The Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology

JADCI News

No.50 2019.6.10

Contents

2 ご挨拶
日本比較免疫学会会長　中西 照幸

3 第31回学術集会のご案内

5 *Essay*
Dual function of a single molecule in defense and development　中西 照幸

7 私の実験動物 *#6*
オキタナゴ *Neoditrema ransonnetii*
北里大学 海洋生命科学部　中村 修

10 留学体験記 −ドイツにおけるポスドク生活−
−第5回 ドイツにおける出産・育児−　実験動物中央研究所　山口 卓哉

11 実験のコツ *#5*
−塗抹標本作製のコツ−
水産大学校 生物生産学科　近藤 昌和

13 事務局からのお知らせとお願い

Collection #6
オキタナゴ

ご挨拶

日本比較免疫学会会長
中西 照幸

木々の緑も日増しに深くなってまいりました。会員の皆様には研究・教育等にお忙しい毎日をお過ごしのこととお察しいたします。

本年度の学術集会は日本生体防御学会との合同学術集会として、9 月4（水）～6 日（金）に九州大学の新しいキャンパス（伊都キャンパス）において、川畑俊一郎教授が集会長となり開催することになっています。皆様方の多数のご参加・発表をお願いいたします。本年度は合同集会として開催するため準備の都合より、発表要旨の締め切り延長や懇親会への当日参加受付等はございません。詳細については、本 News や会員宛のメール、お届けする集会案内をご覧ください。

懸案の生体防御学会との連携強化（特に、相互の学会への参加の問題）については、本年度の合同学術集会の開催準備と運営を通して具体的な課題や問題点を明らかにし、これを踏まえて合同委員会を設置し両学会間で協議したいと考えています。

比較 3 学会との連携・協力については、比較内分泌学会の大橋会長とお会いする機会があり、両学会の会員が数名ずつ集まって親睦会を開催し、お互いの学会が発展するような連携の進め方について話し合うことになりました。

なお、私事ですが、本年 3 月に大学を去り 4 月より民間企業において養殖現場に役立つ魚類の防疫対策に関する開発研究に従事しております。本学会は実利的な研究とは最もかけ離れた学会の一つだと思いますが、農林水産業の現場の問題と取り組みつつ比較免疫学に興味のある研究者の方々にも興味を持ってもらえるような課題も取り込んで、すそ野を広げていければと考えております。会員の皆様方の一層のご支援・ご協力のほどよろしくお願い申し上げます。

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。

学術集会のご案内

2019 年度の学術集会は、日本比較免疫学会と日本生体防御学会との合同で、伊都国遺跡が点在する糸島半島にある九州大学伊都キャンパスにおいて開催いたします。九州大学は、昨年秋に伊都キャンパス移転事業が完了し、広大な敷地に近代的な巨大なビル群が立ち並んでおります。皆様のご参加を心よりお待ち申し上げております。

集会長　川畑俊一郎（九州大学大学院理学研究院・生物科学部門）
集会事務局　柴田俊生（九州大学大学院理学研究院・生物科学部門）

【参加費】

- 事前払い
  正会員：5,000 円
  非会員：6,000 円
  博士課程：3,000 円
  修士課程（博士課程前期）・学部学生：無料
- 当日払い
  正会員：6,000 円
  非会員：7,000 円
  博士課程：4,000 円
  修士課程（博士課程前期）・学部学生：無料

【懇親会】9 月 5 日（木）18:00 開始予定

講演会場から貸し切りバスで糸島半島の海岸沿いにある魚料理屋へ移動します。玄界灘で取れる新鮮な魚料理をご堪能いただきたいと存じます。

懇親会への参加申し込みは、諸準備のために参加人数を確定する必要がありますので、**事前払いのみ**とさせていただきます（**当日参加の受付はできません**）。

- 会費
  正会員：5,000 円
  非会員：6,000 円
  博士課程：3,000 円
  修士課程（博士課程前期）・学部学生：2,000 円

【事前参加申し込み】**締切 2019 年 7 月 31 日(水)**

申し込み用ファイルをダウンロードして必要事項を記入し、JADCI/JSHDR 2019 事務局(担当:柴田俊生)へ電子メールの添付ファイルとして送付してください。
なお、**一般演題の申込みをされる方は、事前申し込みと同時に参加費の事前払い**をお願いいたします。

1. 申し込み用ファイル:下記からダウンロード可能です。
   JADCI-JSHDR2019_form.doc
2. 事務局(柴田):t_shibata@kyudai.jp

【事前払いについて】**締切 2019 年 7 月 31 日(水)**

2019 年 7 月 31 日までに、合同集会参加費と懇親会費の合計金額(例:正会員で合同集会と懇親会への参加者であれば 10,000 円)を下記のゆうちょ銀行の口座にお振込みください。

口座記号番号:**01700-2-170745**
口座名称:**JADCI/JSHDR 2019**
口座名称:**ｼﾞｪｲｴｲﾃﾞｨｰｼｰｱｲ ｼﾞｪｲｴｽｴｲﾁﾃﾞｨｰｱｰﾙ**
加入者振込・振出店:**元岡**

他銀行から振り込まれる場合は下記内容をご指定ください。

店名(店番):**一七九(ｲﾁﾅﾅｷｭｳ)179 店**
預金種目:**当座**
口座番号:**0170745**

なお、懇親会への参加申し込みは、事前払いのみ(当日受付は不可)とさせていただきますが、締切を過ぎて懇親会への参加を希望される方は、事務局(柴田)まで電子メールでお問い合わせください。

【一般演題の抄録送付】**締切 2019 年 6 月 28 日(金)**

抄録テンプレートをダウンロードして、下記要領に従って抄録を作成し、JADCI/JSHDR 2019 事務局(担当:柴田俊生)へ電子メールの添付ファイルとして送付してください。
締切日の延長の予定はありませんので、ご留意願います。

1. MS Word で作成してください。テンプレートは下記からダウンロード可能です。
   抄録／講演者指名(抄録見本).doc
2. 余白は、上部 3 cm、左右 2 cm、下部 3.5 cm としてください。
3. 図表は上記範囲内であれば挿入していただけます。
4. 作成したファイルを電子メールに添付し、事務局(柴田:t_shibata@kyudai.jp)までご送信ください。
5. 電子メールの件名欄には、「抄録／発表者指名」と記載してください。若手研究者(40 歳未満)の方は、件名欄に(若手)と追記してください(例:「抄録／発表者氏名(若手)」)。
6. 事務局が抄録を受け取り次第、受領メールを返信いたします。抄録送付後3日以内に受領メールが届かない場合は、事務局までご連絡ください。

