



日本免疫学会会報 ● The Japanese Society for Immunology Newsletter

VOL. 13 NO.2

特集 ● 遺伝子組換えマウスをめぐる最近の動向

JSI Newsletter

会長選挙 会員の一票が免疫学会を変える!



日本免疫学会ニュースレター13巻2号(通巻25号)

会長選挙のお知らせ.....P.2

第35回総会・学術集会.....P.4

学術集会の開催に向けて/高津聖志
横浜から始まる新しい学術集会運営へ/清野 宏
新たな方向性を目指して/三宅健介

免疫サマースクール2005.....P.6

跳躍—免疫学の明日へ—を開催して/東 みゆき
有意義な時間/今井有香
私のサプリメント/隈本洋介
学部生にとっての免疫サマースクール/横山貴章

遺伝子組換えマウスをめぐる
最近の動向.....P.8

- 解説
遺伝子組換え実験、ことに遺伝子組換えマウスに
関する規制の歴史と現状/清水 章
実験動物の使用、輸入規制/黒澤 努
新動物輸入制度について/小安重夫
- コメンタリ.....P.11
法令化後の遺伝子改変マウスの取扱/米川博通
遺伝子組換えマウスと感染症リスク/笠井憲雪
動物実験にたずさわる研究者として
肝に銘じておくこと/安部 良
- 海外事情.....P.14
アメリカアニマル事情/岩島牧夫
遺伝子組換えマウスをめぐるドイツの状況/今井賢治

新しい研究室を開くにあたって.....P.16

幹細胞研究の新たなスタートラインに立つて/
岩間厚志
跳躍のレッスン/木梨達雄
日本一居心地のいい教室を目指します/中島裕史

ミーティングだより.....P.18

合同シンポジウムを振り返って/村松正道
桜の京に集う:Kyoto 2005雑記/河本 宏
RCAI-JSI International Symposium on
Immunology 2005/堀 昌平

海外だより.....P.20

オリジナルライフワークを求めて/栄川 健
これを機会に考えてみました/竹田和由

免疫学ことはじめ.....P.22

"M-ology" ことはじめ/村松 繁

投稿.....P.23

もう一つのIFN発見/宇野賀津子

ウチのとくいわざ:モノクロー名人会.....P.24

モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立/
金川修身
迅速モノクローづくりの試み/渋谷 彰
信じる者こそ救われる(はず)/清水 淳
モノクロー名人は"しばき"の名人/反町典子
フットパッドへの免疫を用いた
ラットモノクローナル抗体の作成/三宅健介
モノクローづくりに秘伝なし?/八木田 秀雄

若手特派員研究室紹介.....P.29

中から見た審良研/加藤博己

若手特派員報告.....P.29

四国免疫フォーラムに参加して/
仁木志乃・矢野雅司

ミーティング情報.....P.30

会務報告

編集後記



日本免疫学会 会長選挙のお知らせ

次期の日本免疫学会会長候補者3名の
現職・略歴・抱負をお知らせ致します。
免疫学会会長は、理事会の推薦を受けた
3名の候補者のなかから
全会員の投票により決定致します。

過去3回の会長選挙の投票率は、
いずれも20%以下と大変低いのが実情です。
どうか奮って投票くださいますよう
お願い申し上げます。

選挙管理委員会
徳久剛史、中山俊憲、三宅健介

斉藤 隆

理化学研究所
免疫アレルギー科学総合研究センター 副センター長



1982年 千葉大学大学院医学研究科修了
1983年 ドイツ ケルン大学遺伝学研究所研究員
1985年 アメリカ NIH NIAID研究員
1988年 千葉大学医学部助手(附属環境疫学研究施設)
1989年 千葉大学医学部講師(附属高次機能制御研究センター)
1989年 千葉大学医学部附属高次機能制御研究センター遺伝子情報分野教授
1996年 千葉大学医学部附属高次機能制御研究センター センター長
1998年 千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学教授
2001年 理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター
グループディレクター兼任
2004年 現職

日本免疫学会運営委員 評議員(1991～)
同理事(1997～2000, 2003～2006)
同プログラム委員会委員長(1997～2000)
同教育推進委員会委員長(2000～2002)
同学会あり方検討委員会委員長(2003～2004)

この度、日本免疫学会の会長候補の一人として理事会からご推挙いただき、大変光栄に存じます。同時に、戸惑いと時代の変遷を感じざるを得ません。日本免疫学会が創立されたのは、私が大学に入学した時で、その後免疫学に魅了されてこの分野に入ってから30年近く、本学会に育てていただきました。この間、免疫学は常に医学・生物学の最先端で新しいパラダイムを形成し続けてきました。日本免疫学会のリーダーの諸先輩が、常に時代を先取りしながら免疫学研究を牽引してきた成果であり、その輝かしい歴史を継承・発展させる責務を感じます。

免疫学は、一方で、生命科学としての基礎生物学として、他方で、免疫本来の疾患制御の研究を含む基礎・臨床の統合的医科学としての二面性を持ち、その両者の推進が今日、ますます重要になって来ています。個々の細胞がホメオスタシスを保ちつつ、生体防御を担うために四次元的な制御を行う優れた高次複雑システムとして、免疫学は、ますます若い研究者を魅了して止みません。これまでの個々の分子の精力的な解明の上に立ち、免疫のより動的な時空間的制御の解析やリンパ球動態の統括的な理解をめざした斬新な方法論と発想での研究が不可欠です。一方で、免疫研究たる本来的な方向として、自己免疫・アレルギー・感染症などの免疫病の克服に向けたTR、およびヒト免疫学の本格的研究が強く望まれています。

現在、日本免疫学会は歴史的な転換点にきています。その一つは、本年発足したNPO法人としての学会組織を発展させることです。学術集会も免疫学会の責任のもとに開催運営され、学会員に直結したより透明な開かれた学会へと脱皮します。また、日本免疫学会のアクティブな活動が認められて決定された、2010年の国際免疫学会の開催を、学会の新たな飛躍の機会とすべく、それに向けて積極的な学術活動の活性化が期待されます。NPO法人日本免疫学会は、免疫学研究の国際的リーダーとして最先端で研究を牽引し、免疫学の裾野を広げて広い若手研究者が集まり熱い議論をする場と機会を創出し、免疫学への研究費枠を拡大することによって広い層の研究をサポートできるようにすることが課題と考えています。

私はこの間、新設のプログラム委員会、一新した教育推進委員会、そして新設された学会あり方検討委員会の委員長として、いずれも新たな改革を目指す学会会長のもとで活発な学会の創出に関与させて頂きました。これらの中でとりわけ、若い学生・研究者を魅了する研究の推進、広く誰にでも魅力のあり続ける学術集会の開催、若い研究者の独立システムの促進、研究を取り巻く環境の充実などを通して、免疫学の若手研究者を援助育成する積極的な改革を引き続き進める必要がある、と感じています。

これまでの諸先生方が築いて来たアクティブな免疫学会の継承と発展に微力ながら貢献できれば幸いです。

菅村和夫

東北大学大学院医学系研究科
病理病態学講座免疫学分野教授
研究科長 医学部長



1971年 東北大学医学部卒業
1971年 東北大学医学系研究科博士課程
1974年 米国Fox Chase癌研究所研究員
1976年 米国Wisconsin大学免疫生物学研究施設研究員
1978年 熊本大学医学部助手
1980年 京都大学ウイルス研究所助教授
1986年 東北大学医学部細菌学講座教授
1997年 東北大学大学院医学系研究科免疫学分野 教授
2004年 同上研究科長 学部長

日本免疫学会学術集会会長(2000年)
日本免疫学会理事(現在)

この度は日本免疫学会の会長候補にご推挙いただき、身に余る光栄と恐縮いたしております。

日本免疫学会が発足した1971年は、丁度私の大学院入学の年に当たることからひとしお感慨深いものがあります。ウイルス学で研究の手ほどきを受けた私が、免疫学に足を踏み入れた端緒は、「免疫グロブリン遺伝子同定」を目論む大胆な研究計画でした。無論、直ぐに挫折した私は、米国留学中に「免疫グロブリン遺伝子単離」や「T細胞のMHC拘束性」など、免疫学の新時代到来を思わせる発見を目の当たりにすることができ、免疫学の魅力を直接肌で感じながら研究生活を送る幸運に恵まれました。この間、本学会の多くの方々から計り知れない恩恵を頂いて参りました。

云うまでもありませんが、免疫学は生命科学の進展の中で常に重要な一翼を担い続けてきました。ポストゲノム時代に入り生命科学研究全体が成熟度を増す中で、免疫学にも新たな方向性が芽生えてきました。細胞レベル、分子レベルのパーツの解明が最も進んでいる生体システムは免疫系ですが、これからの免疫学の大きな課題は個別のパーツを統合した「生体システムとしての免疫系」を明らかにしていくことだと信じています。免疫学分野では種々の方法を駆使しながら他分野に先駆けていち早く生体システムレベルでの研究が進められています。これまで通り、免疫研究が生命科学に常に新たなインパクトを与え続けることにより、免疫学が今後も基礎生命科学の中心的役割を担っていくものと考えております。さらに、臨床医学では、膨大なゲノム情報を下にした免疫疾患克服へ向けた研究はもちろんのこと、免疫造血系幹細胞・組織構築などの再生医療への展開など、免疫学に期待される使命は大きく、特に、国家プロジェクト的に推進されている感染症研究への貢献は免疫学に課せられた重大な責務であると感じております。このように私達は、先人達が築き上げてきた免疫学をポストゲノム時代の新たな免疫学として、これまで以上に大きく発展させ、引き続き世界に向けて発信させていかなくてはなりません。

免疫学に研究の場を置く者にとって本学会は活動の中心であり続けることに疑いがありません。学会活動を通して数多くの研究者と交流し、活発な情報交換を行う中で、互いに切磋琢磨しあうことが強く求められています。1983年の京都での国際免疫学会から27年を経て、2010年に我が国で国際免疫学会が開催されます。前回の京都大会においてはT細胞抗原受容体遺伝子単離の報告があり、心を熱くしたことが思い出されます。国際免疫学会の開催は免疫学分野で活躍する会員はもとより、新進の若手研究者育成にとっても計り知れない刺激となることから、学会員が一丸となって必ず成功させなければなりません。

最後に、今後とも会員相互の緊密な交流と活発な意見交換を維持することによって、本学会が益々活性化していくことを願っています。本学会に長年携わってきた者として、本学会のより一層の発展のために微力ながら貢献させていただければ幸いです。

宮坂昌之

大阪大学大学院医学系研究科
感染免疫医学講座免疫動態学教授



1973年 京都大学医学部卒業
1973年 田附興風会北野病院内科勤務
1974年 金沢医科大学血液免疫内科助手
1977年 オーストラリア国立大学ジョン
カーティン医学研究所へ留学
1981年 同大学免疫学博士課程修了 PhD 取得
1981年 スイス バーゼル免疫学研究科メンバー
1986年 浜松医科大学解剖学第二講座助手
1987年 (財)東京都臨床医学総合研究所免疫研究部門室長
1992年 同上 部長
1994年 大阪大学医学部附属バイオメディカル教育研究センター
臓器制御学研究室教授
2001年 大阪大学医学系研究科細胞分子認識教授
2005年 大阪大学大学院医学系研究科感染免疫医学講座
免疫動態学教授

日本免疫学会国際交流幹事
アジアオセアニア免疫学会連合(FIMSA)会計幹事

このたび理事会から会長候補の一人としてご推薦を頂きました。大変光栄なことです。ここでは私の抱負というよりも、期待、希望を書かせて頂くことにしました。

まず始めに国際免疫学会についてです。日本の免疫学者の皆さんの国際的な活躍と貢献が認められ、2010年に国際免疫学会を日本で開催できることとなりました。私は今から約20年前に京都で同学会が開かれた時の感動と興奮をよく覚えています。それにも勝るような立派な学会を日本免疫学会の総力を結集して開催したいと考えています。そして、これにより、さらに多くの若い優れた研究者が育ち、世界をリードする免疫学が日本に創出されていくことを念じています。

次に研究体制についてです。私は大学院、ポスドクと海外で約10年間を過ごしましたが、未だに日本と海外のシステムの違いに釈然としなないことがあります。それは、日本では若い人たちの独立の年齢が遅いということです。これには、ポスドク制度が十分に確立していないことや、旧来の講座制があまり変わっていないなど、いくつかの原因があると思いますが、他にも問題点があると思います。一つは、日本には任期制の導入が難しい土壌が未だに残っていることです。もう一つは、「寄らば大樹の陰」という言葉があるように、日本では若い人たちの独立心がアメリカなどに比べると少し薄いということがあるのかもしれませんが。一方、免疫学における多くの新発見や素晴らしい業績が二十代、三十代の若い研究者によってなされてきたことは歴史が如実に語っていることです。私自身バーゼル免疫学研究科で経験したことです。早くから小さいながらも独立のラボをもち、独自の研究をするという経験は研究者にとり実に貴重なものでした。日本の免疫学においてもこのような研究環境が、任期制の導入とともに、もっともっと欲しいと思います。国際レベルの仕事をする、より多くの若い研究者を生み出すためには是非必要なことです。これを可能にするのは、私たちの年代の役割も重要ですが、若い皆さんのより強い独立心の発露を期待したいと思います。

次に、私自身が期待するのは、免疫学を個体レベルで理解し、アレルギー、自己免疫病などの免疫分野の難病の克服に一步でも近づくことです。私の研究室のモットーは「In vivo veritas」というものです。もともとは「In vino veritas」、すなわち「ワインの中に真理がある」というローマの諺から来ていますが、ワインのvinoを生体のvivoに読み替えたものです。ゲノムが解読されても本当のポストゲノム時代の到来にはゲノム間の相互作用と機能調節機構の理解とともに、それらを個体レベルで理解することが必要です。「生き物」のホメオスタシスの分子機構を免疫学の立場から理解したいと考えています。

第35回 日本免疫学会 総会・ 学術集会

学術集会講演会場における 撮影・録音行為の規制について

2005年4月14日(木)に開催された日本免疫学会理事会におきまして、学術集会講演会場(シンポジウム会場、ワークショップ会場、ポスター会場など、学会発表内容のある場所)における撮影、録音行為の禁止が決定されました(ただし、学会が承認したものはその限りではありません)。これは、発表者の許可無く学会発表の撮影・録音がおこなわれることにより、論文未掲載の最新データの発表が控えられるという現状を鑑みたものです。この規制につきましては、本年12月に開催されます第35回日本免疫学会総会・学術集会より適用されますので、ご理解と周知のほどよろしくお願い申し上げます。これを機会に、論文未掲載の最新データを積極的に発表し、活発な討論がなされることを期待いたします。

総会への積極的な

参加・委任状提出のお願い

日本免疫学会は特定非営利活動法人(NPO法人)として法人格を認証されました。NPO法人は今まで以上に会員一人一人の自発的意思が組織の決定・運営に重要となり、重要案件は学術集会中に開催される総会で決定されます。NPO法人の定款では、総会の成立には会員(正会員ならびに名誉会員)の過半数の出席が必須となっています。従来、総会出席者数を鑑みますと相当の不足が見込まれます。正会員ならびに名誉会員の方で、やむを得ず欠席される場合には、必ず同封の委任状をご提出していただくようお願いいたします。なお、この委任状は出欠表も兼ねていますので、出席の方もその旨記載し、事務局に郵送をお願いいたします。受取人払いとなっていますので、切手を貼らずにそのままお出し下さい。

個人情報保護法に基づく、 総会・学術集会記録への 会員名簿掲載中止のお知らせ

日本免疫学会では、本年4月1日より施行された個人情報保護法に基づき、会員の個人情報の取り扱いに関して細心の注意を払っています(学会ホームページのお知らせ「個人情報保護方針」参照)。従来、会員間のコミュニケーションを促進する目的で、総会・学術集会記録に会員名簿を掲載していましたが、2005年4月14日(木)に開催された日本免疫学会理事会におきまして、個人情報保護の観点から、今年(第35回学術集会)の総会・学術集会記録には会員名簿を掲載しないことを決定いたしました。現在、これに代わるものとして、ホームページ上でセキュリティー管理された会員情報の提供をおこなうべく、対応策を検討中です。ご理解のほどよろしくお願い申し上げます。

学術集会の開催に向けて

第35回日本免疫学会総会・学術集会会長

東京大学医科学研究所

高津聖志 Kiyashi Takatsu

日本免疫学会は数ある我が国の医学・生命科学・生物学系学会の中でも活発な学術集団であると思います。第35回目となる日本免疫学会総会・学術集会を平成17年12月13～15日に「パシフィコ横浜」にて開催することになりました。いささかの感慨を覚えつつ、長年にわたって多くの方々に御支援を頂いております日本免疫学会総会・学術集会の運営をお世話できますこと、大変光栄に存じています。学会運営は三宅健介副会長(プログラム担当)、清野宏副会長(財務担当)、高木智副会長(総務担当)と日本免疫学会事務局員のチームワークにより行います。本年は日本免疫学会が昨年までの任意団体からNPO法人日本免疫学会に変わりましてから最初の学術集会でもあり、是非とも盛会にしたいとスタッフ一同心をこめて準備を進めています。

常に世界に向けて進歩し、前進する日本免疫学会の学術集会として、第35回という節目を迎える本年の学術集会に二つの新しい試みを企画いたしました。

国際シンポジウムの中で、「Presidential Symposium」として「The Immune System, Its Diversification and Integration」と題し、日本・世界で最先端の研究を多面的に展開されている先生方へお願い、免疫応答の多様性とその統合システムやアレルギーなどの免疫疾患の病態の克服について最新の研究成果をご紹介します。

さらに学術集会期間中、「Immunology for Understanding and Controlling Infection」と言う統一テーマの下に、三つのシリーズの国際シンポジウムを企画しております。キーワードとしては、現在注目を浴びている感染と免疫における「病原体認識機構、病的・生理的炎症、免疫記憶、ワクチン」を中心に、各領域・分野において先導的研究を展開されている内外の研究者による発表と学会員の皆様との熱い討論の中から、感染症攻略に向けた21世紀型新戦略構築における知的基盤形成に貢献する免疫学の姿を浮かび上がらせることを期待しております。

これらの新企画に加えまして、日本免疫学会員が世界のトップリーダーとして活躍している数ある領域・分野の中から、リンパ球発達、免疫系の抗原認識と自己応答細胞の抑制機構、シグナル伝達とその異常、リンパ球動態、感染病原体と宿主免疫系の共存とその撃退、アレルギーや自己免疫疾患などの免疫病の病態と新しい治療戦略、がん免疫の強化と戦略などに関する国際シンポジウムやワークショップ、さらに昼食時には連日、異分野交流教育セミナーを開催します。是非ともご参加頂きたいをお願いします。日本免疫学会学術集会は、産学に研究の場をおく免疫学に興味を持った多数の学会員の発表・討論、また同時に機器・試薬等の展示も予定しており、貴重な情報を交換し共有する学術交流の場でもあります。

本年も横浜市教育委員会と日本アレルギー協会のご支援を頂き12月11日(日)に中高生・一般市民向けの講演会を開催します。この機会に、免疫学的重要性やおもしろさのみならず、免疫学を通じて生命科学の魅力の一端を中学生や高校生に是非伝えたいと思います。

日本免疫学会総会・学術集会には例年約2,800名の参加者がごぞいます。本年も例年以上の学会参加者を予定しております。海洋国日本の原点と言っても過言ではない横浜の中でも「パシフィコ横浜」は海を臨む美しいロケーションに位置しています。免疫学研究の最新の展開と将来への方向性、免疫病克服に向けての先端医療研究などについて、会員の皆様方の熱い発表と活発な討論を期待しております。また、知的要求を満喫した合間には、山下公園、港の見える丘公園、中華街、外国人墓地等、数多くの名所を擁した国際都市横浜を堪能していただければ幸いです。

本年は、NPO法人化日本免疫学会が新しい組織形態の学術集団に生まれ変わろうとしている創世記の年です。日本免疫学会にとって感染症・免疫病を克服する大きな目標とともに、新しい大海原へ向けて、学会員の皆様方と一緒に熱い討論が出来る場を提供できるように準備を進めています。会員の皆様方の積極的なご参加をお待ちしております。



港横浜から始まる 新しい学術集会運営へ

東京大学医科学研究所感染免疫大部門炎症免疫学分野

清野 宏 *Hiroshi Kiyono*

本大学、高津聖志教授を会長として開催される第35回日本免疫学会総会学術集会は35回という節目であるとともに、特定非営利活動(NPO)法人として開催される初めての学術集会という事になります。まさしく新生、NPO法人日本免疫学会での、第一回学術集会と言っても過言ではありません。このような機会に高津会長の下、副会長として本学、三宅教授、高木先生と御一緒に企画・運営に参加させていただける機会をいただきました事、心から御礼申し上げます。本学会がNPO法人化に向けて歩みはじめるなかで、本学術集会の準備がはじまりました。準備期間中は任意団体という環境下で進め、しかし、実際に学術集会はNPO法人という名の下で開催されるという変則な状況で進んできました。また、NPO法人としての社会活動における一つの大きな柱として学術集会が位置づけられています。本学術集会では、毎回好評な国際シンポジウム、ポスター、ワークショップ、レビュートークに加えて、様々な初めての試みを盛り込んだプログラムが企画されています。例えば、Presidential Symposium「The Immune System, Its Diversification and Integration」統一テーマでの国際シンポジウム「Immunology for understanding and controlling Infection」新しい知的要求を満たすような情報、テクニックなどを紹介する異分野交流教育セミナー・テクニカルセミナー、そして横浜市教育委員会と連携した「高校生のための免疫学講座」などがあります。また、学術集会のメインイベントの一つであるポスター・展示会場では、美味しい香りあるコーヒーを味わいながら、熱き討論が出来るような場の提供を考えております。また、懇親会は大栈橋で、港横浜と輝く夜景を満喫していただきながら免疫を語る素晴らしい機会となることでしょう。

