

第5章 謎解きの生命科学：偶然の発見からの出発

深水昭吉

筑波大学生命領域学際研究センター

生命環境系教授

5.1 はじめに

《2003年4月7日、科学省精密機械局で「鉄腕アトム」が誕生した》：これは手塚治虫作の劇画「鉄腕アトム」の始まり的一幕である。今から50年以上前に、手塚治虫氏はアトムに附した科学技術力に未来の夢を託し、1952年（私が生まれる7年前）に連載を始めた。多くの私達の世代（もしかしたら、読者のご両親の世代）は、作者のとてつもなく大きいスケールの創造力に圧倒されながらも、その独創性に魅了されたのではないだろうか？放映された鉄腕アトムを、テレビにかじりついて見ていた記憶が甦る。

手塚治虫氏の発想力は、科学の世界のさまざまな分野で活躍する若者に、大きな影響を与えてきたと言っても過言ではない。事実、ロボット科学の世界でも、当時の子供が大人になり、「鉄腕アトム」を作るんだと研究している研究者もおり、21世紀に想いを馳せた手塚治虫氏の卓越した想像力はいまだ新鮮だ。

一方、40年以上前にイギリス人ジェリー・アンダーソンによって作製された「国際救助隊サンダーバード（1965年放映開始）」は、最近やっと現実味を帯びてきた宇宙ステーション開発を遙かに先取りし、世界平和を望む夢と希望が満載されていた。想定された時代は実に2065年、当時から100年後の地球を舞台にしており、制作者の構想力の壮大さと先見性・見識に改めて驚かされる。私は、この2つの科学空想ドラマに影響を受けながら、小学生時代を過ごしたのである。

このように、当時は“空想”であった「鉄腕アトム」と「国際救助隊サンダーバード」の二つのストーリーは、ともに現実化しつつある。科学には大きな夢と希望があり、21世紀になった現在も、新しい科学の幕開けとなる出来事が様々な研究領域で起きている。

さて、私は、筑波大学の6期生（農林学類としては5期生）だが、斬新な組織を持ち新

しい科学技術を開拓しようとする、研究学園都市に位置する筑波大学に憧れて、北海道から上京した。今でこそ、つくばエクスプレスで秋葉原から45分で、整然と開発された「研究学園都市・つくば」に到着するが、当時（1979年）は上野から1時間半かけて常磐線土浦駅に降り立ち、さらにバスで45分かけて筑波大学に着くという道程だった。政令指定都市札幌との大きな違いに、さすがに驚いたものだった。

5.2 宿舎生活

1979年3月に札幌から上京し、いよいよつくばでの寮生活が始まった。当時、私の高校（北海道立札幌月寒高校）から内地（北海道民は本州をこのように呼ぶ）の国公立大学に進学する人はほとんどいなかった。道内への進学者はとても多いが、津軽海峡を越えて、内地に進学させる親もいなかったのである。ましてや、私が筑波大学に入学した時点では、月寒高校出身の在學生は私一人だったと思う。その後、10年以上経ち、後輩が何名か入学してきたが、それでも筑波大学への進学者は大変少ない高校だった。

多少の不安を抱きながら、まだ肌寒い宿舎に入居した。冷蔵庫（アイスクリームが保存できる冷凍庫は付いていないが、後で大きな力を発揮することになる：「5.10 研究室について」参照）、ラジオ、布団を買い入れ、いよいよ一人暮らしの始まりだ。私が入寮したのは、「一の矢宿舎一号棟」で、筑波大学の最も北側に位置する、しかし、一番新しい宿舎だった。各階10名分10部屋があり、トイレは共用、自炊できる共用スペースが作られていた。一ヶ月7,000円程度の宿舎費は、親孝行価格だった。

さて、10名を紹介しよう。A君（人間学類）、H君（農林学類：現 生物資源学類）、H君（農林学類）、N君（基礎工学類）、N君（基礎工学類）、N君（基礎工学類）、N君（基礎工学類）、T君（生物学類）、Y君（農林学類）、そして私だった。H君、H君とY君は私と同じ学類だが、それぞれ鹿児島、横浜と長崎出身だ。学類所属も出身地もまちまちだが、とても個性豊かな集団だった。

◎エピソード1：北海道出身なのに・・・

入居した途端に風邪を引いた。周りの友人は、北海道出身なのに・・・と不思議がった。北海道の生活を知らないので仕方がないが、暖房の完備・完成度は、宿舎（および関東の住宅）とは比べものにならない。

まず、北海道の住宅の基本は、窓は二重だ。玄関も前室があり、直接寒風が入らないよう工夫されている。しかも、ストーブは24時間点けている。灯油を切らさないため、屋外に設置されている灯油タンクから供給されるようになっている。寒さを凌ぐための驚きの仕組みだ。さらに、水道が凍らないように蛇口を少しだけひねって水を出しておくなど、いろいろなところに生活の知恵が生きている。そんな冬を過ごしてきたので、コタツや電気ストーブは暖房といえるものではないというのが正直な感想だった。

◎エピソード2：履修申請がわからない・・・

入学式が終わると、いよいよ講義の始まりだ。講義を受講して単位を得るためには、履修申請をしなければならない。しかし、先にお話ししたように同窓の先輩がいないため、どの講義をどのように受講したらよいのか良くわからなかった。現在では、各教員の講義の内容とか評判とか、ネット上で学生さん達が情報交換しているかも知れないが、私達の時は、インターネットなどは無いので、先輩だけが頼りだった。そこで、社交術を発揮し、宿舎の友人が先輩から仕入れた情報を入手するという方法で、苦戦苦闘の末、なんとか履修申請を済ませたのである。

◎エピソード3：やどかり祭

履修申請が終わると、「やどかり祭」の季節だ。筑波大学の宿舎は、私が入居した一の矢宿舎のほかに、追い越し宿舎と平砂宿舎の大集団がある。もともと筑波大学の寮は、この2つの宿舎からスタートしたので、一の矢は一番新しい宿舎だった。

毎年5月には、各学類が競って企画を披露する“宿舍祭”として「やどかり祭」が開催される。筑波大学の先輩達が名付けたのかも知れないが、宿舍生活を送る学生達のお祭りなので、“やどかり祭”の命名は素晴らしい。先輩・後輩が学類やサークルを超えて交流する「場」としても、また、私のような同窓の先輩が少ない学生にとっては、新しい友人を見つける重要なイベントだった。

◎エピソード4：友人の有り難さ

私は、多くの良き先輩や友人に恵まれ、とても楽しいキャンパスライフを過ごしていた。しかし、大学3年生の時、父が急死した。急性心不全だった。今では、携帯電話やメールですぐに連絡が取れるところだが、1982年当時はそんな道具は全くない。電報で訃報が知らされ、雪の降る直前の札幌に急ぎ帰省した。私が22才の時だった。

驚いたことに、葬儀終了直後に、筑波大学の同級生のO君とU君から自宅に電話が掛かってきた。「今、札幌駅にいる」とのこと……。札幌駅まで迎えに行くと、コートも着ずに、二人で震えながら駅に立っていた。自宅に連れて帰り、話を聞くと、大学で私の父のことを知らされ、居ても立ってもいられず、何も持たずに二人で列車に飛び乗って来たということだった。二日後、つくばでの再会を約束して、雪の降る札幌駅で二人を見送った。良き友人に恵まれることの有り難さを身に染みて体験した。