【発表要領】

発表の際のプレゼンテーションには、ご自身のノートパソコンを使用していただきます。お持ち込みのパソコンと会場の液晶プロジェクターとの接続は、D-sub15 ピンを用います。一部のノートパソコンでは付属のコネクターが必要な場合がございますので、忘れずにご持参ください。
バッテリー切れに備え、電源アダプターも必ずご持参ください。

【会場へのアクセス】

- 福岡空港もしくは博多駅からお越しの方
  地下鉄空港線「福岡空港駅」乗車
  ↓
  「博多駅」通過
  ↓
  「姪浜(めいのはま)駅」通過または乗り換え※
  (西唐津行き、筑前前原行きに乗車した場合は、乗り換え不要です)
  ↓
  「九大学研都市駅」下車
  ↓
  昭和バス「九大学研都市」に乗り換え
  ↓
  「**九大理学部前**」で下車
  ↓
  道路の対面が**稲盛財団記念館**
- 本数は少ないですが、博多駅や天神駅から伊都キャンパス直行の西鉄バスもございます。

【その他】

講演やその他詳細な情報については、学会 web サイトを御覧ください。

【問い合わせ先】

〒819-0395
福岡市西区元岡 744
九州大学院 理学研究院 生物科学部門
生体高分子学(川畑)研究室
JADCI/JSHDR 2019 事務局(担当:柴田俊生)
E-mail:t_shibata@kyudai.jp
Tel:092-802-4290

Essay

Dual functions of a single molecule in defense and development

中西 照幸

1 種類の分子が多様な機能を示すことは免疫関連分子において珍しいことではなく、特にサイトカインにおいては他のサイトカインとの機能の重複とともに良く知られている。例えば、IL-1, IL-6, IL-12, TNF, IFN などは多様な機能を有するとともに、作用する細胞の種類により異なった機能の発現を誘導する。これについては、サイトカインが例え特異的なレセプターに結合しても機能の異なる各種の細胞がそのレセプターを発現しており、しかも細胞によりシグナル伝達が異なるからであると説明されている。さらに、1 種類の分子が個体発生の初期に形態形成に関与し、成体においては生体防御に関与することがある。前者が空間的な機能の多様性とすれば、後者は時間軸で見た機能の多様性ということになる。今回は、後者について述べる。

最も良く知られている例として、Toll はショウジョウバエの胚の背腹軸の決定に関与しているが、成体において Toll pathway は抗菌因子の誘導に関わっている。元東大薬学部の名取俊二先生は、こうした現象を Sarcotoxin I, Sapecin などの抗菌タンパクや Sarcophaga lectin などのレクチンについて示された(Natori *et al.*, 1999)。

哺乳類では胎子期にさまざまなサイトカイン遺伝子の発現が認められることが報告されている。最初に胎子期の胸腺における IL-2 および IL-7 などの遺伝子およびタンパクの発現解析が行われた (Carding *et al.*, 1989)。その後、胎子期の胸腺において、IL-1β、IL-3-6、IL-10、IL-4R、IL-2Rβ、IFN-γ、GM-CFS および TNF-α など様々な免疫応答に関与するサイトカインおよびそのレセプターの発現も認められている (Deman *et al.*, 1994; Deman *et al.*, 1996; Montgomery and Dallman, 1991; Montgomery and Dallman, 1997)。さらに、胎子の脳、肝臓および脾臓において、TNF-α、TNF-β (LT-α) および TNF-R 遺伝子の発現が報告されている (Kohchi *et al.*, 1994)。

特に、興味深いのは TNF である。TNF 分子はレセプターに結合すると、一般に inflammation を引き起こすことが知られ、Apoptosis を誘導する一方 cell survival にも関わる。この現象は私には「もののけ姫」を思い起こさせる。つまり、破壊の神であると同時に創造の神でもあるのである。TNF ファミリー分子の TNF-α、LT-α、LT-β などは二次リンパ器官の発達に関与し、これらのサイトカインをノックアウトすると脾臓、リンパ節、パイエル板の形成が阻害される(Pasparakis *et al.*, 1996; De Togni *et al.*, 1994; Matsumoto *et al.*, 1997)。つまり、TNF ファミリー分子は舞台の構築に関わると同時に、その上で踊るのである。

サイトカインは、二次リンパ器官の形成に限らず、胚発生過程における様々な現象に関与することも報告されている。ケモカインの CXCR4 やそのリガンドの CXCL12 をノックアウトしたマウスを用いた解析から、これらの遺伝子は心臓の膜性心室中隔の形成 (Nagasawa *et al.*, 1996; Tachibana *et al.*, 1998; Zou *et al.*, 1998)、神経組織の形成 (Tran *et al.*, 2004; Zou *et al.*, 1998) および胃腸管に分布する血管

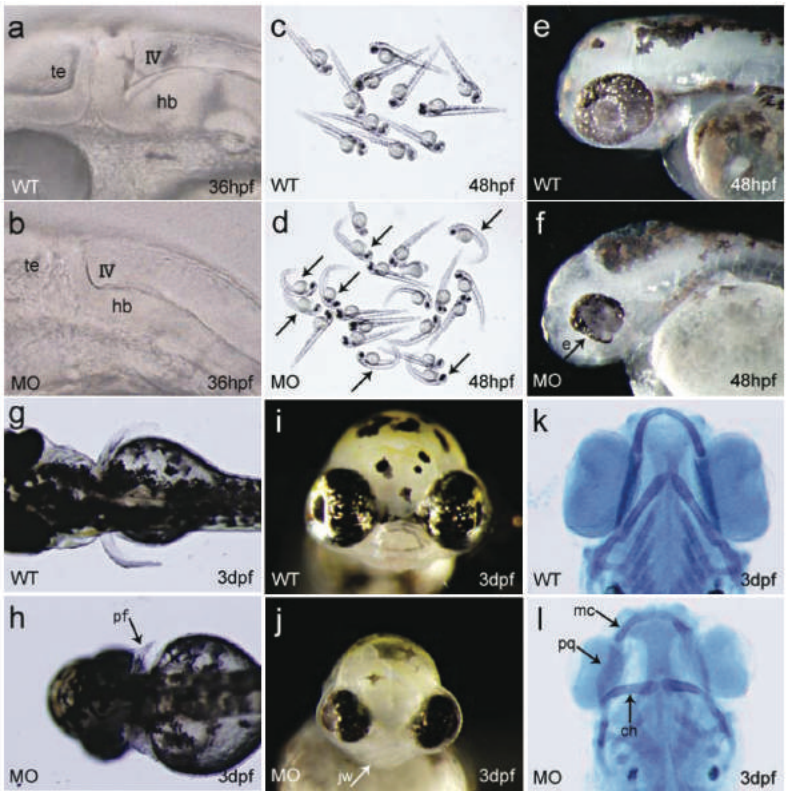


図1 異常胚における形態形成不全
WT: wild type(正常胚), MO: antisense Morpholino Oligo DNA 注入胚(異常胚)
hpf/dpf: hours/days post fertilization