昨年までの学術集会は、学会が主催ではありますが、実際には担当学術集会会長を責任者として、学会本体と連携をはかりつつも、現実的には学術集会会長と担当校実行委員会を中心として企画、運営、財務を推進してまいりました。特に財務・収支に関しては、学術集会会長が最終責任者という形式がとられてきました。つまり、良くも悪くも全て最終的には学術集会会長ということでした。今回からはその責任を学会が果たすという事になります。だからと言って、学術集会会長と実行委員会は学術集会収支に関して心配しなくて良いというわけではありません。逆に益々責任が重くなってきます。つまり、赤字になれば学会、そして一番大切な学会員の皆様にご迷惑をかけることになります。このような緊張感の中で、高津会長のリーダーシップのもと三副会長、プログラム委員会、教育推進委員会、事務局の連合体が緊密な連携をはかりながら、手探りではありますが、NPO法人での学術集会成功に向けて皆で努力をしております。この過程は、大変ではありますが、学術集会をとおして学会員の皆様、免疫学、生命科学、そして社会に貢献しているという充実感のある時の流れを感じております。日本近代化のゲートウェイとして開港した港横浜で、学会員の皆様と御一緒に新生日本免疫学会学術集会の船出が始まることを楽しみにしております。では横浜でお会いしましょう。

新たな方向性を目指して

東京大学医科学研究所感染遺伝学分野

三宅健介 *Kensuke Miyake*

第35回日本免疫学会学術集会は、日本免疫学会がNPO法人として主催する最初の学術集会であると同時に、2010年の国際免疫学会を見すえた学術集会という見方もできます。このような節目に当たる学術集会として、充実したワークショップを基盤として、新たな企画も試みております。参加される会員の皆様方が、今後1~2年のプロジェクトとともに5~10年後の方向性を考えるうえで、本学術集会が刺激となりましたら幸いです。今回のプログラムの概要、特徴について以下、御紹介いたします。

I. 国際シンポジウム

以下の13のセッションを予定しております。特徴といたしましては、Presidential symposium(No.6のセッション)を第2日目の総会の前に高津聖志学会長、平野俊夫会長の座長で行うこと、"Immunology for understanding and controlling infection"というテーマで、3日間同一会場でセッション2、7、11が行われることがあげられます。

第1日目(12月13日)

1. New insight into immune regulation by the immunoglobulin Fc receptors
2. Pathogen recognition molecules in infection
3. Lymphocyte development
4. From germinal center to memory: affinity selection and cell fate decisions
5. Basic studies for improvement of cancer immunotherapy

第2日目(12月14日)

6. Presidential symposium "the immune system, its diversification and integration"
7. Inflammatory responses in infection
8. Lymphocyte trafficking
9. Immune recognition molecules and their signaling

第3日目(12月15日)

10. Generating and editing immunoglobulin diversity
11. Vaccine development against infection
12. Autoimmunity and diseases
13. Molecular mechanisms that control allergic responses in vivo

II. ワークショップ

一般演題として1063題受け付けました。このうち、英文抄録が412題と大幅に増加したことが本年の特徴と言えます。

III. レビュートーク

第1日目(12月13日)の国際シンポジウムと連携して、後に続くセッションに関連する講演を企画いたしました。今回は、講演は40分とし、残りの時間はその分野での今後の展開を議論する機会になればということで、質疑応答やFree discussionに当てる予定です。以下のレビュートークが上記の1~5の国際シンポジウムに先立って行われます。テーマは仮題です。

1. 高井俊行(東北大)Fc receptor
2. 三宅健介(東大医科研)感染症と免疫
3. 中内啓光(東大医科研)血液幹細胞
4. 松本満(徳島大)胚中心と二次リンパ組織形成の分子機構
5. 珠玖洋(三重大)腫瘍免疫

IV. 異分野交流教育セミナー

新たな企画として、第3日目(12月15日)の昼食時に、免疫学と関連する領域の先生をお招きして、ご専門のお話をしていただく、異分野交流教育セミナーを企画いたしました。レビュートークと同様に、40分の講演の後に、質疑応答の時間を十分にとっております。単に拝聴するだけでなく、質疑応答を通じて、異分野交流になれば幸いです。活発な議論をお願い申し上げます。以下の5人の先生に講演をお願いしております。タイトルは仮題です。

1. 中村祐輔(東大医科研)ゲノム免疫学
2. 笹川千尋(東大医科研)細菌感染
3. 清水孝雄(東大)脂質メディエーター
4. 宮脇敦史(理研)蛍光で探る細胞内シグナリング
5. 高山誠司(奈良先端大)植物の受粉における自己非自己の識別

以上が、現在までのプログラムの概要です。今後、多少の変更もありますので、その点は、ご容赦いただきますようお願い申し上げます。最後になりましたが、お忙しい中、ご協力いただいたプログラム委員の先生方に深くお礼申し上げます。

免疫サマースクール 2005

「跳躍—免疫学の明日へ—」を 開催して

東京医科歯科大学大学院分子免疫学分野

東 みゆき Miyuki Azuma



免疫サマースクール2005「跳躍—免疫学の明日へ—」は、千葉県木更津市のかずさアカデミアパークで7月24日から27日まで開催された。日本免疫学会主催のサマースクールは、今年で8回目となり、かずさでの3回と淡路夢舞台での3回を経て、再度関東に戻っての昨年に引き続いての開催であった。開催日前日に、まさに主催地の千葉県北西部を震源地とするマグニチュード6の大きな地震があり、大型台風も接近中という中でやや不穏な幕開けとなったが、始めてみれば、台風の嵐が通り過ぎたことにも気がつかないくらい深夜(早朝?)まで若者達の熱い語らいが繰り広げられた。最終日は、跳躍する免疫学の明日を確信させるかのような台風一過の夏の太陽が照りつける中で、サマースクールを盛会のうちに終了することができた。

参加者は、例年同様に、大学院生を中心とする中に、学部学生・ポスドク・企業研究者を加えての96名であった。講師としては、世界をリードする日本の免疫学の大家で例年ご参加いただいている岸本忠三先生、笹月健彦先生、本庶佑先生、谷口克先生に加え、免疫学会会長の平野俊夫先生、昨年の免疫学会賞を受賞された高井俊行先生と竹田潔先生、清野宏先生、松島綱治先生、坂口志文先生、珠玖洋先生、斎藤博久先生と東、また、免疫とは異なる角度から'small RNA'の世界を多比良和誠先生、'たんぱく質分解'の世界を田中啓二先生、英語セッションの講師としては、ワシントン大学のDr. Kenneth Murphy、エール大学の岩崎昌子先生、そして宮坂昌之先生をお願いした。その分野での研究の歴史やご自身の研究の歴史から最新のデータまで、また、生命科学の進め方・考え方や研究への姿勢などを含み熱く語っていただいた。時代の流れであろうか?はたまた私の個人的な選択の偏倚のせいのか?今年は例年と比較して、トランスレーショナルリサーチに至る話が多かったように感じた。参加者からの質問も回を重ねる度に活発になってきているようで、初日から、また英語セッションにおいても臆することなく積極的な発言があった。多比良先生のレクチャーでは、発想の豊かさ、そしてそれを実現していく推進力に、多くの人が感銘を受け、また、それを実証するかのような連夜の自由ディスカッションでの豪快な飲みっぷりと魅力ある会話に引きつけられた若者も多かったのではなかろうか。講義の内容を完全にフォローできなくても、講師の先生方の免疫学への熱意は間違いなく伝わったように思う。

進化するサマースクールであれという教育推進委員会からの課題のもとに、今年は2つの新しい試みを行った。第1は、優れた研究は、健康な精神と肉体からということでレクリエーションの時間を設けた。かずさのせっかくのすばらしい施設を利用して、真夏の太陽のもとでテニスをと考えたのだが、残念ながら台風のためにアウト・ドアはならず、イン・ドアのジムやプールでのエクササイズとなった。第2の新企画は、参加者主体で進行する、全員発表のグループディスカッションであった。誰もが一度は主役になるために、また、より気軽に発言できる少人数グループでということ企画した。初日から、活発な意見交換が楽しい雰囲気で行われ、その後の自由ディスカッションは例年になく盛り上がっていたようだった。与えられた発表時間が長くて短くても、そのために、どのようにスライドを作成し、どのように相手にわかりやすくメッセージを伝えるかということは、参加者の若者達のみならず、私を含め若輩の講師陣にとっても、来年への課題のように思った。

発足して5年足らずの歴史のない研究室にとって、このサマースクールを主催する機会をいただいたことは、いろいろな意味で非常に貴

重な体験であったと感謝しています。「手弁当」と「手作り」であるからこそできたアットホームなサマースクールを開催でき、多くの参加者が満足して、明日からの研究への活力を充填して帰っていただけたことに、サマースクールを終えて一日経った今、私を含めスタッフ全員、心地よい疲労感を感じています。

最後に、講師の先生方および教育推進委員会の先生方のご協力に対して、厚くお礼を申しあげます。また、開催にあたって、多くのご配慮をいただきました免疫学会事務局およびかずさアークの関係者の皆様に深く感謝いたします。

有意義な時間

東京医科歯科大学大学院
生命情報科学教育部免疫学分野

今井 有香 Yuka Imai



arika.imm@mri.tmd.ac.jp

免疫学を志して2年目の私は、まだまだ知識も中途半端な点が多く不安はありましたが、いつも教科書で名を連ねるような偉大な先生方の講演を聴けることや、同じくスクールに参加される方々からも刺激を受けたいと思い、今回の免疫サマースクールに参加することにしました。

このサマースクールでは普段の研究生生活だけでは得られないような大変刺激ある有意義な時間を過ごすことができました。まず驚いたことは、講師の先生方や同じ受講生達との交流を持つ機会が非常に多く、先生方も生徒側もディスカッションに大変熱心であったことです。これまでの私は至らない点も多く、やるせなさなどを感じていましたが、夜のフリーディスカッションでお酒を飲みながら気軽に先生方とお話する機会が持てたことは、不謹慎かもしれませんがとても楽しい時間を過ごすことができました。英語で講演をされた岩崎先生はお話しているだけで強さや自信のようなオーラを感じて同性としてとても尊敬できましたし、自分もそうならなくてはとやる気が湧きました。先生方のお話から、好奇心であるとかパワフルさなどに圧倒されたと同時に、免疫学のみならずサイエンス全般にわたって広く物事を考えていくことの大切さのようなものをひしひしと感じました。

また、受講生達との交流もとても新鮮でした。グループディスカッションは人前で発表する良い機会になりましたし、初めて顔を合わせるルームメイトに対しても打ち解けて色々とお話することができました。このような出会いや良い刺激を受けられたことは普段の生活だけでは経験できないことなのでとても良かったです。今後、学会等でまた会えることが楽しみになりました。

現在免疫サマースクールが終わり、普段の研究生生活に戻りましたが、行く前と今とは意識が違っているように感じます。このサマースクールでは、物事の本質を見失うことなく何が意義あるものなのか、自分が信じたものに対して突き進む力のようなものを与えられたような気がいたします。このような素晴らしい環境を提供してくださって大変感謝しております。ありがとうございました。



私のサプリメント

東京大学大学院薬学系研究科生体異物学教室
隈本 洋介 *Yosuke Kumamoto*

kumamoto@mol.f.u-tokyo.ac.jp



私がサマースクールに参加した理由を白状すると、「今年の免疫学会の懇親会で気軽に話せる仲間を作れるといいな」という、学問からは程遠い動機からでした。しかし、いざ始まってみると免疫学界におけるスター達のライブ・ショーを見ているような興奮と感動の連続で、いまだにその雰囲気を感じておこす日々の実験のモチベーションが上がるほどに大きな収穫を得ることができ、講師の先生方、参加者の方々、そしてスタッフの皆様方大変感謝しております。

サマースクールの講師陣が豪華であるというのは有名な話ですが、講師やオーガナイザーの先生方の中にも、「本当は自分が質問したいのに」と思いながら参加者の質問を聞いていらっしゃる方もきっと多いのではないのでしょうか。その意味で、一番バッターの清野先生からトリを務められた平野先生まで、免疫学界のトップランナーの先生方に多くの質問を発し、答えて頂いた経験は、学会では決して味わえない貴重な体験でした。しかし、さらに大きな感動を覚えたのは、ビッグネームといわれる先生方が超多忙なお時間を割いてまで若い研究者や学生に伝えにいらっしゃることは、決して最新のデータやレビューだけではなく、ご自身の研究哲学である、ということでした。データは学会や論文でも拝見できますので（もちろん興味津々に質問させて頂きましたが）、私が感じた熱っぽい感動はそのまま先生方の研究に傾ける情熱であった、と独り納得しております。

もう一つサマースクールについて有名な話は、たくさんお酒が飲めるということです（もちろん呑めない人はたくさんお茶が飲めます）。先生方の研究に懸ける夢や苦労話を肴に夜遅くまで（実際は朝早くまで）呑んだ体験というのは、相手が大先生であって一種の連帯感をもたらし、私を含め研究を志す者の記憶に長く焼きつくことと思います。私にとって免疫学の面白い点の一つは、自分の興味ある事象が免疫応答の開始から終了までのどこにあって、どう重要なかが時間的・空間的にわかることです。これは、免疫の全体像に近づくためには他の人が取り組んでいる事象と自分の研究対象との関連を意識する必要があるということですが、お酒の席を共にした連帯感はいつか自分の研究の幅を広げるのにきっと役立つのではないのでしょうか。

お酒の話で終わるのは妙ですが、先生方の情熱の余韻を感じつつ、ほろ酔い気分のまま筆を置かせていただきたいと思います。

学部生にとっての 免疫サマースクール

京都大学理学部
横山 貴章 *Takaaki Yokoyama*

takaaki@msb.biglobe.ne.jp



私はまだ学部生であり、研究というものにはまったく携わっていません。しかも、今後自分が免疫という分野を選び、専門的に学んでいくのかも決まっています。しかし、だからこそ、今回免疫サマースクールに参加した意義があったと感じています。

サマースクールへ参加するにあたって、大きく次の3つを自分の目的として挙げるすることができます。第1に、「免疫」という分野の魅力を確認すること。次に、第一人者の先生方の研究とはどのようなものかを知ること。最後に、他の参加者との交流を通して、良い刺激を得ること。これらの目的は、十二分に達成できたと思います。特に、夜遅くまで先生方や参加者のみなさんと、いろいろなテーマで話ができただことが最も印象に残っています。免疫という分野を選ぶきっかけや、研究へのモチベーションなど、素朴な疑問についても、いろいろなお話を伺うことができました。また、グループディスカッションでの参加者の研究に対する意欲や、質疑応答からみられる、みなさんの深い知識と洞察力には、感嘆せざるを得ませんでした。

参加前は、ディスカッションの準備など、研究活動をしていない学部生にとっては難しい面もありましたが、その準備を通して、免疫という分野への興味が高まり、結果としてサマースクール参加への良い予習となったと思っています。

サマースクールでの講義内容は、たしかに難しい内容もありました。しかし、先生方はできる限り内容を噛み砕き、わかりやすく伝えようとしてくれましたし、英語でのレクチャーを取り入れたセッションなど、多くの工夫がなされており、非常に興味深い貴重な時間をすごせたと思います。

参加者同士で話をしても、「参加してよかった」との声を多く耳にしました。特に、「分からないことがあるから参加する」「自分の研究が、周りからはどう見られるのかが知りたくて参加した」といった意見を数多く聞きましたが、たしかに自分自身も、「わからない」「知りたい」からこそサマースクールに参加したのであり、その意味では、参加者の免疫への習熟水準にかかわらず、それぞれに有意義であったのだと実感しました。来年以降のサマースクールには、学部生も積極的に参加することを勧めたいと思います。ハードルが高い面もあると思いますが、参加することで、期待以上のものが得られるのは間違いないと確信しています。

最後になりましたが、講師の先生方をはじめ、スタッフの方々、参加者のみなさんに感謝の気持ちを伝えたいと思います。ありがとうございました。



遺伝子組換えマウスをめぐる最近の動向

遺伝子組換え実験、 ことに遺伝子組換えマウスに 関する規制の歴史と現状

解説

京都大学医学部附属病院探索医療センター
探索医療開発部

清水 章 Akira Shimizu

1

遺伝子組換え実験への規制の歴史

遺伝子組換え実験が如何に強力なツールであるかが認識されるとほぼ同時に、その潜在的危険性、すなわち、これまでは存在しなかった病原体などが意図せず作成されてしまう可能性が否定できないこと、並びに人工的に生命の根幹を操作することの是非について、実験が普及する前に検討すべきであると考えられるようになった。この技術を開発し、世界をリードする立場にあった米国の研究者たちは1年のモラトリアム期間を設けて討議・検討を行い、実験の持つ潜在的危険性をできる限り科学的に判断してランク付けしたガイドライン(指針)を作成した。これが米国N.I.H.ガイドラインとして発効し、科学的実験に対する科学者の自主規制としては史上初のものとなったのが、今から4半世紀程前のことである。科学研究の自由と発展を尊重し、国家の干渉、管理によるその阻害を避ける意味からもこの自主規制の考え方は広く受け入れられ、多くの国においてこの規制方式が採用された。我が国においても、内閣の告示による組換えDNA実験指針として運用されてきた。

この指針の考え方は、遺伝子組換え実験が開始された当初の状況を反映し、肉眼では見えない微生物を宿主とし、これに外来性の(本来その種が持つものの以外の)遺伝子を組込むことあるいは組込まれたものを、如何に安全に行う、あるいは取り扱うか、という視点に立っていた。安全か、危険かの判断基準は実験者あるいは一般人に対して、すなわちあくまでヒトに対する病原性などの危険度を中心に考えられていたのである。遺伝子を組換えられた生物を実験室あるいは管理された場所(実験区域)に封じ込めること(これを物理的封じ込めといい、P1からP4にランク付けされていた。)と、宿主やベクターをより安全にし、ヒトに病原性を有しないものを用い、また実験区域外での生存を困難にすること(これを生物学的封じ込めといい、B1からB2のランクがあった。大腸菌K12株とそのプラスミドやファージを用いるEK宿主ベクター系など実験に用いることができるもの、すなわち認定された宿主ベクター系は限られていた。)によって、この目的(ヒトに対する安全の確保)を達成しようとしていた。また、実験に要求される封じ込めのレベル(物理的、生物学的封じ込めの組み合わせ)は組込まれる遺伝子の由来が一般にヒトに近い程(危険度が高いと想定された)、また未同定でどのような遺伝子が扱われるか不明な程高く設定されていた。例えば、当初の指針ではヒト遺伝子ライブラリーを扱う(未同定で遺伝的複雑度が高い)場合はP3-EK2が、マウス遺伝子の場合はP3-EK1かP2-EK2が要求されていた。その後、実験の普及とともに危険性が当初の危惧より格段に低いことが実証され、数次の改訂が行われた(その結果上記の例ではどちらもP2-B1となった)。

遺伝子組換え動物(トランスジェニックやノックアウトのマウスなど)の作成や飼育は、当初の指針の想定外ではあったが、動物個

体を宿主とした遺伝子組換え実験に相当するものとして規制の対象とされた。このような実験の開始当初は未認定の宿主ベクター系の使用と判定され、実験毎に主務大臣(大学においては当時の文部大臣)の承認を得る必要があったが、その後実験が普及し、安全性が実証されたことに伴って実験する機関の承認で行えるようになった。ヒトに対する病原体や毒素を産生するようなごく例外的なものを除き、遺伝子組換えマウスはヒトに対する危険性はほとんどなく、また個体レベルでの遺伝子機能を解析する、極めて重要かつ強力な手段として、広く普及していることは周知の事実であり、これを利用しない免疫学の実験は今や少数派ともいえる状況ではないだろうか。実際、実験動物として販売されているものもある。

このような遺伝子組換え実験の指針による自主規制という枠組みは、昨年2月19日に「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(いわゆるカルタヘナ法)が施行されたことにより、大きく変化し法的規制に移行した。遺伝子組換え実験を行う研究者が執るべき措置は概ね従前の指針のものが踏襲されているが、その規制の趣旨には大きな違いがあり、またその責任の所在についても一部変化があった。これまで自己責任において、安全に(事故無く)実験が行われてきたこと、多くの執るべき措置に実質上の差がなかったことなどから、法規制への移行について、特に変更された点について、研究者サイドへの周知徹底が必ずしも十分でなかったのではないかと危惧するものである。

2

法的枠組みになったことで何が変わったのか?