◎エピソード5：社会の厳しさ

翌年4年生に進級し、恩師となる村上和雄先生の研究室に入れていただき卒業研究に取り組むことになった。卒業後には大学院の農学研究科に進学しようと考え、8月に行われる大学院の入学試験を受験した。試験には、筆記と面接がある。筆記試験の内容が悪かったことはわかっていたが、面接試験で思わぬハプニングが発生した。ある面接官の先生が、「君はお父さんが亡くなっているのだから、生活が大変だろう。大学院へ行かずに、社会

に出たらどうだ」とおっしゃったのだ。筆記試験の成績不良と相まってあえなく撃沈、不合格だった。しかし、修士課程・環境科学研究科に入れていただき、2年後に修士号を取得することが出来た。有難かった。

面接官の先生の予想もしない、大変インパクトのある投げ掛けではあったが、社会の厳しさを教えていただいたことに今でも感謝している。

さて、ここからは、筑波大学大学院で研究し、その後も多くの先生方にご指導いただき、共同研究者の方々と取り組んできた「命」の仕組みに関する“謎解き”に触れながら、生命科学の面白さを述べてみたいと思う。

5.3 DNA という「命」の継承物質

「命」の継承性の基本は、DNA という遺伝情報物質だ。「命」の仕組み・原理と、それを用いた技術を語る時に、DNA についての知識はとても重要になる。詳細は、西村暹先生（第1章 RNA からがん研究へ）と第2章の富田耕造先生の解説によって述べられているので、本稿では、必要なポイントについてお話ししておこう。

まず、私が大学院で研究を行う際に勉強した材料が、「ネイチャー」誌に掲載された下記の論文だ。著者は、大変高名なワトソン博士とクリック博士である。インターネットでダウンロード可能なので、是非一度目を通して見て欲しい。また、彼らの著書が幾つも和訳されているので、こちらも一読をお勧めする。当時の生命の謎解きの興奮の一端が伝わってくる名著ばかりである。

「MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS-A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid」
James D. Watson & Francis Crick Nature 171, 737-738 (1953)

論文のタイトルは、「核酸の分子構造」というものだ。1962年にノーベル賞を受賞する論文となるものだが、彼らの世紀の論文の書き出しは極めてシンプルで、わかりやすい英

語である。

『We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D. N. A.). This salt structure has novel features which are of considerable biological interest.』

この論文は2ページにまたがるが、基本的にはたった1ページの論文である。中学生・高校生には、多少わかりにくい部分もあるかも知れないが、現在教科書に掲載されているDNAの2重らせん構造の解明と、その構造の持つ基本的な生物学的意義が示唆されている。

では、『considerable biological interest』とは何だろうか？ 幾つか重要な点があるが、「謎解きの生命科学」の理解には、下記の4点を頭に入れていただくと良いと思う。

[1] DNAは化学的に安定な物質である。

[2] DNAの構成物質であるアデニン (A)、チミン (T)、グアニン (G)、シトシン (C) は、人間はもちろん、サル、マウス、ラット、ハエ、線虫、酵母、大腸菌をはじめ、あらゆる生物が同じ4文字で遺伝情報を作り上げている。

[3] DNAは、自分自身をコピー (=複製) することができる。A-T、G-Cが対になる二重らせん構造は、化学的性質上、複製するのに適している。

[4] アミノ酸をコードするトリプレットコドンは、あらゆる生物で基本的に同じ原理でタンパク質を作る。

5.4 ヒト遺伝子をマウスで発現

①遺伝子情報の発現

生命活動を行うための基本物質の一つが、タンパク質であることはご存知だろう。そして、このタンパク質はアミノ酸が連結することによって作り出され、この時のアミノ酸の並び方は、遺伝子 DNA から読み取られる mRNA の情報によって規定されている。DNA の情報が読み取られて mRNA になるプロセスを「転写」、mRNA からタンパク質になるプロセスを「翻訳」という。このタンパク質を作り出すための設計図を読み取る情報の流れは、“生物のセントラルドグマ”とも呼ばれていて、ヒトやマウスなどの真核生物にとっても大切な共通原理の一つである。

遺伝子を“特定のタンパク質を作り上げるための設計図”という定義だけに限った場合、遺伝子領域はゲノム全体で何%程度かご存知だろうか？ 何と、数%の占有率にしか過ぎないのだ。では、残りの 95%以上のゲノム DNA は、何をしているのだろうか？ この答えを探す研究は、世界で精力的に行われている。つまり、「遺伝子とは何か？」という根本的な疑問を解き明かそうとするもので、とても面白い研究領域に発展している。

このような研究に重要な情報を与えているのが、ここ 20 年間で遂行されてきたゲノムプロジェクトである。さまざまな生物種のゲノム配列が決定されてきたが、2003 年以降、日本を含む国際チームがヒトゲノムの解読の一区切りを宣言し、遺伝子の数は当初の予想をはるかに下回る約 22,000 程度ではないかと考えられるようになっている。しかし、各遺伝子はどれも同じ時期に、同じ細胞で、同じ量で発現してくるわけではなく、それぞれ特異性を有している。つまり、脳だけで発現する遺伝子もあれば、肝臓だけで発現する遺伝子も存在する。一方で、どの細胞でも発現する遺伝子も存在する。この様な遺伝子発現の特異性が決められているメカニズムの解明は、世界の研究者に注目されている。

どの遺伝子が、“いつ (=時期)”、“どこで (=どの細胞で)”、“どのくらい (=量)” 発現するかによってその特異性が決まる訳であるが、その仕組みには“スイッチ (指令) 情報”が必要な要素となっている。すなわち、タンパク質の設計図情報に加えて、“スイッチ (指令) 情報”としてのプロモーターやエンハンサー (DNA 上の遺伝子のスイッチの役割

を果たす特別な塩基配列)との組み合わせによって、【遺伝子】の“Identity”が規定されている(図1)。

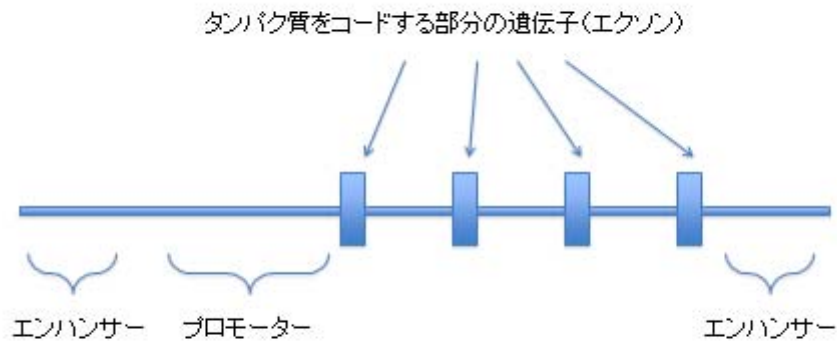


図1 遺伝子のアイデンティティー

少し難しい言い回しだが、遺伝子の役割は、特定のタンパク質を作り上げるための「設計図情報」であると共に、もう一つ重要な「スイッチ情報」も有していることである。この考え方は、ヒト遺伝子をマウスという違う生物で発現させるのに、重要なヒントとなるのだ。

多くの先行研究で、大変素晴らしい研究が沢山なされてきた。例えば、ヒトインスリン(血糖値を下げるホルモン)を大腸菌で作らせるといった、ヒト遺伝子由来のタンパク質を異種生物で産生することなどが成功例である。医学・治療に大きなインパクトを与え、現在でも様々な分野で基本技術は応用され続けている。

