

自然免疫の異物識別機構への理解を促すTLRカードゲームの開発

日比野 拓 埼玉大学教育学部自然科学講座

キーワード：自然免疫、トル様受容体、TLR、高校生物、教材開発

1. はじめに

私たちヒトの体内では、リンパ球がウイルスや細菌といった病原体を特異的に認識し、その病原体の情報を長期間記憶しておくことができる免疫のしくみが働いている。これは獲得免疫と呼ばれ、顎のある脊椎動物のみ（サメからヒトまで）が持っているしくみである。一方自然免疫は、すべての動物（カイメンからヒトまで）が持っている生体防御のしくみであり、病原体が体の中に侵入してきたら、食細胞が病原体を異物とみなして、即座に食べて排除するという役割を果たす。19世紀後半にイリヤ・メチニコフがヒトデの幼生を用いて食細胞を発見してから近年まで、食細胞は目の前に現れた病原体をただ食い散らかすだけだと考えられてきた¹⁾。しかし最近の研究により、実はヒトの食細胞であるマクロファージや樹状細胞には、病原体を見分けるセンサーを備えていることが分かってきた²⁾。そのセンサーは異物を感知し、異物の情報を把握することができる、そして時には自分のDNAと敵のDNAをも見分けるという高度なしくみを備えていることが明らかになってきた³⁾。そのセンサーが「トル様受容体 (TLR)」という受容体タンパク質である。

このTLRは、病原体のみがもつ分子パターンを認識する。認識される分子パターンとは、病原体にとって生命維持に不可欠な分子であり、あるグループの病原体に広く保存されているものの、私たちヒトは持っていないような分子の構造である。ゆえに病原体と自己とを見分けることができるのである。ヒトのTLRは約11種類 (TLR1～TLR11) 見つかっており、それぞれは類似した分子構造をしている (図1)。そして、2つのTLR分子がペアになること (これをダイマーという) で病原体に保存された分子構造を認識することができる。驚くべきことに、このペアの作り方によって、異なる分子構造を認識することができるのである (図2)。例えば、TLR1とTLR2がヘテロダイマーを作ると、グラム陽性細菌の細胞壁にあるリポタンパク質という成分を認識し、TLR2が2つでホモダイマーを作ると、グラム陰性細菌の細胞壁にあるペプチドグリカン进行認識する、などである⁴⁾。そしてTLRを介して認識された病原体情報は細胞内に伝達され、その後さまざまな免疫応答が誘導される。哺乳類以外のいろいろな動物を用いて研究が進むにつれて、TLRは動物界に広く保存されている遺伝子であることが分かってきたが、異物認識のしくみや誘導される免疫応答には動物ごとに違いがあることが示唆されている⁵⁾。

このTLRの病原体の認識機構は、従来の免疫システムの概念を覆す画期的な発見であり、2011年にノーベル生理学・医学賞が贈られた。2011年ノーベル賞受賞当時、このTLRのしくみを解説しているテレビニュースはほとんどなかった。上記のTLRの異物識別機構を容易に説明するのが難しいため、一般の人々の興味関心を得られないからであったと考えられる。しかし2012年より改訂された高校生物の教科書には、免疫にかかわるタンパク質としてTLRが登場している。例えば、東京書籍「生物」の教科書には、第1編第2章「生命現象を支えるタンパク質」の単元「免疫にかかわるタンパク質」にToll様受容体と表記され、①ウイルスや細菌などに特有な成分のみを認

識すること、②何種類が存在すること、③認識した成分の違いに応じて、サイトカインと総称される情報伝達物質を分泌すること、が記載されている⁶⁾。第一学習社の「高等学校 生物」の教科書には、第1編第1章3節「生命現象とタンパク質」の単元「免疫に関するタンパク質」に、トル様受容体 (TLR) と表記され、トル様受容体の種類によって細菌類の細胞膜や細胞壁の成分、べん毛、DNAの一部、またはウイルスのRNAやDNAの一部を特異的に認識すると、イラストを用いて記載されている⁷⁾。さらに高等学校生物の資料集にはTLRダイマーと認識する病原体の構成成分の対応関係について詳細に記載されている⁸⁾。