今回の規制枠組み変更は、単に自主規制から法規制への変更ではなくそもそも規制の観点が違っている。この法律は科学的実験のみを規制するのではなく、広く遺伝子組換え生物等(ウイルスなど生物学的な意味での生物ではないものも含まれている、Living Modified Organisms, LMO)を使用することを規制している。このLMOの概念から、これまでの規制ではベクターの扱いであったウイルスは宿主との扱いになる一方で、個体にならない培養細胞は規制の対象から外されている。危険度のランク付けは生態系、生物の多様性に与える影響で判断されるため、ヒトに対しては病原性がないウイルス等でも、野生動物に強い病原性を有し、その種の存続に対して危険性があると判断されたものは規制のランクが従来の指針より高くなっている。

大部分の研究での遺伝子組換え実験は、法の規定による遺伝子組換え生物等の第二種使用等(環境中への拡散を防止して使用等、すなわち、実験、飼育のほか運搬、保管などをするもの)にあたる。つまり、何らかの措置を執ることで環境中への拡散を防止する意図を持って使用(運搬なども含む)するものである。この時執るべき拡散防止措置(以前の物理的封じ込めに相当)が省令(大学などにおける研究開発においては、「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」(平成16年文部科学省・環境省令第1号)に定められていればそれに従い、定めがなければ主務大臣(大学においては文部科学大臣)の確認を求めなければならない。この大臣確認に相当するものとしては、感染性、増殖性を有するHIVが産生される遺伝子組換え実験、同種以外の哺乳動物に対する病原微生物の受容体を宿主に付与する遺伝子を含む動物(例えばポリオの受容体遺伝子のトランスジェニックマウス)の作成、飼育のほか、危険度分類が省令で規定されていないもの(省令に記載されていないウイルスなど)など



実験動物の使用、輸入規制

大阪大学大学院医学研究科実験動物医学教室

黒澤 努 *Tsutomu Kurosawa*

はじめに

我が国における動物実験は研究の自由を守るという立場から極めて自由な雰囲気で行われてきた。ところが近年になり動物愛護思想にともない実験動物福祉運動が高まった。これにともない現行の動物愛護法(動物の愛護と管理に関する法律)が成立してきたのである。それ以外にも動物由来感染症に対する市民の関心の高まり、最新科学の環境への影響を憂慮して動物実験ないし実験動物に関して種々の法制が成立することとなった。

遺伝子組換え動物の使用規制

遺伝子組み換え技術の進展により、動植物の遺伝子を極めて容易に組換える事ができるようになった。この遺伝子改変生物の拡散による環境汚染対策としてカルタヘナ条約が成立した。これに対応する国内法が「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」である。本法は2004年2月19日から施行され、従来の「組換えDNA実験指針(平成十四年文部科学省告示第五号)」は、平成16年2月18日限りで廃止された(前出)。本法は名前にあるとおり使用等の規制であり、我が国初の動物実験規制法とも考えられるものである。この対策は専門家間で論議され、国立大学動物実験施設協議会のバイオセーフティー委員会で詳細な検討を行ってきた。この結果は日本実験動物環境研究会誌に記載された「組換えDNA実験法制化と組換え動物実験」(手塚、実験動物と環境 12:14, 2004)を加筆する形で、2005年5月に「遺伝子組換え動物等取り扱いに関する考え方」として公表された。

この考え方の中では明確に法規制対象の当事者の体制整備、組換え動物実験の手続、組み換え動物等の拡散防止措置および二種使用等の情報提供が記載されていた。しかし、新聞報道等で明らかになった通り、本法の触法行為があったとして、実験動物中央研究所および他の関連機関44機関が厳重注意となったのである。今回の厳重注意を受けた機関および受けなかった機関の専門家同士の私信によれば、専門家としての知識を研究機関及び研究者が上手に使うことができなかったことが分かれ目となったのではないかと指摘されている。実験動物医学専門医制度も確立(<http://plaza.umin.ac.jp/JALAM/>)されていることから考え、実験動物の問題は欧米と同様に専門家にコンサルテーションを受け対応してゆくことが実際的である。

感染症における動物由来感染症の予防

近年、トリインフルエンザ、SARSおよびBSE等がメディアをにぎわし続けている。厚労省は国際的な枠組みでこれらの感染症の対策を本格化させた。この法的根拠が感染症法(感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律)である。海外からの感染症の伝搬を防止するために、動物の持ち込みの規制強化を行った。とりわけペットとして輸入される齧歯動物はこれまで全く規制がなかったが、原則的に輸入禁止としたのである。

があるので要注意である。

もう一点、研究者にとって大きな枠組みの変更といえることがある。指針による自主規制のときは、他の研究者などから組換え体生物等を入手して実験、飼育などを行う場合、必要な準備(必要な設備、飼育環境等を準備し、組換えDNA実験の承認を得ておく)をするため、あらかじめその組換え体生物等の性質(宿主、ベクター、外来遺伝子など)を調査しておくことは、受け取って実験する側の責任であったといえよう。そのため、供給を依頼する文書などには、指針に従って実験する旨記載するのが通常であり、供給する側は、受け取り側のそのような準備状況(多くは指針遵守の誓約)を確認してから送ることが多かった。今回の法規制への移行に伴い、遺伝子組換え生物等を広く他者に渡す場合に執るべき措置が定められた。この法の基となった、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制に関する措置を講ずることにより生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」では、国境を越えて遺伝子組換え生物等が移動することを規制することが定められており、これを保証するためにも、あるいは国内においても遺伝子組換え生物等を受け取った側が法を遵守できるようにする為にも、譲渡等(委託してSPF化などの作業してもらうなど所有権が移動しない場合、つまり狭い意味での譲渡ではない場合も含むのでこのような表現になっている)をするに当たっては、譲渡等をする側が受け取る側に必要な情報を伝達することが義務づけられている。研究の場面では、受け取る側がその性質(どんな宿主にどんな遺伝子が入っているものかなど)をあらかじめ知らないということはほぼあり得ないわけであるが、一般には、例えば遺伝子組換え大豆だと知らずに購入し、栽培してしまうことなどが起こりうるので、情報を持つ側(送り出し側)の法的責務として情報を伝達することが求められているのである。第二種使用等をしている遺伝子組換え生物等を譲渡等する場合は、遺伝子組換え生物等の第二種使用等をしている旨、遺伝子組換え生物等の宿主の名称及び組換え、導入された核酸(遺伝子)又はその複製物の名称、譲渡者等の氏名及び住所(法人にあっては、その名称並びに担当責任者の氏名及び連絡先)など法令に定められた事項を、定められた手段(文書の交付、遺伝子組換え生物等又はその包装若しくは容器への表示、ファクシミリ装置を利用する送信、電子メール)で伝達しなければならない(相手は国内の場合)。外国(条約、議定書の批准国、EU諸国など)の送付に当たっても、同等の情報を提供する必要がある。また、非締結国(米国!等)からの輸入に当たっては、同等の情報を収集しておく必要があるが、論文やカタログに宿主や組換えられた遺伝子について記載されていればそのコピーで十分であろう。

今回多くの大学研究機関などが、この情報伝達において法令に違反したとして文部科学大臣より厳重注意を受けた(遺伝子組換え生物等の環境への拡散は起こっていないことが確認されている)。これを受け、多くの大学などで再発防止のための措置として、情報法令や機関内規定の周知、再確認がなされ、また譲渡等に当たっての交付すべき情報(文書)の雛形が作成されるなどしたと聞いている。これを機に、研究者サイドでも一層の理解が進み、遺伝子組換えマウスなどを用いた研究において法令への違反(最高では懲役刑があり、情報伝達でも罰金刑の規定がある)が起こらないことを期待している。

法令の詳細については文部科学省のホームページに記載があるので参照して頂きたい。

http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/seimei/kumikae.htm

新動物輸入制度について

慶応義塾大学医学部微生物学教室

小安重夫 *Shigeo Koyasu*

本年9月1日から動物輸入制度が改正され、色々と戸惑っておられる方も多いと思います。私自身は本件に関する責任ある立場のものではありませんが、編集委員会から依頼されましたので、説明させていただきます。

今回の新制度は、カルタヘナ議定書に基づく「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」とは異なる問題です。以前ニュースでご覧になった方も多いと思いますが、コンテナ一杯にマウスの死体を輸入しようとして摘発された事件がありました。何でも動物用の餌という触れ込みだったようですが、やはり感染症予防の観点からは問題です。今回の制度改正にはこのような背景があるようです。平成15年10月16日に成立した「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」の第56条の2において、動物または死体を輸入するためには輸出国政府機関による衛生証明書が必要であると定められました。「輸出国政府機関による衛生証明書」がこれまでとの大きな相違点です。法に基づいてさらに「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律施行規則」が平成16年9月15日に厚生労働省の省令として定められ、これの第28条-第31条において届出の詳細が定められました。そして本年9月1日より実施されることになったわけです。これによりまずと、例えば私たちが米国のジャクソン研究所からマウスを購入しようとした場合、ジャクソン研究所ではなくUSDA(US Department of Agriculture)の獣医官が作成した衛生証明書が必要ということなのです。

しかし、私たちが使用するSPF動物に関しては人の感染症予防という点からはまず問題がないと考えられます。昨年12月16日に行われた実験動物関係団体向けの説明会を機に、SPF動物についてはこれまで通り、施設の獣医師の作成する衛生証明書で充ちたいという研究者の声が上がりました。これに対応して厚労省では施行規則を改正し、SPF動物については施設のモニタリング結果を提出することを条件に、政府機関による衛生証明書として、施設の獣医師による衛生証明書に政府機関(USDAの獣医官)が裏書したものをを用いることを認めることになりました。これではあまり変わらないと思われるかも知れませんが、USDAの獣医官が現地に赴く必要を考えれば大きな違いです。法律にはっきりと「輸出国政府機関による衛生証明書が必要である」と定められている以上、裏書をも省略することはできないということのようです。制度や手続きの詳細は、次ページにアドレスを記載した厚労省のホームページをご覧くださいなのですが、以下にSPF動物を輸入する際の手続きについて、米国の場合を例にとり簡単に説明します。

ブリーダーに発注するにせよ、大学などの研究者から譲渡されるにせよ、まずは施設の獣医師によるSPF動物であることの証明書を用意します。ちなみに、この書類は今までも必要でした。以前と違う点は、その証明書をその地域を管轄するUSDA事務所に送り、担当獣医官の裏書を得るという点です。これを貨物と一緒に送ってもらうわけですが、あらかじめFAXなどで事前に送ってもらいます。さらに当該施設のモニタリング結果を示す検査書を得ます。これはコピーでも大丈夫とのこと。さて、輸入は通関業者に依頼すると思いますが、通関業者に以上の書類を事前に渡します。貨物と同時に良いのですが、書類不備の場合には動物は返送か殺処分となることを考えた場合、事前にコピーがあったほうが無難だと思われます。さらに、これまでとは異なり、輸入にあたっては届出書及び、本人ならびに代理人の確認にかかわる書類を用意する必要があります。確認の書類に

このあおりを受けたのが我々である。遺伝子改変動物の爆発的開発に伴って、国際的な授受が増加していたが、本法の規定によりこれに届け出が必要となったのである。しかし、関係者の努力により、厚労省もそれまでの規定を緩和する形で2005年9月からの省令施行を迎えることとなった。緩和措置の内容は、動物施設の認証を相手国政府が直接行うのではなく、高度に衛生管理された実験動物施設に関しては例外とした。このときの高度に衛生管理がなされた施設の定義に国際的に実験動物医学で使われているSPF動物の概念を採用し、定期的な微生物モニタリングがなされていれば良いとした。さらに政府発行の健康証明書を動物実験委員会などが組織されている研究機関においてはその獣医師が発行する健康証明書に獣医官が裏書きすることで良いとした。この内容はすでに米国農務省のホームページにて公開されている。

<http://www.aphis.usda.gov/NCIE/iregs/animals/ja.html>

おわりに

国民の健康riskを高めてまでも、また環境保護の立場からも我が国の国会は動物実験の自由を認めることはなくなった。しかし、われわれが定義する実験動物は微生物学的にも遺伝学的にも統御されたものを指し、適切な保管施設で逃亡などが起こらぬように維持されている。ところが我が国の法体制のなかにこの実験動物を定義する法律がほとんどない。あるとすれば動物愛護法に、科学上の用に供する場合の規定があり、動物実験を行う際にはできるだけ苦痛を与えないようにしなければならないと定められている。とすれば、動物愛護法に明確に規制対象として実験動物および動物実験を定義してさえおけば、他法による規制は免れ得たかもしれないという気がするのである。このままでは動物実験反対運動家に、「触法行為を行った」として攻撃されるのに対抗するため、各個の研究者が多数の法律全般に目を通さねばならなくなり、貴重な研究時間を浪費するのを続けねばならなくなるのではないかと心配する。



はいくつかのパターンがありますが、代表的なものとして(1)輸入者本人(通常は研究者)の実印による委任状と印鑑証明書、あるいは(2)輸入者本人の委任状と住民票ならびに代理人(輸入通関業者)の法人登記簿謄本、の2つの組み合わせがあります。委任状や印鑑証明書、住民票も事前に通関業者に渡します。この場合、届出者は研究者個人の名前となります。その上で通関業者が空港で厚生労働省検疫所への届出を済ませ、通関されることになります。

問題はUSDAの裏書を得るのにどの位時間がかかるかですが、今のところはっきりとは分かりません。また、ヨーロッパをはじめとする他の国の場合にもその国での手続きがどの程度迅速に行われるかは全く予想が付きません。しばらくは余裕をもって計画することが大切のようです。大切な実験動物です。制度を良く理解して対応されることをお願いいたします。

日本免疫学会会員各位

厚生労働省は、平成17年9月1日から「動物の輸入届出制度」を導入することを公示しております。それにより、今後外国から動物を輸入する場合には当該国政府の機関が発行した衛生証明書ならびに輸入者の本人確認のための書類が必要になりました。SPF動物の輸入にあたっては施設の獣医師の作成した衛生証明書に当該国政府機関が裏書することも認められています。詳細は以下の厚生労働省のホームページをご覧ください。なお、平成17年9月1日以降、書類不備の場合には動物は逆送還か殺処分となりますのでご注意ください。詳しいことは輸入代理業者(通関をお願いする業者)にあらかじめ早めに問い合わせるのが得策と思われます。

●厚生労働省のホームページ

<http://www.mhlw.go.jp/topics/2004/10/tp1015-2.html>

米国に関する参考情報

●USDAの州事務所のアドレス

http://www.aphis.usda.gov/vs/area_offices.htm

●衛生証明書の様式が掲載されているUSDAのアドレス

<http://www.aphis.usda.gov/NCIE/iregs/animals/ja.html>

平成17年8月24日

日本免疫学会会長

平野俊夫

*制度改正の背景となった事件としては、(1)野兔病に感染した疑いのある動物(プレーリードック)が日本に輸出されていた事例、(2)サル痘に感染した疑いのある野生げっ歯類が日本に輸出されていた事例等があります。

法令化後の 遺伝子改変マウスの取扱

(財)東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所
疾患モデル開発センター

米川博通 Hiromichi Yonekawa

はじめに

平成16年2月19日施行の「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」により、遺伝子改変マウスについても法の規制が及ぶ様になった。これに伴い、従来は「研究者の良心」に委ねられていた「遺伝子改変マウスに対する取扱」も処置を誤れば「法令違反」となり、処罰の対象になる。この施行に先だち、説明会が東京や大阪などで開催されたが、そこで強調されたことは「今後は『遺伝子改変マウスに対する取扱』も法令で定められるので、これまでの様に『知らないではすまされない』」ということであった。私たちの研究所でも、東京での説明会后、法令化後の変更点等を電子メールや所内向けHPなどで職員に周知徹底した。それと共に、ウイルスゲノムやウイルスの受容体を導入したトランスジェニック(Tg)マウスのように「大臣承認を必要とする組換えDNA実験」に関しては迅速に対処し、その施行に関しては盤石な備えをしたつもりであった。しかし、今回の実験動物中央研究所(実中研)の上記法令違反に関連して、その主管官庁である文部科学省から以下に述べる指摘を受けた。現在文科省に対しては「その経緯」と「再発防止」に関して公文書での回答を行い措置を待っているところである。以下、反省を込めて、その経緯と防止対策について述べてみたい。

背景と経緯

病原微生物汚染に対する日常的監視(以下微生物モニタリング)は、動物飼育施設の管理にとっては最も重要な業務となる(注1)。特に、現在の様に遺伝子改変マウスが国内外を問わず広く交換され、研究に使用されている場合には、この微生物モニタリングはとりわけ重要である。病原微生物の施設への侵入は、ヒトよりもマウスを介しての場合がほとんどであり、特にマウスに重篤な症状を与えないもの、あるいは健康なマウスには不顕性の感染を起こさせるものについては、経験に基づく格段の配慮が必要となる。特に、免疫不全マウスを多数維持・飼育している場合には、不顕性感染をしていた動物を通じて、免疫不全動物に感染が顕性化、そして爆発的に拡大し、気づいたときには重要なマウスの系統が絶滅してしまう場合も充分想定される。我々もこの点を考慮し、実中研に微生物モニタリングを定期的に依頼していた。モニタリングを依頼するための動物としては、本来C57BL/6などの系統を種として使用するほか、我々はそのモニタリングをより確実なものとするため、多種類の遺伝子改変マウスの系統の中から、「抜き取り法」によりモニタリング用マウスを選んでいた。当然ながら、法律施行後は「遺伝子改変マウス」をモニタリング用に出すためには、「遺伝子改変マウス」に該当するということで、そのマウスの系統名とトランスジェニック(Tg)またはノックアウト(KO)マウスであることを明示していた。このことにより、私自身法令は充分クリアしている、またモニタリング用マウスは、到着後その日のうち、遅くても翌日には殺処分されることと、研究に使用されるものではないため、譲渡にはあたらないと判断をしてしまった。結果的には、この私の判断がミスであったことになる。すなわち、法的に解釈すれば、「生きた遺伝子改変マウスを出した時点」で譲渡と見なされ、これには例外がない、ということである。

文科省からの指摘

今回の我々の措置について、実中研へ提供した情報に不備、一部情報が欠落している旨の指摘が文科省からあった。指摘の項は以下

の2点であった。

1) 遺伝子組み換え生物等の第2種使用(注2)等をしている旨を知らせること、の項

2) 供与核酸の名称、の項

以上のことから、文科省はこの件を「法令違反」と認定し、「経緯の報告」と「是正の方法」を文書として提出する様求めてきた。

是正措置

文科省の指摘に対し、我々が行った措置の骨子は以下の通りである。

1) 再発防止のための規則制度面の是正

1. 本件を所執行部、運営会議、管理職会議で報告すると共に、管理職会議記録を通じて全所員に周知徹底した。

2. また、本件関係者に関しては再発防止のためのガイダンスを行った。

3. 今後は微生物モニタリングを「抜き取り」ではなく、罎マウスで行うことを原則とする(注3)。

2) 全所員、関係者に対する法令等の周知のための措置

1. 上記、1項を参照

3) 安全委員会等の関与のあり方に関する是正

1. 稟議書に添付すべき書類の追加特に実中研に提出した「微生物学的および遺伝学的検査のための遺伝子組み換え届け出書(届け出書)」は、稟議書には添付せず、そのコピーを施設管理者が保管していたが、これの添付を義務づけることとした。

今回の反省点

1) 第1の反省点は、なんといっても、本法律の読み込み不足があげられる。

2) 従って、誤解、あるいは記載漏れ等があった場合にも、「法令違反」には言い訳は通じない。責任を転嫁するつもりは毛頭無いが、以前の実中研で作成された「届け出で書」には、今回文科省から指摘を受けた2つの事項を記載する項目はなかった。この様な場合においても、その「届け出で書」使用した場合に「法令違反」をしたと見なされるのは、その書類を提出した側となる。それ故、提出すべき書類は、提出する側が法に照らして厳密に検討しなければならないというのが、今回の痛い経験からの教訓である。

臨床研における遺伝子改変マウスの譲渡までへの手続き

本稿の最後に、私たち臨床研で行っている遺伝子改変マウスの譲渡までへの手続きを述べておきたい。

● 相手側機関から譲渡を依頼された場合:

1) 該当の遺伝子改変マウスに関する相手側機関での「DNA組換え実験安全委員会」の承認を示すコピーを送付して頂く。

2) 必要に応じ、Material Transfer Agreement(MTA)、守秘義務契約書の取り交わしを行う。

3) 臨床研DNA組換え実験安全委員会に「組換え体搬入願い」を提出し、承認を得る。

4) 承認書のコピーを相手側に送付。

5) 法に従いマウスを輸送する。

輸送箱の目立つ部分に、「遺伝子組み換え動物」であることを明記する。

第2種使用」であること、供与核酸の種類など、必要事項を記載した書類を添付する(できる限り、この書類は事前に送付してもらい、内容を確認しておいた方がよい)。

● 相手側機関に譲渡を依頼する場合

1) 臨床研DNA組換え実験安全委員会に「組換えDNA実験計画書」を提出、承認を得る。

2) 承認書の書類を相手側に送付。

3) 臨床研安全委員会に「組換え体搬入願い」を提出し、承認を受ける。

4) 当該施設での微生物に対する汚染状況とそれを証明する書類を送付してもらう。

5) できれば、事前に「第2種使用」であること、供与核酸の種類など、必要事項を記載した書類を送付してもらい、内容を確認する(輸送箱への添付もお願いしておく)。

6) マウスを受け入れる。

注1) 詳細は、拙書「マウスラボマニュアル第2版」系統の維持等をご参照下さい。

注2) 環境への拡散(逃亡)を防止するために、使用にあたっては適切な施設・設備の中で飼育を義務づけられている生物。文科省の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」のホームページ:

http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/seimei/kumikae.htmを参照のこと。

注3) ただ、我々の経験からすると、罎マウスよりは「抜き取り」の方がより信頼性が高いと思っているので、この件については是非は現在のところ不明である。特に、一度汚染を起こしてしまえば、その被害は甚大なため、実際のところ頭を悩ましている。