の形成（Tachibana *et al.*, 1998）にも必須であることが報告されている。

しかし以上の報告は、二次リンパ器官が形成される胚子期後半から胎子期に限られており、それ以前の胚子期前半における研究は殆んど行われていない。おそらく哺乳類は、母体内で発生が進行し外部からの胚発生過程の観察が難しいこと、並びに得られる胚の数が限られ、しかも胚が極めて小さいため解析を行うのが難しいなどの理由により研究を進めることが困難であるためと推測される。

そこで我々は、胚発生の初期におけるサイトカインの機能を明らかにするために、体外発生を行うゼブラフィッシュを用いて胚発生過程における免疫関連遺伝子の機能の解明を試みた。その結果、免疫系成立以前の受精 24 時間後までの胚において IL-1β、TNF-α2、TypeI IFN、IL-12p40、MIF、Eomes1 及び Eomes2 遺伝子の発現が認められた。一方、TNF-α1、TypeII IFN 及び IL-12p40 遺伝子の発現は認められなかった。また、MIF 及び Eomes1 遺伝子は、全胚発生過程において恒常的に強い発現を示した。次に、免疫関連遺伝子の発現領域を調べるために、咽頭期における胚を WISH 法により解析した結果、IL-1β、TNF-α、IFN 及び IL-12 遺伝子については胚全体に弱い発現が認められた。一方、MIF 遺伝子については眼および頭部神経系において局所的に強い発現が認められた（Ito *et al.*, 2008a）。

また、ゼブラフィッシュ MIF 遺伝子に特異的に結合するアンチセンスモルフォリノオリゴ DNA（MIF-MO）を受精卵に注入し（以下、MO 胚）、遺伝子機能阻害実験を行ったところ、MO 胚では眼の形成不全が顕著に認められ、MO 胚において形成不全を示した器官は MIF 遺伝子の発現が認められた器官とほぼ一致した（図 1, 2）。そこで眼の発生における MIF 遺伝子の機能について詳細な解析を行ったところ器官形成に増殖因子として関与することが明らかとなった（Ito *et al.*, 2008b）。

なお、MIF 遺伝子はニワトリ胚子の眼のレンズより単離されており（Wistow *et al.*, 1993）、げっ歯類胚発生過程においても遺伝子の発現が認められている（Kobayashi *et al.*, 1999）。また、アフリカツメガエルでは、MIF 遺伝子は体軸形成や神経管形成に必須であることが示されている（Suzuki *et al.*, 2004）。このように、MIF 遺伝子は脊椎動物において広く胚発生に関与しているようである。

サイトカインに限らず免疫応答に関与する転写因子についても胚発生への関与が報告されており、転写因子の Eomes は、胚発生における栄養膜や中胚葉形成に必須なことも報告されている（Russ *et al.*, 2000）。今後より多くの免疫関連分子について、1 種類の分子が個体発生の初期には形態形成に関与し、成体においては生体防御に関与することが明らかになることが期待される。

追記：本原稿の一部は、伊藤かな子氏の 2007 年度日本大学大学院獣医学研究科博士論文より引用しました。

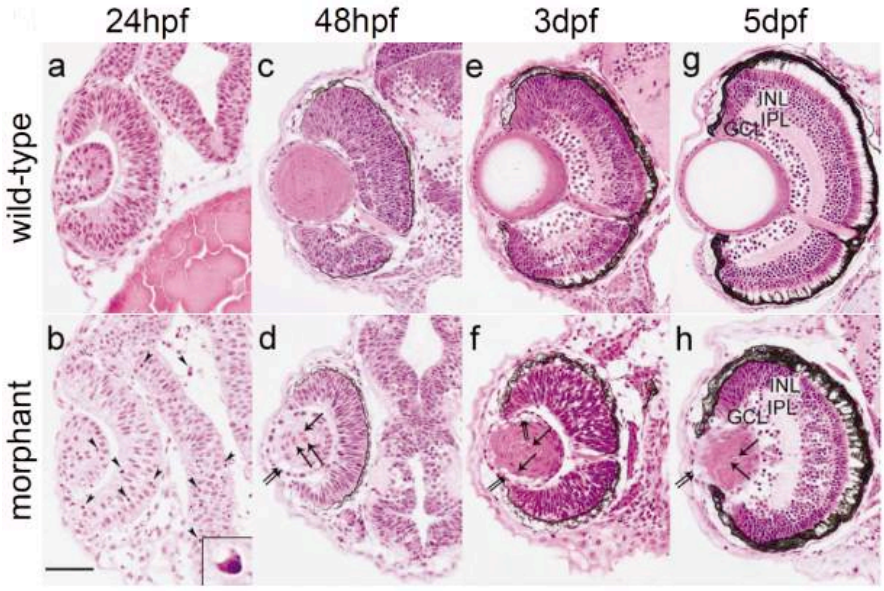


図2 正常胚および異常胚における組織学的解析
上段は正常胚、下段は異常胚。hpf/dpf: hours/days post fertilization.