高等学校教育の現場では、このTLRによる異物識別の機構を生徒に理解させ、このテーマに対する興味関心を引き出すのは難しいと考えられる。なぜなら、教科書改訂によって新たに加わった内容であることに加え、このTLRのしくみの何が重要なのが教員にとっても把握しづらいという問題があるからである。TLRのしくみだけでなく、免疫の内容全体に言えることであるが、講義形式のみで授業を展開するよりも、対話や実験実習等の活動形式を加えた方が望ましい。しかし、ヒトの免疫を学ぶための実験材料として、ヒトや哺乳類を扱うわけにはいかず、また体内の免疫応答を可視化することは難しいのが現状である。疑似体験用のシミュレーション教材に関しては、免疫をテーマにしたオンラインゲームの前例はあるものの、専門的な知識に基づいてはいない。

そこで本研究では、自然免疫におけるTLRの異物識別が教科書に新たに加わったことに注目し、このしくみを楽しく疑似体験学習できるカードゲームの開発を試みた。「TLRカードゲーム」と命名し、大学生と高校生を対象に実践を行い、その効果を調べた。

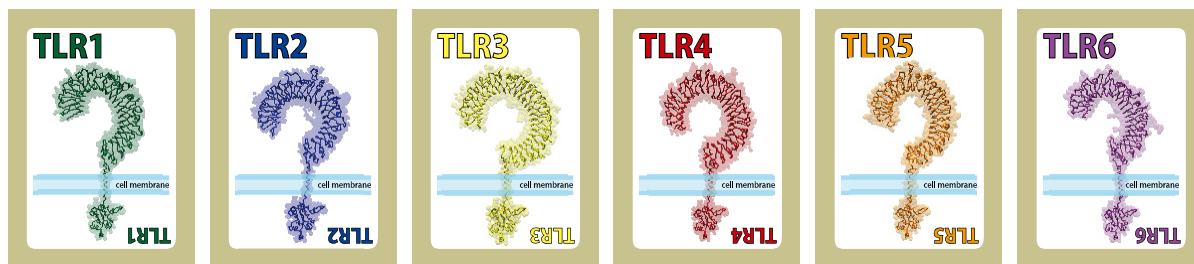


図1 TLR1～TLR6の分子構造をもとに制作されたTLRカード。それぞれの分子構造に若干の違いがあることが見てとれる。

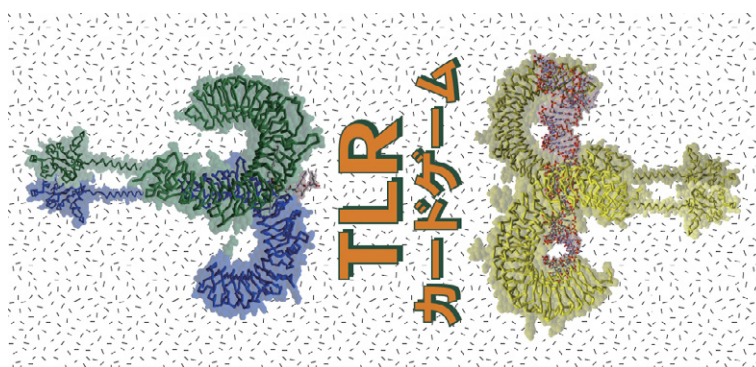


図2 TLRダイマーとダイマー間に結合した病原体分子の構造をもとに制作されたTLRカードゲームの外箱表紙。左側の分子構造：TLR1とTLR2とのヘテロダイマーで重なった中央背側にリポタンパク質が結合している。右側の分子構造：2つのTLR3のホモダイマーで間に2本鎖RNAが結合している。