動物実験にたずさわる研究者として肝に銘じておくこと

コメント

東京理科大学生命科学研究所

安部 良 Ryo Abe

昨年、当研究所の通常の研究室で遺伝子改変動物が飼育されていたことがマスコミで報道された。これはかつて、遺伝子改変動物のアトピー発症実験を、SPFでない通常の環境で行う必要があり、ガラス扉付の化学フードで行ったことや、早朝実験のために前日から化学フード内にマウスを移動させておいたという事例についてであった。これらの行為は動物施設で発生したMHV感染のアウトブレイクを機に平成13年以降は行われていなかったが、当時、遺伝子改変操作の申請がなされていなかった実験室で、短期間とは言え、組換え動物を飼育した事実は、組換え実験に対する十分な配慮を怠ったものとして反省するところとなった。何故、このような古い事例が問題視されたのか、また、この問題に我々がどのように対応したかについて紹介することにする。

当研究所の動物飼育施設ではMHVの汚染があり、平成13年からこの除染と再発防止策がとられることになった。内部調査の結果、汚染の原因の一つに前述した施設外での動物飼育が挙げられ、

遺伝子組換えマウスと 感染症リスク

東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設

笠井憲雪 *Noriyuki Kasai*

この禁止を含む各種の内部改革が行われた。一方、除染作業に負担を感じていた動物飼育業者は、話し合いにより平成14年3月契約解除となった。この元飼育業者が、先に述べた管理区域外で組換えマウスの飼育が行われていること、および、動物実験が当研究所が定めた内部規則である動物飼育規則に違反していること等をマスコミや議会に発表した。これを行った時期は、カルタヘナ条約に基づく法律が施行された時期と一致する。本学は学内外の委員から構成された調査委員会を設立して調査を行い、元業者の指摘するような事実は、内部調査書にあるように、過去に全く無かったわけではないが、少なくとも2年以上前に解消していたことを明らかにした。しかし、報告書が出る前に、発生した時期を別として事実の有無のみを問うマスコミに、真実は伝わらなかった。

平成16年の法制施行後に当研究所が取った対応は以下の通りである。

1. 遺伝子改変動物はP2Aの動物施設内でのみ飼育されているが、動物施設内に共通使用の実験室が無いのでマウス臓器を取り出すまでの短時間、マウスを生体のまま施設外で保管する必要がある。この操作は短時間でありマウスの逃亡も考えられないので飼育とは考えていなかったが、現在は、臓器の摘出は二重の逃亡防止用ねずみ返しを備えたP1A実験室で行っている。また、研究所内移動は、遺伝子改変動物を研究所外に搬出する時と同様に、移送中の逃亡事故防止の目的でビニール袋に入れたケージを遺伝子改変動物がいる旨を明記した滅菌函に入れて移送することとした。
2. 拡散防止という観点から遺伝子改変動物はアイソトープ並みの管理が要求され、すべての遺伝子改変動物について、個体別に記録の記載とその保存が義務付けられている。これらは従来、各研究者が個別に行ってきたが、情報の提示を求められた時に直ちに実態を示すことができるよう、動物施設で統一した記録が望ましいとされた。そこで我々は動物施設の保有する遺伝子改変動物についての情報を管理するコンピューター管理システムを導入し、搬入、出生、使用等の記録の定期的な更新を義務づけた。

動物愛護運動の高まりの中で動物実験をめぐる社会環境は厳しさを増しており、社会の理解を得る努力がますます必要とされている。研究者には高い研究意欲が必要であると同時に研究者としての責任とモラルが強く求められる社会である。このような社会に対応するためには、動物施設の使用規則や実験指針などを厳正に遵守するとともに、日頃から、オープンハウスや市民講座などを通じて情報公開と地域住民との積極的なコミュニケーションが必要である。また、今回の大きな2つの法令制定にとどまらず、今後、新たに動物実験に関する法令の制定が検討されているとも聞く。研究機関、施設としてこれらの情報収集や研究者への情報提供を遅滞無く行うことはもちろんであるが、研究者一人ひとりもこれらの情報に対するアンテナを広げておく必要があるだろう。幸い、国立大学実験動物施設協議会(国動協)や公立私立大学実験動物施設協議会(公私動協)では、これらについての情報収集や、動物実験をスムーズに行うための各機関に対する働きかけなどを積極的に行っている。これらの機関からの情報に常に注意をし、正しい対応をすることが肝要であると考えられる。

今から15年ほど前に始まった遺伝子組換えマウスの増加は、現在も続いている。手元にある国立大学法人動物実験施設協議会がまとめた報告書によると、平成15年度では会員校(全国45大学・研究機構)で飼育されている53万匹のマウスのうち約60%の32万匹ほど、さらに当施設では2万5千匹のうち63%の1万6千匹ほどが遺伝子組換えマウスである。飼育管理面から見たこれらのマウスは、1)組換えられた遺伝子毎に一つの系統であり、ほとんどが市販されておらず、他からの入手が困難である、2)従って研究者自ら繁殖維持に努めなければならない、3)研究者間の授受が頻繁に行われる、という特徴を持つ。自家繁殖および頻繁な研究者間の授受は、感染症リスクを飛躍的に増大させる。さらに、感染症が発生しても感染コロニーの全群淘汰は、貴重系統の断絶となるため、非常に困難となっている。従って終息のためには長期の研究の中断はもちろん、多大な経費の損失となる。

筆者の所属する施設ではマウス肝炎ウイルス(MHV)感染事故が発生し、大な損害を被った。このウイルスの由来ははっきりしており、発見も早かったため当初は最小限の被害で済むと考えていた。しかし、伝搬は急速であり、さらに2つ目のMHV感染源の存在により、結局マウス飼育室半数以上が陽性と判定された。施設の総力を挙げ事故対策にあたったが、膨大な損害を被り、復活に5ヶ月かかった。この稿では、その状況を紹介し、予防策を考えたい。

— 発端

2000年10月25日にA大学より7匹のノックアウトマウスが搬入された。11月6日に当該マウスがMHVに感染している可能性があるとの連絡を受け、検査の結果、全個体のMHV陽性が判明した。

感染の拡大:その後、PCR検査により近隣5飼育室の感染拡大が判明。さらに11月22日には別エリアの飼育室の感染が確認された。これにより空気感染による全館感染拡大が懸念された。これを受けて12月5日に利用者会議を59名の参加で開催し、「感染マウスを全て処分し、全飼育室を完全に清浄化」の方針を決定した。最終的にマウス22飼育室中12飼育室がMHV陽性となる。この間、3000検体を上回るPCR,ELISA等の検査を施設の総力を挙げて行った。

— 2つの感染源

ところが、12月27日になり国立感染研のPCR法を用いた遺伝子配列の同定によって2つ目のMHV感染源があることが判明した。それは遺伝子組換えによる免疫不全マウスの飼育室であった。このことは当初の感染源のみが広がったのではなく、感染力の弱いMHVがこの動物に潜んでいたためであると考えられ、全館感染拡大の懸念が払拭された。

飼育室の清掃消毒と復活:年が明けて、陰性陽性を問わず全22飼育室からマウスを処分または退去させた。このうち貴重系統は業者への飼育及び帝王切開等による清浄化を委託した。飼育室は徹底した清掃消毒が行われた。さらに検疫業務体制の確立、微生物モニタリング法の改善、そしてようやく4月2日にマウス飼育室が復活した。感染発見以来147日目であった。

アメリカアニマル事情

ジョージア医科大学免疫治療センター
准教授

岩島 牧夫 Makio Iwashima

miwashima@mcg.edu

<http://www.mcg.edu/Institutes/IMMAG/iwashima.html>



この原稿の依頼があった日のことなのですが、大学のIACUC (Institutional Animal Care and Use Committee) からメールが届きました。月に一度の審査会に提出された書類が添付されていました。動物利用に関する使用申請書です。私も今年からこの委員をやられています。興味のある方は<<http://www.mcg.edu/research/animal/AUPForms.HTM>>から当大学のフォームをダウンロードできます。この大学のフォームの場合、27項目の質問があり、それぞれに答えるのには結構時間がかかります。この書類は通常1セットの実験用を書くようになっているので、in vitroでの実験ではそれほど手間がかからないのですが、in vivoの実験でいくつか異なる手法を使う場合にはそれぞれについて提出が求められるので、かなりの仕事量になります。内容には、注射に使う針のサイズやマウスを何匹1年で使うか、といった具体的なことに触れる項目もあります。これに加えて、グラント申請の際には必ずそのグラントで使う実験法を許可したIACUCの許可番号を提出することになっているので、番号がとれないと実験がまったくできないことにもなりかねません。ですから簡単に手をぬくことはできません。もちろん審査する側もかなりの時間をとられることになります。

これだけ厳しい自己管理体制を強いられているのは、動物愛護のグループの人達の理解を得るため、というのが大きな理由だと思われます。それでも時に動物実験施設がデモの対象になったりするので、社会的に実験動物利用の理解を得る努力は続けなければならず、今後もこうした管理体制は続くことでしょう。自己管理ができなければ必然的に第三者の管理になってしまうので、それを避けるためにも自らの努力でなんとかしよう、というのが、こうした実態の背景にあると思われます。

遺伝子組み換えマウスの管理もこうしたIACUCの管理下におかれています。どういう目的でどんなマウスを作るのかを記載した実験計画をIACUCに提出してその許可がおりてから、transgenicやknock-out マウスのコンストラクトを、許可番号と共に大学内(もしくは外注も可能ですが)の共同実験施設に渡して、作ってもらう、というのが流れになっています。特に遺伝子組換えだから特別な管理や書類が必要といったことはありません。マウスを使った実験はあとと種類が増えるのが常ですが、これは実験の手法(たとえば抗原や細胞を静注するのか腹腔に打つのかといった違い)が変わるごとに、補正の書類を付け足していくことで処理するようになっています。

マウスの利用は我々免疫学者にとってまさにbread and butterであって、動物を無駄に殺すことは許されないにせよ、なぜここまでやらなければいけないのか、といった疑問が常に頭の中で首をもたげるのは筆者だけではないだろうと思うのです。なぜ趣味の狩猟や釣りが申請書類の提出も無しで可能なのに、実験動物が格別に扱われるのか、納得いかないこともあるのですが、価値観が多様化している社会の中では、あたりまえと思われることも丁寧に説明しなければならないことがあるのだ、と自分に言い聞かせて、書類を処理している今日この頃です。

——甚大な被害

事故後、我々は被害調査を行った。被害は27教室に及び、処分したマウス数は約12,000匹、処分した遺伝子組換え等系統数は185、帝王切開等による清浄化した系統数は57、その経費は約1,500万円、外部飼育委託したのは444匹約1,000万円、その他の経費合わせて研究者の被害額は約5,370万円と見積もられた。一方当施設自体の被害はMHV検査、飼育室改善、検疫室整備および飼育経費等の減収合わせて3,660万円と見積もられ、両者の被害総額は約9,030万円と算出された。実に一億円近い被害である。一方、金銭以外では研究者は「大学院生の研究期間が無駄になり、学位取得が非常に難しい状態になった」「研究が他研究者に先を越されてしまった」「他研究機関へのマウスの分与が出来なくなり、共同研究が出来なくなった」「国際学会への発表が間に合わなかった」「動物処分により一年以上のブランクが予想される」など、金銭に換えがたい切実な被害を訴えていた。

——感染症制圧に向けて

この様な甚大な被害を被った最大の原因は、検疫体制の不備である。冒頭にも述べたように昨今、国内外の施設間の動物の授受は相当な数に上る。従来は譲渡施設からSPF証明書を入手し検疫に代えていたが、この方法は根底から覆された。結局自分の身は自分で守る、つまり検疫の徹底である。このため事故後約1000万円かけて検疫室を整備し、臨床検査技師資格をもつ職員を配して運営している。そして日常の微生物モニタリングの徹底である。これも全てのケージの感染状況を反映させるためには、ケージ交換の際の全ケージの使用済み床敷きひとつまみを回収動物ケージに入れる等工夫が必要である。そして飼育管理者および研究者が感染を広げるベクターになるので作業動線の遵守の徹底が重要である。さらには飼育管理者および研究者の衛生管理思想の向上のための定期的な教育の機会を設けることも重要である。

近年、研究者における感染症に対する意識も向上しており、動物の管理も厳しくなってきたが、今回の事故はやはり日常の感染症予防管理の徹底が結局は研究者に大きな利益をもたらすことを示している。

遺伝子組換えマウスをめぐるドイツの状況

GSF国立研究センター 発生遺伝学研究所
グループリーダー

今井賢治 Kenji Imai

imai@gsf.de

<http://www.gsf.de/>



ドイツに暮すこと17年、実は大変に恥ずかしい話ですが、マウスを用いる仕事に自分自身どっぷりと漬かってきながら、この国ドイツにおいて実験動物としてのマウスの利用がどのような法律や規則でコントロールされているのか細かいことは知りませんでした。それで今回の執筆依頼を契機にその辺のところをハッキリさせようという努力を少しばかりしてみました。私が所属するGSF国立研究センター(ミュンヘン)にはドイツ、いやヨーロッパを代表するといっても過言ではないマウス施設があります。それを基盤として、個別研究のためのトランスジェニック施設はいうに及ばず、マウスにおけるENU-mutagenesisやgene-trapなどの大規模な国家プロジェクトが進行しています。また、EUMORPHIA (www.eumorphia.org)や EMMA (www.emmanet.org)などヨーロッパ・ワイドのプロジェクトの拠点にもなっています。したがって私の回りにはマウスの「専門家」が沢山いる訳で、さっそく遺伝子組換えマウスに関する法律や規則について聞いて回りました。するとなんと驚くべき事に、大半の人々は私と同程度の知識しかないことがわかりました。最近日本で組換え動物の扱いについていろいろな不祥事が発覚していると聞き及びますが、一般研究者の意識レベルは洋の東西を問わずあまり芳しくないということの表れなのでしょう。それでも中にはやはり詳しい人もいましたので、いろいろと確認させてもらったり、新たに教えてもらったりしました。そのうち特に印象的と思われたことを記します。

まず、遺伝子組換えマウスの利用に際しては2つの連邦法が重要です。第1に、実験動物としてのマウスという側面をTier-schutzgesetzという法律がカバーします。次に、遺伝子組換え生物ということでGentechnikgesetzというもうひとつの法律が適用になります。いずれの法律も実験動物あるいは遺伝子組換え生物一般について基本的な規則を定めたものでマウスに特化したものではありません。これらの法律は連邦法ですので全ドイツ的に効力を発揮しますが、面白いことに実際にマウスを用いる個々の研究プロジェクトを監督管理しているのは各州の下にある自治体のレベルなのです。ドイツでは地方自治体の持つ権限は特定分野では非常に強力です。したがって、中央、地方を問わず政権交代が頻繁に起こるドイツでは、基本法は共有しているが、その細目の解釈や運用(ガイドラインの作成)に関してはどの勢力が自治体の政権にあるかによって少なからぬ違いを生じるという、日本ではちょっと考えられないような事態が起こります。ミュンヘンはバイエルン州の州都でOberbayernという地域にあります。伝統的に保守勢力(CDU/CSU)の強いところ。最近GSFからベルリンに実験動物関係のチーフとして移った友人の話では、ミュンヘンでは簡単に通った話がベルリンでは非常に面倒ということが多々あるということです。具体例をひとつ挙げますと、Oberbayernでは、ES細胞からノックアウトなどの遺伝子組換えマウスを作成する場合、研究施設全体としてすでに認可があれば、個々のプロジェクトに関して認可を求める必要がありません。一般的に申請から認可まで3~6ヶ月

月にかかる事を考えるとこれは研究者にとって非常に便利です。しかしこれはOberbayernだけで許されていることなのだそうです。一般的に、SPD(社会民主党)や緑の党の勢力が強い自治体では、動物実験計画に関する審査が厳しく、最終的に許可が下りるとしても長い時間がかかるという傾向があるようです。緑の党をはじめとしてドイツでは動物保護団体等のロビ-勢力は中央/地方を問わず活発ですので、研究者としても何故マウスを使う実験が必要なのか様々なレベルにおいて説明を求められます。ちなみにイギリスなどと比較するとドイツでは直接行動に訴える活動家は少ないようです。

さて、ドイツも日本とほぼ同時期にカルタヘナ議定書を批准していますが、それが遺伝子組換えマウスの利用にどのような影響/変化をもたらすのか興味のあるところ。結論からいうと、このレポートの執筆時点(2005年8月)ではまだその直接の影響は表れていません。遺伝子組換え生物でも実験動物はカルタヘナ議定書の対象外という認識が研究者一般に強く、この先ルールが変わるのかどうかについても大半の人は楽観しているように見えます。しかし、Gentechnikgesetzは今年2月に改訂され、遺伝子組換えマウスの輸出入の許諾に関して新たな仕組みを導入しうる基盤は整えられていますので、連邦レベルでの管理の強化が日本と同じように行われる可能性があります。来る9月18日にドイツでも総選挙が行われますが、その結果も今後の成り行きに影響すると考えられます。

今回の執筆に当たり親切丁寧に解説してくれたDrs. Geert Michel, Michael Rosemann, Lutz Ruprechtの各氏に感謝します。

編集委員会より

今号の特集では、遺伝子組換えマウスをめぐる最近の動向について取り上げました。日本免疫学会は、純系マウスや遺伝子導入マウスを通して現代医学を牽引してきた輝かしい歴史を持ちます。また、多くの会員にとって今や、遺伝子改変マウスの作製や飼育そして分与は日常行為になっています。ゲノム情報の整備も進み、マウスを用いた遺伝子組換え実験の有用性は日々増すばかりです。しかし、昨年のカルタヘナ法制定や今月の動物輸入制度改正など「知らなかったではすまされない」関連法令の整備が次々と進められています。果たして皆さんの研究現場ではこれら新法令への対応は万全でしょうか。一方では、遺伝子組換えマウスをはじめ独自性や新規性の高いマウス系統を多用する研究者にとって、MHV感染事故は悪夢です。研究の長期中断と多額の予期せぬ出費を余儀なくされるのみならず、無知または無神経な同僚からのバッシングに閉口するケースもみられます。皆さんの施設では万一の事故に対応しうる危機管理体制はうまく整備されているでしょうか。今号の特集は、これらマウスをめぐる最近の動向について様々な観点から情報を提供すべく企画しました。会員諸氏が円滑に研究活動を進めていく一助になれば幸いです。

幹細胞研究の新たな スタートラインに立って

千葉大学大学院医学研究院先端応用医学講座細胞分子医学

岩間 厚志 Atsushi Iwama

aiwama@faculty.chiba-u.jp

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/molmed/index.html>



平成17年2月1日付けをもちまして、千葉大学大学院医学研究院先端応用医学講座細胞分子医学へと着任致しました。この紙面をお借りして皆様にご挨拶を申し上げます。思い起こせば、平野俊夫先生の主宰された特定領域研究班の「免疫シグナル伝達ニュース」に近況報告する機会をいただいてから2年になります。その時の原稿を読み返してみると、その当時自分が目指していた幹細胞研究の方向性に少しずつ向かっているように思えます。それが必然なのか偶然なのかはよくわかりませんが、今は先を考えず興味ある研究に邁進するのみです。

私は5年半に及ぶ血液内科の臨床の後に、当時自治医大血液内科の須田年生先生(現在、慶応大学医学部)が熊本大学の基礎の研究室に赴任されることになり、私も臨床を離れ基礎研究に従事することになりました。須田先生の専門は造血幹細胞であり、現在広く認知されている幹細胞生物学の草分けとして先駆的な研究をされておりました。それ以降、ハーバード大学への留学(Daniel G. Tenen教授)、筑波大学および東京大学医科学研究所(中内啓光教授)で一貫して造血および幹細胞の研究を進めて参りました。中内先生の研究室においては造血幹細胞からの血球分化の転写制御を精力的に研究し、この研究をもって「免疫シグナル班」にお世話になりました。この班では千葉大学の徳久剛史先生、中山俊憲先生、中島裕史先生とご一緒に、現在の私の千葉大学における研究を強力にサポートして下さいしております。中内研ではさらにクローナルな解析法を徹底的に学び、現在の私の研究の礎となっております。幹細胞の最大の特徴はその自己複製能にあります。自己複製能とは細胞分裂の際に自分と全く同じ細胞を複製する能力、すなわち自分のクローンを生み出す能力であります。これは、遺伝子配列はもちろんのこと、遺伝子配列以外のエピジェネティックな細胞情報、たとえば遺伝子のメチル化や遺伝子を取り巻くクロマチンの化学修飾などに規定されるクロマチン構造も娘細胞に伝えられるものです。現在はこの自己複製の分子基盤の解明に主眼をおき、幹細胞生物学の臨床応用に寄与できることを願って研究を行っております。

ところで、近年がんを始めとした腫瘍性増殖性疾患の多くで癌幹細胞システムの存在が明らかになりつつあります。いち早く急性骨髄性白血病について明らかにされたこの概念は、白血病を例にあげれば、白血病細胞の全てが自己複製能を持つわけではなく、そのごく一

部が白血球幹細胞として自己複製能と限られた分化能を有し、白血病細胞の中で正常造血に類似したヒエラルキーを形成するというものです。白血病の治療に携わったことのある私はこの概念に新鮮な驚きを感じ、白血病の見方が一新いたしました。このような流れの中で、正常幹細胞システムと癌幹細胞システムの研究は非常に近い領域となりつつあります。新しい教室においては、正常幹細胞システムの研究を通して再生医療の分野に貢献するとともに、癌幹細胞で機能する自己複製システムの解明を通して、がん治療研究の一翼を担えるよう地道な努力を重ねていく所存です。幸い、研究室も総勢11人がそろい、徐々に研究ができる環境が整いつつあります。免疫学のすばらしい歴史を有する千葉大学でこれからどのような研究ができるのか楽しみです。膨大な労力をつぎ込むに値する研究とは何かと考えると途方に暮れてしましますが、私の研究室でしか出来ない研究というものがあることを信じて進んでいきたいと思ひます。