参考文献

Deman J. *et al.* (1994) *Int Immunol* **6**, 1613-9.
Deman J. *et al.* (1996) *Immunology* **89**, 152-7.
De Togni P. *et al.* (1994) *Science* **264**, 703-7.
Ito K. *et al.* (2008a) *Fish Sci.* **74**, 391-6,
Ito K. *et al.* (2008b) *Dev. Comp. Immunol.* **32**, 664-72.
Kobayashi S. *et al.* (1999) *Mech Dev* **84**, 153-6.
Kohchi C. *et al.* (1994) *Int J Biochem* **26**, 111-9.
Matsumoto M. *et al.* (1997) *Immunol Rev* **156**, 137-44.
Montgomery R. A. and Dallman M. J. (1991) *J Immunol* **147**, 554-60.
Montgomery R. A. and Dallman M. J. (1997) *Cytokine* **9**, 717-26.
Nagasawa T. *et al.* (1996) *Nature* **382**, 635-8.
Natori S. *et al.* (1999) *Dev. Comp. Immunol.* **23**, 317-28.
Pasparakis M. *et al.* (1996) *J Exp Med* **184**, 1397-411.
Russ A. P. *et al.* (2000) *Nature* **404**, 95-9.
Suzuki M., *et al.* (2004) *J Biol Chem* **279**, 21406-14.
Tachibana K. *et al.* (1998) *Nature* **393**, 591-4.
Tran P. B. *et al.* (2004) *J Neurosci Res* **76**, 20-34.
Wistow G. J. *et al.* (1993) *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 1272-5.
Zou Y. R. *et al.* (1998) *Nature* **393**, 595-9.

私の実験動物 #6

オキタナゴ *Neoditrema ransonnetii*

北里大学 海洋生命科学部
水族病理学研究室
中村 修

私が長年研究対象としている胎生魚、オキタナゴ（図 1）を紹介させていただきます。

オキタナゴはスズキ目ウミタナゴ科の魚です。ウミタナゴ科の魚はみな胎生魚ですが、ウミタナゴ科が含まれるベラ亜目の中ではほかに胎生魚はいないようです。

タナゴという名前はついていますが、淡水魚のタナゴはコイ目コイ科で、まったく別の魚です。形が似ているためウミタナゴという名がついたようです。英名はウミタナゴ類まとめて surfperch です。

学生時代に免疫学を学び始めたころに、妊娠というのは免疫学から見ると非常に不思議な、ある意味非常識な現象なのだ、というようなことを本で読んで、たぶんびっくりしたのでしょう、ずっとそのことが頭のどこかにありました。岩手県の三陸沿岸の町、大船渡市にある北里大学水産学部（現在は海洋生命科学部）に赴任した時、スーパーでウミタナゴが売られているのを見つけ、昔抱いた興味がよみがえりました。そこから研究が始まりました。最初はウミタナゴで研究するつもりだったのですが、防波堤の近くで群れているのは近縁種のオキタナゴの方だったので、自分たちで捕まえられるオキタナゴを対象にすることにし、それ以来、約 20 年の付き合いになります。

【オキタナゴはおいしいか】

ウミタナゴは首都圏のスーパーで見ることはあまりないと思いますが、大船渡市ではよく売られています。全長 20cm を超える立派なのも見かけますが、あまり高い値はついていませんし、正直なところ、それほどおいしい魚とは思われていないようです。食べ方としては塩焼きか煮つけが一般的でしょうか。身が崩れやすいので、旬の秋～冬以外は刺身には向かないと思いますが、でも“なめろう”はおいしいと思いました。オキタナゴも三陸では売られていることがありますが、ウミタナゴより小さいですし、身も薄いので、パックにたくさん詰め込まれて完全に雑魚扱いです。私も一、二度は食べたはずですが、記憶に残ってません。記憶に残るほどおいしくはなかったということでしょう。

なおネットで調べたら、ウミタナゴの胎仔魚を生で食べたり、酒や塩に漬け込むといい酒の肴に‥と書いている記事がありましたが、私は試したことはありません。サンプリングの時に卵巣から胎仔魚を取り出すだけでもちょっと罪悪感があるので、それを生でかじるとかワイルドすぎて私にはためらわれます。無駄に死なせるよりはいいのかもしれませんが。

図1　出産前のオキタナゴ
卵巣内に胎仔魚が見えます。胎仔魚の数は数尾から十数尾くらい。大きな魚では 20 尾を超えます。

【胎生魚いろいろ】

硬骨魚には約 500 種類の胎生魚がいますが、胎生の様式はさまざまです。共通しているのは、体内受精をすることと子供を産むことですが、栄養形態は卵黄に依存しているものから卵黄を持たず母親に完全に依存するものまで幅があります。「卵胎生」という言葉もあり、Wikipedia の「ウミタナゴ科」を見るとしっかり「卵胎生」と書いてありましたが、この定義はあいまいです。胎盤の有無で分けるのだとしたら、哺乳類に偏りすぎた見方だといえるでしょう。栄養形態に応じて、lecithotrophic（卵黄依存型）、matrotrophic（母体依存型）とする分け方もあります。もちろんこの二つもきっちり分かれるわけではありませんが、卵黄依存型の代表は例えばグッピーです。

ウミタナゴ科の魚では卵黄はわずかしか蓄積されません。孵化後、卵黄は比較的早い時期に消費してしまい、その後の胎仔魚の栄養は母親からの供給に依存しています。妊娠期間も半年以上にわたることから、胎生魚の中でも胎生らしい特徴を強く示すグループと言えるでしょう。同じように母体依存型の胎生魚としてはグーデア科（カダヤシ目）の魚がよく知られています。胎仔魚の肛門から trophotaenia と呼ばれるリボン状の器官がのびて（要するに生理的脱肛ですね）液体を吸収します。これも面白い魚ですが、ウミタナゴ科魚の方が大きく、卵巣腔液も白血球もとりやすい点は私にとって大きなアドバンテー

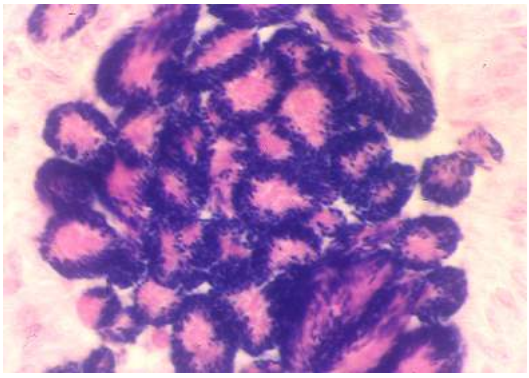


図 2 11 月のオス精巣内の”sperm ball”
尾部がつながっています。ヘマトキシリン-エオシン染色。

図 3 6 月の胎仔魚
全長 15 mm くらい。大きく膨らんだ腸（矢印）が腹部から突出しています。

ジです。出産直前の個体では、1 個の卵巣から 1ml くらいの卵巣腔液が取れます。

【オキタナゴの繁殖様式】

岩手県沿岸では、メスは 7 月末頃に稚魚を生みます。水槽で飼っていると、9 月頃からもうオスの求愛行動が見られ、盛んに交尾しようとします。実際に交尾しているのかまではわかりませんが、この期間は 2, 3 か月続き、メスは複数のオスと交尾するようです。精巣内の精子は鞭毛同士がくっついて”sperm ball”を形成しており（図2）、交尾後、卵巣腔内で ball がほどけるとされています。精子は卵巣腔内に保存されていて、1 月頃に受精が起きます。文献には、精子が卵巣薄板内に侵入し、受精してから排卵（というか、排胚）される、と書いてあります。普通は排卵されてから受精するわけで、排卵前に受精するとはすごい精子ですが、どうして卵巣組織内、さらに濾胞内にまで侵入できるのかは全く謎です。