2. 制作したカードとアイテムの説明

2-1 手札として使用するカード

○TLRカード（74枚）TLR1からTLR6までの6種類（TLR1：10枚、TLR2：18枚、TLR3、TLR4、TLR5：各12枚、TLR6：10枚）：TLRダイマー（カード2枚1組）を病原体の構成成分の横に提示する。提示可能な組み合わせは、表1を参照。

ヒトTLRは11種類あるが、ゲーム性を高めるためにTLR1～TLR6の6種類のみをカードゲームに使用した（図1）。TLR1～TLR6それぞれの分子構造は類似しているが、異なる異物を認識できることを把握させるため、ヒトあるいはマウスの実際の分子構造を用いてカードを制作することにした。RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>)⁹⁾からTLR1～6の分子構造を検索し、PDB_IDをもとに、PDBjViewer (http://pdbj.org/jv/index_j.html) Java アプレットにて分子構造を表示した¹⁰⁾。TLRそれぞれの分子構造の表示方法や色を変更した後、Adobe Photoshop Elementにて図の重ね合わせを行い、最後はAdobe Illustrator CS5でカードのイラストを描いた。制作したカード原稿は、カードゲーム専門の印刷会社(萬印堂、東京都)に発注し印刷を行った。

2-2 TLRカードと組み合わせて提示するカード

○認識力+1カード（5枚）：手札のTLRダイマーと組み合わせて提示すると、認識力が1ポイントアップし、3ポイントになる。

○複製カード（3枚）：1枚のTLRカードを複製し、ダイマーにすることができる。TLR2、TLR3、TLR4、TLR5のいずれかとペアにして提示する。

○遺伝子編集カード（4枚）：1枚のTLRカードを好きなTLRの種類へ改変できる。手札のTLRカード2枚とともに3枚で提示する。

TLRカードペアと認識できる病原体の構成成分(表1)は、事実即して制作された。そのため、TLRカードゲームが進行すると、カードの消費にばらつきが生じ、使われずに持て余すカードが増えてくる。そこで、ゲーム性を高めるだけでなく、スムーズなゲーム進行のためにもこのような特殊カードを創作した。

2-3 単独で提示するカード

○カード補充カード（4枚）：このカードを出すと、TLR山札からカード4枚を引くことができる。ターン終了時に山札からカード2枚を引くことはできない。

○リバーサカード（3枚）：プレイヤーの順番を逆回りに変更できる。

これらの特殊カードもゲーム性を高めるほかに、スムーズなゲーム進行のために創作した。



図3 食細胞ボード3種類（直径9cm）

2-4 机に置くボード・カード・アイテム

○食細胞ボード（5枚）：直径9cmの丸いボード。単球、マクロファージ、樹状細胞の3種類のボードがある（図3）。食細胞ボードの外周には、7～0の数字と0の所には認識と表記されている。この外周に沿ってカウントダウン（CD）チップを動かす。

3種類の食細胞ボードにゲーム上での違いはない。このボード3～5枚をゲーム最初にテーブル中央に置くことでゲームの場を形成することにした。食細胞ボードを何枚置くかはゲーム最初に話し合いで決めることにした。

○病原体カード（9枚）：病原体はマイコプラズマ、グラム陽性細菌、グラム陰性細菌、真菌、ウイルスの5種類（図4）、異なる認識可能ポイントが表記された合計9枚のカード。各カード左上に認識可能ポイントの表示がある。それぞれの病原体がもつ保存された構成成分は表1で確認する。

病原体カードは、TLRカードと同じサイズであるが、TLRカードとは別の山札として利用する。そこでゲーム中に混ぜ合わせないように、裏面の絵柄を変えることで区別した。

病原体の写真は、全米微生物学会ASM MicroLibrary (<http://www.microbelibrary.org/>) より引用した。教育目的として使用申請を行うことで、フリー著作権としての使用を得た。マイコプラズマの写真は上記のサイトになかったため、イラストで代用した。病原体の構成成分の分子構造は、TLRと同様RCSB Protein Data Bankからダウンロードして制作したものほかに、データベースに無い構造に関しては分子構造を参考にIllustratorで描いた。

