

JADCI

News



No.55 2021.12.24

Contents

- 2 会長挨拶
- 3 第32回学術集会報告
 - 学術集会事務局から
 - 各賞受賞者から
 - 学術集会参加記
- 10 第33回学術集会のお知らせ
- 11 故丹羽允先生と故岩永貞昭先生をしのんで
- 17 連載 この論文 推します！
 - DNA メチル化の保存的なリモデリングに基づく
 - イヌとヒトの年齢の定量的な変換方法
 - 岩手医科大学 いわて東北メディカルメガバンク機構 須藤洋一
- 21 事務局からのお知らせとお願い





会長挨拶

日本比較免疫学会会長
九州大学大学院農学研究院
中尾 実樹

新型コロナウイルスオミクロン株の拡大可能性に怯えながらも、日本でのパンデミック第5波が収束した今のうちに、今後の感染拡大あるいは感染収束の両方への準備を進めておかなければならないという状況です。私が勤める大学では多くの授業を通常の対面形式に戻していますが、個人的には遠隔授業の利点をもっと生かした授業ができないものかと考えているところです。たとえば、対面・遠隔同時対応のハイフレックスは、多様な学習形態を可能にしてくれます。

本年度の本学会学術集会は、水産大学校の近藤昌和先生を集会長として、完全なオンライン形式で開催されました。ポスターによる一般演題発表と遠隔会議システムによるシンポジウム等の発表が、大変スムーズに運営され、実際に会員が集っての対面形式による集会にも全く劣らない、あるいはそれ以上に充実した議論ができたとの感想も寄せられました。集会参加に必要な参加費・旅費などの負担が軽く済んだために、学生を含めて多くの集会参加者を得たこともオンライン開催のメリットとして考えられます。

とは言いながらも、やはり、会員が実際に集って議論すること、

懇親の宴でさらに深い情報を交わすことの重要性は変わらないでしょう。2022年度は北里大学の中村修先生、筒井繁行先生が集会を開催してくださいますが、やはり対面で会員の皆様と再会する・新しい出会いを得ることを願わずにはいられません。

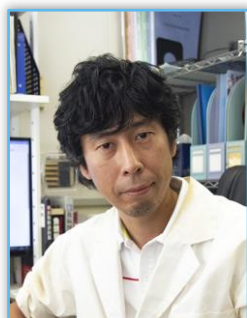
さて、本年は奇しくもカプトガニ研究を先導してこられた巨星お二人、すなわち丹羽先生、岩永先生の訃報に接することになってしまいました。お二人のこれまでのJADCIへのご貢献の詳細は、本号に寄せられた追悼文でご披露されているものと存じます。私が1997年に英国Oxford大学MRC Immunochemistry Unitに短期留学した際に、そこで免疫系の進化に特に興味をもつ研究者が、岩永研におけるカプトガニ血球に含まれる一連の生体防御タンパク質および凝固因子の研究など、日本のカプトガニ研究を非常に高く評価していました。既存の知識のテンプレートに安易に当てはめず、新規因子の反応を生化学的・細胞生物学的に得られる強固なデータを元にゼロから構築していく点で、極めて独創性が高いとのコメントでした。私は、補体系の系統発生をタンパク質および遺伝子レベルでのホモログハンティング

で進めていましたが、まさしく哺乳類の補体をテンプレートとした考え方に陥りがちであったことを自戒するきっかけになりました。

皆様ご存知のように、比較免疫学が対象とする多様な動物には、既存の知識のテンプレートには合わない、不思議でユニークな現象がたくさん見つかります。先入観のない目で観察し、自分の手で得られたデータを大事に、新しい免疫・生体防御の姿の発見を目指して、お互いに刺激し合いたいものです。本学会がそのような知の集積と創造の場となるよう、工夫を続けたいと存じます。今後ともご理解とご協力をお願い申し上げます。

第 32 回学術集会報告

学術集会事務局から



水産大学校生物生産学科

近藤昌和(集会長)

安本信哉(事務局長)

第 32 回日本比較免疫学会学術集会は、令和 3 年 8 月 27 日(金)～8 月 29 日(日)の日程でオンライン形式にて開催されました。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の感染拡大により、一時は開催そのものが危ぶまれましたが、オンライン形式での開催となりました。開催が決定した当初は、これまでオンラインの会合を主催した経験がなかったため、集会事務局として何から手を付けて良いかわからない状態でした。しかし、周囲の先生方に情報を提供していただき、また、役員の皆様のご助言により、なんとか形にすることができました。

今回の学術集会では、一般講演(16 題)、シンポジウム(I・II、それぞれ 3 題)、古田優秀論文賞受賞者講演(2 題)が行われ、80 名以上の方に参加していただきました。オンライン開催で参加費が無料ということもあり、若い世代が積極的に参加してくれたようです。

一般講演はすべてポスターで行われ、質疑応答はチャット形式でしたが、非常に活発な討論がなされていました。チャット形式はテキストとして残りますし、大会期間中はいつでも書き込めるので、だれでも気軽に質問ができ、大変便利だと感じました。これについてはオンライン開催のメリットではないでしょうか。

シンポジウムと古田優秀論文賞受賞者講演は Zoom によるリアルタイム形式で行われました。シンポジウム I では棘皮動物の比較免疫学というテーマで日比野拓先生(埼玉大学教育学部)、古川亮平先生と田口瑞姫先生(ともに応義塾大学自然科学教育センター)に講演していただきました。また、シンポジウム II では魚類の免疫とい

うテーマで森脇健太先生(東邦大学医学部)、松本萌氏(東京海洋大学海洋生命科学部)および引間順一先生(宮崎大学農学部)に講演していただきました。古田優秀論文賞受賞者講演では山口卓也先生(日本大学生物資源科学部)ならびに山下啓介先生(九州大学大学院理学研究院)に対象論文の研究成果を紹介していただきました。リアルタイム形式での発表でしたが、大きなトラブルもなく、いずれも多くの質問やコメントがあり、活発な議論が展開されました。

本学術集会は日本比較免疫学会設立以来はじめてのオンライン開催となりましたが、オンライン形式のメリットやデメリットを実感できた有意義な学術集会であり、一定の成果が得られたものと確信しております。しかしながら、皆様と直接お会いできなかったことはやはり心残りです。可能であれば皆様と直接会って懇親を深めたいと考えておりますので、今回が初めて最後のオンライン開催になることを祈っております。最後になりますが、本学術集会を開催するにあたり、お忙しいところ快くご講演を快諾していただいたシンポジストの先生方、そして、慣れないオンライン形式にもかかわらず参加していただいた会員の皆様、協賛広告にご協力いただいたあすかアニマルヘルス株式会社、株式会社イーダブリュニユートリション・ジャパン、共立製薬株式会社、株式会社ゴトー養殖研究所、日本動物薬品株式会社、フィードワン株式会社およびリケンベッツファーマ株式会社の皆さま(五十音順)に心より感謝申し上げます。

古田優秀論文賞受賞者から

昨年度は学術集会が開催されず、受賞者なしとなったため、今回は2年度分の論文を対象とし、2名の方が受賞されました。



日本大学生物資源科学部獣医学科 山口卓也

受賞対象論文: Yamaguchi T, Chang CJ, Karger A, Keller M, Pfaff F, Wangkahart E, Wang T, Secombes CJ, Kimoto A, Furihata M, Hashimoto K, Fischer U, Dijkstra JM. Ancient Cytokine Interleukin 15-Like (IL-15L) Induces a Type 2 Immune Response. *Front Immunol.* 2020 :549319.