②ヒト遺伝子導入マウス

ここで、一旦、ヒト遺伝子の異種生物(特にマウス)での発現を成功させる共通原理を整理してみよう。この原理のうち、特に二つ目の条件が整えば、マウスでヒト遺伝子を発

現させることが可能となる。

- どの生物も遺伝子情報は A、T、G、C から構成されている。
- 遺伝子情報を発現させるスイッチ情報が異種生物で機能する。

少し古い話になるが、先駆的な研究を紹介したい。1983 年、一つのニュースが世界を駆け巡った。それは、『ヒト成長ホルモン遺伝子を導入したマウス（遺伝子導入マウス＝トランスジェニックマウス）が、通常マウスの 2 倍以上に大きくなった』という発表であり、科学界でも大きく取り上げられた。研究者らは、マウスのスイッチ情報（＝肝臓で特異的に機能するプロモーター）をヒト成長ホルモン遺伝子に連結させて、マウスの受精卵にインジェクションし、トランスジェニックマウスを作製したというのだ。この研究の素晴らしさは、以下の 4 点に要約できる。

- マウスのスイッチ情報とヒトの成長ホルモン遺伝子情報を持つ融合遺伝子が、マウス受精卵へのインジェクションによってマウス染色体に挿入された。
- マウスのスイッチ情報とヒトの遺伝子情報が見事に協調して肝臓で発現した。
- ヒト遺伝子由来の mRNA が翻訳され、マウスでヒトタンパク質が産生された。
- ヒト成長ホルモンがマウスに作用した。

この結果、マウスの成長が促進されたのである。これらの研究を発端に、ヒト遺伝子をマウスで発現させ、医学的応用に役立てようという新しい技術革新が訪れた。その後、がん遺伝子やがん抑制遺伝子を発現させたりすることで、治療を見据えた研究も大きく発展してきた。

そこで私達は、血圧調節に関係するヒトの遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製することで、新しい高血圧研究の局面を展開すべく、実験動物中央研究所の勝木元也先生（当時）、野村達次先生の門を叩いた。この研究所は世界をリードする遺伝子改変動物の研究拠点となっており、私達がクローニング（単離）したヒト遺伝子をマウスの受精卵にインジェクションしていただくための共同研究をお願いした。ご快諾いただき、早速

遺伝子導入マウスの作製が始まった。ご指導いただきながら、1987年から遺伝子構築を始め、3年後には、ヒト遺伝子導入マウスが出来上がった。

しかし、ここに大きな波（“激しい競争”と“偶然の発見”）が2つ押し寄せてくるのであるが、その時は知る由もなかった。研究を紹介しながら、いよいよ謎解きに迫りたいと思う。

- ・ 激しい競争 → 完敗
- ・ 偶然の発見 → 研究の新展開

5.5 100年以上の歴史を持つ高血圧研究

①レニン-アンジオテンシン系の発見

生命体（個体）が発生・発達し、成長していくためには、臓器や組織に酸素や栄養を供給することは必要不可欠なプロセスであり、それは血管を流れる血液によって媒介されている。そこで、安定した血行動態を維持するために、様々な生理的調節系が機能しているわけである。しかし、血圧調節系の機能の破綻は、成体においては高血圧の引き金となり、心臓や腎臓といった循環器の疾患の危険因子（リスクファクター）の一つと考えられている。血圧を上昇させる昇圧システムの代表格であり、高血圧の発症・維持に深い関わりを持つとされている酵素・ホルモン系であるレニン-アンジオテンシン系（図2）は、その発見から100年が経過しているが、現在も多くの生物学・医学研究者を魅了し、活発な研究対象となっている。

さて、このレニン-アンジオテンシン系の研究は、1898年に Tigersted らが、ウサギの腎抽出液中に血圧を著しく上昇させる物質が存在することを発見したことから始まる（表1）。1900年代に入り、膨大な生理学的・薬理学的研究が行われ、現在のレニン-アンジオテンシン系に関する知的体系が確立してきた。1930年代には、Goldblattによってイヌの腎動脈を縛る（狭窄）ことによる腎性高血圧実験モデルが成功し、腎臓に起因する高血圧

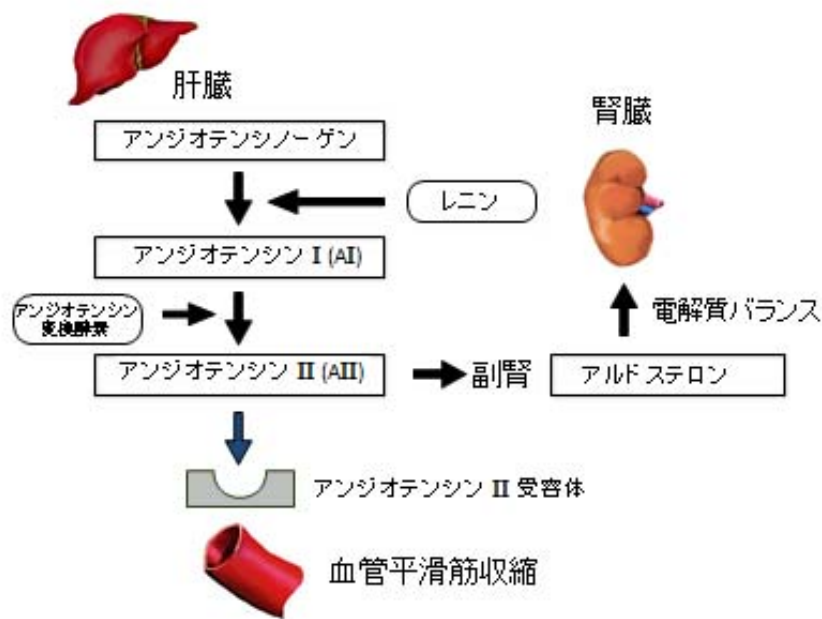


図2 レニン-アンジオテンシン系の働き

のメカニズム解明の歴史的な研究が始まった。その後の研究から、この高血圧の引き金がレニンという酵素であることが村上先生と稲上正先生（村上先生の恩師）によって解明された。さらに、レニンそのものが昇圧効果を持つのではなく、レニンによって切断されて生成するホルモンが昇圧物質であることが明らかにされた。1940年になり、Pageらによって「angiotonin（アンジオトニン）」が、そして Braun-Menendezらによって「hypertensin（ハイパーテンシン）」が血圧上昇ペプチドとして同定された。後年同一物質であることが判明したため、両名を融合する形で血圧上昇物質が「angiotensin（アンジオテンシン）」（1958年）と命名された。また、アンジオテンシンペプチドは、酵素・レニンがその基質・アンジオテンシノーゲン（＝アンジオテンシン II の前駆体）を限定分解することで遊離することが示された。この8個のアミノ酸が連結したアンジオテンシン II というペプチドホルモンが、血管平滑筋に作用して血管収縮作用（血圧上昇）を発揮することも判明したの

である。

さらに、アンジオテンシン II は副腎にも作用してステロイドホルモンであるアルドステロンの分泌を調節し、腎臓での水とナトリウムの再吸収を増加させて体液の貯留を増大させることが明らかにされた。このような生理作用から、レニン-アンジオテンシン系の高血圧発症への関与が議論されてきたのである。

表 1 レニン-アンジオテンシン系の研究の歴史

年	研究
1898	Tigersted らによるウサギの腎臓抽出物による血圧実験
1930～	Goldblatt によるイヌを用いた高血圧実験モデルの成功
1940～	Page らによる angiotonin (アンジオトニン) の同定 Braun-Menendez らによる hypertensin (ハイパーテンシン) の同定
1958～	angiotonin と hypertensin は同一物質 → angiotensin と命名
1958～	angiotonin と hypertensin は同一物質 → angiotensin と命名