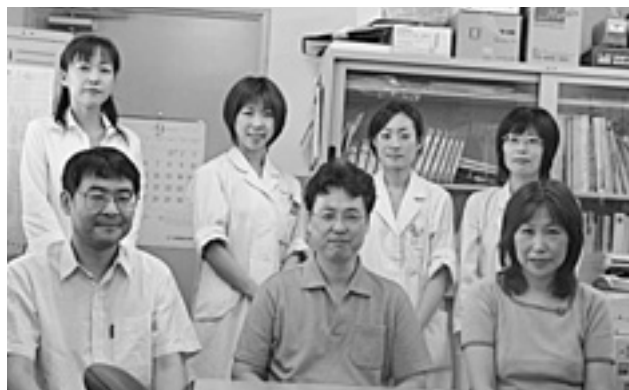
最後に、免疫学会の緒先生方には今後ともご理解・ご協力を賜りますようお願い申し上げます次第です。

跳躍のレッスン

関西医科大学肝臓研究所分子遺伝学部門

木梨達雄 Tatsuo Kinashi

kinashi@takii.kmu.ac.jp



本年4月に京都大学から関西医科大学肝臓研究所分子遺伝学部門に黒崎博先生の後任として着任いたしました。肝臓研究所という名称は多少奇異に感じられると思いますが、その名称にとらわれず、分子生物学を中心に据えてすばらしい業績を上げ、免疫学に貢献してきた部門です。私も微力ですが、少しでも成果を上げ、免疫学に貢献したいと気持ちを新たに頑張る所存ですので、この場をお借りして免疫学会の諸先生方のご支援、ご指導をお願い申し上げます。

私が取り組んできた分野は主にインテグリンによる細胞接着制御に関するものです。この分野に入ったのはリンパ球前駆細胞のin vitro系でストローマ細胞と前駆細胞との接着現象に興味を持ったのがきっかけでした。サイトカインから出発した研究なのですが、リンパ球前駆細胞がストローマ細胞に強く接着し、その下に潜り込んでいくのを観察したとき単純に感動し、サイトカインのような液性分子も重要だが、リンパ球の増殖、分化に接着制御も同じくらい大事なはずと考え、留学先にTim Springer教授の研究室を選びました。当時TCRなどの外部刺激によるインテグリン活性化シグナル、いわゆるinside-outシグナルが見つかったばかりで、そのメカニズムの解明が中心的なテーマの一つになっていたからです。その後、同様な現象がケモカ

新しい
研究室を
開くに
あたって

インでも見られ、リンパ球が刺激に応じて迅速に接着を変化させることが免疫系にとって重要な基本的な機能であることが認識されました。しかしその重要性にもかかわらず、そのメカニズムの解明は困難を極めました。最近に至ってインテグリン構造のダイナミックな変化が明らかになり、構造生物学的に飛躍的に進歩しましたが、調節機構に関してはなお多くの謎が残されています。反面、非常にやりがいのある分野でもあります。特に可視化技術の進歩のおかげで生体内でリンパ球や樹状細胞の動きを見ることが可能になり、改めてこの分野の魅力にとりつかれている状態です。リンパ球が血管内皮を通過する過程やリンパ節内で活発に動き回っている様子は“生の免疫現象”そのものを見ている感じです。さらに樹状細胞に出会ってからリンパ球はついたり離れたり、接着しながら動きまわったり、あるいはぴったりとくっついたりといった具合に、まるで恋人と楽しくダンスを踊っているようではありませんか。無粋ですが、そのような一つ一つの挙動の意味を免疫過程に位置づけ、分子の言葉で語るのが私の夢です。

東大医科研、京大と渡り歩いてRap1-RAPLといった分子たちに出会ってから少し夢に近づいた感があります。そもそもRap1というのは謎の多い低分子量G蛋白質で、野田亮先生がRasによるtransformationを阻害する分子として同定されたことから端を発して、実験系によってRasのアнтаゴニストとして働いたり、あるいは逆に増殖を促進する効果を持っていたりします。私はそれまでにinside-outシグナルとして同定したPI3キナーゼやPKC以外の、第3のinside-outシグナル分子を捜していたところ意外にもRap1に出くわしたわけです。この分子のおもしろいところはLFA-1やVLA-4の接着性を亢進させるだけでなく、細胞の形を変化させて活発な細胞移動を引き起こす点です。細胞の形に影響を与える点は、Rasによってtransformした線維芽細胞を伸展した形態に戻す作用を想起させます。Rap1の再発見によってinside-outシグナルの役割が細胞極性や動きとどのような関連を持つか再考を促されました。そしてRAPLを同定したことによって意外にもリンパ球や樹状細胞ではこれらは一つのエフェクター分子によって引き起こされているということが明らかになりました。さらにややこしいことにRAPLは細胞増殖にも抑制的に作用していることがRAPL欠損マウスの研究から得られてきています。加齢すると自己免疫や癌も発生してきます。一体Rap1-RAPLの調節のツボは何なのでしょう。ダンスは踊って楽しいだけでなくもっと大きい目的に添ってなされているようです。リンパ球の接着、移動、増殖を包括するような新たなパラダイムが必要な気がしてなりません。ハードルは高く、跳躍のレッスンは厳しいですが、日夜考え、研究することは研究者冥利につきます。

日本一居心地のいい教室を目指します

千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学

中島 裕史 Hiroshi Nakajima

nakajimh@faculty.chiba-u.jp
www.m.chiba-u.jp/class/gene/

不要品の撤去と大掃除から始まった研究室のセットアップもなんとか一段落し、徐々に研究のペースを取り戻しつつあります。初めて廃墟と見まごう研究室を見たときは、正直、少しびっくりしました。床はぬけかけ、壁からは雨漏り、機器室には不要

品の山。学生時代の下宿を思い出しました。その研究室も、おかげさまで今では、医学部本館で一番綺麗な研究室に生まれ変わりました。予算の関係で、出来る限り自分で改修作業を行ったため、引退後は、大工兼掃除屋として生きていく自信もつきました。

その廃墟の、いや研究室の掃除の際に不要品の山の中から大阪万博の記念銀貨を見つけました。奇しくも愛知万博が開かれる今年、再び日の目をみたこの銀貨。さぞかし値打ちがあるだろうとドキドキしながらその価値を調べた所、なんとたったの1500円。しかし、偉大な前任者のおき土産であるこの銀貨は、研究室の宝として、北野天満宮のお札とともに私の部屋に飾られています。どうかご利益がありますように!!

さて、本題の研究室紹介ですが、まだ始まったばかりで紹介する研究成果もありませんので、私が今後どのようなことを目指しているのかを紹介させて頂き、研究室紹介とさせて頂きたいと思っています。私は、1988年に宮崎医科大学(現宮崎大学医学部)を卒業し、喘息や膠原病などの難治性免疫疾患を学ぶため、千葉大学第二内科に入局しました。そして初期研修の後、専門的な診療と臨床免疫学に関する基礎研究を行うために、第二内科免疫アレルギー研究室に属し、臨床研究と基礎研究の両立を目指すスタンスで、これまで研究を続けてきました。免疫アレルギー研究室に代々引き継がれるこのスタンスは、私自身、臨床免疫学にとって非常に重要であると考えています。そしてこの免疫アレルギー研究室のスタンスが評価され、それが遺伝子制御学の目指すべき方向性と一致するという理由で、今回、私が遺伝子制御学を担当させて頂くことになったと考えています。これから、これまでのスタンスを変えることなく、臨床免疫学の発展を目指して、臨床的視点に立った研究を行っていきたいと思います。具体的な研究内容に関しては、初志貫徹し、まずは喘息をはじめとするアレルギー性疾患や自己免疫疾患などの難治性免疫疾患の克服を目指したいと思っています。これまで以上に難治性免疫疾患の診療に携わる診療科の先生との連携を密にし、また、千葉大学には、基礎免疫学の伝統がありますので、基礎免疫研究に携わる先生とも協力しながら、相補的に、そして相乗的に臨床免疫研究の発展に貢献していきたいと思います。さらに将来的には、これまでの基礎臨床双方での経験を生かし、トランスレーショナルな研究の発展に貢献していきたいと思います。

そして、この目標を達成するには、志を同じくする多くの若手研究者を育てていくことが必須です。私自身がいつまでも難治性免疫疾患克服に対する熱い思いを持ち続け、強いリーダーシップを発揮することにより、熱意のある研究者を育てていきたいと思います。そして、彼らと難治性免疫疾患克服という夢を共有し、互いに刺激し合える、それでいて非常に居心地の良い研究室を作っていきたいと思っています。臨床免疫学に興味があり、やる気のある方の当教室への参加を歓迎します。老若男女問いません。中島までご連絡ください。随時、説明会(飲み会)を開催致します。宜しくお願い致します。



遺伝子制御学とアレルギー・膠原病内科の合同カンファにて

Regulation of Immune Diversity and Surveillanceを振り返って

京都大学大学院医学研究科
免疫ゲノム学/21世紀COEプログラム

村松正道 Masamichi Muramatsu

<http://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/>
<http://bisei15.mb.med.kyoto-u.ac.jp/med-coe/index.html>
muramatsu@mfour.med.kyoto-u.ac.jp

今年のまだ桜も咲きやらず3月中旬に、京都大学医学研究科敷地内にある芝蘭会館稲盛・山内ホールにて、Regulation of Immune Diversity and Surveillanceと題した国際シンポジウムが行なわれました。その運営企画のお手伝いをする機会を得ましたので、遅ればせながら今回のJSIニュースレターに報告させていただきます。

主催者は、文科省特定領域(免疫監視の基盤とその制御・維持、代表渡邊武先生)と<免疫多様性獲得機構とその制御>シンポジウム準備委員会(代表:本庶佑先生)の2つのグループで、シンポジウムを合同で企画運営した形となりました。3月11日には、同じ場所で特定領域(免疫監視)の班会議がおこなわれ、免疫監視の班会議に参加した諸先生方にとっては、3日間の日程となりました。

1日目は、免疫監視の代表である渡邊武先生のユーモアに富むopening remarkから始まり、午前中はSpatio-temporal regulation of immune responseと名うって木梨達夫先生、高濱洋介先生、松島綱治先生、M. Lipp先生、渡邊武先生が話されました。中でも木梨先生のRAPL欠損マウスの2次リンパ組織へのリンパ球ホーミングの欠損は、私にとって印象的でlymphocyte traffickingにおけるインテグリンの重要性を再認識しました。

午後からのImmunological Memoryのセッションは、T細胞の免疫記憶についてD. Gray先生、S. Swain先生、B. Rocha先生、徳久剛史先生が、B細胞の免疫記憶については竹森利忠先生が発表しました。

1日目最後のセッションは、Immunological surveillance against malignancy and viral infectionで、R. Schreiber先生、H. Hengartner先生、湊長博先生、谷口維紹先生が発表されましたが、谷口先生のIRF familyの包括的な話と、ウイルス感染時における1型IFN inductionにはIRF7が重要であるという内容は、分野の違う私でも容易に理解できるインパクトのある発表でした。

2日目は、免疫の多様性がどのように形成され制御されるかに焦点が絞られ、午前中は、竹田潔先生、S. Fagarasan先生、D. Littman先生、武田俊一先生、五十嵐和彦先生、M. Cooper先生が発表され、午



後からは、主に抗体遺伝子座の多様性創出メカニズムについて、K. Rajewsky先生、M. Nussenzweig先生、A. Durandy先生、F. Alt先生、F. Melchers先生、本庶佑先生が発表されました。私にとっての2日目の目玉は、F. Alt教授のRPA32の話とそれに対する質疑応答でした。F. Alt教授によると、AIDはB細胞特異的にリン酸化を受け、RPA32はリン酸化型AIDに結合し、AID/RPA 複合体がDNAにC から U への変異をいれようと主張しましたが、聴衆から AIDをリン酸化しないとされる繊維芽細胞でもスイッチやsomatic hypermutationが見る事ができるという反論がありました。

Closing remarkは、国際シンポジウムらしくF. Alt教授が行ないました。3月に本庶先生が京都大学を退官される事もあるが、Alt 教授は、クラススイッチ研究領域での20年来のライバルである本庶教授がいかなる人物であったかを、若かりし頃の本庶先生とAlt教授の写真も交えて説明し、シンポジウムは最高潮を迎え閉会しました。閉会と同時に本庶先生へのstanding ovationが自然とおこり、ひと味違った終わり方は非常に印象的でした。

海外向けにも事前に積極的に宣伝をしたお陰か、国内で行なわれるシンポジウムでは考えられないくらいの海外からの参加者がありました。また会場でのディスカッションのレベルも高く、シンポジウムは成功裡に終わったと思います。

世界のトップクラスの研究者が多数講演するシンポジウムは、海外の学会に出席する機会の少ない大学院生にとっては、非常に刺激になります。去る3月の合同シンポもそのような機会になっていれば幸いです。また、今回は時間的制約のため不可能でしたが、ポスターセッションも行なって大学院生にトップクラスの研究者と直接ディスカッションする機会が作れたらよかったと思いました。



桜の京に集う: Kyoto 2005 雑記

理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合
研究センター
免疫発生研究チーム チームリーダー

河本 宏 Hiroshi Kawamoto

KTCC(京都T細胞会議)は1992年から年1回のdomesticな胸腺/T細胞研究会として始まったが、3-4年に1度くらいinternationalな会として開催され、今回で4回目である。前号の高浜先生の記事にあるように、類似の研究会として、欧州のRolduc会議、豪州のThymOz、北米のThymUsがあるが、高浜先生のおかげで、4つの会で4年に一度ということでもわかっていくことになり、今回はその決め後初の会ということになる。

今回はJSPSの拠点形成事業の一つとして高浜先生が長を務めているThymus Organogenesisの催すワークショップと、坂口志文先生率いる特定領域研究班主催のImmune Tolerance and Regulationというシンポジウムと合同で京大医学部芝蘭会館にて開催され、ひっそりめでKyoto 2005と冠された。初日の夕方の講演を入れると計5日に亘った。発足時のKTCCは「胸腺とT細胞分化」が主題だったらしいが、昨今の国内KTCCでは「胸腺学」は減少傾向にあったと思う。一方で、欧米では胸腺屋さんの研究者が依然として多く、最近でもRolducやThymOzではこの分野の比重が比較的大きい。今回はThymus Organogenesisと合同したおかげでKTCCの原点に戻ったような感があるといえよう。

この数年の胸腺についてのトピックスの中に、胸腺上皮細胞は内胚葉起源で、外胚葉成分は貢献しないという話がある。鳥類ではいわれていたので、ほ乳類でもそうだったという話ではあるが、多くの教科書の図を書き換えなくてはならない。今回もその流れの発表に物



言いもつかず、OKということらしい。ちょっと驚いたのは、われわれがよく使っているマウスのストレインでもその数十%には気管の周辺とかに異所性の胸腺があるという話。ある先生は、ではthymectomy実験とかのデータはどうなるというかと不思議がっていた。何にせよまる1日以上こてこての胸腺の話に浸れるのは、なかなかRolducやThymOzでもないことだ。大変良い会だったと思う。

この日、丸山公園で花見した後には、祇園ですきやき食べ放題自費ツアーという企画を担当していた。参加予定者に地図を配布した後、夕方頃に50人分の予約確認をしたところ、「しばらく連絡がなかったんでキャンセルになってます。電話もつながりませんでしたから。今からは無理ですね」と言われた。そういえば携帯の番号しか教えてなかったし、その携帯を横浜に忘れてきていた。血の気がひいて、これは雲隠れしかないと考えたが、よく聞くと店自体はまだスペースがあって、その分の肉を仕入れてないのが問題だとわかり、間に合わせるように懇願して何とかになった。教訓は、「予約確認はまめに」。

3日目後半あたりから5日目までが国際KTCCの部であった。今回何故か「胸腺に入る細胞は何か」という話題が多く、胎生期、成獣期ともに数題ずつあった。胎生期については、われわれがデータを重ねてきた「T系列への決定は胸腺移行前」という説を、この分野の老舗ラボであるBirmingham大学のグループが追認したような話があった。ほっとした反面、警戒レベルを上げる必要がでてきた。ひとが違ふことを言ってる間の方がむしろ安心だということだ。一方、成獣期については議論が分かれた。争点は多能前駆細胞がB細胞への分化能をいつ失うかということだ。成獣胸腺ではB細胞をつくれるような細胞の頻度は大変低いが、殆どないから重要でない、いやそういう細胞こそが移住細胞だ、と見解が分かれていて、実際に成獣ではそういう細胞が胸腺移住細胞の主流派か少数派が見極めるのは今

のところ困難である。

Runxの話題もひとつのセッションになるくらい賑やかで、その中にRunxがキラーT細胞系列への決定を誘導するという提唱があった。分化に関する研究につきまとう問題は、ある因子が分化の方向性を決めているのか、方向性が決まったあとの生存/増殖を支持しているのかという区別が難しいことである。Runxの働きについても、議論を重ねて慎重に解釈するべきであろう。FACS機器の考案者であるHerzenberg夫妻の夫人の方の講演の後半は自分達のつくったFACSラボ管理総合ソフトのセールストークだった。普通なら「そんなのあり？」となるが、そうならないのが流石である。仲のよい夫婦は風貌(体型?)が似るという例でもあった。

Kyoto2005は桜の開花時期にぴたっと合った上、会期中好天が続いた。KTCCのHPからKyoto2005に入ると桜の下で撮った集合写真(左下)が見られる(✓)。桜の花が和ませてくれているのか、参加者が皆とてもいい顔をしているように思える。

RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2005

理化学研究所
免疫・アレルギー科学総合研究センター
免疫恒常性研究ユニット

堀 昌平 Shohei Hori

shohei@rcai.riken.jp

日本免疫学会と理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター(RCAI)の合同シンポジウム"Mechanisms of Immune Responses in Health and Diseases"が2005年6月17日-19日の3日間、パシフィコ横浜で行われた。この合同シンポジウムは本邦初の免疫学研究所であるRCAIの開所を記念して毎年6月に行われるものであり、今年が第1回目である。講演者には国内外からそれぞれ16名の世界をリードする著名な研究者が招かれ、全体で523名の参加者(うちRCAIからは151名)を得て金曜日～日曜日という

スケジュールにも関わらず連日朝早くから講演・討論が活発に行われた。

シンポジウムは、

- 1) Recognition in the immune system
- 2) Development of the immune system
- 3) Immune diseases and immunomodulation
- 4) Regulation and homeostasis of immune responses
- 5) Triangular immunological interaction of the host, pathogen, and tumor

という5つのセッションに分けられ、自然免疫系・獲得免疫系における認識とシグナル伝達、抗体多様性の生成機序といった極めて洗練された分子レベルでの解析から、いわゆる「ホメオスタティック」増殖と自己免疫疾患との関連、自己反応性B細胞の選択、免疫記憶細胞の生成・維持、免疫制御性T細胞群による免疫制御といった細胞・個体レベルでの解析など、様々なテーマが取り上げられた。これらはおそらく現在の免疫学の主要なテーマをほぼカバーしており、その意味で現在の免疫学の動向と展望を俯瞰すると言う点で素晴らしいミーティングであったと思う。

紙面の都合上、ここでは講演のなかから幾つか特に筆者の印象に残った話題を取り上げよう。免疫系における認識という観点からは、Mark DavisらによるTCR認識の「pseudodimerモデル」に関する最新の知見が特に興味深かった。彼らは、TCR分子がペプチド・MHC複合体を認識するとき、特異的ペプチド・MHC複合体とそれとは別個の内在性自己ペプチドMHC複合体との「pseudodimer」を同時に認識する必要があり、このヘテロ二量体の形成はCD4分子によって安定化されるという「pseudodimerモデル」を明確に証明した。この知見は、TCRによるペプチド・MHC複合体の認識様式を明らかにしたのみならず、胸腺においてTCRがなぜ自己反応性に基いた正の選択を受ける必要があるのかという問題に対して新たな

考えを提起した点で非常に画期的であると感じた。

自己免疫寛容、自己免疫疾患に関連した講演は多かったが、なかでも平野俊夫らによるgp130にY759F点変異を導入したノックインマウスに自然発症する関節炎モデルの解析が、その論理展



開の説得力により特に印象に残った。彼らは、関節炎の発症にはCD4 T細胞が必要であるにも関わらず、この変異が血球系細胞ではなく非血球系細胞に存在することが必須であることを骨髓キメラ実験により明確に示した。そして、CD4 T細胞の産生するIL-6が非血球系ホスト細胞のIL-7産生を促し、このIL-7が逆にT細胞のホメオスタティック増殖を促進することで関節炎発症に至るというポジティブフィードバックループの存在と役割を示した。このモデルにおけるCD4 T細胞の抗原特異性の問題、なぜ関節炎なのかという標的臓器特異性の問題や、このような図式がヒトを含めた他の自己免疫疾患にどこまで一般化できるのかという問題など、今後の展開が楽しみであると感じた。

