄腺の肥大と精巣の発達が生じる。オスについて、卵黄形成抑制ホルモンが

造雄腺の抑制に働いている可能性が示唆されているが、眼柄因子は不明である。

エビ類の生体防御機構に関する知見はショウジョウバエをはじめとする昆虫類の知見と比較して圧倒的に少なく、エビ類の内分泌や生体防御機構を研究する上で昆虫の知見は非常に役立つ。エビ類は無脊椎動物の中でも、分子系統解析では比較的昆虫類に近縁であることが知られているが、昆虫とエビ類とは体の構造は大きく異なり、生体内においても共通の分子が保存されていないことがある。昆虫だけでなくエビ類の研究を行うことで生物の進化の理解に貢献できるのではないかと考えている。

参考文献

1. Tzeng TD, Yeh SY, Hui CH. Population genetic structure of the kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) in East Asia inferred from mitochondrial DNA sequences. *ICES J Mar Sci.* 2004; 61: 913-920
2. Tsoi KH, Wang ZY, Chu KH. Genetic divergence between two morphologically similar varieties of the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicas*. *Mar Bilo.* 2005; 147: 367-379
3. Tsoi KH, Ma KY, Wu TH, Fennessy ST, Chu KH, Chan TY. Verification of the cryptic species *Penaeus pulchricaudatus* in the commercially important kuruma shrimp *P. japonicus* (Decapoda: Penaeidae) using molecular taxonomy. *Invertebr Syst.* 2014; 28(5): 476-490
4. 特定疾病診断マニュアル (平成 28 年 10 月、公益社団法人 日本水産資源保護協会、<http://www.fish-jfrc.jp/02/pdf/H28diagnosticmanual.pdf>)



著者プロフィール

稲田 真理 (Inada Mari)

2013 年 3 月、宮崎大学大学院農学工学総合研究科で学位(農学)を取得後、日本学術振興会特別研究員(PD)を経て 2014 年 9 月、水産研究・教育機構増養殖研究所 任期付研究員に採用され現在に至る。学生時代から現在まで、クルマエビの殺菌・殺ウイルス能を持つフリーラジカル生成酵素や細胞間の情報伝達分子であるサイトカイン／細胞増殖因子の研究を行っている。現職についてはエビ類だけでなくマガキやアワビ等の貝類を含めた水産無脊椎動物全般の病原体の特性解明や疾病迅速診断技術の開発、細胞株作製等に取り組んでいる。

留学体験記 -ドイツにおけるポスドク生活-



第2回 ドイツのクリスマス

Friedrich-Loeffler-Institut
山口 卓哉

早いもので今年も残すところあと僅かとなりました。こちらドイツでは寒さが厳しさを増し、日照時間も日に日に短くなり(日の出は朝 8 時頃、日の入は夕方 4 時前)、まさに冬本番を迎えつつあります。今回は、ドイツにおけるクリスマス期間の過ごし方にフォーカスしてみたいと思います。ドイツでは宗教的・歴史的背景から、日本とは異なり、お正月よりもクリスマスが重要視されています。お正月はカレンダー次第では 2 日から仕事始めであるのに対し、クリスマスは国民の祝日である 12 月 25 日・26 日の前後に有給休暇を併せて 1 週間ほどの休みを取り、日本のお正月のように家族で集まって過ごすというのが一般的なようです。ですから、クリスマス期間はほとんどのお店は閉まり、普段静かな小さな町がさらにしんと静まり返ります。FLI も同様にほぼ無人になります。もちろん仕事をしにいくことはできますし、実験動物等についても担当の職員の方が年中無休で毎日ケアをしてくれます。また、クリスマスの前、12 月上旬から中旬



クリスマスマーケットの様子

にかけては、職場やスポーツクラブ等それぞれのコミュニティ単位でクリスマスパーティーが開催されます。この時期のレストランはどこも満席で、さながら、日本の忘年会シーズンようです。私の所属するバレーボールチームのクリスマスパーティーでは、各家庭に眠っている一品をラッピングして交換する“プレゼント交換”が恒例となっています。お酒や食器などが主ですが、今年はなんと自動車のウォッシャー液(不凍)を引き当ててしまいました・・・。