妊娠中、母親からの栄養は卵巣腔液として供給されます。卵巣薄板から卵巣腔内に分泌される液体で、胎仔魚はこれを口から飲みます。胎仔魚の腸は非常に肥大して、ヘルニアみたいに膨らんでいます（図3）。胎仔魚が飲み込む卵巣腔液については、我々の研究室でいくつかタンパク質を同定していますが、それ以外の成分はよくわかっていません。タンパク質濃度は高くなく、血漿の数十分の 1 です。おそらくアミノ酸やオリゴペプチドをたくさん含んでいるのだろうと思いますが、未確認です。

胎仔魚の腸を組織観察すると、上皮細胞内にエオシン好性の大きな液胞がよく見られ（図4）、ピノサイトーシスで盛んにタンパク質などを取り込んでいることが示唆されます。実際、卵巣腔液中にタンパク質を投与するとこの液胞中に現れ、さらに胎仔魚の血中に移行するので、卵巣腔液中のタンパク質は栄養というよりも、機能分子として胎仔魚に利用されているのではないかと考えています。

腸には杯細胞も粘膜固有層も発達しておらず、吸収上皮と血管（とたぶんリンパ管）しかない、吸収することしか考えてないような構造をしています。ひどく無防備に見えますが、卵巣腔内は無菌的なはずなのでそれでよいのでしょう。出産前になると少数の粘液細胞が見られるようになり、出産後、腸も劇的に変化します。

【オキタナゴの入手法】

もちろん活魚なんか出回ってないので、基本は釣りです（図5）。夏の三陸沿岸では防波堤付近によく群れています。大船渡だったら、6 月から 9 月にかけて見ることができます。そのほかの季節はどこかへ消えてしまいます。オキタナゴという名前からすると沖にいるのだろうと思いますが、確かなことは知りません。

オキタナゴは警戒心が強く、目もいいので、釣るのはわりと難しいです。少なくとも私にとっては。すごく食欲があって簡単に釣れる時もあるのですが、そういう時はあまり多くありません。浅いところを群れで泳ぎ回っていて、餌を垂らしてもスルーされてしまったり、近づいてもそっぽを向かれることが多いです。餌はオキアミ、食欲があるときならイソメでも釣れます。でも口が小さいので、サイズが大事です。我々の経験では、一番釣れる餌は、三陸でイサザ（イサダ）と呼ばれている、ツノナシオキアミです。三陸の砂浜の波打ち際などで海水をすくうと大量にゲットすることができます。

オキタナゴは死にやすいので、当たりが来たら針を飲み込まないうちに一瞬

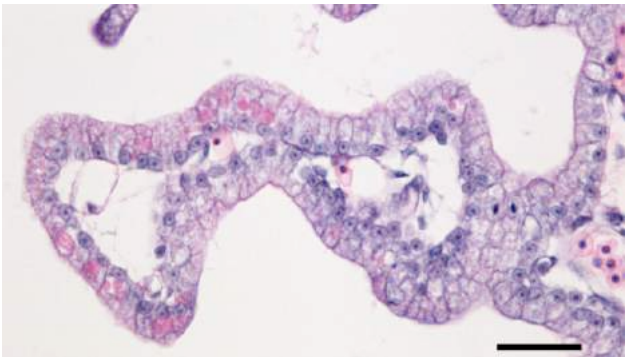


図 4 胎仔魚の腸の絨毛
ヘマトキシリン-エオシン染色。上皮に粘液細胞はなく、絨毛内はスカスカな感じです。スケールバー：25 μm。

図 5 震災前の風景
夏の間、オキタナゴを釣るために毎日がんばりました（学生が）。

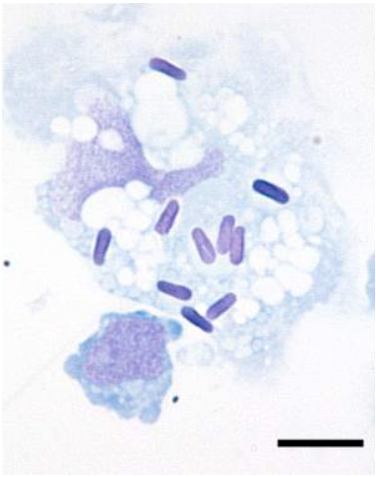


図 6 2 月の卵巣腔内のマクロファージ
精子を多数貪食しています。スケールバー：10 μm。

で引き上げなくてはいけません。生簀網に入れておいてもすぐ死んでしまうので、活魚輸送用の発泡スチロールに海水、エア、凍らせたペットボトルを入れて用意し、ある程度釣れたら温まらないうちに水槽に輸送しなければなりません。なかなか大変です。

【オキタナゴの妊娠と免疫系の関係】

これまでわかったことをちょっとだけ紹介します。卵巣腔液中には卵巣薄板から滲出してきた白血球も多数存在します。そのほとんどはマクロファージで（図6）、胎仔魚が存在していてもリンパ球が増えることはありません。我々の研究で、卵巣腔液にはリンパ球の増殖を抑制する働きがあることを確認しており、その少なくとも一部は卵巣腔液に高濃度で含まれるプロスタグランジン E2 の働きによることもわかっています。これは現在弘前大学医学部にいる斉藤絵里奈さんの学位論文の仕事です。

卵巣薄板の構造も妊娠中は劇的に変化します。妊娠期間中には、厚くなった薄板上皮下に、マクロファージコロニー刺激因子受容体を持った細胞、おそらくマクロファージが多数分布しており、出産後、消えてしまいます。抑制性サイトカインなどを作っているのだろうと考えています。