この度は大変栄誉ある賞を頂き、身に余る光栄に存じます。会長の中尾美樹先生、論文賞の選考委員の先生方をはじめ、学会のすべての先生方に心から御礼申し上げます。また、本賞の創設者である故古田恵美子先生に感謝申し上げます。学生時代からお世話になっている日本比較免疫学会において賞を頂けたこと、さらにはその対象が私の留学期間における成果のすべてを注ぎ込んだ論文であったことは、幸甚の至りであります。留学中には心が折れそうになることもありましたが、そういった苦勞が報われたというのが率直な思いであります。

さて、対象の論文 "Ancient cytokine interleukin 15-Like (IL-15L) induces a type 2 immune response" (*Frontiers in Immunology*, 2020 年) の内容について簡単にご紹介させていただきます。インターロイキン (IL) -15 は、T 細胞や NK 細胞の主要な活性化因子として有名ですが、近年、IL-15 に近縁と考えられるサイトカイン IL-15-like (IL-15L) がゼブラフィッシュで発見されたことを皮切りに、他の真骨魚類に加えて哺乳類の一部でも見つか、脊椎動物で広く保存されていることが明らかとなりました。前述の通り IL-15 は脊椎動物の免疫応答制御において重要な役割を果たしていることは有名であり、その近縁サイトカインである IL-15L にも重要な役割があるのではないかと考えられるところですが、IL-15L はマウスやヒトでは偽遺伝子化しているため、医系免疫学分野では大きく注目されることはありませんでした。このような分子を研究対象とできることが比較免疫学分野の

醍醐味の一つであるとの思いもあり、私たちは、近年研究ツールとしてモノクローナル抗体が整備されつつあるニジマスにおいて、組換え体サイトカインを作製して IL-15L の性状解析を行いました。その結果、IL-15L は IL-15 の近縁サイトカインらしく、IL-15 と類似の性状を備えていることが分かりました。例えば、IL-15L の発現・分泌には IL-15 と同様、サイトカイン産生細胞で共発現する IL-15R α の存在が重要であることや、IL-15L でニジマスリンパ球を刺激すると、IL-15 の主要なシグナル伝達経路である STAT5 をリン酸化させたことを見出しました。その一方で、興味深い違いも明らかになりました。それは、リンパ球に対する刺激効果です。IL-15 はニジマス胸腺、腸管、脾臓から分取した CD4/CD8 各サブセットをほとんど刺激したのに対し、IL-15L は脾臓由来サブセットと胸腺の CD4/CD8 ダブルネガティブ (DN) 細胞のみを刺激しました。また、刺激後の細胞を用いて遺伝子発現解析を行ったところ、さらに面白いことが分かってきました。すなわち、IL-15 が教科書通りに 1 型免疫応答のマーカーである IFN γ やパーフォリンの遺伝子発現を上昇させた一方で、IL-15L は 2 型免疫応答のマーカーである IL-4 と IL-13 のホモログ (IL-4/13A と IL-4/13B) 遺伝子の発現を上昇させました。これらのことは、IL-15 と IL-15L は免疫制御においては正反対の機能を持つことを示唆しています。更に、この遺伝子発現上昇は脾臓由来の CD4/CD8/IgM 全陰性 (TN) リンパ球画分において顕著でありました。この細胞画分には、NK 細胞や自然リンパ球な

ど、自然免疫に関与する細胞が含まれていることが考えられ、IL-15L は 2 型免疫応答の初期段階において重要な役割を果たしている可能性があります。

しかし、いま論文を見返してみると、多くのことをやり残してしまったことを改めて感じます。胸腺の DN 細胞に対する IL-15L の機能は？IL-15L は T 細胞分化に関わっているのか？そもそもニジマス胸腺の DN 細胞画分にはどんな細胞が含まれているのだろうか？感染時の生体防御反応において IL-15L は本当に 2 型免疫応答を誘導するのだろうか？脾臓 TN 細胞には NK や ILC2 のような細胞が本当に存在するのだろうか？などなど、個人的には興味が尽きないところであります。

本論文を完成するにあたって大変お世話になった共著者の方々にこの場をお借りして改めて御礼を申し上げます。なかでも、藤田医科大学の Dr. Hans Dijkstra と、留学先 Friedrich-Loeffler-Institut でのボス Dr. Uwe Fischer には感謝の言葉もありません。元々 IL-15L のアイデアを持っていたのは Hans さんで、魚類ワクチン関連の研究を進めていた Fischer さんと共同研究の形で進めていました。お二人の性格や考え方は全く違うため大変困る場面もありましたが、研究に対する真摯な姿勢は共通しており、その下での研究生活は(今思うと)とても楽しかったです。Hans さんにはとことん妥協しないでデ

ータを出すことの大切さを教わりました。Hans さんからの要求は時に厳しく感じることもありましたが、そんなときも含め Fischer さんには終始温かく見守っていただき、正しい方向に導いていただきました。これからもお二人から教わったことを大切に活動していきたいと思います。また、本研究を行う上で不可欠であったモノクローナル抗体を快く分与してくださいました現・福井県立大学の瀧澤文雄先生に心から御礼を申し上げます。瀧澤先生は日大魚病学研究室を修了された後、ドイツの Fischer 研へ留学されたいわば兄弟子のような大先輩で、私がドイツへ留学でき、また、何とか無事に過ごすことができたのは瀧澤先生のお力添えによるものだと感じています。

最後になりましたが、私は本年度より母校である日本大学獣医学科の獣医薬理学研究室に着任いたしました。薬理学は私にとって新しい分野ですが、他分野との境界領域的な学問であると捉えることもできます。そのような視点から、例えば免疫担当細胞の薬物による制御など、免疫学に軸足を置いた研究も進めていきたいと考えております。帰国以降、魚類を扱った研究からは離れてしまいましたが、今後も学術集会で進捗状況を発表させていただき、先生方からのご意見を賜ることができれば幸いです。引き続きどうぞよろしくお願いいたします。



九州大学大学院・理学研究院 山下啓介

受賞対象論文: Yamashita K, Shibata T, Takahashi T, Kobayashi Y, Kawabata SI. Roles of the clip domains of two pro-tease zymogens in the coagulation cascade in horseshoe crabs. J Biol Chem. 2020 ;295:8857-8866.

この度は、日本比較免疫学会の古田優秀論文賞を授与していただき、大変光栄に思います。修士課程の大学院生時代から参加している比較免疫学会の学術集会において、学会長の中尾実樹先生をはじめ、比較免疫学会の先生方と議論した研究テーマが 2020 年6月に、着手後 3 年の月日を経て「The journal of biological chemistry(JBC)」誌に

掲載され、本論文賞への選出に至ったことを大変うれしく思っています。そして、本年の学術集会においては、集会長の前藤昌和先生、事務局長の安本信哉先生の丁寧なサポートのもと、受賞講演を行うこともできました。また、本論文賞は、比較免疫学会の名誉会長でいらっしゃる故古田恵美子先生のお名前を冠した重要な賞であると認識しておりま

す。ここに故古田恵美子先生にも感謝の意を示させていただきます。

さて、本論文賞の対象になりました「カプトガニ体液凝固カスケードにおける2つのプロテアーゼ前駆体の clip ドメインの役割」は、私が 2017 年、現在も所属する九州大学生体高分子学研究室(川畑研究室)に卒業論文生として配属された後に、私に与えられた初めての研究テーマでした。Clip ドメインは LPS によって惹起される3種のプロテアーゼ前駆体(活性化する順に proC, proB, proCE)によるカプトガニ体液凝固カスケードのうち下流2因子(proB, proCE)の N 末端に位置するドメインです。先代の故岩永貞昭先生の研究室において、故牟田達史先生が proCE 内に見出し、後に種々の無脊椎動物において、酵素の機能を調節するドメインであることを世界中の様々な研究グループが報告しています。

3 種のプロテアーゼ前駆体のうち、proC と proB は LPS 結合能を有します。proC における LPS 結合部位に関しては具体的に LPS と結合するアミノ酸モチーフが明らかにされていましたが(Koshiba T. *et al. JBC* (2007))、proB については clip ドメインが LPS との結合能を有していることが報告されているものの(Kobayashi Y. *et al. JBC* (2015))、関わっているアミノ酸残基レベルでの解析は未着手でした。そこで、まず卒業論文研究として、B 因子の clip ドメインの LPS 結合に関わるアミノ酸残基の特定に取り組みました。種々の変異体と LPS 固相化プレートを用いた ELISA による簡単な実験系でしたが、proB の clip ドメイン中の5つの塩基性アミノ酸残基それぞれが、LPS との結合に関わることが判明し、proC とは異なる LPS 結合様式であることが分かりました。大学院修士課程に入学後は、再現実験を行い、比較免疫学会の第 30 回学術集会(神奈川)で初めて学会発表を行いました。こんなしょうもない実験結果を発表しても大丈

夫だろうかと心配していましたが、先生方にさまざまな観点から質問をいただき、また学術集会に参加できるように頑張ろうという気持ちで開催地の神奈川から福岡に帰ったことを今でも覚えています。

その後、proCE の clip ドメインの機能解析や Biacore を用いた LPS 結合解析、酵素活性のデータなどを追加して、第 31 回学術集会(福岡)に参加しました。やる気はもう十分で参加しましたが、質疑応答も含め、何か余計な力が入り、ごちない発表になってしまっていました。振り返ってみると、当時の実験データは定性的に clip ドメインの性質をとらえてはいるものの、何か定量性に欠ける実験データでした。そこで行った実験が 活性型の proB (chelicerae B) と proCE 間の k_{cat} , K_m の決定です。プロテアーゼのタンパク質-タンパク質間の反応速度定数を定めたのは世界でも初めてのことでないかと考えています。その結果、clip ドメインの基質結合部位を変異させた proCE では野生型 proCE を用いた時よりも、chelicerae B との k_{cat}/K_m が 約7倍減少していることが明らかになり、proCE の clip ドメインが chelicerae B から効率よく活性化を受ける上で重要な働きをしていることが説明できました。