○カウントダウン（CD）チップ：直径2cmの丸いチップ。5ポイント（4枚）、6ポイント（4枚）、7ポイント（4枚）、-1ポイント（12枚）。食細胞ボードの外周に沿って動かすことで、認識までの残りポイントを表示する役割をもつ。

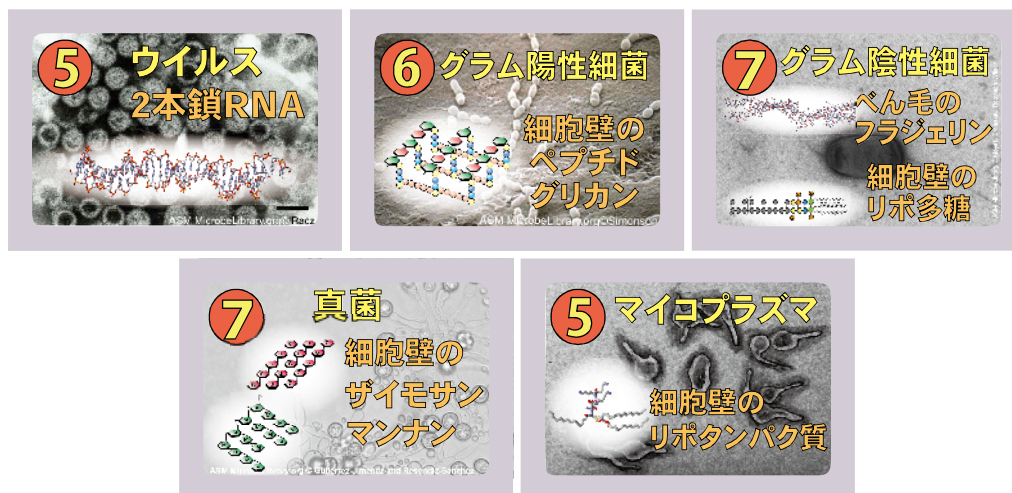


図4 写真と分子構造を組み合わせて制作された病原体カード

3. ゲームの概要

それぞれのプレイヤーは自分の手番に、手札から2枚のTLRカードをTLRダイマーとして食細胞上の病原体の横に提示する。このとき、病原体に対応したTLRダイマーを提示しなければならない。TLRダイマーによる認識力は基本2ポイントとする。病原体にはそれぞれ認識可能ポイントがあり、認識力の合計ポイントが認識可能ポイントを上回ったとき、最後のカードを提示したプ

プレイヤーが病原体の認識可能ポイントを獲得することができる。例えば、認識可能ポイント5をもつウイルスの2本鎖RNAがマクロファージ上に提示された場合を考える（図5）。プレイヤー①がTLR3・TLR3のペアを提示してポイントを5から3へ減らし、プレイヤー②も同様のカードペアを提示しポイントを3から1へ減らした。最後にプレイヤー③も同様のカードペアを提示してポイントを0まで減らした。認識可能ポイントが0になると同時にその病原体は排除され、プレイヤー③が5ポイントを獲得することになる。つまり最後のカードを誰が提示するかにかかってくる訳である。最終的に得点の一番高いプレイヤーが勝ちとなる。特殊カードもあるので、さまざまな駆け引きが必要となるゲームとなっている。