②レニン-アンジオテンシン系の働き

1960～1980年代は、レニン-アンジオテンシン系の生化学の時代の到来だ。すなわち、酵素・レニンやその基質・アンジオテンシノーゲン (=アンジオテンシン II の前駆体) のタンパク質精製が行われた。1980年代に入り、遺伝子工学が応用されて、レニンやアンジオテンシノーゲンの遺伝子が単離 (=クローニング) されるようになり、1990年代にはレニン-アンジオテンシン系の遺伝子変異と高血圧の研究が精力的に行われた。代表的なものは、1992年に Jeunemaitre らによって「セル」誌に発表されたヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子変異と本態性高血圧との分子レベルの研究についての論文である。その後、ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子変異と妊娠高血圧との関連も言及された。

ここで、レニン-アンジオテンシン系の中心となる登場人物を紹介しておきたい。レニン

は、主に腎臓の傍糸球体細胞（腎細胞の約 0.1%の含量）で生合成されて血中に放出されるアスパルチル（酸性）プロテアーゼであり、肝臓で生合成されるアンジオテンシノーゲンに作用して、10個のアミノ酸が連結したペプチドであるアンジオテンシンIを遊離する。生理的には不活性と考えられるアンジオテンシン I は、肺でアンジオテンシン変換酵素（ACE）によって8個のアミノ酸が連結したペプチドから成るアンジオテンシン II に変換される（図2）。アンジオテンシン II は、世界最強の血管収縮ペプチドの一つで、高血圧発症に深く関与すると考えられている。

上述のような酵素-基質を中心としたレニン-アンジオテンシン系の構成因子に、新たにアンジオテンシン II 受容体に加えられた。1991年～1993年にわたりアンジオテンシン II 受容体の遺伝子が発見（クローニング）され、7回膜貫通型タンパク質のファミリーに属することがわかってきた。興味深いことに、この受容体には薬理学的な作用の違いから1型（AT1a, AT1b）と2型（AT2）というサブタイプ（1型と2型の構造の相同性は30%程度）が存在することが明らかになった。未だ沢山の不明な点が残されているが、受容体の AT1 と AT2 のシグナル伝達を介した作用は、血管平滑筋の増殖やアポトーシスの誘導において相互に拮抗的（=互いに抑制的）に働いているという議論もされている。このように、アンジオテンシン情報伝達系は、アンジオテンシン II という一つのリガンド（=ホルモン）に対して複数の受容体サブタイプがあり、それらの細胞内シグナル系がクロストーク（=相互作用）して作用する可能性がある、大変興味深い機能を有している。以上のように、レニン-アンジオテンシン系は、アンジオテンシンペプチドを生成し、その上で多彩な生理作用を発揮する、複雑な分子ネットワークから構成される酵素・ホルモン・受容体シグナル伝達系なのである。

1990年代に入り、マウスを中心とした動物に遺伝子を注入してトランスジェニックモデルを作製する発生工学的手法が大きく取り上げられて、レニン-アンジオテンシン系の個体レベルの研究が大きく進展することとなる。シャーレ上で培養する細胞（=in vitro:イ

ン ビトロ) を用いて、アンジオテンシン II を産生する多様な遺伝子が長年に渡り研究されてきたが、『シャーレの中の培養細胞では、血圧を測定することはできない』ことに気づき、レニン-アンジオテンシン系の機能を生物個体で研究する時代に突入した。

5.6 “つくば高血圧マウス”の誕生

ヒトの病気の中では希なものであるが、レニン産生（傍糸球体細胞）腫瘍は、2次性高血圧症の原因の一つとして知られている。これは、レニンが血中に大量に放出されて循環中のレニン-アンジオテンシン系が活性化された結果によると考えられている。事実、多くの場合、この腫瘍を摘出すれば血圧は低下する。すなわち、レニンが過剰発現すると高血圧になることは臨床的に理解されていた。

このような背景から、私達は発生工学的手法を用いてレニン-アンジオテンシン系の個体機能を調べる手始めとして、構成因子、すなわちレニンやアンジオテンシノーゲンなどを過剰産生させることを考えた。そこで、将来、ヒトの病気とも結びつけられる可能性を込めて、ヒト・レニン-アンジオテンシン系の“機能的再構築”をマウスの中で試みることにした（図3）。

さて、遺伝子を導入する生物（=宿主）であるマウスにマウス本来のレニン-アンジオテンシン系が備わっているにもかかわらず、何故わざわざ外来性のレニン-アンジオテンシン系の構成遺伝子を導入してその機能を調べるのが可能なのか？ それは、次のような動物種間におけるレニン-アンジオテンシン系の〔酵素-基質の反応性の違い〕をトリックとして利用しているからである。それについて説明しよう。

酵素・レニンとその基質・アンジオテンシノーゲンの反応には、驚くほど厳密な種特異性が存在することが示唆されている。例えば、マウスレニンはラットアンジオテンシノーゲンと非常によく反応するが、ラットレニンはマウスアンジオテンシノーゲンとほとんど反応しない。また、ヒトレニンはマウスアンジオテンシノーゲンと、さらにヒトアンジオ

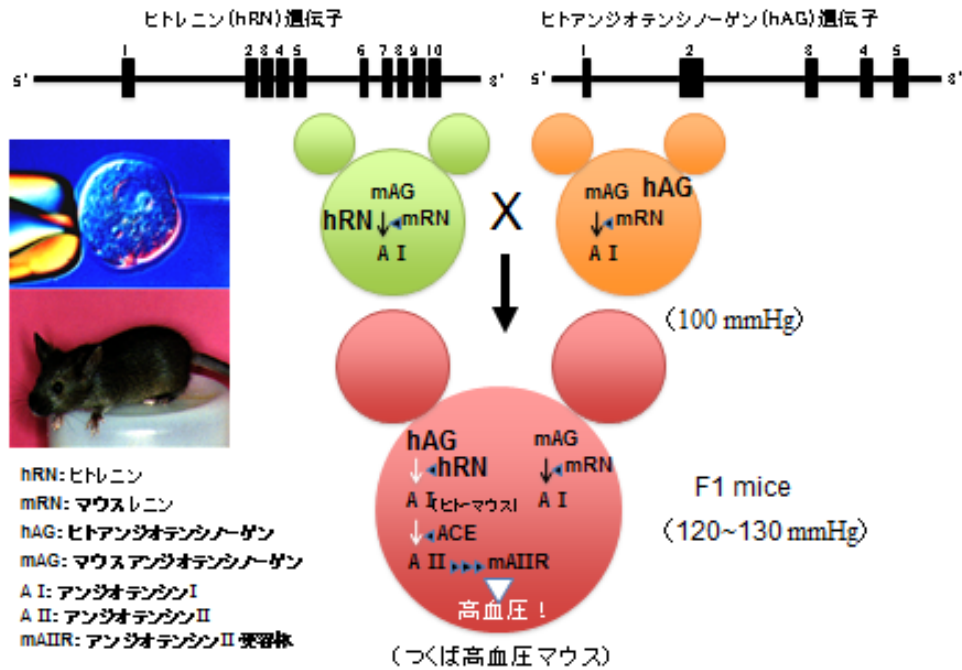


図3 ヒト・レニン-アンジオテンシン系を持つ遺伝子導入マウス

テンシノーゲンはマウスレニンと *in vitro* (試験管内実験) ではきわめて反応性が低いことが以前からわかっていた。

そこで、私達は、特にヒト遺伝子とマウスの組み合わせについて、酵素-基質の反応性を *in vitro* で詳細に検討することにした。まず、精製したマウスレニンと精製した組み替え型ヒトレニンを用い、合成基質 (ヒトアンジオテンシノーゲン類似) であるヒト型トリデカペプチド (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His) と反応させた場合と、組み替え型ヒトアンジオテンシノーゲンと反応させた場合で酵素速度論的 (=反応性の) 解析を行った。その結果、マウスレニンとヒトレニンは合成基質に対して同様の反応性を示したが、ヒトアンジオテンシノーゲンに対しては、マウスレニンはヒトレニンよりも反応性が顕著に低いことが判明した。