論文投稿から受理に至るまでの改定作業には非常に時間がかかりましたが、論文受理の連絡とともに JBC の Technical editor の方が、アブストラクトを全面的に添削して下さいたり、論文出版後も ASBMB(米国生化学・分子生物学会)の関連メディアである「ASBMB TODAY」で本論文の特集を組んで下さったりと海の向こう側で自分が主軸に関わった論文にフォーカスが当たっていることが、何とも言えないくらい誇らしい気持ちにさせてくれました。また、研究者間の一流のやり取りも何度も目にし、自分も早くその輪に加わりたいと思いました。末筆ではありますが、本論文の作成にあたり、日頃よりご指導いただいている九州大学・川畑俊一郎先生、柴田俊生先生、そして、論文共著者で研究室 OB の小林雄毅博士、高橋俊成さん、生体高分子学研究室の皆様、研究に対してご助言・ご支援いただいている生化学工業株式会社 LAL グループの皆様にご心より感謝申し上げます。また、日本比較免疫学会の先生方には引き続きご指導ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。



川畑先生が大学院生のころから稼働する蛍光光度計と記念撮影

古田奨励賞受賞者から



古田奨励賞 受賞のお礼

東北大学 薬学研究科

唐 暢

受賞対象ポスター: ショウジョウバエを用いた自然免疫の記憶のゲノム科学解析

この度、日本比較免疫学会(JADCI)において、「ショウジョウバエを用いた自然免疫の記憶のゲノム科学解析」というタイトルで発表を行い、日本比較免疫学会古田奨励賞をいただきました。大変光栄に存じます。誠にありがとうございました。本受賞に際して、日本比較免疫学会会長の中尾実樹先生、副会長の倉田祥一郎先生、学術集会担当の末武弘章先生と古川亮平先生、選考委員会の先生方および大会事務局の先生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る故古田恵美子名誉会長に感謝を申し上げます。

私は中国からの留学生ですが、2019 年から東北大学大学院薬学研究科の修士課程に入学し、生命機能解析学分野(倉田祥一郎教授)の研究室に所属し、研究活動を行ってきました。今年度(2021 年度)から同研究室の博士課程の学生になりました。古田奨励賞は私が留学してから初めていただいた学会賞なので、私にとっては非常に重大な意味を有しています。

私の研究の対象は、「自然免疫の記憶(Innate immune memory)」あるいは「訓練免疫(Trained immunity)」と呼ばれる自然免疫の新たな性質になります。古典的に、宿主の免疫系は自然免疫と獲得免疫の2つに大別されます。獲得免疫では、侵入してきた病原体を認識して記憶することで、その後同じ病原体の二度目の感染に対する抵抗性が上昇する、「免疫記憶」という性質が存在します。一方、過去には、自然免疫にはこのような免疫記憶の仕組みが存在しないと考えられました。しかし近年、植物や無脊椎動物などの自然免疫のみを有する生物種で、一度病原体を感染させ訓練しておく、二度目の感染に対する免疫の増強が観察

されており、自然免疫の記憶の存在が示唆されてきました。さらに、哺乳類の自然免疫細胞を用いて、訓練による免疫応答の増強が観察され、その現象に遺伝子発現のエピゲノム制御が関与することが示されました。このような研究から、自然免疫の記憶が注目されて、現在、多くの研究が行われていますが、その詳細なメカニズムについては不明な点が多く残されています。例えば、今までの研究の多くは培養細胞を用いた研究であり、また、哺乳類では、獲得免疫の存在によって自然免疫を個体レベルで解析するのは困難であるため、自然免疫の記憶では個体レベルにおいて何が生じているのか、ほとんど理解されていません。

そこで、本研究は自然免疫のみを有するショウジョウバエをモデル生物として、ゲノムの角度から個体レベルで自然免疫の記憶のメカニズムを研究しています。ゲノムは生物の表現型を規定する根源であると、私は考えています。ゆえに、私は当研究室で確立された自然免疫の記憶を検出できる実験系を用いて、自然免疫の記憶のゲノムワイド関連解析(GWAS)を行いました。GWAS は、大量の個体の形質のバリエーションとゲノムのバリエーションの比較から、特定の形質あるいは疾患に関連するゲノムを探る解析手法です。ショウジョウバエは、ゲノム配列がすでに決定された純系統ライブラリが存在するため、GWAS に有用なモデル生物です。修士研究では163 系統のショウジョウバエを用いて、GWAS を行い、最終的に自然免疫の記憶に関わる可能性のある 96 の候補遺伝子を同定しました。候補遺伝子のうちの一部の遺伝子について RNAi によ

リノックダウンし、表現型への影響を検討した結果、ショウジョウバエの全身で *Adgf-A* 遺伝子(哺乳類 ADA2 のホモログ)をノックダウンすると、免疫記憶の表現型がキャンセルされることが観察されました。*Adgf-A* はアデノシンからイノシンへの変換に関わる酵素として知られていますので、アデノシン代謝経路が自然免疫の記憶に関わる可能性が示唆されたことについて、今回の学術集会において発表させていただきました。

アデノシンは哺乳類の免疫に関わることが知られており、広く注目され研究されています。生物種が異なっても、自然免疫のような種の存続を支える基本のシステムは、進化的に保存され、多くの仕組みが共通していると考えられます。本研究の知見は、アデノシンが自然免疫の記憶に関与することを示唆しており、ショウジョウバエだけではなく、哺乳類においても同じ仕組みが機能する可能性が考えられます。今後、私達の知見を哺乳類の解析に還元することで、進化的に保存された自然免疫の分子機構の解明が進展することを期待しています。

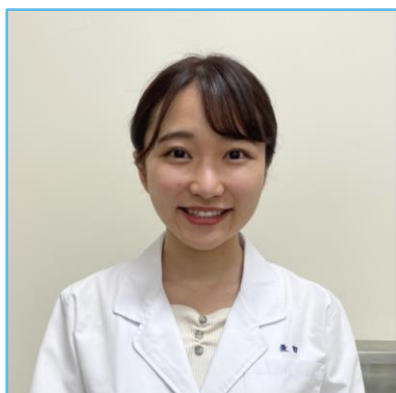
自分の理解では、比較免疫学は、様々な生物種の免疫の仕組みを調べ、「比較」することで、それぞれ特有の仕組み、または生物種を越えて共通している仕組みを解明するものだと思います。今回の学術集会では、比較免疫学の主旨のように、ヒトデや

魚類など様々な生物を用いた素晴らしい研究発表をいろいろ拝聴させていただきました。このように、様々な研究者と交流し、異なる視点からの意見を受け入れて思考することは、まさに新しい研究を生み出すきっかけになると思っています。今後いろいろな学会に参加し、自分自身を高めて行きたいと思っています。

最後になりましたが、本研究を推進するにあたりご指導、ご鞭撻を賜りました東北大学薬学研究科・生命機能解析学分野の倉田祥一郎教授、布施直之助教、そして共に研究に励む研究室のメンバーに深く感謝を申し上げます。



第 32 回学術集会参加記



学術集会にはじめて参加して

熊本高等専門学校 専攻科
生産システム工学専攻 1 年
麦田友佳

私は、令和 3 年 8 月 27 日から 29 日にかけての 3 日間、オンライン形式で開催された日本比較免疫学会第 32 回学術集会に一般講演の発表者として参加させて頂きました。今回、私にとって初めての学会参加、そしてオンライン形式での学会で、とても刺激的で貴重な 3 日間でした。熊本高等専門学校本科 5 年時に、対面にて卒業研究発

表は行いましたが、対面でのスライド発表とは全く異なる資料作成や質疑応答形式で、研究を短い文面で要約し、わかりやすく伝える資料作成の難しさを改めて実感しました。

私は、熊本高等専門学校生物化学システム工学科卒業後、現在、生産システム工学専攻にて分子生物工学研究室に所属しています。本研究室では

免疫学、抗体工学を専門に研究しており、今回、私は「ショウジョウバエ Dscam 提示ファージライブラリの構築」というテーマで発表させて頂きました。高専本科 5 年間で生化学や遺伝子工学、医薬品工学の授業にて抗体医学や免疫研究に興味を持ったことから本研究室に所属し研究を行っています。そして、これまで昆虫や甲殻類は抗体をはじめとする獲得免疫系を有していないと考えられていましたが、近年、多様なアイソフォームを有する Dscam が免疫系の抗原認識にも関与していることが示唆されていることに興味を持ち、本研究テーマにて研究を行ってきました。本研究テーマは今年度の 4 月から開始し、研究を行っている中で日本比較免疫学会のお話を先生からお伺いし、研究開始から 4 カ月程度ではありましたが、実際に学会にて発表してみたいという気持ちが強くあったことからオンライン形式での日本比較免疫学会に参加させて頂きました。