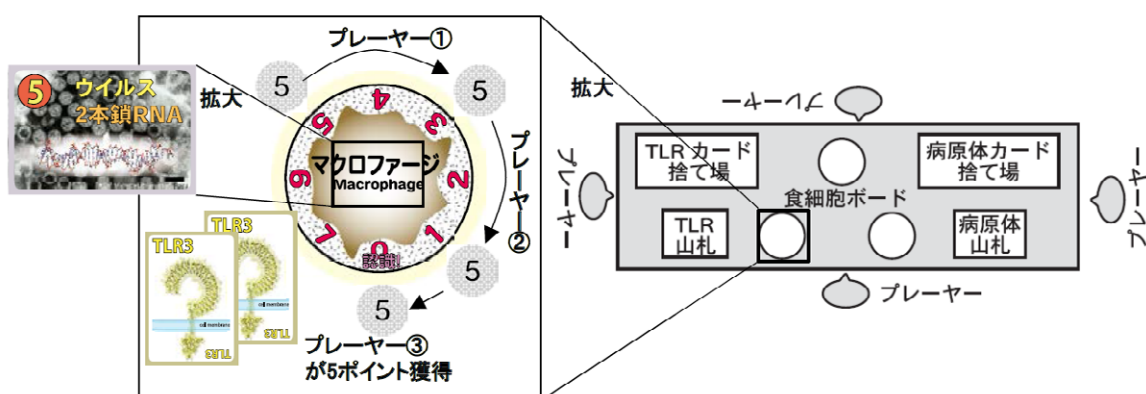


図5 TLRカードゲームの配置とウイルス2本鎖RNAをマクロファージが認識するまでのゲーム展開例

表1. TLR 対応表

認識できる病原体の構成成分		TLRダイマー					
マイコプラズマ	細胞壁のリポタンパク質	TLR1	TLR2				
グラム陽性細菌	細胞壁のペプチドグリカン						
グラム陽性細菌	細胞壁のペプチドグリカン		TLR2				
マイコプラズマ	細胞壁のリポタンパク質		TLR2				TLR6
真菌	細胞壁のザイモサン						
ウイルス	2本鎖RNA			TLR3			
グラム陰性菌	細胞壁のリポ多糖			TLR4			
真菌	細胞壁のマンナン				TLR4		
グラム陰性菌	べん毛のフラジェリン					TLR5	
						TLR5	

※グラム陰性細菌にはリポ多糖とフラジェリン、真菌にはザイモサンとマンナンのどちらでも認識可能です。

表1 TLR対応表 各プレイヤーはテーブル横に置き、対応関係を確認しながらゲームを進める。

4. ゲームの開始

- ①図5右のゲームの配置のように、食細胞ボードをテーブル中央に複数置く。プレイヤーの人数より1枚少ない枚数がよい。
- ②TLRカードと特殊カードをよく切って裏にしたままプレイヤーに5枚ずつ配る。これが手札となる。

る。残ったカードは裏向きにしてTLR山札に置く。

- ③病原体カード9枚をよく切って、裏にしたまま病原体山札に置く。
- ④病原体山札から病原体カード引き、それぞれの食細胞ボードの中央に1枚ずつ置く。
- ⑤病原体カードには認識可能ポイントが表示されている。ポイントが同じカウントダウンCDチップを食細胞ボードの外周の数字上に配置する。
- ⑥全員でじゃんけんをし、負けたプレイヤーから時計回りでゲームを進める。
- ⑦配置された病原体と表1を照らし合わせて、手札2枚でTLRダイマーをつくり、いずれか1つの病原体の横に提示し、病原体の認識可能ポイントを下げる。基本は2ポイント（攻撃力アップカードを付加する場合は3ポイント）になる。CDチップを動かす。
- ⑧TLR山札からカード2枚を引く。特殊カードを加えて3枚のカードを出した場合でも、山札からは必ず2枚しかカードを引くことはできない。
- ⑨自分のターンは終わり。左隣のプレイヤーに手番が移る。

⑦の選択肢として主に以下の3つがある（図6）。

（ア）TLRダイマーを提示し、病原体の認識可能ポイントを減少 → CDチップを例えば5から3へ移動させた後、次のプレイヤーへ。

（イ）TLRダイマーを提示し、CDチップが0に到達 → CDチップを獲得し、自分の得点とする。病原体カードとその周囲のTLRカードをそれぞれの捨て場に捨て、新しい病原体カードを食細胞上にセットする。