酵素-基質の反応性に、なぜこのような種特異性が存在するのだろうか? 酵素と基質は、

よく「鍵：key (=基質)」と「錠：lock (=酵素)」の関係に例えられる。つまり、見た目の構造は似ていても、少しでもkeyの構造が違うと、lockを開けることが出来ない。この観点から言うと、基質・ヒトアンジオテンシノーゲン (key) は酵素・ヒトレニン (lock) と反応し、基質・マウスアンジオテンシノーゲン (key) は酵素・マウスレニン (lock) だけと反応する。しかし、ヒトアンジオテンシノーゲンとマウスアンジオテンシノーゲンの構造は少しだけ違うので、ヒトレニンはマウスアンジオテンシノーゲンに作用しない。

ここで、このような酵素-基質の種特異性を踏まえて、トランスジェニックマウスの結果をお話しする前に、ヒト遺伝子をマウスで発現させた場合、どのようなことが期待されるかをまとめてみよう。(図4)



図4 酵素・レニンと基質・アンジオテンシノーゲンの種特異的反応性

1. ヒトレニンはマウスアンジオテンシノーゲンに作用しないため、アンジオテンシン I を産生しない。従って、ヒトレニンが過剰発現するヒトレニン遺伝子導入マウスは高血圧にならず、血圧は正常の範囲である。
2. ヒトアンジオテンシノーゲンはマウスレニンに作用しないため、アンジオテンシン I を

産生しない。従って、ヒトアンジオテンシノーゲンが過剰発現するヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスは高血圧にならず、血圧は正常の範囲である。

3. 血圧が正常範囲であるヒトレニン遺伝子導入マウスとヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスを交配して生まれてくる仔マウスは、両親からヒトレニン遺伝子とヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子を受け継ぐので、体内でヒトレニンとヒトアンジオテンシノーゲンが反応し、アンジオテンシン I が産生される。産生されたアンジオテンシン I のアミノ酸配列 (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu) はマウス由来でもヒト由来でも同じ配列なので、マウスのアンジオテンシン変換酵素 (ACE) によって強力な血管収縮ペプチド・アンジオテンシン II に変換される。その結果、2つのヒト遺伝子を持った仔マウスは高血圧になる。

次に実際、酵素-基質の種特異的な反応性に基づいて、C57BL/6 というタイプのマウスを宿主としてヒトレニン遺伝子を持つトランスジェニックマウスを作出した。ヒトレニン遺伝子は、3 kb (3000 ヌクレオチド鎖) のヒトレニン遺伝子のプロモーターと 10 個の分断されたエクソンからなる全長 15 kb を使用した (図 3)。導入された 10 コピーのヒトレニン遺伝子の発現を調べるため、コントロールマウスとトランスジェニックマウスの腎臓から作製した切片に対して、ヒトレニン特異的なモノクローナル抗体を使って免疫組織化学染色を行った。その結果、ヒトレニンは主にマウス腎臓の傍糸球体細胞に発現することが明らかとなった。これらの事実は、使用したヒトレニン遺伝子内に細胞特異的発現を指令する領域が存在することを示唆している。導入されたヒトレニンは、マウス血中に循環しているが、尻尾を使ってこのトランスジェニックマウス (R/-) の血圧を測定した結果、100 mmHg 前後の正常な範囲であった (表 2)。

表2 つくば高血圧マウスの血圧 (mmHg)

遺伝子型	血圧	マウスの種類
R/A	129.1 ± 7.1	つくば高血圧マウス (ヒトレニン遺伝子とヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子を持ったマウス)
R/-	97.0 ± 7.3	ヒトレニン遺伝子導入マウス (ヒトレニン遺伝子を持ったマウス)
-/A	98.0 ± 5.0	ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウス (ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子を持ったマウス)
-/-	97.1 ± 7.4	野生型マウス (どちらのヒト遺伝子も持たないマウス)

しかし、ここで大きな問題が発生してしまった。それは、1990年、ドイツと日本の研究グループから、マウスレニン遺伝子を導入したトランスジェニックラットと、ラットレニン遺伝子及びラットアンジオテンシノーゲン遺伝子を導入したトランスジェニックマウスが発表されたのである。いずれも先駆的な素晴らしい研究で、私達の研究は、高血圧モデル動物の作製・解析という競争には完敗することとなる。世界の壁の厚さと自分の力不足を痛感したが、今となれば研究者の階段を一段上る貴重な経験であったと思う。

表情には出さなかったが、とてつもなくレベルの高い論文が先に出てしまったので、心の中は大変なショックであった。しかし、一緒に研究をしてくれる大学院生達もおり、いつまでも落ち込んではいられない。ここは気を取り直して、C57BL/6 マウスを宿主としてヒトレニンの基質であるヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子を導入したマウスの作製に取りかかることにした。導入した全長 14kb のヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子は、1.3 kb のプロモーターと 5 個に分断されたエクソンから構成されている (図 3)。導入されたヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子の発現分布を調べた結果、ヒトアンジオテンシノーゲン mRNA はマウスの肝臓で大量に蓄積していることが判明した。また、腎臓においても同程度の発現が認められた。導入された遺伝子は 100 コピー以上と非常に多いものだったが、その他の組織では脳と心臓でのみ低い発現を示していたに過ぎなかった。このマウスの腎臓

におけるヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子の意外な発現は、使用した遺伝子に腎臓での発現を抑制する DNA 領域が欠けているか、マウスの転写抑制因子がヒト遺伝子の配列を認識できないかに依っている可能性がある。興味深いことに、ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウス (-/A) の血圧も正常の範囲であった (表 2)。

各ヒト遺伝子を単独に持つトランスジェニックマウスは、血中に大量の導入遺伝子産物が循環しているにもかかわらず、その血圧は正常の範囲内であった。これらの事実は、*in vitro* のレニン-アンジオテンシノーゲンの動物種間の反応性の違いを反映していると私達は考えた。そこで、ヒトレニン遺伝子導入マウスとヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスを交配させて得られる (子供) F₁ 個体内で“ヒト型”レニン-アンジオテンシン系を再構築して、ヒトレニン遺伝子とヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子を合わせ持つトランスジェニックマウスを作製することを試みた (図 3)。その結果、表 2 に示すように 2 つのヒト遺伝子を持つトランスジェニックマウス (R/A) のみで血圧が上昇した。この結果に、私達はとても興奮し、筑波大学動物実験センター (現、生命科学動物資源センター) で作られた血圧が上がったマウスであるので、【つくば高血圧マウス】と命名した。