ホメオスタティック増殖と自己免疫という観点では、Nora Sarvetnickらによる発表もあった。彼女らは、NODマウスがlymphopenicでありT細胞のホメオスタティック増殖が促進される状況にあること、そしてIdd3上にコードされるIL-21がその増殖を促していること、しかしIL-21はT細胞の生存は促さないことを示した。このことは、NODマウスにおいては活性化・メモリーT細胞ニッチが不安定化しており、このために活性化・メモリーニッチへの新たな自己反応性T細胞の動員が触媒されて脾臓破壊に至るというストーリーを示唆している。しかしながら、このストーリー自体は大変興味深いものではあるが、私にはIL-21-lymphopenia-自己免疫というリンクは単なる平行現象以上には見えなかったし、このリンクが自己免疫の原因であるのか単なる結果にすぎないのか、説得力に欠けていたように思う。

免疫記憶に関連した演題も多かったが、Michael Bevanらによる研究が問題設定の明快さと実験デザインの美しさにおいて抜き出ていた。彼らは、CD4 T細胞によるヘルプがCD8メモリーT細胞のプログラミングではなく生存・維持のフェーズに働いていること、さらにIL-2が、エフェクターの増殖・分化ではなく、メモリーT細胞の生存・維持に必須であることを明快に示した。

以上、極めてバイアスのかかったかたちではあるが幾つかのトピックスについて簡単にミーティングを振り返った。いまや免疫学という一分野においてすら、日々我々が研究しているそれぞれの専門領域の外でいま何が問題となりどこまで明らかになっているのかということをしきりと把握することが困難な時代である。この意味でもこのミーティングは格好の機会であったし、新たなアイデアを触発する場であったと思う。

Meeting Reports

海外だより

オリジナルライフワークを求めて

栄川 健 Takeshi Egawa

egawa@saturn.med.nyu.edu
Skirball Institute of Biomolecular Medicine,
New York University School of Medicine
<http://saturn.med.nyu.edu/research/mp/littmanlab/>



Dan LittmanのラボでCD4遺伝子の転写制御、T細胞の系列決定に関する研究に従事しています。今回、高浜先生から海外便り執筆のお話を頂き大変光栄に思っております。ラボ、研究内容の紹介という選択肢もあったのですが、せっかくの機会に何かもう少し+alphaがないかと考えた結果、このタイトルで何かのメッセージを発信できればと思いました。まだまだ多くの将来の選択肢がある大学院生やポスドクになって間もない若い人たちの頭の片隅においていただければ幸いです。

かなり前になりますが、大学の卒業式で当時学部長をなさっていた濱岡利之先生から"基礎、臨床を問わず将来満足いく成果が残せるかどうかはこれからの10年間に何ができるかに大きくかかっている"という言葉頂いたことを覚えています。当時は10年という期間がどの程度のものかという実感もなく、自分がどの道に進むかもクリアなビジョンがないままあまり真剣に受け止めていなかったと思います。3年間の臨床研修のあと、Basic Scienceに足を踏み入れ2、3年経った頃にこの言葉の重みを再認識するようになりました。それ以来

これを機会に考えてみました

順天堂大学医学部免疫学講座

竹田和由 Kazuyoshi Takeda

Kazu.Takeda@petermac.org
Cancer Immunology Program, Peter MacCallum Cancer Centre
East Melbourne, Australia
<http://www.petermac.org/>
<http://www.pmc.unimelb.edu.au/>

海外便りの執筆依頼を頂いた時は、正直言って驚きました。同じ研究室では、早川芳弘先生が多くの優れた論文を著名な雑誌に出しておりますし、この企画に相応しい優秀な研究者が数多く海外で活躍しておりますから、できれば、隠れるようにして日本を出て来て、出張扱いの私などは、そっとしておいて頂きたかった。

これまでに海外便りを書かれた多くの先生方とは異なり、私は順天堂大学医学部免疫学講座に籍を置いたまま(狭いラボなので席が残っているかは分かりませんが)、ここオーストラリアはメルボルンのPeter MacCallum Cancer Centre(英国式綴り)に、visiting research fellow(書面的にはinvited associate professor)として、共同研究に来ております。従って、ポスドクとして留学されている、志の高い、多くのまじめな若手研究者の方々からすれば、お気楽な外遊なのかもしれません。しかし、自分自身のアイデアで、決まった期間で確実に結果を出す事が求められるという点では、それ程お気楽でもないことを是非とも御理解下さい。

Peter MacCallum Cancer Centreは、早い話が癌病院の中にある研究施設で、Cellular and Molecular Biology, Stem Cell, Cancer Genomics and GeneticsとCancer Immunologyの4つのdivisionがあります。そのCancer Immunology Programの中に、Cancer Cell Death, Gene Regulation、

どうすれば価値ある10年を過ごすことができるかという答を自分なりに模索してきました。今となってもその言葉を追いかけている毎日を送っています。

その中で(卒業から10年はたちましたので都合良く大学院に入ってから10年と解釈)答は自分のOriginalityをつくることであると思うようになりました。これは岸本忠三先生がよくおっしゃっていた"visibleになれ"ということとも通じると思います。一概に10年といっても人様々な過ごし方があると思います。論文を人より多く出すことも一つでしょうし、大学院を終えたあとと同じラボにポスト、スタッフとして在籍し"継続"ということテーマとして仕事に没頭するののも一つであろうと思います。私の場合、幸いにして大学院では興味深い分野に携わることができました。ただ、それが自分のOriginalityに直接つながっていくかという点では満足できるものではありませんでした。大学院というのは自分で探し出すよりも与えられる要素が多いと思っていたからです。そのままその研究室に残るという選択肢もありました。発展する可能性のあるやりかけの仕事もあったので短期的には良い選択だったのかも知れません。しかし、Originalityという観点でみた場合にその選択には満足できず、新しい分野に知見を広げべくアメリカという異なった環境、異なった研究分野に身を移すことを選択しました。

アメリカでは大学院、ポストの両方を一つのラボで過ごすことはきわめて稀です。学生、ポスト側にとっては違った環境でさらに広い分野を経験することが重視されている、ポスト側からみた場合に新しい人材を採用してラボの人の動きに適度な流動性を保つことが長期的にみた際のメリットであるということが理由だと思っています。この活発な人の動きはアメリカのサイエンスを支えている強みでもあると思います。ラボにポストとして入った場合、大きなテーマはボスとの

ディスカッションで決めますが、その中でいかに考え工夫し自分らしさを出していくかが大きく問われます。そして独立するまでの過程でOriginalityを見出したものがPIとして文字通り自分のラボを持つことができ、出せないと結局はボスの影からは離れることはできません。これは決して甘いものではありませんが、私が求めていた答そのものでした。ボス、そして多くの同世代の研究者とこういった価値観を共有できる環境に身を置くことができていることは幸運なことだと思います。環境がそろった今、あと数年のうちにOriginalityとその延長線上のライフワークの礎を築くことができるかは私次第ということなのです。

最近では日本でもポスト制度が充実し海外に出る人が減少していると感じます。ラボ探し、帰国する際の就職問題、言葉・文化の問題などいろいろな困難はありますが、若いうちに様々な環境を経験し広い分野で自分のバックグラウンドを築くことはその困難とは比較にならないくらい大切なことだと思います。アメリカというのは私のとった一選択です。それ以外にも国内/国外を問わずいろいろな方法があると思います。若い人たちは是非、積極的にチャンスを模索して、思い切って自分自身のOriginalityの選択の幅を広げていてもらいたいと思いますし、そういうことを意識する人が増えることが日本のサイエンス界の幅、厚みにつながっていくと思います。

<略歴>

1994年大阪大学医学部卒業。
同第三内科、大阪府立成人病センター血液内科にて3年間の臨床研修ののち、97年大阪大学大学院医学研究科内科学第三講座入学(岸本忠三教授)。
大学院在学中は第三内科小守壽文グループを経て
98年より大阪府立母子保健センター免疫部門(長澤丘司部長)にて研究に従事。
2002年医学博士。2002年より現所属。

Immune Signaling、そして、私をここに誘ってくれたMark J. SmythのCellular Immunologyの4つのラボがあり、この4つのラボのかなり人数が、広い2階(日本では3階)の部屋で研究に従事しています。

Markとは、NK細胞やNKT細胞の癌細胞認識および殺傷の機構、これらによる腫瘍サーベイランス機構の治療への応用、癌細胞の免疫学的監視からのエスケープ機構やゴルフ等、興味のある分野がかなり重なるため、ここ数年、共同研究をしてきました(実は、最大のcompetitorなのかもしれません)。ここには、それらの目的に適した多くのノックアウトマウスがいるので、それを使って腫瘍拒絶に重要な分子を探して行こうというわけです。Markはこの分野で世界的に有名で、今は、他のラボやdivisionと共に癌細胞学に基づく新たな腫瘍免疫療法を探索しています。最近、我々の共同研究も、移植性腫瘍のみならず化学発癌によりestablishされた癌をも、免疫療法で拒絶可能なところまで辿り着きました(自己宣伝)。しかし、それでも100%のマウスを癌から救うには至らず、癌の手強さを再認識させられております。ここにきて驚いたのは、研究に従事している多くが女性であることです。1990年代初頭にLos Angelesに留学した頃とは、まさに隔世の感がします。もっとも、当時は著名なreviewerから、NK1.1+TCR+ の細胞など、この世には存在しないと言われ、変人扱いされた時代でしたから、世の中が変わってしまうのは当然です。

JSI Newsletterの諸先生の記事を読むにつけ、日頃、研究のあり方を真摯に考察することも無く(dataの解釈は真面目にやっております、念のため)ここまで来てしまった身を反省しておりましたので、この機会をもってここに懺悔します。しかしながら、その様な、あまり考えないというあり方も認めて頂きたいと思う次第であります(この「あまり」に個人差があるのが難しい)。実験は良く考えて行わなければなりません。しかし、実験の集合体である研究の方向性、さらにはその研究により体系付けられる研究者としての

方向性は、どれだけ準備周到のつもりでも、初めに意図した通りには行かないことが多いのではないのでしょうか。さらには、NKT細胞



の存在が今では常識となっている様に、それを受け入れる世の中も、10年足らずで大きく変わってしまいます。その意外性を楽しみ、研究とは驚くような事が起きてナンボ、という世界でもあると思うのです。強い意志と意図が成功へと導くことが、多々あることも知っております。しかし、Tiger Woodsのバッティングでさえ、本当にカップインするかどうかは、本人に分かっているはずがありません。ましてや、tee shotの前に、そのホールを幾つで上げられるかなど分かるはずもない。意図した通りにバーディーを取るのも凄いです。思わずガッツポーズが出る様な、驚くようなチップインバーディーの方が、見ている側にも、もしかすると本人にも、もっと楽しい事なのかもしれません(ゴルフを知らない方には分かりにくくて、申し訳ありません)。

最後に、「これのどこが海外便りなのか?」という質問はしないという暗黙の了解、もしくは前半にラボ紹介がある、ということで、この拙い文章を御容赦下さいませお願い致します。オーストラリアにいたことさえ1年前には想像できず、この文章ですら思った通りには書き進められなかったのですから、これから先の私の「でたとこ勝負」の研究生活は、果たしてどうなる事やら……。この様な私の研究の支えは、人との出会いであると感謝しております。皆様方には今後とも、御指導御鞭撻の程よろしくお願い申し上げます。

"M-ology" ことはじめ

連載 No.4
免疫学ことはじめ

京都大学名誉教授〔理学部動物学教室〕
日本免疫学会名誉会員

村松 繁 Shigeru Muramatsu

smuram@pc5.so-net.ne.jp



1954年、米国はビキニ環礁で水爆実験を行った。現地人はもとより、日本のマグロ漁船・第五福竜丸と乗組員は大量の「死の灰」を浴びる大被害をうけた。日本ではこの大事件に敏感に反応し、その一つの表れとして文部省は、京大・阪大・東大の理学部に、1959年から数年おきに順次「放射線生物学講座」を新設することを決定した。当時私は細胞遺伝学研究室の大学院生であったが、1960年初頭から4人の教官の末席として、助手に採用された。なおこの三

大学の医学部に「放射能基礎医学講座」が置かれたのは、1965年以降であったと記憶している。

就職できたのはうれしかったが、放射線生物学とはいかなるものか、まったく無知だったので、教授・助教授の下働きからでも始めようと、高をくくっていたら、豈はからんや、お二人とも些細な問題点以外にはテーマ

らしきものの手持ちがないという有り様で、振り返れば無責任体制から、研究室はスタートしたということになる。必然的に私は誰からの指図もなく、誰からの教えもないという状態に置かれた。元来、人から指図されたり、物事をあれこれ教えてもらうのをあまり好まない私にとって、この状態は精神衛生には悪くなかったが、研究課題が定まらないのには、弱り果てた。このままでは駄目というのは明白なので、その方面でボチボチ出てくる論文や、シンポジウム記録のサーベイから研究活動を開始した。

そこで私の目にたまたままとまった論文では、かなりクリーンな環境下での実験用小動物への500~600R（現在の単位では5~6Gy）のいわゆる重致死線量（約半数が1月以内に死亡）の全身照射に続くwasting syndromeは、血小板と白血球の激減による全身的内出血と病原体感染の激増が主原因であり、それが同系骨髄移植によって救われることが述べられていて、強い感動と共に私の気持ちを惹きつけた。内出血はさておき、感染激増ということは免疫力激減ということである。それが骨髄移植で救われるとは！迷妄な青年（私のこと）には新鮮

な驚きであり、これで放射線免疫学という私のテーマは決定した。

研究室の初期設定の後に研究を開始するまでには、それから少し期間を要したが、その間には、パーネットとメダワのノーベル賞があり、また発生学の岡田節人氏が英国留学から教室に帰ってこられ、欧米での免疫生物学と血清学技術の現状について連続講義をなさったのを聴講し、素人ながらあらかじめ免疫生物学観が作られていった。その頃、生物物理学の将来性に強い関心をもっておられた湯川秀樹氏の招きで、放射線細胞生物学の第一人者であるMakinodan博士（前号の佐渡敏彦氏の記事を参照されたい）が京都へ来られて、免

疫細胞数と抗体産生力、免疫の放射線障害と免疫細胞数の低下とが見事に相関することを証明した研究を披瀝された。さて私は生物学者であるが医学者ではない。だから生物界全体のことに頭がすぐにまわる。その結果、脊椎動物におそらく固有の特異的免疫よりも、全動物に普遍的な免疫細胞であるマ

私は
生物学者であるが医学者ではない。
だから生物界全体のことに
頭がすぐにまわる。

その結果、全動物に普遍的な免疫細胞である
マクロファージに著しく愛着を覚え、
M-ologyなる呼称を新作し…

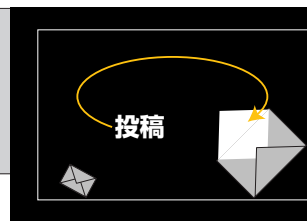
クロファージに著しく愛着を覚え、M-ologyなる呼称を新作し、放射線免疫学も実質的にはM-ologyから出発した。とはいえ、免疫学に魅惑されすぎて、放射線生物学から徐々に離れていってしまったことには、多少は忸怩たる感を禁じ得ない。その後、M-ologyは免疫学というまでもなく、発生学や老化学にも重要な位置を占めていることが次々と明らかになり、今日に至っている。特異的免疫学の進歩は、Jenner博士やPasteur博士への、M-ologyの進歩はMetchnikoff博士への、なよりの恩返しといえるのではなからうか。

Addendum:

In the beginning was the macrophage
The macrophage was with the stem cell
Rather, the macrophage was the stem cell itself

付記：高浜編集委員長からは「学会ことはじめ」と「M-ology ことはじめ」について書いてほしいと依頼されたが、前者についてはこのニュースレター創刊号に私が記述済みであるのと、学会HPの「学会の歴史」欄に宮坂HP委員長が書いておられるので、スペースも勘案して今回は割愛した。また、私が定年を機にすべての学会役職を辞したときに、「25年を振り返って」という記事の本誌(Vol.4 No.1 Page 5)に寄稿した。すべてHPで読めるので、ご覧戴ければ幸甚である。

IFN発見から半世紀: もう一つのIFN発見



財)ルイ・パストゥール医学研究センター

宇野賀津子 Kazuko Uno

http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cem_dcb/pages/JSICR.html

IFNは今や単なる抗ウイルス剤としてだけでなく、自然免疫のみならず獲得免疫の活性化に重要な役割を果たしていることが明らかとなって、その重要性に対する認識は益々高まっている。IFNの発見に関しては、Isaacs & Lindenmann の "Virus interference. I. The interferon." (1957) が最初の報告であると思っておられる方が多いと思われるが、これより数年以前に彼らはまったく別に、IFNに迫っていた日本のもう一つのグループがあることをご存じない方も多いので紹介したい。

Isaacs & Lindenmannの報告からさかのぼること、3年前、東京大学伝染病研究所で長野・小島等は、ワクシニア・ウイルスを用いてよりよいワクチンの開発を進めていた。ウサギの背中に30個の柵目を区切り、各柵目に不活化ウイルスや上清を接種し、時間をおいて同じ場所に生ウイルスを注射、1週間後にウイルスによる発痘 (pock) の出現の有無を観察するという実験である。例えば先に接種した液中に中和抗体やウイルス抑制物質が存在すれば、続いて投与したウイルスの発痘の阻止が観察される。Isaacs & Lindenmannの実験系と比較すると遙かに複雑ではあるが、ウサギの背中をMulti plateに見立てたin vivo実験と考えれば、中々効率のよい実験系であった。彼らは当時日本に導入されたばかりの超遠心機を使って、ウイルス粒子と遠心上清とを分離し、そのいずれにどのような活性があるかを調べた。1954年に微生物学会誌に発表された論文では、ウイルス感染5日目の皮膚から調製したウイルス標品の遠心上清に、UV照射耐性の、ウイルス抑制因子が含まれることを明らかにしている。しかしながら、遠心上清に精製ウイルスでは抗体産生を惹起しないごく僅か (10⁴単位/0.2ml) のウイルス粒子しか残っていないにもかかわらず、遠心上清をマウスに免疫すると中和抗体を産生せしめたと書いている。この結果が彼等の論文の歯切れを悪くしている。これは近年の知識に照らして考えれば、ごく僅かのウイルス粒子でも、IFN等のサイトカインがAdjuvantとして働き、抗体産生能をあげることはよく知られているので、逆にこれらの観察は、IFN等のサイトカインの免疫増強能の萌芽的記述とみることもできる。

日本では、長野・小島のこの論文をIFNの発見と評価している人がいる一方、論文のタイトルと、考察のあいまいさ故に、この論文をもってIFNの発見というには不十分であると指摘する人もいます。

さらに長野等は1958年に二つの論文を出している。特に後者の論文は長野・小島がIFNをとらえた報告と評価されている。この論文で長野等は、超遠心を3回繰り返し、上清にウイルス抑制活性があること、この活性の出現は中和抗体の出現とは全く異なっていること、ウサギ皮膚の系で、遠心上清あるいは中和抗体を注入後様々な間隔でウサギにウイルスを投与すると、前者の抑制活性は24時間後が最大であったのに対し、後者は同じ日が最も効果的であったので、遠心上清に含まれる因子は中和

抗体ではないと結論づけている。さらにワクシニア・ウイルスを感染させたニワトリ漿尿膜粉砕物の上清ではウイルス阻害活性はなく、UV照射抵抗性であり、Seitz濾過器を通過すること (ワクシニアウイルスは通過しない)、セロファン膜で透析されないことなど、現在のIFNの知識に照らして全く問題のない報告となっている。小島に確認したところでは、長野は1957年夏頃、米国に留学中の方からIsaacs & Lindenmannの仕事について聞かれ、それまでの仕事を急ぎまとめた様子が伺える。そういった意味では、1954年来の研究データの積み重ねで、少し自信の持てなかった部分が、Isaacs & Lindenmannの仕事に耳にして、多くの疑問点が整理され、まとめられたと考えるのが妥当かもしれない。

日本において何故長野・小島の業績がinternationalになり得なかったかの議論の際に、彼らの論文がフランス語で書かれていた事を指摘する研究者も多い。私はそれだけではないと考える。実際、長野研究室の英文の論文が主体となるのは1968以降であり、仏留学経験のある長野は、論文を仏文とすることが不利条件となるという認識はなかったようである。では何故、長野・小島の仕事が広く知られなかったのか。長野等が日本語の雑誌以外にIFNのレビューを書かなかった事に加え、日本の研究者による英文のレビューは非常に少ない。また日本の研究者が自らの論文の中に、積極的に長野小島の1954年の論文を引用するという雰囲気も無かったようにも見える。その頃の欧米至上主義が災いしたのかもしれない。何よりも長野等がウイルス抑制因子/IFNの精製の課程において、十分役割を果たせなかった事も大きな要因であろう。このように、一つの発見が、その世界で広く評価されるかどうかは発見者の働きに加え、後のヒトがそれを強く支持し、何度も引用するか否かも大きく影響するということを改めて感じた。しかしながら、これらのことは結果論であって、1954年という第2次世界大戦の傷跡の残る時代に、ウサギというIsaacs & Lindenmannに比較して遙かに複雑な系で、IFNに迫った長野・小島の研究を、もっと高く評価してもよいのではないかと考える。

長野等の仕事から半世紀、今、IFN・サイトカイン学会のNewsletter誌上では、長野等の仕事に関し色々な評価が議論されている。詳しく知りたい方はぜひHP URL: http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cem_dcb/pages/JSICR.html からNewsletterをお読み頂きたい。また私はIFN・サイトカインの研究に関わる者として、長野の日本のIFNの基礎・臨床研究の発展に大きく寄与したことは間違いない事実であるということ forcefully したい。今年で70回の学術集会開催となる「日本IFN・サイトカイン学会」は、1961年に長野らにより始められたウイルス抑制物質研究会に端を発しており、この研究会に直接・間接に関わった研究者が、日本の基礎及び臨床のIFN研究の中核となって研究の発展に尽くしたといっても過言ではない。