さて、ドイツのクリスマスを語る上で外せないのは、やはり“Weihnachtsmarkt (ヴァイナハツ・マルクト; クリスマスマーケット)”でしょう。近年、日本でも目にする機会が増えてきたクリスマスマーケットですが、もともとは 400 年以上の歴史を持つドイツ発祥の伝統的なイベントです。当初は、住民たちがクリスマスを祝う準備をするための市場として始まったとのことですが、今日では飲食物や雑貨を売る屋台に加え、子供たち向けの観覧車やメリーゴーランドなどのアトラクションも設

置され、夜が長く天気の悪いドイツの厳しい冬を楽しく過ごすためのイベント・お祭りとしての色合いが強いようです。氷点下に迫ろうかという暗い寒空の下でも、屋台の暖かな明かりの中で Glühwein (グリューヴァイン; ワインと香辛料などを温めて作るホット・カクテルの一種) などで体を温め、おなじみの炭火焼きソーセージを頬張っていると、なんとなく心も体も温かくなってくる・・・ような気がします。私自身にとっても、クリスマスマーケットの暖かい雰囲気は長く厳しい冬を過ごすための心の支えのひとつであり、研究を遂行する活力となっています。(続く)



ラボメンバーでのクリスマスパーティー



食欲をそそる暖かな屋台

実験のコツ #2

魚類組織からの細胞浮遊液調製のコツ

日本大学 生物資源科学部
中西 照幸

細胞浮遊液の作製は単純な作業ですが、ちょっとした工夫で細胞の生存率や収率が向上します。例年経験することですが、研究室に入室したばかりの卒論生が調製した細胞の生存率は60%ぐらいですが、経験を重ねるにつれ向上し大学院博士課程の院生やポスドクが調製すると90%以上になります。**細胞の生存率が90%以上ないと正常な細胞の機能を測定したと言い難く、論文を投稿しても受理してもらえません。**

今回は、各種細胞調製法について紹介するとともに、生存率や回収率において優れた細胞浮遊液を調製するコツをお伝えします。なお、魚類の組織とあえて断ったのは、以前アコヤガイの組織や体液から細胞浮遊液を調製する際に、生体から取り出した組織や体液からの細胞が瞬間にシャーレに付着し大変苦労したことから、無脊椎動物の方は別途専門家に紹介してもらった方が良いと思うからです。

1. 各種細胞調製法

1) 金属メッシュ上で組織を磨砕する方法

この方法には2つの方法があります。

A:

- ① 約5 mlの培地(Hanks液など)を入れたプラスチックシャーレに組織を入れる。
- ② 2 cm四方の金属メッシュ(メッシュ数40~60)上で先曲がりピンセットを用いて組織を磨砕します(写真1)。
- ③ 組織の断片や凝集塊が含まれているので、さらに目の細かい金属メッシュ(メッシュ数80~100)あるいはプランクトンネットを用いてろ過します。これで大きな凝集塊を除いた細胞浮遊液ができます。
- ④ さらに、細かい凝集塊を除く必要がある場合には、低速回転(200 rpm, 3 min)で遠心して凝集塊を遠沈し上清を採取します。

B:

- ① 50 mlあるいは15 mlチューブ上に、目の細かいスチールメッシュを載せる(写真2)。
- ② 5 mlあるいは10 mlシリンジの内筒の黒いゴムの部分を用いてメッシュ上で組織を磨砕します(写真3)。

B法の利点は、磨砕とろ過を同時に行えるので、使用する器具や手間が省けます。しかも、チューブやシリンジはガス滅菌されているので無菌操作が容易です。金属メッシュについてもオートクレーブをしたものがない場合には、アルコールでスプレーした後パーナーで炙れば即座に滅菌できます。