事前に頂いた学術集会講演要旨や当日のポスターや資料、コアタイム等、一般講演に参加された方々の研究テーマや内容についてオンライン形式であったことから多くの時間をかけ、深く拝見させて頂くことが出来ました。その中で免

疫学や発生生物学の研究テーマの魅力や面白さ、奥深さ、そして資料作成や説明方法等、とても学ぶことの多い貴重な時間になりました。今回の学会参加において、特にリアルタイムでのチャット対応 2 時間のコアタイムではとても緊張したことを覚えています。コアタイムは複数の先生方、そして参加学生の方々から多くの意見や質問を頂き、リアルタイムで回答していくにつれ学会での緊張感の中にあっても自然と会話をするような気持ちになり、とても楽しく充実したあっという間の 2 時間になりました。

オンライン形式での学会はチャットを利用した質疑応答、遠方にいながらも複数の人々とリアルタイムで交流できること等、オンラインならではの良さもありましたが、対面での学会や発表にも是非参加したいという気持ちもより一層強くなりました。

本学会への参加により、複数の先生方と研究談義をして頂き、また、様々なテーマの研究内容、発表資料からも学ぶことも多く大変有意義な時間を過ごすことが出来ました。今回得た経験を活かして、さらなる成長を図っていきたいと思います。参加させて頂き、有難うございました。



初めての学会を終えて

福井県立大学大学院海洋生物資源学研究科
修士課程 1 年
杉浦羅央

私は魚類が持つメラノクロファージの免疫における役割を研究しています。尊敬する先輩から受け継いだテーマが私に務まるのか不安を抱えながら研究を進めてきました。今回が初めての学会であり、このテーマを託して下さった先輩に恥じぬよう全力で取り組もうと心に決めて学会に挑みました。

学会の準備では私の研究は周りで支えてくれている人のおかげでできていることを改めて感じました。実験に用いるトラフグは研究室から離れた施設で飼育されているため、車を持っていない私のために後輩や同期の人が実験魚を取りに行ってく

れ、時間のかかる大変な実験をするときもみんなが手伝ってくれたおかげで挫折することなく実験を進めることができました。また、要旨やポスターを作製する際にも先生や先輩のアドバイスに何度も救われ、納得のいくものができました。

オンライン開催であったため、学会当日はほとんど緊張せず終始落ち着いていました。私の研究を学外の人に発表する機会がなかったため、質疑応答はとても新鮮な気持ちで楽しかったです。特に、メラノクロファージの研究してきた方々から御質問や御意見をいただいた際、私以外にもこの細胞を研究している方がい

ることを改めて強く実感し、研究を進めていく上での孤独感や不安が少し和らいだと同時に、私も頑張って結果を出さなければという念いで溢れました。

また、他の分野で免疫に関する研究をされている方の発表も私にとって新鮮なものでした。研究内容や要旨、ポスター、フラッシュトークの見せ方や構成が研究者ごとに特色があり、次の学会発表では是非参考にさせていただきたいと思いました。

初めての学会では勉強になることが多く、とても有意義なものでした。また、私の研究がみんなに支えられていることやメラノマクロファージを研究されている方から御意見をいただいたことを受けて、私は一人ではないということを実感しました。これからは、私も研究室みんなの力になり、お互いに協力しながら研究を進め、このテーマを託してくださった先輩を越えていけるように努力していきます。

第 33 回学術集会のご案内



北里大学海洋生命科学部

中村 修（集会長）

筒井 繁行（事務局長）

会員の皆様におかれましては、時下ますますご清栄のことと拝察申し上げます。

来年度の第 33 回学術集会は北里大学にて担当させていただくことになりました。場所は、神奈川県相模原市にある北里大学相模原キャンパス、日時は 8 月 26(金)~28(日)の 3 日間を予定しております。

新型コロナウイルスのせいで、学術集会は 2020 年は開催見送り、2021 年はオンライン開催となってしまいました。近藤先生、安本先生のご尽力によりオンライン大会は成功裏に終わりましたが、久しく顔を拝見していない会員の皆さまとそろそろお会いしたいと思ってらっしゃる方も多いことと思います。来年こそは対面で開催できることを念願しております。

相模原市はでっかい田舎のような街で、これといって特筆すべきものもありませんが、精いっぱい準備させていただきますので、どうぞ皆様奮ってご参加くださいますようお願い申し上げます。

いずれ詳細が決まり次第、随時 HP やメール等でご案内していく予定でおります。皆様とお会いできることを楽しみにしております。

会場：〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1 北里大学相模原キャンパス

IPE 棟 IPE ホール

日時：2022 年 8 月 26 日(金)~28 日(日)



IPE ホール

追悼 丹羽允先生



故丹羽允先生
(1924 - 2020)

丹羽允先生を偲ぶ

カプトガニの Chemical Biology 研究のオルガナイザー

日本大学理工学研究所・上席研究員
宍倉文夫

初春、寒中見舞いの葉書を丹羽脩氏^{注1}より戴いた。丹羽允先生が2020(令和2)年8月11日に逝去されたとの知らせであった。丹羽先生の聲咳に学生として接したことはなかったが、カプトガニ研究で始終お世話になってきた。ここ数年先生から賀状の交信が途絶えていたので、内心「(今年も賀状がないな)お会いしなければ」と気をもんでいた。機会を失い追悼文になってしまったことは、慙愧に堪えないものの丹羽先生から受けた薫陶の一端を小文に遺し、丹羽先生(日本比較免疫学会・名誉会員)を偲ぶ縁にしたい。

カプトガニ研究者の丹羽允先生は、1924(大正13)年8月1日、丹羽家の10人兄弟姉妹の四男として誕生。1946(昭和21)年、名古屋帝国大学理学部化学科に入学され、江上不二夫さんに師事された。江上先生の学問的良心、後進に対する深い配慮と薫陶を受け、「生涯に亘りよい先生とよい友に恵まれたものと感激した」と述懐されていた^{注1}。「江上先生から核酸の集中講義を受けたことがあります」と申し上げたら、笑みを浮かべられたものなるほどと思ひ当たるが多かった。良い先生と良い友と良い結婚は人生における3つの大事^{注2}と。丹羽先生のご生涯は運否天賦とはいえ「幸運と好意に恵まれた^{注1}」人生そのものと拝察・敬服している。

さて、丹羽先生の96年に亘るご生涯のうち、先生からカプトガニ研究で心にかけていただいた7、8年間(1976年頃から)のことを振り返りたい。その後は前掲の通り賀状の交換が主になり、時折日本比較免疫学会でお会いしたこと。また、Prof. Jack Levinの訪日(1979年)の際にはLevin夫妻の日光観光のスナッフ写真を送っていただき、3回目の訪日(2012年10月)には関東方面の案内役を、在京の地の利を心得られておられたか、私に託されたことが思い出に残る。

1978(昭和53)年10月7-9日最初のカプトガニ国際シンポジウム^{注3}がWoods Hole Marine Biological Laboratory(MBL)^{注3,4}で開催された。そのシンポジウムに関西グループから丹羽先生(大阪市立大)、清水暁先生(愛知がんセンター:ヘムアグルチニン研究)、高木尚先生(東北大学:コアグロゲン^{注5}研究)と関東からは中村光一郎先生(国立高校:生態学)、宍倉文夫(筑波大学:アメーボサイトと比較免疫研究)等が参加した。この頃の国内のカプトガニ研究では、1976(昭和51)年10月23、24日に岡山県笠岡市横島にある「青年の家」で基礎、臨床、薬学の研究者が一堂に集まり、最初のシンポジウム^{注6}が開かれている。この笠岡シンポジウムは丹羽先生が企画されたものである。「青年の家」の宿で関西グループの面々

が車座になって議論をしているのを遠目に、私は尻込みしていたがこれが機縁になり岩永貞昭先生^{注7}グループの知己^{注8}を得ることになる。しかし、丹羽先生に懇意にしていただけなのは、その2年後のMBLのカブトガニ国際シンポジウムを待つことになった。

カブトガニ国際シンポジウムの機運が高まっていた頃の国外のカブトガニ研究は、1956年にBang, FBがアメーボサイトの不思議な性質(内毒素と反応して血液細胞がゲル化する)に気づき、1964年にはBang, FBとLevin, Jはカブトガニ(*Limulus polyphemus*)から血球抽出液(*Limulus Amebocyte Lysate*)を調整し、極微量の内毒素を加えるとゲル化することを発見した。1977年には、内毒素定量法(*Limulus test*:リムルス試験)として利用が認可(米国FDAのFederal Register notice: 42 FR 5774)されていた。