ウチのとくいわざ

連載
No.2モノクローナル抗体産生
ハイブリドーマの樹立

理化学研究所

金川 修身 Osami Kanagawa

kanagawa@rcai.riken.jp

ハイブリドーマの技術が確立されてから約三十年になるが、未だに非常に有用かつ必須の技術であることは誰の目にも明らかである。またその応用も、免疫学だけでなく他の生物学さらには化学の領域でも頻繁に使われているし、臨床応用という意味ではいくつかのブロックバスター製剤はモノクローナル抗体そのものである。従って、これからもこの技術の必要性は増すことはあれ、低下することはないであろう。

この小論では、私の経験から、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立をする際にどのようなことに気をつければ良いかと言う点に焦点をおいて書いてみたい。

1) フュージョンの効率:免疫した動物の脾細胞/リンパ節細胞とミエローマ細胞をフュージョンするのが常法であるが、この効率により実験の成功率は大きく左右される。当然、一回の実験でハイブリドーマを百個スクリーニングするよりも千個した方が効率の良いのは自明のことである。一般的なPEGを用いた方法では、ホモロガスな細胞を用いてもフュージョンの効率はたかだか数千個に一個くらいであり、B細胞/ミエローマの場合にはさらに低くなる。我々のグループでは、免疫マウス脾臓とマウスミエローマを使い平均1,500-2,000のハイブリドーマを得ている。もしこれからハイブリドーマを自分で作ろうと思われるなら、この数字を参考にし、フュージョンの効率の検討をしていただければと思います。

2) 細胞の培養条件:オリジナルの方法では、T細胞の増殖を避けるために、培地には、2-ME/HEPES/extra amino acids が入っていないものをつかっているが、この培地は、B細胞の増殖にもオプチマルではない。従って、我々は、コンプリート培地にサイクロスポリンをいれることにより、B細胞のオプチマル増殖とT細胞の

増殖抑制をコントロールしている(これもフュージョンの効率を上げる効果がある)。

3) 抗原の選択:もちろん、抗原は不純物の混入が無く、均一で、また機能的にも十分な活性のある物を使うのが最も望ましい。これは、水溶性の蛋白抗原等であれば比較的容易に得られるであろうが、多くの場合は困難である。次善の方法としては、変成抗原蛋白、抗原ペプチド(不溶性の抗原または、遺伝子組み換えでは機能的な蛋白が出来ない物等)、遺伝子導入によって目的の細胞表面抗原を発現させた細胞、等を用いることができる。細胞を使って免疫する場合は、目的とする抗原以外の細胞表面抗原に対する免疫反応をコントロールする必要が生ずる。この場合、抗体反応のない抗原の発現(例えばMHC以外の組織適合性抗原)はT細胞の反応を惹起し、目的となる抗原に対するB細胞の反応に増強の見られることがあるので必ずしも問題になるとはかぎらない。しかし、B細胞の反応を誘導する抗原の関与のない細胞/目的とする抗原/免疫をする動物の組み合わせの条件を選ぶことは、特異抗体産生ハイブリドーマの樹立の効率をあげるためには重要である。

4) 免疫する動物:もちろん、抗原の由来(人、ラット、マウス、その他)によって免疫する動物を変える必要があるが、ペプチド、変成蛋白抗原、等であれば、マウスを使ってマウスの抗原に対する抗体を作ることは充分可能である。現在、マウス、ラット、ハムスター、ウサギからハイブリド-マの作製が可能であり、目的とする抗原、またその抗原がどのような形で得られるか、などの条件によって動物種を選ぶことができる。

5) スクリーニングの方法:ハイブリドーマ樹立の成否は抗体のスクリーニングをどのように行うかによって決定されると言える。もちろん、アッセイの特異性は高ければ高いほど良いし、またその感受性も高ければ高い方が良いのに決まっている。しかし、目的とする抗体を何のために使うのかによって特異性、感受性のある程度無視してスクリーニングをする必要があるかもしれない。例えば、細胞染色用の抗体が必要であれば、抗原を発現した細胞を用いて、染色に使える抗体を選択する必要がある。また、生体内での細胞の除去に使う抗体であれば、特定の免疫グロブリンアイソタイプを持った抗体を選択する必要がある。ただ単に抗原反応性で抗体をスクリーニングするのではなく抗体の最終的の用途を考えてスクリーニングすることも非常に重要である。

実際にモノクローナル抗体を作るときには、上記の条件がすべてオプチマルになっていることはまれであり、何らかのコンプロマイスが必要になってくる。その選択は、それぞれの条件が違うため、個々で一概に述べることは出来ない。もし、抗体の使用目的が明確であれば、その目的にそった抗体を作るための選択(ポリクローナル抗体も含めて)を行ない、それに従ってオプチマイズされた培養技術を使って実際にハイブリドーマを作りスクリーニングしなければならない。しかし、その抗原に対するB細胞反応/細胞融合/薬剤による選択/ハイブリドーマの抗体産生能/アッセイの感受性をすべてコントロールすることは不可能であり、randomness / chance / luck 等の不確定要因によって実験の成否が決定されることが多い。従って、possible best system and technique を常に心がけ、keep trying until you get ONE (often one is enough) というのが私のハイブリドーマを作る時の心境です。



迅速モノクローづくりの 試み

筑波大学大学院人間科学総合研究科 基礎医学系免疫学

渋谷 彰 Akira Shibuya

e-mail: ashibuya@md.tsukuba.ac.jp

URL: <http://www.md.tsukuba.ac.jp/public/basic-med/immunology/immunol.index.html>

DNAX研究所のLewis Lanier博士のラボで免疫学を始めたポストドク時代、与えられたプロジェクトはヒトNK細胞レセプターを同定する仕事であった。ヒトNK細胞を丸ごとマウスに免疫し得られたモノクロー抗体から細胞傷害活性を修飾する抗体をスクリーニングし、これを用いて発現クローニング



を行うアプローチを取った。うまくクローニングできても、生化学的解析や機能解析にも抗体は必須であったから、ポストドク時代には見よう見まねでせせと抗体作りに励んだ。幸い、親切で優秀なテクニシャンがいて最初は手取り足取り教えてくれた。Lanier博士のラボでは、研究室で作製したモノクロー抗体にDX (DNAXに由来)を頭にした通し番号の名前を付けていた。確か、スタートのDX1やDX2は東みゆき先生(現東京医科歯科大学)が作製したのだと思う。DX5はNK1.1と異なりほとんどのマウスstrainで使えるNK細胞マーカーとしてBDから販売され広く使われている。私はDX8, DX11, DX18などを作製した。DX11は抗DNAM-1 (CD226)抗体であり、これもBDから販売されている。ちなみに、DX2 (CD95), DX9 (KIR, NKB1), DX12 (CD161), DX26 (LAIR-1), DX27 (KIR-NKAT2), DX29 (ICOS)などのクローンもBDから販売されている。

帰国後もNK細胞以外にも自然免疫に関与する細胞膜受容体分子の同定と機能解析を中心とした仕事を行ってきたので、必須の研究材料として抗体を作る必要性が常にあった。そこでいつも考えていたことは、いかに効率的に早く目的の抗体が手に入るかということであった。毎日の実験に必要な時に必要な抗体がなかったら、その時点で実験はストップせざるを得ない。販売されている抗体ですら、「国内在庫がないので輸入できるまで3週間かかります」などど業者に言われた時のやるせなさを多くの方が経験していると思われる。そこで、それまでの方法に自分なりに改良を加え、免疫から抗体が得られるまでのスピードアップをはかることを試みた(図1)。

図1

効率的なモノクローナル抗体作製法の開発 (筑波大学、渋谷研究室)

	免疫部位	免疫回数	融合細胞	選択培地	所要期間
従来法	腹腔内	x4回	脾臓	液体	3ヶ月
改良法	足底	x2回	膝窩リンパ節	半固体(メチルセルロース)	1ヶ月

はじめに免疫部位を腹腔内から足底に変え、融合細胞を脾臓から膝窩リンパ節にし、免疫回数をブーストを含めて2回に減らした。これにより免疫から細胞融合まで1ヶ月程度かかっていたものが、10日程度までに短縮された。さらに細胞融合後のHAT選択培地を96穴プレートでの液体培地から、メチルセルロースの半固体培地に変え、ハイブリドーマコロニーを形成させることによってクローニングのステップを省略させることができるようになった。これらにより、免疫から目的のハイブリドーマクローンを得られるまで、約2~3ヶ月程度かかったものが、1ヶ月程度まで大幅に短縮することが可能となった。私の研究室では作製抗体クローンにTX (Tsukuba X)を頭にした通し番号をつけている。この新しいプロトコルを確立したおよそ4年前にはTX8までであったコレクションが現在TX68にまで増えている。もちろん、モノクロー作りの重要ポイントはあらゆるステップにあり、どれが欠けても目的の抗体が得られない。プロトコルの詳細はすでに他で紹介したので興味のある方は参照されたい(モノクローナル抗体の作製、中内啓光編「免疫学的プロトコル」羊土社2004:56-63)。



信じる者こそ 救われる(はず)

国立長寿医療センター研究所 老化機構研究部 免疫研究室

清水 淳 Jun Shimizu

jun@nils.go.jp

<http://www.nils.go.jp/>

単クローン抗体作製の場合、抗原として免疫に用いられるものはペプチド、蛋白質、細胞など様々です。ここでは、細胞を免疫に用いた場合の一例(具体的には、免疫抑制性CD4⁺CD25⁺T細胞の抑制機能を阻害する単クローン抗体を樹立した際の手順)について紹介します。

1. ラットをCD4⁺CD25⁺T細胞3x10⁶/ラットで1回目の免疫(腹腔内投与)。2週間後に再度、同様の免疫操作(2回目)。更に2週間後に同様の免疫操作(3回目)。そして今度は、4週後に4回目の免疫操作(この時は、細胞を静脈内投与)。

2. 4回目の免疫操作から3日後に、ラットから脾細胞を調製(溶血処理は行わず)。P3X63Ag8.653 (Ag8)は使用当日、浮遊している細胞を除き、付着した細胞のみを10 mM EDTA in PBSで剥がして使用。ラット脾細胞、Ag8各々4x10⁷を50ml遠心チューブ内で混合し、FCS-free DMEMで3回洗浄(1,200 rpm x 5分 x 3回)。余ったラット脾細胞は、10% DMSO, 10% FCS-DMEM中にて4x10⁷/tubeで凍結保存。再使用可。

3. 3回目の洗浄後は、パスツールで内壁から完全にFCS-free DMEMを除去。この「完全に」というのが、結構「ミソ」ではないかと思っています。

4. ポリエチレングリコール(PEG)1500 (Roche, 783 641) (37℃)をピペットに採り、洗浄後の細胞ペレットに少し(1滴)



モノクロ名人は "しばき"の名人

国立国際医療センター研究所

反町 典子 Noriko Sorimachi

nsorima@ri.imcj.go.jp

私がモノクローナル抗体の名人かどうかはさておき、これまで機能阻害活性を有する抗CD94抗体や、相溶性が高いNKレセプターファミリーに対する特異的な抗Ly49Q抗体などのモノクローナル抗体を独自に作製してきた背景から、私たちが行っていて、もしかしたらよそではやっていない抗体作製のミソをご紹介します。

私のモノクローナル抗体作製のプロトコールには、「しばく」という言葉が登場する。プロトコールは英語で書くべきだが、英語でうまくいって雰囲気が出ない気がするので、この場合やっぱり「しばく」である。

いろいろと調べてみると、「しばく」は標準語らしい。が、上品な女性はあまり使わないらしい。辞書によると、「しばく」は「棒や鞭で強く打つ、たたく」「殴る蹴るなどの暴力を振るう」といった意味を持ち、まさに私のモノクローナル抗体作製の最も重要なポイントは、効率よく細胞融合を起こすために、ミエローマと抗体産生細胞を「しばく」のである。

一般にモノクローナル抗体作製のプロトコールには、ミエローマと抗体産生細胞にポリエチレングリコール(PEG)を静かに加え、優しくゆっくりとPEGを混ぜていくと書かれている。そうしないと、ミエローマが死んでしまってもハイブリドーマどころではなくなるようだ。が、私たちが使っているPAI(Stocker, J. W., Forster, H. K., Miggiano, C., et al. Res. Disclosure, 217:155, 1982)というミエローマはとても頑丈で、それ故PEGを加える際に「しばく」(ピペットの先端で細胞のペレットをコンコンと叩きつけるように混ぜる)ことによって融合効率が上昇する。PEGを少しずつ添加しながら数分間にわたって遠心チューブの底の細胞ペレットを叩き続けるため、腱鞘炎にならないようにfusion前には筋トレを推奨している。(バトミントン部、テニス部はもってこいである。野球部は叩く強さは十分だが、持久力に欠けるようだ。)

さらにもう一つ、私たちのモノクローナル抗体作りの強力な助っ人は、リコンビナントIL-6である。IL-6遺伝子を導入することによって桁違いに大量のIL-6をその培養上清に分泌するトランスフェクタント(東京医科歯科大学の烏山一教授が所有)のおかげで、フィーダー細胞を用いずに、安価にハイブリドーマを培養することができる。

いろいろと書いたが、モノクローナル抗体の作製にはもちろん免疫原とする抗原の抗原性とスクリーニングの精度の重要性は申し述べるまで無く重要で、ここに記載した方法はそれらを前提として、融合効率を上げるために役に立つと思われる手法である。PAIの生育を最大にサポートするFCSのロットチェックも重要である。(具体的な情報が必要な場合はご連絡いただけましたら幸いです。)

加えてはピペットの先端でペレットをつぶし、また少し加えてはペレットを粉々にし、最終的に1.0mlのPEGを1分間かけて添加。この操作は全て37℃温水に上記の50ml 遠心チューブを漬けた状態で、クリーンベンチ内で実施。その後更に1分間、ゴリゴリ・グネグネを継続。

5. 引き続き、クリーンベンチ内、温浴上で上記50ml 遠心チューブにFCS-free DMEM(37℃)10mlを、ピペットを用いて1~2滴加えてはピペット先端でゴリゴリ攪拌。また加えてはグネグネ攪拌して、3~4分間かけて徐々にFCS-free DMEMでPEG濃度を希釈。

6. 今、50ml 遠心チューブに細胞・PEG・FCS-free DMEMが入っており、これを直ぐに遠心(1,200 rpm x 5分)し、遠心後は上清を除去。

7. 細胞ペレットを10% FCS-DMEM 40 ml に浮遊し、100 ml/well で96 well 平底プレート計4枚に播種(Day 0)。

8. 翌日、HAT培地(SIGMA H-0262)およびBM-サイクリン(Roche, 799 050)を添加した10% FCS-DMEM(選択培地)を100 ml/well添加(Day 1)。各試薬の濃度は、添付された使用説明書を参考に。

9. Day 4 頃からHAT選択により死んでいく細胞と、増殖している細胞が、顕微鏡下で区別可。細胞増殖により培地が黄色くなっているwellは、培地を大半除き新しい選択培地を添加。選択培地で最低7日間は培養。

10. Day10頃に、選択培地(HAT含有培地)からHT含有培地へと、培地を置換。HT培地(SIGMA H-0137)で3~4日間培養したら、今度は通常の10% FCS-DMEMへと培地を置換。HAT培地から通常培地へいきなり変えることなく、必ずHT培地で培養する時期を設けること。

11. 各wellの培養上清を用いてスクリーニングを行い、目的とする抗体の産生されているwellを特定。特定されたwell中のハイブリドーマを限界希釈によりクローン化し、再度スクリーニングを行うことによりモノクローナル抗体の樹立が完了。

と、こうして書かれたものを読むと、何だか「とっても普通」で恐縮です。抗体樹立の最大のポイントは、そのスクリーニング系がどれだけ(簡便、安定、再現性の点で)シッカリしているか、これに尽きると思います。後は、樹立できる!と信じること。いや、勿論信じているだけでは駄目なのですが。いざ抗体作製を始める前に、上記記載事項について何か信じきれない方は、上記メールアドレスまで御一報を。信じる者こそ、、、

ウチのとくいわざ





フットパッドへの 免疫を用いた ラットモノクローナル 抗体の作成

東京大学医科学研究所感染遺伝学分野

三宅 健介 *Kensuke Miyake*

kmiyake@ims.u-tokyo.ac.jp



分子レベルでの解析を細胞や個体において行ううえで、モノクローナル抗体は必須のツールとなっている。その作成は、すでに確立された手法であるが、個体、細胞を用いるために、分子生物学的な手法に比べて、多くの不安定要因を抱えている。本稿では、当ラ

ボで行っているモノクローナル抗体の作成法について紹介する。

1. 免疫

ラットのフットパッドに免疫する方法を用いている。我々は細胞表面分子を抗原とすることが多く、抗原分子を発現させた細胞を抗原として用いることが多い。細胞(約 10^8 個/ml)とTiterMax Gold (CytRx Corp、フナコシより販売)を1:1の比率で混合し、ラットのフットパッド(約0.4ml/フットパッド)に投与する。10-12日後に細胞融合を行う。アジュバントについては、大阪大学 宮坂昌之先生から教えていただいて、TiterMaxをこの方法で試したところ、完全フロイントアジュバント(CFA)に比べて、誘導される炎症反応はそれほど強くないが、より高い融合効率が見られる印象がある。最近、初回免疫の4日後と細胞融合の前日に免疫増活剤無しで抗原のみで追加免疫を行っており、よりよい結果が得られている。

2. 細胞融合、スクリーニング

免疫したラットを屠殺し肩胛、膝窩、後腹膜リンパ節を採取して用いる。少なくとも 2×10^8 個程度の細胞が得られる。前もって培養しておいたSP2/Oと、リンパ節細胞:SP2/O = 10:1から5:1の比率になるように混ぜて、細胞融合を行う。その方法は、PEG1500 (ロッシュ#783641)で推奨されている方法に従っている。細胞融合の後、培養液(10%FCS RPMI with 2ME)に懸濁して96 well 平底プレートに $100 \mu\text{l/well}$ ずつまく(リンパ節細胞 $2-3 \times 10^5$ リンパ節細胞/well)。得られた細胞数にもよるが、10-20枚にまくことが多い。翌日HATを2倍の濃度含んだ培養液を $100 \mu\text{l/well}$ ずつ加え、セレクションを始める。7-10日後にスクリーニングを始めるまで、特に培養液の交換は行わない。ハイブリドーマは約1週間ほどで肉眼視可能なコロニーを形成してくる。その培養液を用いて、スクリーニングを行う。

3. 細胞融合の効率

我々が直面するトラブルの多くは細胞融合の効率が低い、つまり得られるコロニーの数が少ない場合である。このようなトラブルの場合、免疫が不十分である場合が多いと我々は考えている。我々のラボでも依然として試行錯誤している点は免疫方法である。前述したが、現在1回免疫から、追加免疫を行うプロトコルに移行しつつある段階といえる。

以上が、我々のラボで行っているモノクローナル抗体の作成法である。参考になれば幸いであると同時に、助言などいただければ幸いである。



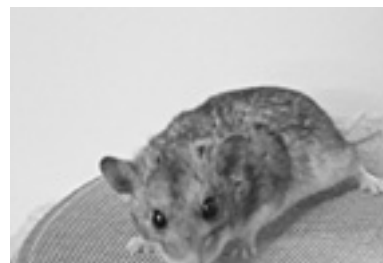
モノクローづくりに 秘伝なし?