この方法で重要なことは、メッシュ上の組織をシリンジの内筒の黒いゴムの部分で、**軽くポンポンと叩く**ようにすることです。免疫細胞は組織と強く結合していないので、軽く衝撃を加えるだけで組織から遊離してきます。決して、シリンジの内筒を播粉木の様に動かして細胞を押しつぶさないことです。ゴマをすったように細胞も壊れてしまいます。



写真1: 金属メッシュ法 A 法



写真2: 金属メッシュ法 B 法(磨砕前)



写真3: 金属メッシュ法 B 法(磨砕後)

2) ツベルクリン用シリンジを用いる方法

この方法は、医学分野でもよく用いられる方法ですので、ご存知の方も多いと思います。

- ① プラスチックシャーレに組織を入れ、眼科用ハサミで組織を細かく切り刻みます。
- ② ツベルクリン用の 1 ml シリンジを用いて、培地とともに細かく刻んだ組織片を吸引し、その後吐出と吸引を繰り返します(写真4)。これで凝集塊を含む細胞浮遊液ができます(写真5)。
- ③ あとは、1)の方法と同様に、目の細かいスチールメッシュあるいはプランクトンネットを用いて凝集塊を除きます。

この方法において重要なポイントは、シャーレの底とシリンジの先端との隙間を適切にとることです。隙間が狭いと余分な圧力が必要で、時には暴発してせっかくのサンプルを無駄にする危険性があります。

3) スライドグラスを用いる方法

この方法は、ダウンスのホモジナイザーの原理と同様です。

- ① プラスチックシャーレに組織を入れる。
- ② 2 枚のスライドグラスのすりガラスの間に組織を挟んで、こすり合わせます(写真6)。

組織塊が小さくなるにつれ丁寧に集めて処理する必要があり、シリンジを用いる方法に比べ時間を要します。上記のツベルクリン用シリンジを用いる場合と同様に無菌操作が容易で、新しいシャーレを使用すれば滅菌済みで、スライドグラスはアルコールでスプレーした後にバーナーで炙れば即座に滅菌できます。



写真4:シリンジ法

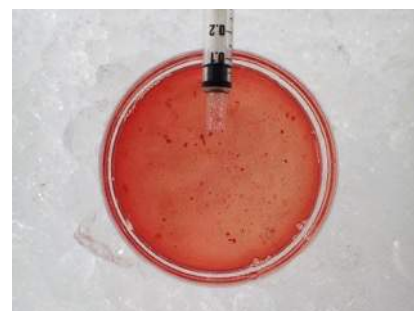


写真5:シリンジ法(磨砕後)

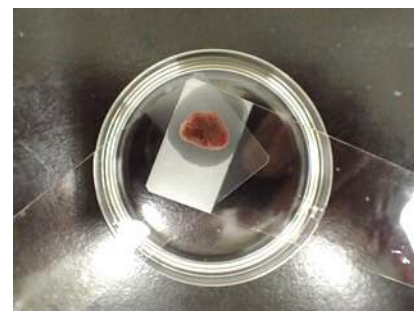


写真6:スライドグラス

2. 細胞浮遊液作製のポイント

① 先ず、細胞の処理は氷上で作業を実施するなど遠心操作も含めて低温下で行います。② マクロファージや顆粒球は器具に付着しやすいので、使用する器具(メッシュ、チューブ、ピペットチップなど)はすべてシリコン処理を施しておきます。③ 実験条件により細胞の状態が良くないときは、死細胞の核由来の高分子 DNA により、正常な細胞も巻き込まれて凝集塊を形成し(アグリ)、遠心しても細胞が沈殿しない場合があります。このアグリを防ぐために、事前に Hanks 液や PBS に Heparin(10 IU)を加えておきます。アグリが深刻な場合には、

DNase(0.1 mg/ml)を使用すると解決します。ただし、その後DNAを抽出する場合にはもちろん使えません。④ 細胞の生存率の向上のためには、細胞調製用の Hanks 液や PBS に予め 0.5%~2%程度の牛胎児血清(FBS)を加えておくことも有効です。⑤ 遠心後の細胞のペレットを再浮遊させる場合には、ボルテックスミキサーを使うことは厳禁です。軽く遠心チューブの底をタッピングし、ペレットを攪拌し再浮遊させます。とにかく、細胞をやさしく取り扱うことが重要です。