丹羽先生はリムルス試験による内毒素定量の有望性を認め、日本のカブトガニ(*Tachypleus tridentatus*)の医学的利用を念頭に、1972年8月末、血球抽出液を調整した。しかし、カブトガニからの採血は、生息地及び繁殖地が天然記念に指定されているため、幸運と好意によって始まり、日本のカブトガニ研究は現在に至るまで保護と利用研究をバランスよく両立させている^{注9}。丹羽先生はカブトガニ保護運動にも尽力され、1978(昭和53)年カブトガニを守る会が創立された。丹羽先生は守る会創立時から副会長としてご活躍されていた。こうして保護運動は、カブトガニ4種類の生息地(インド・東南アジア・中国・アメリカ東海岸)に飛び火して生息地の研究者らによる世界規模の保護運動に発展している^{注10, 11}。

一方、カブトガニの血液研究にはもう一つ重要な報告が知られている:1903(明治36)年、野口英世博士(ペンシルベニア大、当時27歳)がMBLでカブトガニの血液中にhemagglutinin(血球凝集素)を発見した。約60年後のMBLでProf. Marchalonis, JJは、野口の研究成果を再発見(1964年)するに至る。それから10余年遅れて、丹羽先生は、野口の追試実験を清水暁先生(江上研究室の後輩)に託していた^{注12}。野口のバイオニア的研究から始まったヘマグルチニン研究は太平洋の東と西で相前後して進み、それぞれのグループからの研究成果が1978年のMBLカブトガニ国際シンポジウム^{注3}で報告された。当時のホットニュースの一つであった。野口のhemagglutininは、その後糖鎖を認識する分子としてlimulin(レクチンの一種)と呼称されていたが、脊椎動物の免

疫系にかかわるタンパク質認識分子

(immunoglobulins)の先駆分子(precursor)を探査していた研究者らは、約2億年前から今の姿の生きている化石カブトガニ(野口の言葉を借りるとcold-blooded animals)の血液分子hemagglutininに興奮と期待を寄せていた^{注13}。生物界に普遍的に存在するレクチン分子の生物学的意義は残された課題となっている。意外な事実が明かされるかも知れない。このMBLシンポジウムで主催者の一人Dr. Cohen, Eがカブトガニ血液研究のパイオニアとして野口の歴史的実験を紹介した。No-gu-chiとhem-ag-glu-tininの発音と抑揚は、(筆者の)若き日に受けた衝撃として、未だに余韻が耳に残る。

カブトガニ研究における丹羽先生のご生涯の功績は、畢竟するに、化学生物学研究のオルガナイザー(免疫学的に例えれば、プロフェッショナル抗原提示細胞か)として面目躍如たるご活躍であったと思う。江上先生は「新しい流行を作る」「学問は最初の一つができることが大切、後は真似する人がやってくれる」「意外な結果が出たら喜べ、はじめの予想通りの結果よりずっと重要である」と。江上不二夫先生のこれらの教えは、丹羽允先生の座右の銘となり、丹羽先生の血と肉に昇華されていたのであろう。丹羽允・はじめ夫妻のご生涯は、人類100万年の瞬きのエネルギーの輝きであったかも知れないが、物理的にも途絶えることなく遥かな未知のエリアを飛び続けているのだろう。星々の瞬きを幾光年離れた今見ているように。

良い先生との巡り合わせに浴した私たちの日々を深く感謝したい。

参考文献

^{注1}この小文の典拠は弟君の丹羽脩氏から借用した「ある戦中派の歩みと反省—幸運と好意に恵まれて—丹羽允」2014年3月20日刊・非売品による。

^{注2}カール・ヒルティ(Hilty, C. 筆者学生の頃:村上進先生(埼玉大学生化学教授)から度々拝聴する)。良い結婚については、丹羽先生齢31歳:1955(昭和30)年3月20日、山本時男先生の下でメダカの発生を研究していた鈴木はじめさんと成婚(はじめさんは生物学分野で理学博士号取得)。2011(平成23)年12月1日逝去、85歳。

^{注3}Biomedical Applications of the Horseshoe Crab (Limulidae):Progress in Clinical and Biological Research Vol. 29. 1979. Eds. Cohen, E., Bang, FB., Marchalonis, JJ., Pistole, TG., Prendergast, RA., Shuster, C. Jr., and Watson, SW. Alan R. Liss. Inc.

^{注4}私事であるが、「(Boston Common パークからグレーハウンドバスでMBLに向かう車窓から見た)ニューイング

ランドの紅葉は素晴らしいね。一緒に見るようになるよ」と結婚の決め文句に使ったことがある。まだ、その約束が果たされていない。

注⁵ coagulogen または clottable protein ともよぶ。カプトガニ血球中に存在する血液凝固タンパク質。コアグロゲンのゲル化機構はペプチド C (fibrino-peptide-like peptide-C) が遊離されると単量体から自発的に会合体に移行する。fibrinogen の fibrino-peptide が遊離して重合反応によるゲル化機構と異なる。高木尚先生は大阪大学タンパク質研究所で岩永貞昭先生の高弟。カプトガニのゲル化機構解明の先鞭をつける。

注⁶ 笠岡シンポジウム・カプトガニの医学への貢献 1976 年 丹羽允 編集

注⁷ 内毒素に反応するアメーボサイトのゲル化機構の解明を 1970 年頃岩永貞昭先生(阪大タンパク研、その後九州大学理学部教授)に託された。岩永先生はヒトの血液凝固系の分子機構の研究に優れたキャリアーを有する。カプトガニの血液凝固系を解明する最適任者であり、丹羽先生の共同研究者として生涯活躍された。カプトガニのゲル化機構の解明は、岩永研究室グループ(九州大学理学部)の独壇場となった。2020(令和 2)年 6 月 21 日逝去、87 歳。

注⁸ 岩永先生の高弟・中村伸博士(京大・霊長研)と fibrino-peptide-like peptide-C のアミノ酸配列(28 残基)に基づくカプトガニ 4 種類の分子系統樹を報告(J. Exp. Zool., 223: 89-91, 1982)。

注⁹ カプトガニ保護運動は笠岡市のカプトガニ保護センターが中心的役割を担うようになる。カプトガニの利用研究者側からは、筑波大学的前身・東京文理科大学、その後東京教育大学、筑波大学でカプトガニの保護と研究と後

進の指導に専念された関口晃一教授(カプトガニ研究は関口先生の恩師: 丘英通教授から始まる)グループの貢献も大きい。

注¹⁰ 「かぶとがに No. 41」2021(令和 3)年 7 月 1 日刊(日本カプトガニを守る会): カプトガニの現況を知ることができる。

注¹¹ 最近の Nat. Geographic ニュース(natgeo.nik-keibp.co.jp/atcl/news/20/070600400/?P=2 2020.0712)で、製薬会社は内毒素の混在検査に *Limulus test* を使い Covid-19(コロナ)ワクチン製造もその例外でない(Horse-shoe crab blood is key to making a COVID-19 vaccine --but the ecosystem may suffer. Arnold, C.の報告による)。また、同ニュースで 50 億本の Covid-19 ワクチン製造に *Limulus test* を 60 万回実施して内毒素の混在を試験している(Dubczak, J. Charles River Laboratories, Mass.)。カプトガニ保護と医薬利用のバランスのために組換え因子 C(recombinant Factor C: rFC)の代替使用がカギとなる。

注¹² Lectins in the hemolymph of Japanese horseshoe crab, *Tachyplesus tridentatus*. Shimizu, S., Ito, M., Niwa, M. Biochem. Biophys. Acta 500:71-79, 1977.

注¹³ Marchalonis, JJ は Edelman, GM との共著で he-magglutinin は vertebrate immunoglobulins と複数の構造面で異なる分子と示唆している。参考: Isolation and characterization of a hemagglutinin from *Limulus polyphemus*. Marchalonis, JJ., Edelman, GM. J. Mol. Biol., 32:453-465, 1968.