この血圧上昇が、導入された“ヒト型”レニン-アンジオテンシン系によって引き起こされたかどうかを証明するために、ヒトレニン特異的な阻害薬、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) の阻害薬 (カプトプリル) とアンジオテンシン II 受容体の拮抗薬 (ARB) をつくば高血圧マウスに投与した。マウスが持つ内在性のレニン-アンジオテンシン系をブロックする ACE 阻害薬と ARB は、つくば高血圧マウス (R/A) をはじめ、ヒトレニン遺伝子導入マウス (R/-) やヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウス (-/A) とコントロールマウス (-/-) の血圧を下降させた。そして、予想通り、ヒトレニン特異的な阻害薬は、つくば高血圧マウス (R/A) だけの血圧を有意に下降させたのである。

以上の結果は、トランスジェニックマウスで再構築された“ヒト型”レニン-アンジオテンシン系が作動して血圧が上昇したことを証明したもので、1993 年に *J. Biol. Chem.* とい

うアメリカ分子生物学会・生化学会の雑誌に掲載された。また、約1年齢で解剖した高血圧マウスに、顕著な心肥大、心筋細胞の肥大、大動脈腔の拡大と血管平滑筋細胞の肥大、腎糸球体硬化などが認められ、ヒトの高血圧症に類似した病変が現れたことも、つくば高血圧マウスの特徴である。現在でも、世界で広く **Tsukuba Hypertensive Mouse** として、医学・創薬に携わる多くの研究者に使っていただいている。

5.7 偶然の発見：妊娠高血圧マウス

つくば高血圧マウスを取得するためには、図5（A：雌ヒトレニン遺伝子導入マウス×雄ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスと B：雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウス×雄ヒトレニン遺伝子導入マウス）に示すように単純に2通りの交配方法しかない。「A」の交配実験では、妊娠した雌ヒトレニン遺伝子導入マウスは何ら問題なくF1の高血圧マウスを出産していた。ところが、「B」のパターンで交配させて妊娠した雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスでは、妊娠末期に血管破裂や心不全によって死亡する例が見出されたのである。

この事実は、私達をととてもビックリさせた。というのも、高血圧マウス作製の計画が、ヒト-マウス間での酵素・レニン-基質・アンジオテンシノーゲンの種特異的な反応性をトリックとしているため、ヒト遺伝子産物が過剰発現していてもトランスジェニックマウスの血圧は正常であると考えていたからである（事実、血圧は正常であった）。しかし、雄ヒトレニン遺伝子導入マウスと交配させて妊娠した雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスで観察された一見不可解な現象（妊娠末期に大動脈弓部の血管破裂や心不全によって死亡）も、実はヒト-マウス間での酵素・基質の種特異的な反応性のトリックから成り立っていることが判明したのである。まさに、“トリック”を作った私達が、予期せぬ“トリック”に掛かってしまったのだ。

その種明かしをご紹介します。

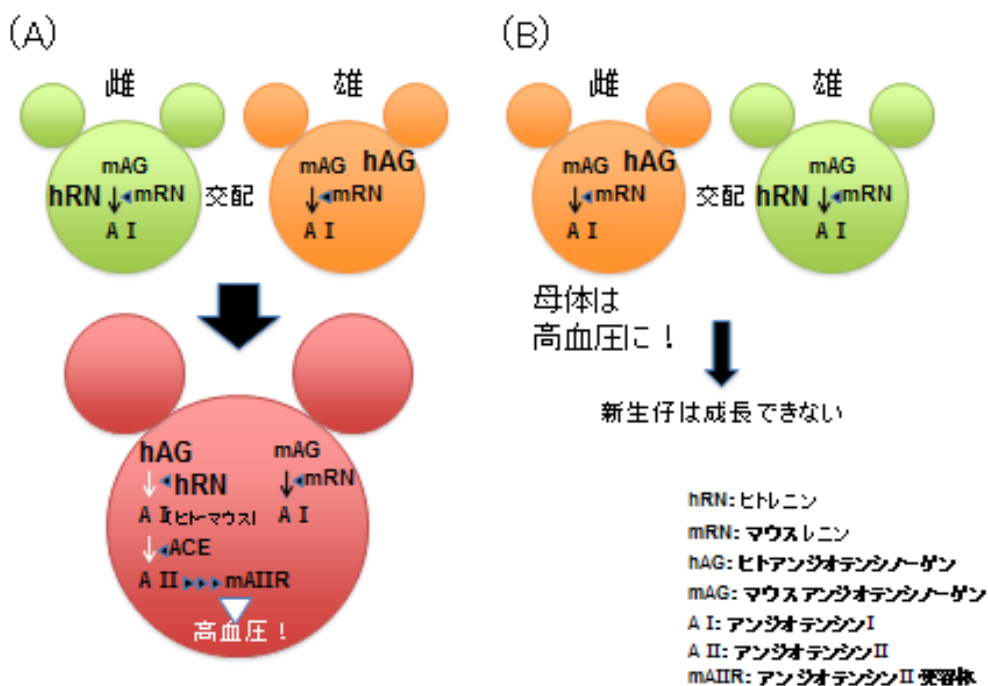


図5 偶然の発見：妊娠高血圧マウス

図5のBパターンの交配で妊娠した雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスが心血管系の異常で死亡したのは、急激な血圧変化が関与しているのではないかと考えられた。そこで、表3に示すように、様々な交配パターンで雌マウスを妊娠させて、妊娠19日目の血圧を測定した。すると、「B」パターンの交配によって妊娠した雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスだけが、妊娠後期に強烈な高血圧を呈することが判明した。この結果は、私達にとって大変な驚きであった。

次に、妊娠中に血圧がどのように変化するかを、経過を追って測定・観察した。その結果、図6に示すように、野生型マウスは妊娠過程においてその血圧はほとんど変化しないのに比べ、雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスでは妊娠13日目から血圧が上昇して19日目をピークに出産後数日を経て正常レベルへ回復したのである。また、この間、腎系球体腫大や球心性心肥大などが観察された。

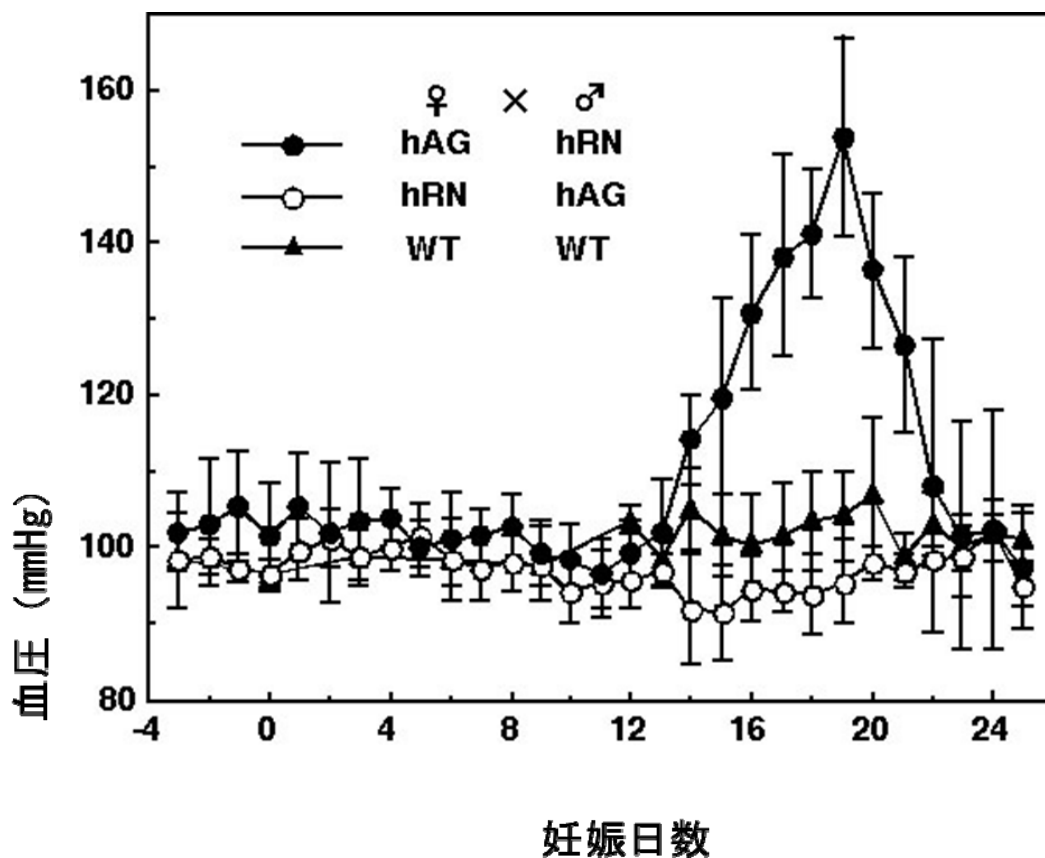
表3 妊娠高血圧マウスの血圧 (mmHg)