（ウ）TLRダイマーを作れない、あるいは提示できない。 → -1ポイントのCDチップを獲得し、自分の得点（減点）とする。

※-1ポイントのCDチップは3個まで。4個目でゲームの続行は不可となる。この時点までの得点が自分の得点となり、他のプレイヤーのゲームが終わるのを待つ。

- ⑩病原体カード9枚をすべて排除できれば終わり。

合計得点を集計し、最終的に得点の高いプレイヤーが勝ちとなる。なお、TLR山札がなくなっ

自分の手番

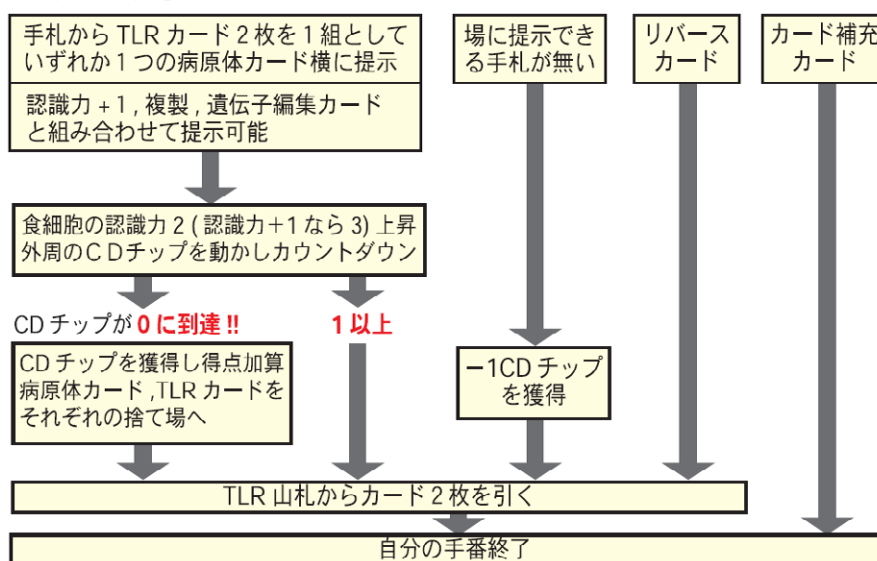


図6 TLRゲームのフローチャート TLR対応表の裏面に表示されており自分の手番での選択肢を確認しながらゲームを進める。

たら、捨て札をよく切って、再度山札として使用すること。

5. TLRカードゲームの実践事例

2015年3月にさいたま市立高校の1、2年生30名を対象に授業実践を行った。これは申請者が毎年行っている課外授業の中で行ったものである。対象の高校生は、すでに生物基礎の免疫の単元は学習済みであるものの、生物の免疫の単元は3年次に行う予定であった。そのため、自然免疫のしくみは学んだものの、TLR等の免疫に関する分子や遺伝子については知らない状況であった。

5-1 本授業の目標

TLRカードゲームを通して下記の要点を理解することを目標とした。

自然免疫では、マクロファージなどの食細胞が病原体を貪食し排除する。

細菌やウイルスなどの病原体は保存された分子パターンを持っている。

病原体が排除されるためには、TLRがこの分子パターンを識別する必要がある。

TLRがダイマーを作ることによって、異なる分子パターンを認識する。

少ないTLRの組み合わせで、ほぼすべての種類の病原体を認識することができる。

5-2 実施内容

学習活動	教員の活動及び指導上の留意点	時間
生物基礎で学習した自然免疫の内容を振り返った。 講義を聞き、プリントに書き込みを行った。	プリントを配布し、パワーポイントを用いてTLRカードゲームの背景を説明した。 (説明内容) 1. 教科書の免疫の内容について 2. TLRの発見とノーベル賞 3. TLRの分子構造の特徴について 4. TLRカードゲームのやり方 (アニメーション付)	15分
4名ずつでグループになり、TLRカードゲームの取説書を各自で読んだ。	グループ割りをスムーズに行い、1グループに1つゲームを配布した。	5分
TLRカードゲームのカードをチェックし、ゲームを開始した。	机間巡視を行い、ゲームの手順やカードの並べ方に間違いがないかをチェックした。戸惑う生徒へは声掛けをした。	35分
カードゲームの片づけ、アンケートを記入した。	片づけの指示とアンケートを回収した。	5分