ウミタナゴ科の妊娠に関する報告は 20 世紀（！）中にはわりとあったのですが、最近はあまり見かけなくなってしまいました。でも上に述べたように、まだ多くの謎が残されたままです。免疫学的な面だけでなく、例えば妊娠に関わる性ホルモンもよくわかっていません。ステロイドホルモンを測定したこともあるのですが、その時測定したホルモンの中には妊娠期に特に高まるものはありませんでした。できれば、免疫学的な観点だけでなく、オキタナゴの妊娠生理について全体的に理解できたらと考えています。

【これからの私とオキタナゴ】

北里大学海洋生命科学部は東日本大震災で学生の生活環境が破壊されてしまったため、それまでいた三陸キャンパスを離れて、海のない相模原キャンパスに移りました。三陸にいるときはオキタナゴを 1 年中水槽で飼うことができましたが、今の三陸キャンパスでは水槽だけはあるものの飼育してくれる人もいないので、長期飼育はできません。今は年に 3，4 回、サンプリングに行き、4 日間くらいの間にサンプリングして帰るだけです。

滞在期間が短いので、その間に捕まえるところから始めてサンプリングするのは大変ですが、幸い漁師さんとも懇意になり、定置網に入ったオキタナゴをもらえる（焼酎と引き換えに）ので、魚集めはだいぶ楽にはなりました。しかし一回の滞在期間が短いので、向こうで何か実験するのは難しい状況です。上に書いたように、胎仔魚は無菌的な環境で生育します。これを利用して面白い実験ができそうだなあ、と考えてはいるのですが。授業を放り出してひと月くらい三陸にいられたらいいのですが、残念ながら定年までその機会はなさそうです。

三陸キャンパスの宿泊施設はもちろん学外の方も宿泊できます。もし興味を持ってくださる方がいたら、ぜひ一緒に三陸で釣りをしましょう。

著者プロフィール

中村 修（Nakamura Osamu）

東大水産学科時代の「魚類における経口投与タンパク質の血中移行」というテーマが研究の出発点。徐々に免疫学に方向転換するも、教育の方に心惹かれて学位取得後は高校教員になる。いろいろあって 5 年後に北里大学水産学部に就職、自分のやりたいテーマを設定できる立場になり、本格的に生体防御に取り組む。一つのことをやり続けるのが苦手な性格らしく、オキタナゴの妊娠と免疫のほか、魚類と無脊椎動物の体表防御機構、ナマコの体腔球凝集反応、マダイの脂肪組織の炎症反応とかいろいろ手を出し、現在に至る。そろそろ並列処理能力の衰えと限界を痛感しつつあるところ。ベイスターズを熱烈応援中。

留学体験記　–ドイツにおけるポスドク生活–

第5回　ドイツにおける出産・育児

実験動物中央研究所
（前職：Friedrich-Loeffler-Institut）
山口 卓哉

令和が始まって早くも一か月が経過しました。新たな時代の幕開けとともに私の研究人生にも転機が訪れ、およそ6年間に亘るドイツでのポスドク生活にピリオドを打ち、神奈川県川崎市の実験動物中央研究所に着任しました。魚類免疫からは離れ、免疫不全マウスにヒトの血球/免疫細胞系を再構築した“ヒト化マウス”を用いた免疫研究に挑戦することになりました。これまで比較免疫学分野で得てきた経験を活かし、面白く、且つ役に立つような研究成果を出して行けるよう頑張る所存です。

というわけで、すでに留学記というよりは留学後記になってしまっているのですが、総括も含めてあと数回連載を続けせていただく予定です。さて、今回のトピックは出産・育児です。実は、昨年10月に第一子が無事誕生し、本年4月末に帰国するまでドイツでの出産と育児というなかなかレアな体験をしてきました。その中で感じたことなどを書いてみたいと思います。

ドイツでも出生率の低下が深刻な社会問題の一つとなっていましたが、ドイツ政府の腰を据えた対策が実を結びつつあり、2018年の日経新聞によると出生数は5年で2割も増えた計算になるそうです。特筆すべきは、なんと言っても産前産後休業（産休）や育児休業（育休）の充実ぶりでしょうか。ドイツでも“主婦（Hausfrau）”という言葉は存在しますが、実際にはほとんどの女性が結婚後もバリバリ仕事をしています。そのような女性達が子供を産むために将来のキャリアを諦めなければならないのは社会の損失であるという考えから、産休及び育休が最長で3年取得でき、職場への復帰が法律で保証されているだけでなく、職場でもそのような考え方が根付いているようです。実際に、ドイツ人女性の30～37歳での出産が増えているという統計もあります。さらに、男性の育児への積極的な参加の促進にも繋がり、男性も年単位の育休を取得することが近年では一般的となり、実際にFLIでも、PIのみならず大学院生も長期の育休を取得していました。育休期間中はプロジェクトが中断されその分延長されるので、私も1ヶ月間の育休を取得し、あっという間ではありましたが、”Elternzeit macht Männer zu besseren Vätern (WELT 誌; 育休は男性をより良い父親にする)”というような実感を得たような気が少なくともしています。

さらに経済面でのアドバンテージもありました。皆保険制のドイツでは受診は基本的には全額健康保険でカバーされますが出産時も例に漏れず、言うまでも無く高い医療水準を誇るドイツで、大学病院の産科で硬膜外麻酔をお願いするなどおよそ丸一日がかりの大出産で大変お世話になったにもかかわらず、実際にこちらが支払ったのは駐車料金10ユーロ程度のみでした。妊娠時の妊婦健診や子供の定期健康診断なども同様に全額がカバーされました。このように医療費負担がほぼゼロであるのに加え、Elterngeld（両親手当）やKindergeld（こども手当）といった、国や自治体からの手厚い諸手当が外国人である私たちにも申請資格があったことにも助けられ、育休期間中も経済的な安定を得ることができました。

このように、ドイツ政府は出産・育児に対して経済的な支援だけでなく、両親の出産後のキャリアについてもしっかりと考えられている対策を進めてきた結果、実際に成果が現れ始めてきているようです。日本と対照的なのは、ドイツ国民一人一人が少子化対策の重要性・必要性を理解し、社会全体としての“動き”となっているように感じられた点です。ドイツ人は純粋にこどもが好きであるだけでなく、こどもは将来の社会への投資であるという現実的かつ戦略的な観点も持っている、あるいは持つようになってきているんだろうと感じました。政府がいい政策を打ち出しても、国民の理解と協力を得ることができなければ、現場で成果を上げることはできないでしょう。文化や背景が違うのは確かですが、少子高齢化社会を少しでも改善していくために、私たち日本人も、少し考え方を変えてみてもいいのではないでしょうか。