交配パターン 雌 × 雄	妊娠高血圧マウスの血圧
hAG × hRN	156.4 ± 7.7 (妊娠高血圧マウス)
hRN × hAG	95.5 ± 5.6
WT × WT	96.7 ± 4.0

hRN : ヒトレニン遺伝子導入マウス

hAG : ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウス

WT : 野生型マウス



hRN : ヒトレニン遺伝子導入マウス

hAG : ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウス

WT : 野生型マウス

図6 妊娠中の血圧変化

なぜこのようなことが起きたのであろうか？ つくば高血圧マウス (F1) で高血圧が発症するメカニズムから推測すると、妊娠した雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスで高血圧が発生するには、ヒトレニンが必ず必要となる。しかし、雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスは、元々遺伝的にヒトレニン遺伝子を持ち合わせていない。ここで『鍵』となることは、雄ヒトレニン遺伝子導入マウスと交配して妊娠した時だけ、雌ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスが高血圧を発症するというものであった (表3)。

解答は、胎児にあった。つまり、胎児は母方からヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子と父方からヒトレニン遺伝子を受け継ぐ。そして、もう一つのポイントは、胎盤である (図7)。マウス胎盤でのヒトレニン遺伝子の発現を調べてみると、胎盤の発生に伴って、ヒトレニン mRNA が蓄積されており、この部位は細胞性栄養膜細胞であることが判明した。これは、胎盤で産生されたヒトレニンが母体血中へ移行することを示しており、事実このヒトレニンの『母体透過性』こそが、トランスジェニックマウスにおける妊娠高血圧の発生原因となる引き金だったのである (図5、7)。この現象を実験的に明らかにした時には、脚が震えていたが、身体は飛び上がりそうになっていた。

この妊娠高血圧マウスのモデル動物としての大きな特徴は、導入遺伝子の機能発現が極めて時限的なことである。すなわち、《妊娠》という特異的な時期に、『胎盤』という一過性に出現する特殊な器官を利用した遺伝子機能発現システムと捉えることができ、他の病態解析にも応用できるのではないだろうかと思達は考えている。実際、新しい発見をしつつあるところなので、私達の楽しみは何倍にも大きくなっている。

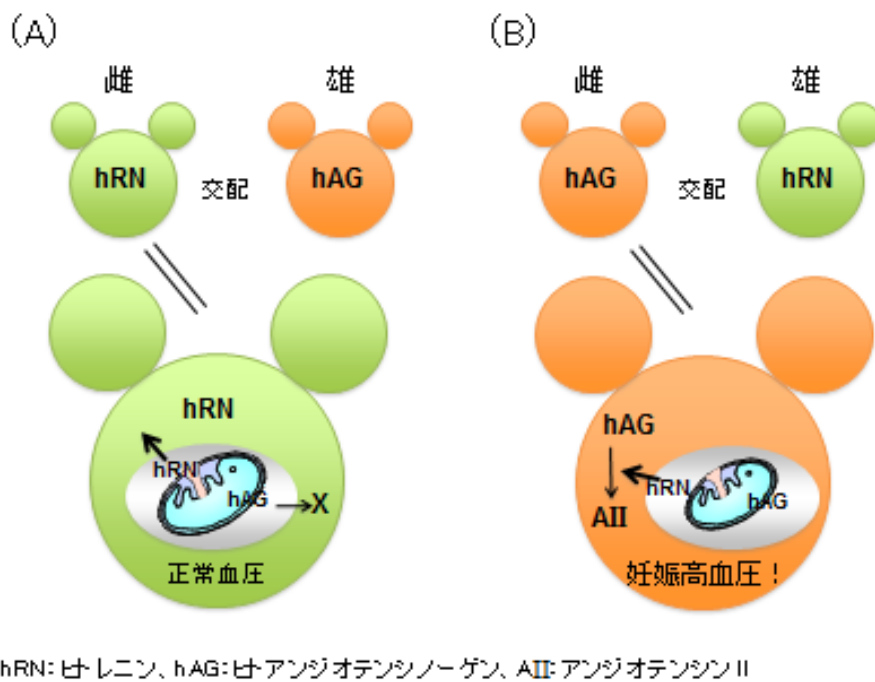


図7 胎児-胎盤系と妊娠高血圧の仕組み

5.8 二つの後日談

さて、妊娠高血圧マウスに関する偶然の研究の進展は、私達の研究の方向性に少なからず良い影響を与えてきた。今まで、産科・周産期に関する研究は全くしていなかったのだが、妊娠高血圧マウスの研究がきっかけとなり、私に少しの自信と、研究の新展開への大きな引き金を与えてくれたと思う。

後日談その一つは、妊娠高血圧マウスに関する論文が受理された時にエディター（編集者）から「We are glad to accept your paper entitled “Hypertension induced in Pregnant Mice by Placental Renin and Maternal Angiotensinogen.”」という手紙をいただいたことだ。その1996年の日付が、私の37歳の誕生日だったのである。つくば高血圧マウスの研究で経験した競争の大敗から、妊娠高血圧マウスの論文発表に辿り着くまでを体験し、“研究者としてプロになれるかも知れない”という小さな自信が、この時に初めて生まれ

たのである。

もう一つは、妊娠高血圧マウスの論文発表直後に、レニン-アンジオテンシン系の分子遺伝学的解析で著名なフランス人の研究者 Jeunemaitre 博士から、以下のような e-mail が届いた。

Dear Akiyoshi

Although this transgenic mating is probably far from physiology, it undoubtedly stimulates us to pursue the genetic hypothesis of the renin-angiotensin system as participating in the pregnancy-induced hypertension (PIH) in women.