5-3 アンケート結果

5-2で示した授業実践後、授業や教材に関するアンケートを実施した。生徒は下記の(A)～(E)までの5つの質問事項に対して、「4:とてもそう思う、3:そう思う、2:あまりそう思わない、1:そう思わない」の4件法で回答してもらった。次に感想や意見を自由に書いてもらった。結果を下

図に示す。

(A) TLRカードゲームに興味を持てた。	4	3	2	1
(B) 食作用がどのように起こるか理解できた。	4	3	2	1
(C) トル様受容体の異物認識を理解できた。	4	3	2	1
(D) これまでに学習したことをより理解することができた。	4	3	2	1
(E) 免疫の内容に今までよりも興味がわいた。	4	3	2	1

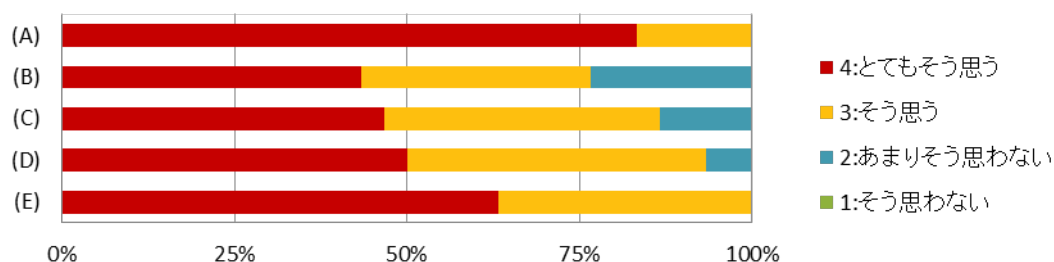


図7 TLRカードゲーム試行後に行った高校生へのアンケート結果

「TLRカードゲームに興味を持てた」に、肯定的な生徒は30名全員であった。実践者として、生徒の様子を観察した時も、意欲的に取り組んでいる姿を確認することができた。その一方で、食作用やTLRのしくみについての理解は、このゲームだけでは不完全であることが示された。予備知識を丁寧に教えること、かつ振り返りの授業を行うことが課題となった。次に、「免疫の内容に今までよりも興味がわいた」に肯定的な生徒は、30名全員であった。TLRはいまだ学習していない内容であったが、TLRカードゲームが免疫学への興味や学習意欲を高めるのに有効であることが示された。

5-4 生徒の感想や意見

- ・TLRカードゲームは実際にやってみると、頭を使うのでおもしろかったです。
- ・トル様受容体の形が印象深く残りました。
- ・病原体の構成成分を気軽に言うことができたので身近に感じました。
- ・TLRカードゲームを欲しいと思った。家に持って帰りたい。

といった肯定的な意見の他に、

- ・ゲームのやり方がだんだんわかってきて楽しかったけど、免疫との関係がイマイチわからなかった。
- ・ゲームは初めてこずったが、余裕がでてくれば免疫について理解しながら楽しめると思う。

といった否定的な意見もあった。楽しいだけの教材にしない工夫が今後の課題となった。

6. まとめ

トル様受容体 (TLR) は自然免疫において、病原体を認識するセンサーとして働き、TLRの2分子の組み合わせによって異なる病原体の分子パターンを認識することができる。2012年より改訂された高等学校生物の教科書には、病原体を認識する自然免疫のしくみとしてTLRの分子機構が掲載された。そこで本研究では、このTLRを介した自然免疫の異物識別機構を、楽しく疑似体験学習できるカードゲーム教材を開発した。TLRカードゲームと命名したこの教材は、3～5人