(写真は丹羽先生の自伝より転載させていただきました)

丹羽先生は比較免疫学会の 20 周年記念誌「飛翔」に以下の文章を寄稿されておられました。先生の比較免疫学会への愛情がしのばれる内容となっておりますので、ここに再掲させていただきます。

UNITY IN DIVERSITY を目指して

名誉会員 丹羽允

比較免疫学会が 20 周年を迎えた。人間なら志固まって見るもの聞くもの清新な感受性で心躍らせる年齢である。1972 年私がカプトガニの研究を始めた頃、細菌学会、免疫学会、生化学会などに発表しても、主流から外れた変わった研究と見られることが多かった。比較免疫学会ができて、限りなく多様な生命の形態に普遍的なメカニズム(Unity in Diversity)を探求する同志が一堂に会して議論できる共通の広場を得て、

私は蘇生する思いだった。人命に直結する内毒素定量という課題の重さに喘ぎながらも、自然免疫の源流を探る道に立ち返らせてくれたのは、岩永、川畑両博士との協同と比較免疫学会の刺激のお陰である。その頃 Burnett の免疫の起源を探る論文に、下等動物の原始的免疫細胞から獲得免疫の複雑な機構が生まれたことを推察し、渡辺博士のホヤ融合反応の意義を高く評価しているのにも目を開かされた。免疫機能の獲

得こそ何より端的に適者生存を高める因子という信念はこうして熟成していった。

私が比較的観点の重要性を教えられたのは、以前本誌に書いたように、江上不二夫先生のお陰である。*E. coli* や肝臓の酵素でもその進化的意義は？ と、百日咳毒素や内毒素でも何故動物種によって感受性に大差があるのか？ と、いつも自分で問いかけながら研究していた。「一般的ですべての属に例外なく存在する系は生物機構の最も古い系とみなすことができ、生化学的〔免疫的—筆者補足〕進化の基礎になったのはやはり自然淘汰である。」(Oparin)。この基調で佐藤了氏と共著で「エネルギー獲得形式の進化」〔現代の生物学7、岩波、1966〕を書いたが、最近 江上生子「オパーリン」(人と思想シリーズ、清水書院(2008))を読んで、生命の起源で代謝、自己複製、体制維持と変異と共に、広義の生体防御系(制限酵素など異物処理系)は必須条件で、始原生物にも備わっていた、と見るべきだと痛感した。研究対象としてカブトガニは生きている化石で多彩な生体防御機構を備えている、これこそ免疫の源流を探る絶好の材料であると思った。ザリガニなどの生態防御系も調べる積もりで探したら、柳生の寺の池に沢山いると聞いて、院生と夢中で釣っていたら、住職が出てきて「寺の境内で殺生するとは何事か」と大目玉、わけを話すと「研究用なら予め知らせてくれ、子供が真似すると困る」とやっと放免、そんなわけでザリガニを調べなかったのが悔やまれる。比較免疫学会に出ると、ホヤ、ナメクジ、昆虫から魚類まで多種類の動物の免疫系の話が聞けるのが、無性に面白く勉強になった。学問の王道は、専門の対象を脇目も振らず深く深く掘り下げることであるが、一方、広い視野で進化、系統発生的観点から多様性の中の普遍性を探求することも大切である。ひとつの動物種では行き詰まる問題が進化的比較の観点で展望が開けることもある。

医学的要請から免疫学がヒトや哺乳類を対象に発展してきたことは無理からぬことだが、それでも Metchnikoff が食菌作用を発見したのはヒトデなど無脊椎動物だった。最近進化〔Darwin〕医学と称して、病態や抵抗性、遺伝性を進化の観点から見直す動きがある。抗生物質、抗癌物質を広く無脊椎動物までに求める研究も盛んである。一つの免疫機能の獲得は、形態や体色の変異よりもより直接的に種の survival に大きく寄与する。動物の感染症感受性は大差があるが、その比較免疫学的研究はヒト集団の感染症感受性の解明に大きな貢献をするであろう。例えば結核感受性の高い人は産業革命、女工哀史以来子孫を残さずかなり淘汰されてきたが、途上国ではまだ淘汰途中であり、先進国でも結核が治り、子孫を残す率がふえるにつれ〔私は残さなかったが〕、感受性遺伝子(まだ完全には解明されていない)保有率が増える可能性がある。SARSや新型インフルエンザなど新興感染症では媒介動物の免疫的研究が必須である。このように医学でも比較免疫学は無視できない領域になった。比較免疫学会に医学薬学系の研究者がもっと参加されることが望ましい。

本学会の年齢分布は知らないが、本学会がせめてもう 10 年早く発足していたら、私の無駄な試行錯誤も減り、少しは賢くなっていたら。江上先生は「定説に反する実験結果が出たら喜べ。それは新しい展望の扉を開くかもしれないから」とよく言われた。Ehrlich が化学療法の基礎に発展する染色法を研究したのは 23 歳、Oparin が当時タブーだった生命の起源に挑戦したのは 30 歳、既成概念にとらわれず、新しい展望を開くのは若い人の特権である。昨年の奨励賞の結果はそれを保証している。若い人の力で比較免疫学会が老化の兆しも見せずに 30 周年、40 周年を祝えることを望んでやまない。

(この文章をお送りくださった中村弘明先生に御礼申し上げます。)

追悼 岩永貞昭先生



故岩永貞昭先生
(1933 - 2020)

岩永貞昭先生を偲ぶ

九州大学名誉教授の岩永貞昭先生は、2020年6月21日、87歳の生涯に幕を閉じられました。岩永先生は、1933年1月5日に東京都でお生まれになり、東京都立小山台高校に在学中は野球に没頭され、甲子園出場をかけた決勝戦で惜敗されたそうです。明治薬科大学薬学科をご卒業後は、京都大学大学院薬学研究科(鈴木友二研究室)へ進学され、蛇毒から精製したエステラーゼ、アルカリ性フォスファターゼ、ヘモリシン、L-アミノ酸酸化酵素、凝固・溶血プロテアーゼなどの酵素学的研究を行い、薬学博士の学位を取得されました。その後、京都大学薬学部助手、大阪大学蛋白質研究所助手、同助教授を経て、1978年九州大学理学部教授に就任され、拙子を含む6名が最初の卒論生でした。

岩永先生は、哺乳類血液凝固を含めた生体防御反応の分子機構の解明に顕著な業績をあげられました。その詳細は、日本生化学会の会誌「生化学(Vol.92 No.4, 2020)」に掲載されました。拙報文を参照していただきたいと思います。岩永先生がリポ多糖(Lipopolysaccharide, LPS)で惹起されるカプトガニの体液凝固系に触れられたきっかけは、1970年代の初め、大阪市立大学医学部細菌学教室の丹羽 允(にわ まこと)先生

九州大学大学院理学研究院

川畑俊一郎

から、カプトガニ体液の凝固塊(凝固タンパク質コアギュリンのクロット)の顕微鏡写真を見せられたことであると話されていました。その凝固塊の形態が哺乳類のフィブリンクロットと酷似しており、たいへん興味をそそられたそうです。

当時、LPSは内毒素(エンドトキシン)とよばれ、カプトガニ血球抽出液がエンドトキシン検出試薬(リムスルテスト)として応用されていましたが、その体液凝固の分子機構の詳細は不明でした。九大就任後は、幸いにも博多湾に多くのカプトガニが棲息しており、「カニ凝固プロジェクト」を推進することになりました。その結果、体液凝固に関わるユニークな4種のプロテアーゼ前駆体と凝固タンパク質前駆体が精製され、それらの連鎖反応(カスケード)の酵素学的解明、全一次構造決定、ヌクレオチド配列決定などが行われました。これらの研究は、昆虫免疫学や比較免疫学分野において独壇場となり、国内外の関連研究者らに大きな影響を与え、現在においても、血液凝固に付随する感染防御系を考える上で大きく貢献しています。「カニ凝固プロジェクト」の経緯と詳細は拙稿をご覧くださいと思います(*The Journal of Biochemistry*, **147**, 611-618, 2010)。

岩永先生は、これらの業績が評価され、1989年には米国生化学・分子生物学会の外国人名誉会員に推挙されました。また、1980年以降、血栓や止血機構に関する数多くの国際会議、例えば、ゴードン会議、ヨーロッパ分子生物学機構のワークショップ、キーストン会議、アメリカ心臓学会、Ciba Foundation シンポジウム、アジア生化学連合シンポジウムなどの招待演者として招聘されました。国内関連学会においては、日本生化学会会長、日本血栓止血学会会長、国際血栓止血学会組織委員会委員、日本蛋白工学会理事等を務められ、日本の教育と学術の進展及び国際協力に寄与されました。岩永貞昭先生のこれまでの長きにわたる御指導と御鞭撻に感謝いたします。また、この追悼文を中尾実樹会長からご依頼を受けた際に、上述の丹羽先生も逝去されたことを伺いました。両先生の比較免疫学分野への長年のご貢献に敬意を表しますとともに、ご冥福をお祈りいたします。