実験のコツ #5

塗抹標本作製のコツ

水産大学校
生物生産学科
近藤 昌和

血球などを光学顕微鏡で観察する時に、塗抹標本を作製して各種染色を施すことが多いと思います。本稿では、著者が行っている塗抹標本作製法のうち、魚類の場合について述べます。

血液の塗抹

血液の塗抹には 2 種類の方法（サンドイッチ法と引きガラス法）があります。前者では血液を 2 枚のガラスで挟むことで両ガラス間に血液が広がり（スライドグラス同士でもカバーガラス同士でも可）、その後、ガラス同士を擦らせながら外すことで 2 枚の塗抹標本ができます。この方法の利点は、標本上における血球種の分布に偏りがほとんどないことですが、血液量が少ないとガラス同士を分離するのが難しくなります。引きガラス法ではスライドグラスの一端に置いた少量の血液をカバーガラスなどで触れ、これをスライドグラスの他端に向かってガラス同士が離れないように移動させることで、塗抹標本を作製します。本法の注意点については、多くの成書で触れられているので詳細は省きますが、血球計算盤用の厚いカバーガラス（厚さ 0.4 mm）を、スライドグラスにビニールテープで巻き付けたものが使いやすいです（図 1）。

遊離細胞の塗抹

血液から分離または臓器から遊離させた細胞を塗抹する場合、細胞懸濁液中の塩類に由来する結晶が標本上に形成されないよう注意が必要です。結晶は細胞の周囲に形成されやすく、その後の染色を不完全なものにします。遠心分離により細胞をスライドグラスに付着させる方法（いわゆるサイトスピン）では、スライドグラス上に穴の開いた濾紙を装着する器具が良いです。この場合、遠心上澄は濾紙に吸収されるので、結晶はほとんど形成されません。一方、尿沈渣収集装置のように濾紙を使わない場合には、上澄は装置のカセット内に残るので、乾燥前に十分に除く必要があります。いずれの場合にも、細胞懸濁液に有機物を添加した方が、結晶が形成されにくく、また、スライドグラスへの接着も良好です（剥離しにくくなる）。添加には、非動化したウシ血清やウシ血清アルブミン溶液が利用できます。添加量は懸濁液量に対して 10%程度が目安です。アルブミンは、細胞の懸濁に用いる液体に溶解し（外割りで 10%W/V）、小分けして冷凍保存しておきます。これらを添加した細胞懸濁液は引きガラス法でも塗抹可能ですが、細胞の多くは引き終わりに集まります（多分、懸濁液の粘度が影響しているのでしょう）。

塗抹標本の乾燥

成書では塗抹後、ヘアードライヤーの冷風などで迅速に乾燥させるよう書かれています。しかし、通常の実験室内で行う場合には、この点についてあまり気にしなくて良いです。著者は引きガラス法で 100 枚以上の塗抹標本を作製したのちに風乾を始めても、これまで問題が生じたことがありません。ただし、湿度が異常に高くないことが条件です（梅雨時に魚類飼育室で行った時に溶血したことがあります）。塗抹標本は試験管立てに斜めに挿し、扇風機（サーキュレーター）を用いて風乾すると多数の標本に対応できます（図 2）。稼働させたドラフトチャンバー内に置いても良いです。

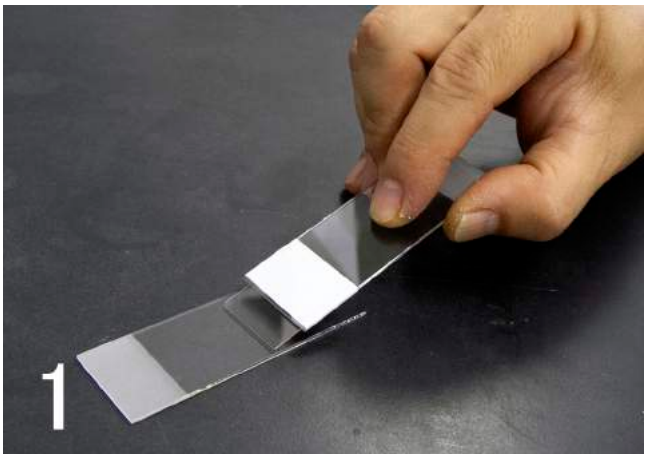


図1. 引きガラス法による塗抹標本の作製（イメージ）

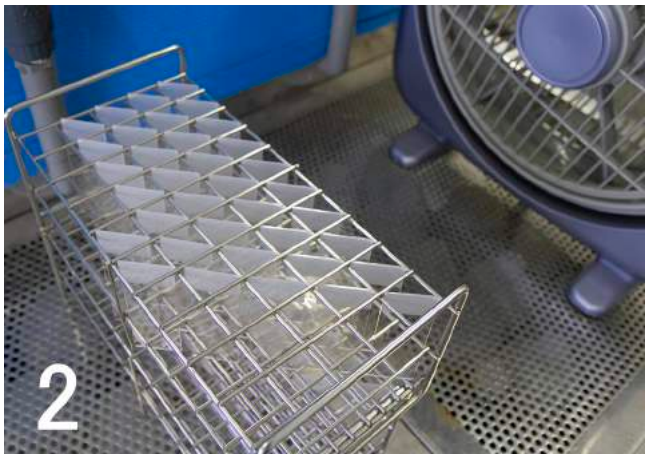


図2. 塗抹標本の乾燥

普通染色

一般的な形態観察には、Giemsa（G）染色や May-Grünwald（MG）·Giemsa（MGG）染色が通常用いられています。各メーカーの G 液と MG 液を比較したことがありますが、メーカー間で原液の濃さに違いがあること、あるメーカーの MG 液では染色時に金属光沢を有する膜が染色液上に形成されるなど、とても同じ商品名の染色液とは思えませんでした。著者は MG 液には SIGMA 社の、G 液には Merck 社のものを使用しています。