順天堂大学医学部免疫学講座

八木田 秀雄 *Hideo Yagita*

hyagita@med.juntendo.ac.jp

この20年間に、マウスの免疫グロブリンスーパーファミリー分子(CD2, CD4, CD8, CD48, CD80, CD86, ICOSL, PD-1, B7-DC等)やインテグリンファミリー分子(CD11a, CD29, CD49a,



CD49b, CD49e, CD49f, CD51, CD61等)、あるいは、TNF/TNFRファミリー分子(FasL, TRAIL, TWEAK, RANKL, CD40L, CD70, OX40L, 4-1BBL, CD30L, CD40, RANK, DR5, Fn14等)、さらに最近では、Notchとそのリガンド(Notch2, Notch3, Jagged1, Jagged2, Delta-like 1, Delta-like 4等)を中心に数多くのモノクローを作製してきたが、これらは代々の教室員の努力の賜物であり、お手軽に目的のモノクローが作れるような秘伝などない。しかしながら、私達が日頃、モノクローづくりに当たって心掛けているポイントを思い付くままに以下に列挙する。

(1)

効率良く目的のモノクローを得るには、どう免疫して、どうスクリーニングするかが肝要である。まず、免疫する動物としては、ヒトの抗原であれば、BALB/cマウスで良からう。マウスの抗原であれば、ラット(うちでは主にSDラットを用いている)かハムスターである。多くの分子はマウスとラット間で一次構造の相同性が高いが、経験的にはほとんどのマウス分子に対するモノクローはラットで作製可能であった。しかしながら、遺伝的に遠いハムスターに免疫した方が多様なエпитープに対する抗体が得られ、従って、阻害や活性化といった機能を持った抗体も得られやすいようだ。免疫するハムスターとしては、オリエンタル酵母工業のアルメニアンハムスター(写真)を採用している。私の知る限りでは、1987年にJeff BluestoneがマウスCD3に対するモノクロー(皆さん御存じの145-2C11)を報告したPNAS論文がArmenian hamsterを用いて成功した最初の例だろう。当時、ボストンの動物屋からこのハムスターをなかなか入手できずに、国内で入手可能なシリアンハムスターを用いてマウスCD2に対するモノクローを作製したが、実はシリアンハムスターは染色体数が44(アルメニアンは22)もあり、マウスミエローマとのハイブリドーマはヒトとマウス間のハイブリッド並みに不安定で、数カ月で抗体産生がなくなってしまった。このような苦労を見かねた当教室の奥村教授が以前に東大の多田先生の教室にいたアルメニアからの留学生にお願いして、くしくもアルメニアからの輸入が実現したハムスターが現在のオリエンタル酵母のコロニーの元となっている。当初は、「アルメニアから来たハムスター」であって、Jeffが用いたArmenian hamsterと同じなのか若干懐疑的であったが、マウスミエローマとの相性はラット並みに良く、CD48やFasL、あるいは、Notchとそのリガンドといった種々のマウス分子に対する有用なモノクローの樹立に大きく貢献してきた。ハムスターのモノクローはしばしばラットとも交差反応するのモ利点である。

(2)

免疫する抗原は、微量であっても、精製したものが望ましい。特に、阻害や活性化といった機能的なモノクローを目的とする場合は、しっかりと活性を有する分子で免疫する必要がある。活性のない合成ペプチドや大腸菌由来の組み換えタンパクで免疫しても、Western blotには使用できても、FACS解析や機能解析に有用な抗体は得にくい。私達の経験では、マウスのDR5を活性化するモノクローやマウスのDelta-like 4を阻害するモノクローは、R&Dから購入したmouse DR5-Fcやrecombinant soluble DII4をわずか5 μ gずつ、ハムスターに3回免疫して得られた。ヒトDelta-like 4を阻害するマウスのモノクローも同様に得た。詳細を参考までに記すと、5 μ gの抗原を含む0.5mlのPBSに1 μ gのGERBU adjuvant (Nacalai Tesque)を添加して、ハムスターあるいはマウスに7-10日毎に3回 i.p. した。1週間後に部分採血してELISA等で血清抗体価の上昇を確認できた個体にもう一度ブースト免疫し、3日後の脾細胞からハイブリドーマを作製した。血清抗体価の上昇は個体差があるので、常に2-3匹は免疫しておきたい。

(3)

膜型抗原を発現させたトランスフェクタントで免疫して得られたモノクローも多々ある。ヒト抗原の場合は、DBA/2由来のP815やL5178Yに発現させてBALB/cに免疫して成功した例が多い。マウス抗原でラットを免疫する場合は、NRKや3Y1を親株に用いている。マウス抗原でハムスターを免疫する場合は、BHKあるいはCHOを用いてきたが、最近では、アルメニアンハムスター由来のAHL-1 (ATCC) が親株に対する抗体ができにくくて良いようだ。これらのトランスフェクタントで免疫する際には、古典的に 1×10^7 個位を0.5mlのPBSに懸濁して、初回免疫はcomplete Freund's adjuvant (CFA)とのemulsionを、2回目と3回目はincomplete adjuvant (IFA)とのemulsionをマウス、ラット、あるいはハムスターに7-10日毎にi.p. 免疫して、1週間後の血清抗体価をFACSで確認し、通常、100-1000倍希釈で、親株に比べてトランスフェクタントの方が良く染まる個体を選ぶ。

(4)

免疫したマウス、ラット、ハムスターの脾細胞とマウスミエローマ(うちでは主にP3U1)を5:1に混合し、50% PEG4000 (Sigma)でfusionする過程は常法通り。HAT selectionは50 μ M 2MEを含む 10% FCS/RPMI1640で通常行うが、FCSのlotによる影響を気にする人は、和光のGIT培地にP3U1をadaptさせて、fusion後のHAT selection及びcloningもGITで行っている。

(5)

一次スクリーニングは、主に、精製抗原の場合はELISA、トランスフェクタントの場合はFACS(トランスフェクタントと親株の染め分け)で行うが、FasLやTRAILによるkilling (51Cr release assay や MTT assay)、あるいは、B7 トランスフェクタントによるT細胞増殖のcostimulationのように、96-well plateでのassayが容易な場合は、いきなりfunctional screeningから始めた方が、機能的なモノクローを得るためには手間が省ける。

(6)

Limiting dilutionによるcloningでは、feederや怪しげなクローン化補助剤などは加えず、通常の培地を用いて 0.5個/wellで播き、しぶとく増えてくるクローンを選ぶ。FACSやELISAによって抗体価が高くて良く増えるクローンを3個選んで、 1×10^6 個をプリスタンあるいはIFA 0.5mlを3-7日前にi.p.したICR

ヌードマウスにi.p.接種して腹水を作製してみる。腹水からcaprylic acid/ammonium sulfate precipitation法(後述)で抗体を精製してみて、マウス1匹から最も多く抗体が採れるクローン(通常、5-20 mg/mouse)を選ぶ。

(7)

腹水型とならずに腹腔内に腫瘍を形成するハイブリドーマもまああるが、5-10mlのPBSをi.p.し、お腹をやさしくマッサージしてから回収したり、あるいは血清からも 5-10 mg/mouse位の抗体が採れる場合が多い。

(8)

ヌードマウスにi.p.しても全く着かないハイブリドーマもたまにある。この場合、うちでは、INTEGRA CELLline CL-1000 フラスコ(グンゼ産業)を用いて高密度培養した培養上清から抗体を精製している。この方法でも、通常、1か月で 50-100 mgの抗体が採れる。

(9)

抗体の精製は、腹水・培養上清ともに、caprylic acid/ammonium sulfate precipitation法 (J. Immunol. Methods, 100: 123, 1987)で行っている。Protein G あるいは protein A法では、acid elutionによって失活するモノクローがたまにあるが、上記の方法では失活した例はなく、精製度も充分である。IgGのみならず、IgMやIgA型のモノクローも精製できる。

(10)

抗体を精製したら、SDS-PAGEで精製度を確認し、また、適当な希釈列を用いたFACSやELISAあるいはfunctional assayで活性を確認する。さらに、in vitroに添加 あるいは in vivoに投与する場合は、エンドトキシン濃度が低い(100 pg/1 mg mAb以下) ことを確認すべきである(生化学工業のキットを使用)。エンドトキシン濃度が高い場合は、PIERCEのDetoxi-Gelで除去も可能だが、抗体をかなりロスするので、あまりお勧めできない。むしろ、腹水回収の際や、培養液や緩衝液の調製の際に、エンドトキシンの混入を極力避けるように心がけたい。

(11)

通常、精製した抗体は、1 mg/ml以上の無菌のPBS溶液として、5-10mg程度に分注して冷凍保存する。まれに凍結・融解で失活する抗体もあるので、前もって一度凍結・融解したものの活性を確認すべきである。凍結できない抗体や一度融解した抗体は、4℃で保存して数力月中に使い切るのが原則だが、実際には一般に1年以上活性は保たれる。

以上、取り留めのない内容となったが、読者の皆さんのモノクローづくりの参考となれば幸いである。



中から見た審良研

大阪大学微生物病研究所 自然免疫分野

加藤博己 *Hiroki Kato*

<http://www.biken.osaka-u.ac.jp/biken/gan-yokusei/index.html>

私は現在審良研3年目の博士課程の学生である。この数年間、学生として見てきた審良研を紹介したいと思う。

審良研は、アクティビティの高いラボであるに違いない。その源はまずやはり労働量であろう。とにかく、学生、スタッフ皆良く働く。基本平日は朝9時に来て、夜11時くらいまでは普通である。土曜日朝9時から夕方まではきっちり働いているし、休みの日もラボに来たら必ず誰かがいる状態である。皆、実験することが飯より好きな人の集まりのような気がする。

更に労働量の高さに加え、duty workを最小限に抑え実験できる時間を最大限にとる所も特記すべきだろう。まず、論文セミナーと言われているものがない。「各自、必要なら実験の合間に読めばいいし、そのために時間を割くのなら手を動かした方が結果に繋がる」、という教授の方針だろう。実際、自分に必要だと感じた論文は各自当然のように読んでいて、スタッフと実験の進行状況やこれからの展望を議論した後で、学生各自が足りない知識に対し、論文を読み補うということが自然にできている。またプログレスレポートに関して、自分の番が来るのは年に3,4回と少ない。条件検討等日々の実験に関しては、直属のスタッフと常に話し合い検討しているので、教授を含めたプログレスレポートの場では結果を基に今後どうすべきかに焦点を当て議論する場となっている。

このようなラボで働くスタッフ、学生などはどういう人なのか?といえ、まじめだけがとりえで暗そうな人たちを想像するだろうがそうではない。運動好きの明るい人が多く、先日も研究室対抗ソフトボール大会で優勝したくらいである。日々の実験室の雰囲気は、皆が実験に真摯に取り組む中での張りつめた空気と、お互い冗談を言い合い和気藹々とした空気がうまく融合したい感じだと思う。もともとポテンシャルの高い人が集まることは間違いないだろうが、このラボの環境に身を置いて精神的にも頭脳的にも鍛えられる部分は大きいと思う。実験を真剣に取り組める喜びを味わいたい人にはお勧めのラボだと思う。



ソフトボール大会優勝直後の集合写真
審良先生の右隣、白にOceanside High School Surfteamと青で書いてあるTシャツを着たのが私です。

四国免疫フォーラムに参加して

徳島大学分子酵素学研究センター情報細胞学部門

仁木 志乃 *Shino Niki*

niki@ier.tokushima-u.ac.jp

矢野 雅司 *Masashi Yano*

m-yano@ier.tokushima-u.ac.jp

<http://mms1.ier.tokushima-u.ac.jp/index2.html>

2005年6月25日、私達は香川大学工学部構内の香川大学地域開発研究センターで開催された、第4回四国免疫フォーラムに参加しました。この集会は、四国にある香川、愛媛、徳島、高知大学の計4国立大学の免疫学研究を志す研究室が、それぞれ年1回ずつ持ちまわりで開催している参加者50名程のミニ研究集会です。今回は、香川大学医学部分子細胞機能学の中村隆範教授が主催者を務められ、事務局は、この集会の創始者である徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部生体防御医学分野の安友康二教授が務められました。

これまでの四国免疫フォーラムの概要を述べますと、第1回は徳島大学で開催され、徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部生体防御医学分野の安友康二教授が主催者を務められました。第2回は愛媛大学で開催され、愛媛大学医学部医学科病因・病態学免疫・感染病態学の浅野善博教授と愛媛大学医学部医学科病因・病態学ゲノム病理学総合科学研究支援センターの能勢真人教授が主催者を務められました。そして、第3回は高知大学で開催され、高知大学医学部医学科分子免疫学の宇高恵子教授と高知大学黒潮圏海洋科学研究科海洋健康医科学講座の富永明教授が主催者を務められました。

今回のプログラムとしては、香川大学、愛媛大学、徳島大学計3校から参加した全部で6研究室の一般演題各25分の報告に加え、香川大学医学部免疫病理学の平島光臣教授の特別講演をお聞かせいただきました。

今回のフォーラムに参加して、私達のそれぞれの感想を以下に述べさせていただきます。

【仁木】

私にとってとりわけ興味深かったのは、主催者である中村隆範教授と平島光臣教授の共同研究によるガレクチン9(Gal9)の話でした。香川大学医学部免疫病理学平島光臣教授らは、ガレクチン9が、癌、アレルギー、自己免疫疾患などの診断や治療に利用できることを発見し、5年程前に地方大学としては珍しい大学発のベンチャー企業「ガルファーマ」を設立されています。今回の講演では、ベンチャー立ち上げの経緯から現在の研究について詳しくお話しいただき、種々の慢性関節リウマチモデルにおけるガレクチン9の効果についてお聞かせいただきました。

同じ四国の大学が、私にとってあまり聞き慣れないガレクチン9という分子の性状を明らかにし、そしてさらにそれを実際に臨

床に応用しようとしているという報告に非常に感銘を受けました。最後に、今回私は初めてこのフォーラムに参加させていただきましたが、このような小さな集会上に積極的に参加し、他の研究者の違った考え方、見方に触れ、たくさん議論し、また多くの suggestion を受けることが、研究力を高める上で非常に重要となってくるのではないかと思います。

【矢野】

私も今回初めて参加させていただいて、免疫学初心者の私にとってこのような機会は、いろいろな研究者の人達の考え方や、今まで知らなかった実験手法などさまざまなことを学ぶことができ非常に有意義でありました。それに、発表を聞くことで自分自身の知識の乏しさを痛感し、これからの勉強に対する意欲を掻き立てられました。これから、この経験をもとに免疫の研究を日々頑張っていくつもりです。

四国でこのような会が行われることによって、近県での同じ免疫学を研究している研究室同士でコミュニケーションを取れたり、それぞれの意見を出し合いお互いを刺激することで、いろいろな知識や研究意欲を得られる良い機会になっていると思います。四国以外の方も参加してもらい、いろいろな人達の意見を聞ける場になっていってもいいのではないかと思います。

最後になりますが、来年度の第5回四国免疫フォーラムは、徳島大学で開催される予定で、主催者は徳島大学大学院口腔分子病態学の林良夫教授です。

会務報告

Announcements

1. 人事について

去る9月1日に開催された理事会で免疫学会の役員の候補がノミネートされました。次期会長候補は斉藤隆氏、菅村和夫氏、宮坂昌之氏の3名、第38回学術集會会長候補は、稲葉カヨ氏、宮坂昌之氏、山本一彦氏の3名です。他、理事候補者15名、監事候補者4名、評議員候補者126名もノミネートされました。また、各種委員会(学術集會委員会、教育推進委員会、広報委員会)の委員の交代が了承されました。

ミーティング 情報

Information

●The International Cytokine Society Conference 2005
2005年10月27～31日 韓国・ソウル
<http://www.ics2005.org/>

●第28回神経研シンポジウム
免疫2005 -基礎研究から臨床応用へのアプローチ-
2005年10月28日
東京・新宿明治安田生命ホール

●文部科学省特定領域研究
免疫監視の基盤とその維持・制御
平成17年度第2回班会議・
公開シンポジウム
2006年2月17日 京大会館
<http://www.immunosurveillance.jp>

2. 日本免疫学会賞に関して

第8回日本免疫学会賞に、木梨達雄氏「インテグリン接着制御による免疫細胞動態調節」と熊ノ郷淳氏「免疫セマフォリン分子による免疫応答制御機構の解析」が、賞等選考委員会の推薦を経て、9月1日に開催された理事会で決まりました。

3. 会員管理システムの導入に関して

平成17年4月より施行された個人情報保護法の遵守と日本免疫学会の会員へのサービスの向上を目指して、執行部ではWEB管理システムの導入を検討してきましたが、9月1日に開催された理事会でWEB管理システムの導入が承認され、管理システムの構築が開始されます。これにより、会員自身がWEB上で会員登録、住所変更、公開項目の選定を行うことができ、検索型の会員名簿機能の利用も可能となります。セキュリティ機能も充実しています。また、学術集会の演題登録もオプション機能として利用できるため、学術集会抄録登録者データを学会会員データと一元化できる利点があります。

4. 学術集会委員会について

学会のあり方委員会での検討をもとに、現学術集会プログラム委員会を学術集会委員会と改称し、学術集会の中長期的な運営方針の検討やプログラム作成における助言などを行うことになりました。学術集会がNPO法人日本免疫学会の最大の事業として実施されることになったための改正です。8名の委員で構成され、4名を理事の中から4名を評議員の中から理事会で選出することになります。また、委員の任期は4年、半数を2年で改選することになります。

5. 総会、学術集会について

第35回日本免疫学会学術集会は、平成17年12月13日(火)から15日(木)まで、高津聖志会長のもと横浜(パシフィコ横浜)で開催されます。詳しいプログラムなどはホームページを参照してください。また、第35回日本免疫学会学術集会に連動して、12月11日(日)に横浜市関内ホールにて日本免疫学会総会・学術集集会の公開講座「高校生のための免疫学講座」が開催されます。これは、NPO法人日本免疫学会の普及啓発事業の一つとして行われる事業です。

また、第36回日本免疫学会学術集会は、平成18年12月11日から13日まで平野俊夫会長のもと大阪国際会議場で、第37回日本免疫学会学術集会は、平成19年11月20日から22日まで齊藤隆会長のもと東京新高輪プリンスホテルで開催される予定です。

6. ホームページ活用をお願い

免疫学会では、会員のためのサービスの向上、会員相互の交流(人材募集の掲載)、研究推進などのツールとしてホームページを積極的に活用しています。さらに、この10月からは現ニュースレター委員会とホームページ委員会が合流し、名称も新たに広報委員会として、ホームページをより一層充実したものにしていきます。会員みなさまの積極的なご利用をお願い致します。

文責: 庶務幹事 烏山一、副庶務幹事 中山俊憲

●第35回日本免疫学会総会・学術集会

2005年12月13～15日 パシフィコ横浜
<http://www.soc.nii.ac.jp/jsi2/jsi35/>

●第8回FIMSA Advanced Immunology Course

2006年3月1～5日 インド・ニューデリー
<http://www.fimsa.org/training.html>

●ThymOz: 5th International Workshop of T lymphocytes

2006年4月5～10日
オーストラリア・ヘロン島
<http://www.thymoz.com/>

●3rd International Workshop on Vaccine Adjuvants and Glycoconjugates

2006年4月16～20日
キューバ・バラデロ

●RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2006

2006年6月16～18日
横浜・はまぎんホールヴィアマーレ
Topics:

- 1) Function and regulation of dendritic cells
- 2) Th1/Th2 regulation
- 3) Regulatory cells
- 4) Signaling and chemical mediator for allergy and inflammation
- 5) Biological aspect of allergy and inflammation.

International invited speakers include:

MA Brown, RL Coffman, RA Flavell, SJ Galli, M Grusby, RA Kastelein, T Kawakami, JP Kinet, A Lanzavecchia, YJ Liu, RM Locksley, SL Reiner, J Rivera, AY Rudensky, EM Shevach, DT Umetsu

●第36回日本免疫学会総会・学術集会

2006年12月11～13日
大阪・大阪国際会議場

●第37回日本免疫学会総会・学術集会

2007年11月20～22日
東京・新高輪プリンスホテル

*  は日本免疫学会の主催または共催です。

ミーティング情報掲載希望の方は遠慮なく、もよりのニュースレター編集委員までお申し出下さい。次号は3月中旬発行予定です。2月中旬頃までに掲載希望情報をお知らせください。

投稿募集

投稿や企画提案を歓迎します

編集委員会では、ひきつづき、会員の皆さまの積極的な投稿を歓迎しています。また、このひとの文章を読みたい、こんな内容を読みたい、といった提案を歓迎します。もよりの編集委員まで遠慮なくお知らせ下さい。投稿原稿は、概ね1,600 字程度以内で電子メールで編集委員長(takahama@genome.tokushima-u.ac.jp)までお送り下さい。ただし掲載させていただくかどうかの最終決定は編集委員会にご一任願います。

特派員募集

ニュースレター委員会では、身近なニュースを全国津々浦々から発信して下さる特派員を募集しています。資格は、日本免疫学会の会員であれば、学生会員でもOK。もちろん一般会員も名誉会員も大歓迎です。単発の報告で結構ですし、ひとことでも結構ですので、免疫学会員が興味もつであろう身近な話題を提供して下さる方を募集します。29ページの記事のような研究室や研究集会の紹介記事はとりわけ大歓迎です。あなたもニュースレターの編集に参加してみませんか。興味のある方は編集委員長(takahama@genome.tokushima-u.ac.jp)までご一報下さい。

編集後記

通巻25号をお届けします。特集では、法令への対応など「気を遣う」テーマにもかかわらず、快く執筆いただいた先生方に改めて感謝申し上げます。それぞれの研究現場で役立てていただければ幸いです。前号からはじめた連載「ウチのとくいわざ」もますます好調。モノクローナル抗体づくりの名人諸氏によるワザの数々をご堪能ください。ところで、ニュースレター編集委員会は10月から、ホームページ委員会と合流し、広報委員会として新たに生まれ変わることになりました。会員諸氏にタイムリーな学会情報をお届けするとともに、有用で楽しい会員交流の場を提供しつつけていくべく、電子媒体と紙媒体の連携を進めていきたいと思っています。ニュースレターについても、電子化発信を含め時代に即した発行形態の検討を始めてまいります。皆さんのご意見をどしどし編集部までお寄せ下さい。なお、前号のニュースレターでは電子化への賛否を含め読者アンケートを実施しましたが回答皆無でした。フィードバックをいただく方法について更に工夫して参ります。ニュースレターへのご意見をお待ちしております。(高浜)



VOL.13 NO.2



JSI Newsletter



日本免疫学会会報



JSIニュースレター

日本免疫学会会報
第13巻第2号(通巻25号)
2005年9月27日発行

日本免疫学会 事務局

〒101-0061
東京都千代田区三崎町 3-6-2
原島三崎町ビル 1F
TEL 03-3511-9795
FAX 03-3511-9788
<http://www.soc.nii.ac.jp/jsi2>

ニュースレター編集委員会

櫻木俊聡 秋田大学医学部
烏山 一 東京医科歯科大学医歯学総合研究科
久保允人 理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター
反町典子 国立国際医療センター研究所
高浜洋介 委員長・徳島大学ゲノム機能研究センター
瀧 伸介 信州大学大学院医学研究科
竹森利忠 国立感染症研究所