故 岩永貞昭先生 略歴

経歴

昭和 30(1955)年 3 月 明治薬科大学薬学科卒業
 昭和 32(1957)年 3 月 京都大学大学院薬学研究科修士課程修了
 昭和 35(1960)年 3 月 京都大学大学院薬学研究科博士課程修了
 昭和 35(1960)年 9 月 薬学博士(京都大学)
 昭和 35(1960)年 4 月 京都大学薬学部助手
 昭和 38(1963)年 12 月 大阪大学蛋白質研究所助手
 昭和 40(1965)年 10 月 スウェーデン王立カロリンスカ医学研究所
 訪問研究院(2年8ヶ月)

昭和 43(1968)年 12 月 大阪大学蛋白質研究所
 助教授

昭和 53(1978)年 12 月 九州大学理学部教授

昭和 61(1986)年 4 月 九州大学大学院医学系
 研究科
 分子生命科学専攻教授兼任

平成 8(1996)年 3 月 九州大学定年退職
 九州大学名誉教授

平成 8(1996)年 4 月 財団法人 化学及血清
 療法研究所顧問

主な受賞歴

昭和 44(1969)年 日本薬学会宮田専治学
 術賞

平成 3(1991)年 国際止血・血栓学

The Biannual Awards for Contribution
 to Haemostasis, Distinguished Career
 Awards

平成 5(1993)年 第 25 回内藤記念科学
 振興賞

平成 12(2000)年 紫綬褒章

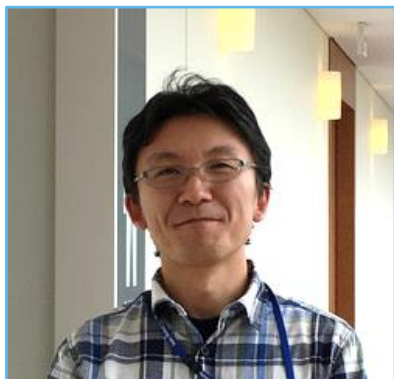
平成 18(2006)年 国際血液浄化学会
 International Society of Blood

Purification Award

平成 19(2007)年 瑞宝中綬章

連載企画 この論文 推します！

研究・教育以外の業務は増える一方、ゆっくり研究のことを考える時間もなかなかとれず、ましてや自分の専門外の論文にまでは目が届かない、そんな方も多いのでは。せっかく多士済々の比較免疫学会ですから、面白い論文やトピックを紹介していただこうと、そんなことを考えました。第2弾となる今回は、須藤洋一先生です。



岩手医科大学

いわて東北メディカル・メガバンク機構

生体情報解析部門

須藤洋一

DNA メチル化の保存的なリモデリングに基づくイヌとヒトの年齢の定量的な変換方法

“Quantitative Translation of Dog-to-Human Aging by Conserved Remodeling of the DNA Methylome” by Wang, T et al. *Cell Systems* (2020).

「うちの犬は1歳。人間に例えるとだいたい15歳」などという会話は、ペットを飼ったことのある方なら必ずしたことがあると思う。人間などに比べるとイヌはあっという間に大きくなってしまふ。この前までは無邪気に飼い主に甘えていたのに、いつの間にか見向きもしなくなり、散歩のときは道順で我を通し、従順なのは餌を与えるときばかり…、といった経験をした飼い主は、きっと私だけではない。

イヌの年齢をヒトに当てはめる変換式はネットを探すと色々出てくる。だが、不安になるくらいに原典がわからない。私が見つけた一番信用できそうな資料は、環境省の「飼い主のためのペットフードガイドライン」(1)という資料だが、これには目安として、

小～中型犬・猫は、

ヒト年齢 = 24 + (動物年齢 - 2 年) × 4

大型犬は、

ヒト年齢 = 12 + (動物年齢 - 1 年) × 7

という換算式が出てくる。しかしあろうことか、これにも出典がない。世も末である。一体ウチの犬は人間に例えると何歳なのか。科学リテラシーに敏感な飼い主はそれを知りたくても満足の行く答えに出会うことはできないであろう。真実は藪の中。イヌに聞いてもわからない。

しかし近年、年齢を推定する新たな手法が確立しつつある。それが、DNA メチル化を利用した年齢推定法だ。ゲノム情報は転写されタンパク質に翻訳されるが、この転写の頻度などをコントロールする要因の一つに、DNA のメチル化がある。DNA を構成するヌクレオチドのうち、シトシン(C)の一部がメチル化修飾されると、転写因子の結合活性が変化したり、DNA そのものの立体構造を変化させたりする効果が生じる。メチル化する可能性がある部分はシトシンとグアニン(G)が並んでいる場所のため、間のリン酸基(p)を加えて、「CpG サイト」と呼ば

れる。DNA メチル化は網羅的な解析(メチローム解析)手法も確立しており、私の今の所属でも、ゲノム、トランスクリプトームに加えて、メチロームを加えたマルチオミックス解析を主軸の一つにして研究を進めている。

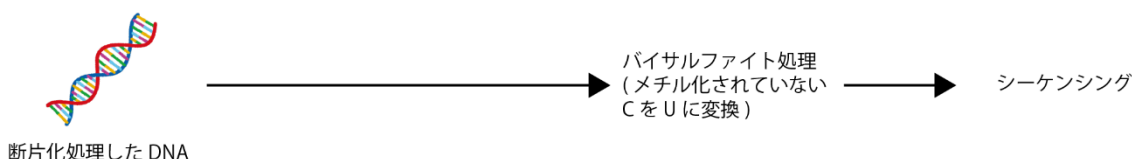
近年、この DNA メチル化には、面白い特徴があることがわかってきた。「時間」に依存して DNA メチル化状態が変化する、時計のような CpG サイトが存在するというのである。こうした CpG サイトを利用すれば、まるで年輪のように、その個体の「年齢」を推定することができる。これは「エピジェネティック・クロック (Epigenetic clock)」と呼ばれており、近年、この業界では精力的に研究が進められている。ヒトでは Horvath ら(2)の提唱するモデルがよく知られており、実際の年齢との相関も非常に高い。

さて、ここまで来れば鼻の良い愛犬家ならば想像はつくであろう。こうした推定モデルは当然、イヌでも作られているのである(3)。もちろん、ヒトとイヌではゲノムが違っているので、年齢推定に用いている CpG サイトが違う。ゆえに、このままでは単純な比較はできない。老化とはなにか、またそれに DNA メチル化はどのように関わっているか。そのメカニズムは種間を超えて同じなのか。

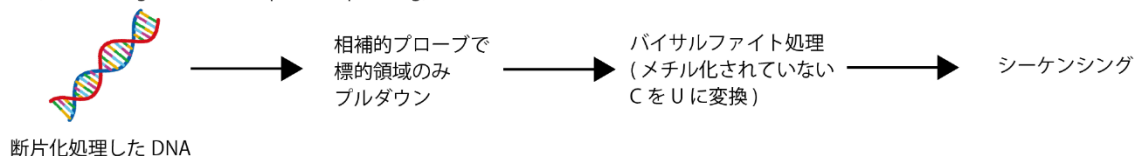
Wang ら(4)は、ハイクオリティーなイヌの DNA メチル化データを取得し、人間と直接比較することで、この問題に挑んだ。一般的な網羅的 DNA メチル化解析で用いる whole genome bisulfite sequencing (WGBS)法は、バイサルファイトという試薬でゲノム DNA を処理することで、メチル化していないほぼすべてのシトシンがウラシル (U)に変換してしまう効果を利用してメチル化シトシンをあぶり出す手法である(図1a)。これは全ゲノム規模で DNA メチル化を詳細に解析できるが、前述の通りイヌとヒトはゲノムが大きく違うので、この方法では比較できない領域ばかり読むことになる。また、DNA メチル化は専用のマイクロアレイでも決定できるが(図1c)、ヒト用を使ったのではやはり非効率である。

ゆえに、Wang らは、まずヒト用の DNA メチル化アレイでターゲットとなっている領域をイヌのゲノムにアラインし、共通の部分を抽出した。この部分についてプローブを作り、断片化したイヌゲノムから相補配列をキャプチャーして集め、バイサルファイト処理後シーケンシングし、その DNA メチル化を検出した(この DNA メチル化の決定方法をバイサルファイト・オリゴヌクレオチド・キャプチャー・シーケンシング法と呼ぶ)(図1b)。この方法により、ヒトとイヌ

a) 全ゲノム・バイサルファイト・シーケンシング
(Whole genome bisulfite sequencing; WGBS)



b) バイサルファイト・オリゴヌクレオチド・キャプチャー・シーケンシング
(Bisulfite oligonucleotide capture sequencing)



c) DNA メチル化マイクロアレイ
(DNA methylation microarray)