Xavier

このメールをもらってから 13 年間、彼の書いた「probably far from physiology」という言葉が気にかかっていた。「多分、生理的条件からほど遠い・・・」というのが彼の見解であり、私達の妊娠高血圧マウスそのものは、ヒトの妊娠中毒症（現在の呼び名は“妊娠高血圧症候群”）のモデル動物にならないのではと考えていたようである。当時は、レニン-アンジオテンシン系は妊娠中毒症には寄与していないとの見方が大半で、実際この論文を投稿して認めてもらうまでに、1 年半以上の時間を要していた。

ヒトの妊娠中の高血圧は、“多臓器に循環障害を起こす基礎疾患の一徴候”として、特に注意されるべきだと考えられている。この点では、妊娠高血圧マウスの表現型がヒトの病態とどれだけ近いのかという議論はとても大切である。しかし、我々が 1996 年に妊娠高血圧マウスの論文を発表して以降、1999 年にはドイツのグループから、2001 年にはエジプトのグループから、また、2008 年にもアメリカのグループから妊娠高血圧症にレニン-アンジオテンシン系が深く関与しているとの論文が発表されている。現在、さらに解析が進み、当時は主流ではなかった私達の研究結果が、多くの研究者によって検証され、ヒトの妊娠高血圧症候群のモデル動物となる妊娠高血圧マウスが、病態解析や治療薬の開発の基礎的研究の手立てとして有効であると考えられるようになってきた。

5.9 研究の新展開

ところで皆さんは、生物が生まれて、成長して、また次世代を生み育てていく過程を、“普通の出来事（イベント）”だと思っていないだろうか？ しかし、“普通”であることがいかにすごい生命現象であるか、自然の摂理には私達人間の知識はまだまだ及んでいない。

子供が元気に生まれ、母子共に無事であることは皆が望むことである。現在、少なからず分娩・出産に関して、さまざまな社会問題が顕在化しているが、行政をはじめとして、多くの方々の努力によって問題解決の道が模索されている。基礎研究者である私達は、ヒト遺伝子機能を基盤にした、世界に一つしかない「妊娠高血圧マウス」を活用して、妊娠・出産に伴う危険因子を排除する科学的検証を続けていきたいと思っている。

日本妊娠中毒症学会が1980年に始まり、25年の時を経て、2005年に「日本妊娠高血圧学会」と改名された。このことは、妊娠高血圧の研究をしている私達グループにとって、大変大きな衝撃であった。このような大きな潮流は、妊娠高血圧研究を単なる基礎研究に止めるのではなく、時間を掛けてでも、診断法と治療法の確立に向けて新しい研究を展開するべきであるということを示していると考えている。私達の研究室は、挑戦し続けたいと思っている。

私達の“妊娠高血圧症候群”の研究は、一匹の雌マウスが妊娠中に高血圧になったことから始まった。この始まりを振り返る時、私はミッキーマウスの生みの親として有名なウォルト・ディズニーの言葉を思い出す。

『夢を見ることができれば、それは実現できるんだ。いつだって忘れないで欲しい。何もかも、全ては一匹のネズミから始まったということ。』

If you can dream it, you can do it. Always remember that this whole thing was started with a dream and a mouse.

-Walt Disney

5.10 研究室について

筑波大学第2学群農林学類・村上研で卒論を開始し、博士号をいただき、筑波大学助手になり、研究室の運営に携わるようになった。今回ご紹介した“つくば高血圧マウス”や“妊娠高血圧マウス”を研究し始めた当時は、実験室は「夏は暑く、冬は寒く」といった状況であった。当初研究費は無く、研究材料を一時的に保管する冷蔵庫は、筑波大学入学時に購入した冷蔵庫（「5.2 宿舍生活」参照）を使っていた。卒業生の冷蔵庫を代々譲り受けながら、“研究用冷蔵庫”として活用していたのである。

また、新しい卒業研究生のための机を購入する費用が無く、3月の卒業時にはいろいろな方をお願いして、スチール製や木製の机を譲っていただいていた。時には、大学院生達と雨の降る寒い日にリヤカーで運んでくることもあった。キレイに磨いて、新4年生用として利用していた。

1999年、私達の研究室は、筑波大学先端学際領域研究センター（TARA: Tsukuba Advanced Research Alliance）に移動した。現在は、生命領域学際研究センターである。実験エリアとオフィスエリアが見事に分離され、機能的に研究を推進できる設計になっている。デスクは既に設置されており、新4年生用に机を集める労力が不要になった。

この時、何台かの“研究用冷蔵庫”を大切にTARAセンターに運び込み、筑波大学入学時に購入した冷蔵庫もその1台に入っていた。しかし、この1台は、2002年に23年間の寿命を終えて、廃品回収されていった。思い出深い冷蔵庫なだけに大変残念だったが、研究を支えてくれた感謝の気持ちで一杯である。

5.11 終わりに

2009年に、研究室がTARAセンターに移動して10年になった。研究室で、学士・修士・博士号を取得した学生・大学院生、製薬会社等から派遣されて研究を共に行った方々、他大学の医学部等から学位研究を行うために参画いただいた方々等合わせると150名に及ぶ。

多くの卒業生や関係者の方々と、このような機会を与えていただいた筑波大学に、心から感謝している。

アメリカ合衆国第 35 代大統領に 43 歳の若さで就任したジョン・F・ケネディーは、「物を失えば小さく失う。信頼を失えば大きく失う。しかし、“勇気”を失えば全てを失う。」と若者にメッセージを送っている。ケネディーは勇気と自信を持って「キューバ危機」を乗り越え、「アポロ計画」を実行したのである。筑波大学は、30 数年前から新しいシステムを試行してきた。優れた“環境”とは、単に施設や設備の充実度の問題だけではない。そこに集う若者達のアクティビティ（活力）とモチベーション（動機）の高さが最も重要であり、そのような場所での“人との出会い”が、さらなる付加価値を生み出すのではないかと私は考えている。

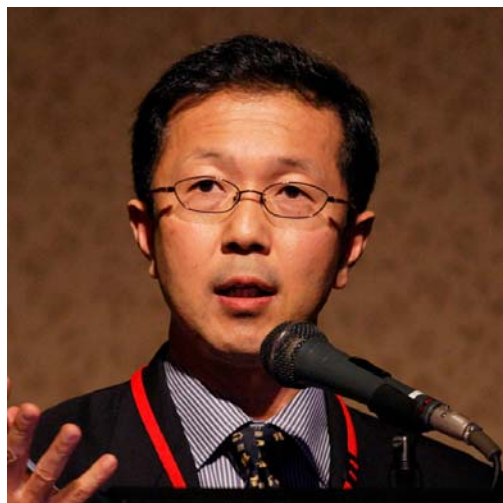
謝辞

「つくば高血圧マウス」および「妊娠高血圧マウス」の作製・解析において、多くの先生方のご指導やご支援、卒業生達のご協力をいただいた。心より感謝申し上げる次第である。

著者紹介

氏名：深水 昭吉（ふかみず あきよし）

1959生まれ



著者近影

学歴及び職歴：

1983年 筑波大学 第2学群農林学類卒業
1985年 筑波大学 修士課程環境科学研究科修了
1987年 筑波大学 博士課程農学研究科単位取得退学
1987年 筑波大学 応用生物化学系（遺伝子実験センター）助手
1991年 筑波大学 応用生物化学系講師
1994年 アメリカ・Salk 生物学研究所
1995年 筑波大学 応用生物化学系助教授
1999年 筑波大学 応用生物化学系（先端学際領域研究センター）教授
2002年
～2007年 「21世紀COEプログラム」（生命科学）拠点リーダー
2004年 筑波大学 研究戦略室長
2006年 筑波大学 先端学際領域研究センターセンター長
2010年～現在 筑波大学 生命領域学際研究センター教授
2011年 文部科学省 新学術領域研究「転写代謝システム」領域長
～2016年

受賞歴：

1993年 日経 BP 技術賞・医療部門（日経 BP 社）
1993年 研究奨励賞（高血圧自然発症ラット学会）
1996年 つくば賞（茨城県科学技術振興財団）
1996年 奨励賞（日本生化学会）
1998年 高峰譲吉研究奨励賞（日本心血管内分泌代謝学会）