3. リンパ器官以外の組織からの細胞浮遊液調製法

リンパ組織の場合は、容易に細胞を遊離させることができますが、通常の組織から免疫細胞を遊離させるには特別な操作が必要です。例えば、肝臓、腸、膵などから免疫細胞を遊離させるには、以下の操作を行います。なお、腸管の場合は事前に PBS を用いてピペッティングにより内容物を除去しておきます。また、膵の場合には Heparin(10 IU)を含んだ PBS にて灌流により膵の血管内の赤血球を出来るだけ除きます。

- ① 先ず、PBS + 1mM DTT + 1mM EDTA を用いて 15 分間インキュベートします。
- ② 組織片をシャーレに入れ、眼科用ハサミで細切します。
- ③ 次に、下記の溶液に組織を入れ、シェイカーに載せ 2 時間室温で振とうします。
CMF-Hanks + 5%FBS + Collagenase (0.1mg/ ml) + DNase (0.1mg/ml)
- ④ 組織が十分柔らかくなった時点で、上記 1)~3)に述べた方法で組織を磨砕し細胞浮遊液を作製します。

事務局からのお知らせとお願い

●第30回学術集会の開催予定

会期:平成30年8月21(月)-23日(水)

会場:日本大学生物資源科学部 湘南キャンパス

学術集会長:森友忠昭先生

(日本大学生物資源科学部)

●次期会長選挙について

会則に従いまして、次期会長選挙を行うこととなりました。投票用紙など詳細はメール便にて、年会費などの書類と一緒に春頃にお送りいたします。ご協力をお願い申し上げます。

●古田トラベルアワードの募集

2018年度は国際比較免疫学会(ISDCI)の学術集会が開催されます(アメリカ合衆国、ニューメキシコ州サンタフェ、6/17-21)。それに伴い、若手研究者の参加支援として古田トラベルアワードの応募者を募集いたします。締め切りなど詳細な情報は、古田賞、古田優秀論文賞の情報と併せて、年会費などの書類と一緒に春頃にメール便でお送りいたします。

●所属・住所が変わったらご連絡を！

所属や住所に変更が生じた場合には、事務局まで至急ご連絡下さい。メールかFaxでお願いいたします。書式は特にありませんので、「氏名、住所、所属、電話/Fax番号、メールアドレス」をご連絡下さい。

●退会についてもご連絡を！

今年度で卒業、修了する学生さんなど、今年度で退会を予定の方は、学会事務局まで至急ご連絡ください。E-mailかFaxでお願いいたします。遅くとも2018年2月末日までにご連絡いただけると助かります。

●新会員の入会を歓迎いたします！

皆様のお近くに、比較免疫学にご興味の方がおられましたら、本学会への入会をぜひともお勧めいただけますようお願い申し上げます。メールで下記の情報を事務局までお知らせ下さい。

年会費(一般の個人会員:5,000円、博士後期課程院生:3,000円、入会金なし)の振替用紙を郵送いたします。

1. 氏名
2. 氏名(ローマ字)
3. 所属
4. 連絡先(所属先か自宅かを明記して下さい)
郵便番号・住所・電話/Fax番号
5. E-mailアドレス
6. 専門分野
7. 学生会員の場合は、指導教員の名前と学生証のコピーあるいはスキャン画像

発行者

日本比較免疫学会長 中西 照幸

事務局

庶務担当 末武 弘章

住所

〒917-0003

福井県小浜市学園町1-1

福井県立大学 海洋生物資源学部

海洋生物工学研究室内

電話

0770-52-9600

Fax

0770-52-6003

E-mail

jadci2office@gmail.com

Web

<http://plaza.unim.ac.jp/~jadci>

編集

広報担当 古川 亮平(慶應義塾大学)