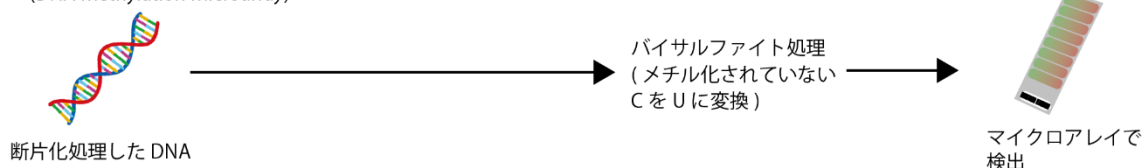


図1: 一般的な DNA メチル化解析手法。a はゲノム全体を、b, c はターゲットとして絞った箇所を解析する。

の共通部分の DNA メチル化サイトを非常に効率的にシーケンシングでき、その平均カバレッジは 163 倍に達した。一般的な解析では $25 \times \sim 30 \times$ 程度を目標とする事が多いので、これは相当厚く読んだ形になる。DNA メチル化解析はカバレッジが高いほどより低頻度にメチル化されるサイトも解析できるので、すなわち微細な変化も見逃さないデータができたことになる。

さて、ここからが楽しいデータ解析である。まず、解析に使用した 95 匹のイヌデータと 320 人のヒトデータを総当りでペアリングし、相関係数を求めた。若いイヌとヒト、高齢のイヌとヒトでは、若いイヌと高齢のヒト、高齢のイヌと若いヒトのペアより相関係数が高く、DNA メチル化状態が似ていることが示された。さらに、メチル化状態が最も近いヒトとイヌのペアを k 近傍法という方法で選び出し、x 軸をイヌ年齢、y 軸をヒトの年齢としてプロットすると、立ち上がり急で急速に横になるような関係が現れた(図 2)。すなわち、DNA メチル化状態から求めたヒトとイヌの年齢の関係は、単純な比例関係ではなかったのである。これを読み解くと、イヌの 1 歳のメチル化状態はヒトの 30 歳前後に最も似ているが、イヌ 4 歳はおよそヒト 50 歳、イヌ 9 歳はヒト 65 歳程度となり、最初の 1 年間の急上昇から見れば、かなりゆっくりとした上昇になる。数式としては

$$\text{ヒト年齢} = 16 \times \ln(\text{イヌ年齢}) + 31$$

という対数関数に近似できた。このような関係性はイヌとネズミの間でもある程度見られたため、分子的なメカニズムの共通性が疑われた。

Wang らは続いて、この現象に関わる遺伝子の同定を試みた。ヒト、イヌ、ネズミに共通する CpG サイト近傍の遺伝子は 7,942 あり、そのうち 394 の遺伝子で DNA メチル化が時間依存的に変化していた。これらの遺伝子の関係性をネットワーク解析で調べると、発生に関わるものがほとんどだった。例を上げると、シナプス形成に関わるもの(18 遺伝子)、神経上皮の分化に関わるもの(5 遺伝子)、体のパターン形成に関わるもの(186 遺伝子)、白血球分化や核酸の代謝に関わるもの(144 遺伝子)などである。

最後に、今回同定した 394 遺伝子の DNA メチル化サイトを使って、エピゲノム年齢推定を行っている。簡単に言えば、各 DNA メチル化サイトに実年齢にうまく合うような重み付けをして、年齢推定モ

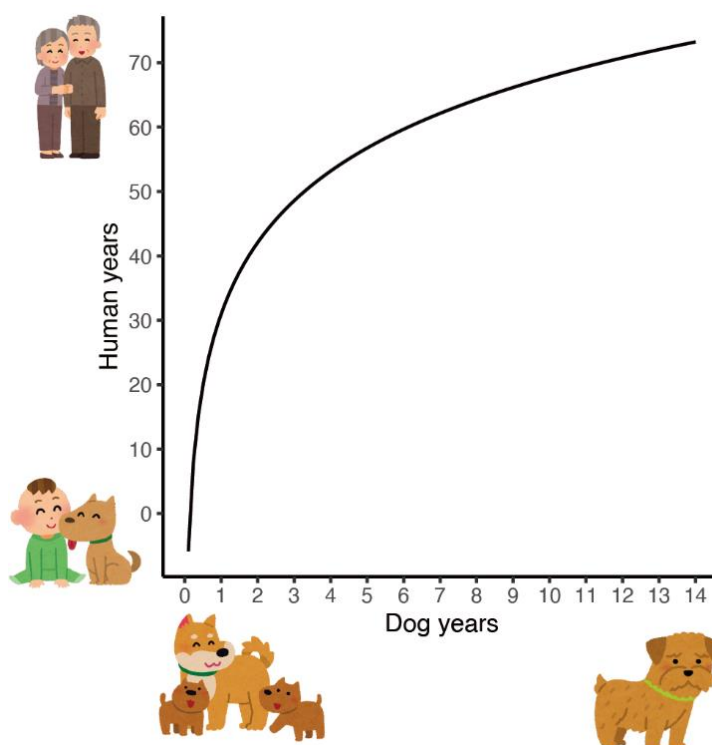


図 2: DNA メチル化の相似性から推定したヒト年齢とイヌ年齢の対応関係。Wang et al. (2020) の近似式から作成(プロットの関係上、イヌ年齢 0 歳のポイントは除外した)。

デルを作る。このとき、普通はイヌの年齢に合うようにモデルを作れば、ネズミには合わないし、逆もまた然りである。ところが、今回同定した 394 遺伝子の DNA メチル化サイトでモデルを作ったところ、ネズミ年齢に合うように作ったものでも、イヌの年齢に対して高い相関係数(スピアマン相関係数 $\rho=0.71$)を示し、逆もまた然り($\rho=0.73$)だった(これ以外の DNA メチル化サイトで普通にモデルを作った場合は、それぞれ $\rho=0.32, 0.22$)。また、適切なカロリー制限により、通常より長生きするようにしたネズミで同様の年齢推定を行った場合、推定される年齢が有意に低下した。これは今回の DNA メチル化サイトに基づく推定年齢が、実際の年齢(実時間)より、生物学的な年齢(成長・老化などの進行)をより反映していることを示唆している。

DNA メチル化による年齢推定の論文は、我々に未知の比較研究の可能性を示している。我々は今まで、寿命が違う動物の成長段階を定量的に表す軸を持たなかったが、エピゲノム年齢という尺度がある程度整ってくれば、これを指標に並べて比較することができるようになるのかもしれない。

い。特に免疫系の発達・老化といった分野で、これは大きな精度向上をもたらすだろう。

本論文の結論として、1歳のイヌは15歳の少年どころか、すでに30歳の良い年であった。この計算では、例えば春先の3月に生まれたイヌは、6ヶ月後の9月にはヒト年齢で19.9歳になってしまう。イヌの少年時代は夏の終わりとともに、あっという間に終わってしまうのである。

参考文献

1. 環境省自然環境局総務課物愛護管理室、「飼い主のためのペットフードガイドライン」、https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph/pet-food_guide_1808.html
2. Horvath, S., 2013. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol* 14, R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>
3. Thompson, M.J., vonHoldt, B., Horvath, S., Pellegrini, M., 2017. An epigenetic aging clock for dogs and wolves. *Aging (Albany NY)* 9, 1055–1068. <https://doi.org/10.18632/aging.101211>

4. Wang, T., Ma, J., Hogan, A.N., Fong, S., Licon, K., Tsui, B., Kreisberg, J.F., Adams, P.D., Carvunis, A.-R., Bannasch, D.L., Ostrander, E.A., Ideker, T., 2020. Quantitative translation of dog-to-human aging by conserved remodeling of the DNA methylome. *Cell Syst* 11, 176–185.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2020.06.006>

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！

実験動物紹介、論文紹介は、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。

事務局からのお知らせとお願い

●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、学会事務局まで至急ご連絡下さい。E-mail(郵送、Fax も可)でお願いいたします。学会 HP 上に会員名簿記載事項変更届があります(下記)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。

(<https://plaza.umin.ac.jp/jadci/wp/index.php/nyukai/hennkou/>)

●退会についてのご連絡を

今年度で卒業、修了する学生さんなど、今年度で退会予定の方は、学会事務局までご連絡ください。E-mail か Fax でお願いいたします。遅くとも2022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、ともに入会金なし)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 中尾 実樹

事務局

庶務担当 近藤 昌和(補佐:安本信哉)
住所 〒759-6595
山口県下関市永田本町2-7-1
水産大学校 生物生産学科
資源増殖学講座内
電話(ダイヤルイン) 083-227-3932(近藤)
083-227-3934(安本)
Fax 083-286-7435



編集

広報担当 中村 修