G 染色や MGG 染色は古くからある方法のためか、ほとんどの論文で染色条件の詳細は記述されていません。染色条件には、染色時間だけではなく、原液を希釈するための液体（希釈液）の詳細（リン酸緩衝液の場合にはモル濃度と pH）と原液の希釈率も含まれます。種々の染色条件で染色し、比較することでその細胞の特徴がわかります。例えば、トラフグの好塩基球の主要な 2 種類の顆粒 [赤紫色顆粒と青紫色顆粒（濃すぎてほとんど黒色に見えます）] は、5 mM のリン酸緩衝液（pH8.0）を使用した MGG 染色で染め分けできます [図 3; 上乗せ法で実施：MG 原液（1.5 ml）で 5 分間固定後、緩衝液を同量追加・染色（10 分間）し、ついで 15 分間 G 染色。G 染色液：蒸留水で 10 倍希釈した緩衝液に G 原液を 1：20（＝G 原液：希釈液）の割合で滴下・混和]。しかし、MG 染色のみでは染まらず、メタノール固定後の G 染色では顆粒内容物が溶出したような像となります。

普通染色に限らず、染色は上乗せ法または浸漬法によりますが、上乗せ法には、ホームセンターで購入したアルミバットと揚げ物の油切りに用いられる金属製の箕の子を使用しています（図 4）。重ねられるので収納場所を取らず便利です。箕の子は裏返しにしておくとたわまず水平が保てます。

細胞化学染色

酵素染色のうち、アゾ色素法に基づくアルカリ性ホスファターゼ染色とα-ナフチルアセテートエステラーゼ染色では、標本上に粗大な粒子状構造物が付着していることがあります。本構造物の形成には光が関与しているようです。遮光すると形成されません。

血液染色におけるズダン黒 B 染色では、ズダン黒 B 保存液（エタノール溶液）と保存緩衝液を混合・濾過したものが使用液となりますが、濾過に非常に時間がかかります。混合液を室温で遠心分離し、上澄を使用することで、大幅な時短になります。このことは多糖類染色の一種であるアルシアン青染色（pH1.0、pH2.5）の染色液にも適用できます。

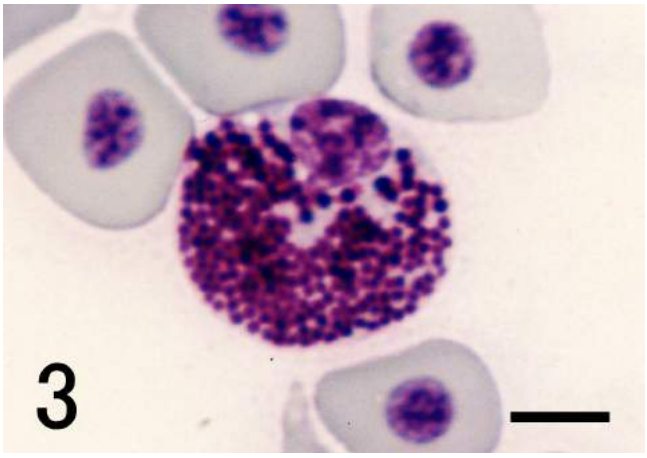


図3. トラフグの好塩基球（スケール = 5 μm）

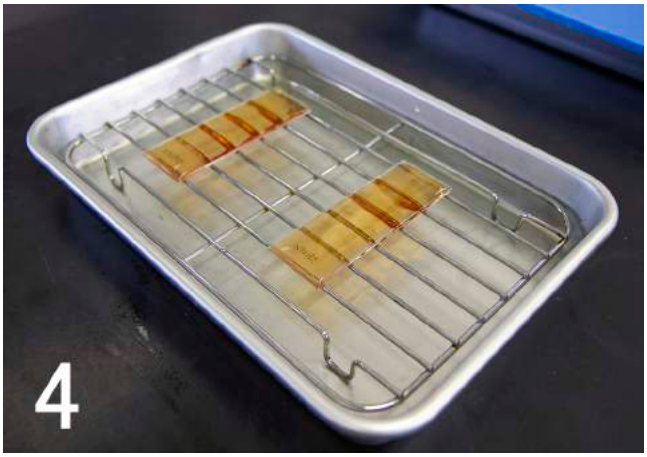


図4. 上乗せ法による染色
実際の染色時には、遮光と蒸発防止のために蓋をします。

事務局からのお知らせとお願い

● 年会費納入のお願い

令和元年度までの年会費を、メール便にてお送りしました「年会費振り込み用の用紙(年会費の記載があります)」を用いてお振り込みください。

- ✓ 一般会員:5,000 円
- ✓ 学生会員:3,000 円
  - ✧ 博士課程以上の学生。学生証のコピーを郵送、あるいはスキャンイメージをメールで事務局までお送りください。指導教員のお名前と所属をご記入ください。

修士課程までの学生は年会費免除です。但し、入会手続きは行ってください。学生証のコピーを郵送、あるいはスキャンイメージをメールで事務局までお送りください。

郵便局備え付けの振替用紙をご利用の場合は下記の情報をご記入ください。

振替口座記号番号:00730-0-42105
加入者名:日本比較免疫学会
※ XX 年度年会費と明記してください。未納分がわからない場合は事務局までお問い合わせください。

● 第31 回学術集会(福岡県)への参加・発表申込

第31 回学術集会が、平成31 年 9 月 4 日(水)から6日(金)に、九州大学伊都キャンパスにて開催されます。第 30 回日本生体防御学会学術総会との合同開催です。皆さまのご参加・ご発表をお待ち申し上げます。メール便にてお送りしました「参加費振込用の用紙(JADCI/JSHDR 2019 の記載があります)」を用いて参加費・懇親会費をお振り込みください。会則により、学術集会の講演者は本学会の会員に限ることが定められております。第31 回学術集会で初めて発表する方は入会手続きをお願いいたします。

● 第32 回学術集会の予定

会期:令和 2 年 8 月下旬から 9 月上旬予定
学術集会長:近藤昌和先生(水産大学校)
会場:水産大学校

● 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。

● 新会員の入会を歓迎いたします!

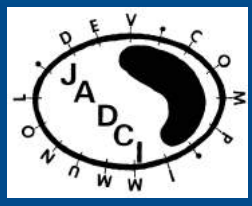
皆様のお近くに、比較免疫学にご興味の方がおられましたら、本学会への入会をぜひともお勧めいただけますようお願い申し上げます。メールで下記の情報を事務局までお知らせ下さい。

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.umin.ac.jp/~jadci

編集

広報担当　古川 亮平（慶應義塾大学）