がテーブルを囲んで行う対戦型であり、テーブルには食細胞ボードとその上にさまざまな病原体カードが配置される。プレイヤーは病原体の分子パターンに対応したTLRダイマーを、手札から選んで提示する。病原体の分子パターンを認識してポイントを稼ぎ、ポイント数を競うゲームとなっている。開発したTLRカードゲームを高校生対象の課外授業において実践し、その効果を調べた。すべての生徒がTLRカードゲームに興味を持ち、かつ免疫学に対する興味もわいたと答えた。しかしゲームと免疫のしくみとが繋がらないと答えた生徒もいた。TLRカードゲームは、生徒の興味を引くためには有用であるが、ゲームの開始前にいかにTLRのしくみを説明するかが大切であることが分かった。楽しいだけの教材にしないための工夫が今後の課題となった。

謝辞

本研究は科学研究費補助金基盤研究 (C) (課題番号 26350225) の助成を受けて行われた。また、2012年から2014年まで合計150名の埼玉大学教育学部理科専修の学生にTLRカードゲームを試行してもらい、感想やコメントをいただくことでゲームに改良を加え、完成させることができた。教材の実践と効果の検証にあたっては、さいたま市立浦和南高校池田恭輔教諭にお世話になった。ここに謝意を表す。

引用文献

- 1) 古川亮平 (2009) 「ヒトデ幼生に探るマクロファージのご先祖 ①メチニコフの発見から100年」 ミクروسコピア 26(1) pp.9-16
- 2) 古川亮平 (2009) 「ヒトデ幼生に探るマクロファージのご先祖 ②自己と非自己をさかのぼって考える」 ミクروسコピア 26(2) pp.14-18
- 3) 松本美佐子、瀬谷司 (2009) 「Toll様受容体の機能」 生化学 81(3) pp.156-164
- 4) Akia S., Uematsu S., Takeuchi O. (2006) Pathogen Recognition and Innate Immunity. Cell 124(4) pp.783-801
- 5) Rast J.P., Smith L.C., Loza-Coll M., Hibino T., Litman G.W. (2006) Genomic insights into the immune system of the sea urchin. SCIENCE 314 (5801), pp.952-956
- 6) 浅島誠、他 (2013) 「生物」東京書籍 pp. 28-31
- 7) 吉里勝利、他 (2013) 「高等学校 生物」第一学習社 pp.56-60
- 8) 長野敬、牛木辰男、他 (2013) 「サイエンスビュー生物総合資料」実教出版 pp.196-197
- 9) Rose P.W., Beran B., Bi C. et al. (2010) The RCSB Protein Data Bank: redesigned web site and web services. Nucleic Acids Res. 39 pp.D392-401
- 10) Kinoshita K., Nakamura H. (2004) eF-site and PDBjViewer: database and viewer for protein functional sites. Bioinformatics 20 pp.1329-1330

(2016年3月31日提出)

(2016年5月10日受理)

TLR Card Game: Developed for Understanding Pathogen Recognition by the Innate Immune System

HIBINO, Taku

Faculty of Education, Saitama University

Abstract

Toll-like receptors (TLRs) are protein sensors located on immune cells, which function as pathogen recognition by the innate immune system. These TLRs form a homodimer or a heterodimer, which recognizes distinct pathogen-associated molecular patterns. The explanation of the TLRs and their function have been introduced on Japanese biological textbooks for high school students since 2012. Here, I developed a card game, TLR Card Game, as an educational material for understanding the mechanism of the innate pathogen recognition. The TLR Card Game is for multiplayer who are surrounding a table where several pairs of a phagocytic cell board and a pathogen card are set. Each player has to present two TLR cards from his own hand in his turn, making a TLR dimer corresponding to a pathogen card presenting on the table. When a TLR card-pair is presented correctly, a player can get several points, and the player with highest points finally gets win. The TLR Card Game was carried out in an extracurricular class of a high school in Saitama City. The effectiveness of the game was assessed by open- and close-ended questionnaires for 30 students. All the students got interested in the TLR Card Game and its immunology. Some students, however, answered that the game and the immune mechanism were not much linked in their thought. The TLR Card Game is considered useful for students attracted towards immunology, but the instructions before use needed to be improved.

Keywords: Toll-like receptors, TLR, innate immunity, biological education