

研究の始まりは出会いから



若者

小林綾子*

Difference makes chance of science

Key Words : Insect Immunity, Malaria, NMR imaging, Metamorphosis

1) 始めに

大阪大学薬学研究科にお世話になってはや3年になります。折角「若者」に書く機会をいただきましたので、これまでをふりかえってみたいと思います。

2) 「細菌と戦う昆虫」と戦った学生時代

薬学部に進学し、免疫学を勉強したいと考えていたところ、「原始的な免疫の研究ができる」という微生物薬品化学教室(名取俊二先生)を知り、面白そうだと思い配属を希望しました。この講座では昆虫の生体防御研究を推進中で、遺伝学で有名なショウジョウバエではなく、その百倍の体積はある恐ろしげなニクバエをすりつぶしてはペプチド性抗菌物質や生体防御物質を単離する生化学の仕事がなされていました。一方では助教授の帯刀益夫先生が分子生物学の技術を駆使して、赤血球分化について遺伝子発現制御の研究をされていました。

私に課された研究テーマは、ハエの抗菌蛋白やレクチンをコードする遺伝子の制御機構を調べるというものでした。ただ虫をすりつぶしても抗菌蛋白は得られるのですが、大腸菌などを体腔に注射すると数時間から1日後には合成量が著しく増えるので遺伝子レベルで活性化されているだろうと予測されたのでした。最初は脊椎動物では知られていない全く新しい制御様式を見つけるつもりで取り組んでいたのですが、実際にいくつかの遺伝子の制御領域の配

列を比較するとどうもほ乳類で免疫関連遺伝子の制御因子の結合する配列と似ているのです。この研究を続けて博士課程で、昆虫で初めての細菌感染時の生体防御に働く転写因子(ヒトでは免疫グロブリン遺伝子などの転写に働くNF-kappa B様の蛋白)を単離するに至りました。このような研究は昆虫免疫と呼ばれるようになり、今日脊椎動物での解析が著しい自然免疫の研究へと繋がっています。この大学院時代に、「大いにやりたまえ」が口癖の先生のもと、あまり流行や競争を意識せず、失敗しながらも自分のペースで研究させていただいたことは、教育的な側面からも大変貴重であり恵まれたことだったと思っています。

3) 地球温暖化を待つ研究

大学院を修了したころは、ショウジョウバエの遺伝学に惹かれる一方、なにか人の健康に役立つ研究に携わってみたいと願っていました。そんな折、フランスのパスツール研究所でマラリア媒介蚊の研究をするWHO/TDR(Tropical Disease Research)のポスドクの話をしていただきました。まわりの誰もが「マラリア? アフリカの病気?」という反応で、恩師にも「地球の温暖化でも待つのだな」と笑われながら、50年先の研究をするつもりで日本を離れました。

この研究所の日本人留学生は1995年の段階でも10名程度でした。今もさほど変わっていないようです。アメリカNIHの日本人同窓生が数万人という話を聞くとその差にびっくりします。ヨーロッパでも英語圏以外は敬遠されがちかもしれません。私は幼稚園児の語学力で渡仏しましたが、確かに他の留学生は語学堪能な方々が多かったです。実際研究所内には外国人研究者も多く、ボスや同僚との話は基本的に英語でしたが、これは研究室のポリシーによります。

90年代前半という将来のマラリア非媒介蚊を目指し、遺伝学的な解析を可能にする遺伝子導入が試



* Ayako KOBAYASHI
1964年1月生
現在、大阪大学・大学院・薬学研究科・
分子生物学分野、講師、薬学博士、
生化学・分子生物学
TEL 06-6879-8187
FAX 06-6879-8189
E-Mail ayakoba@phs.osaka-u.ac.jp

みられ始めたころでした。その遺伝子導入に必要なツールを作る研究課題のもと、私はシロアリなどを除けばどんな昆虫にもある複眼の構造に着目し、その頃解析され始めたショウジョウバエの複眼形成に関わるチロシンキナーゼ受容体などの遺伝子を蚊のゲノムを単離して解析する、かなり技術指向の研究をしていました。2002年にハマダラ蚊の全ゲノムが昆虫ではショウジョウバエに続いて決定されましたが、個人的には大変感慨深いです。アメリカにおける西ナイルウイルスなど昨今の昆虫媒介性感染症の出現により、半世紀待たずとも媒介機構の解明の重要性は増していると思います。

私のボスRoger Ollio博士はコートジボアール出身、パスツール研ではアフリカ人初のシェフ(研究室長などを料理人でなくてもこう呼びます)でした。ショウジョウバエの発生研究を遺伝学で解析していましたが、蚕で昆虫免疫を研究していたPaul Brey博士と出会い、蚊の研究が始まったのでした。Rogerはアイデアが豊かで新しい技術の開発に熱心なボスでした。在仏のスーパーバイザーとなってくれたPaulは北大に留学経験のある親日家で、心からパスツールをmentorとして仰ぐ研究者でした。二人のラボを歩き来して、マラリア原虫を見出したラヴェアンの名の付いた古い建物で蚊の飼育をしては、ジャック・モノーの建物で遺伝子を解析するという、今考えると歴史に包まれた毎日でした。

勧められて研究所の図書館や記念館にも行きました。昔の研究を記した本は、図を用いた記述が丁寧で面白く、パスツールの弟子がしていた蚕の病気の研究の本では、神経系と免疫系の関係を想像させる実験も進めていたのには驚き、嬉しくなりました。研究に取り組む姿勢についての講演記録もたくさん残っていました。おそらく最も有名なパスツールの名言は「幸運は準備された精神(の持主)を好む」という内容ののですが、「徹底した批判の精神をたたえよ、さもなければどんなこともぜい弱なものとなる」など、ハッとさせられる言葉ばかりです。

4) 虫の変身の瞬間を捉える

ボスの父上の急な他界を機に、彼はアフリカで家業を継ぎ一族を支えるため科学の世界を去ることになってしまいました。私は日本に戻り、もとの研究室のスタッフとしてハエを用いた研究を再開しました。

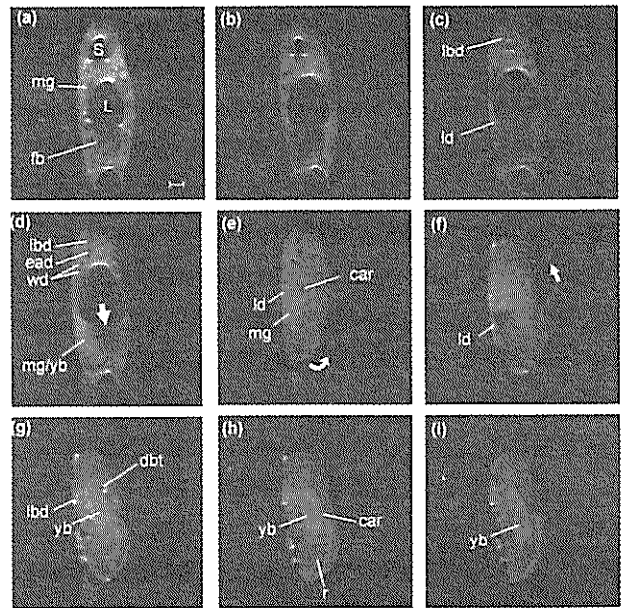


図 ニクバエ変態初期のNMRによる観察
変態初期の変化をAからIの順に経時的に示した(蛹化後21℃で観察。A: 12h, B: 29h, C: 40h, D: 45h, E: 46h, F: 47h, G: 48h, H: 73h, I: 101h)。幼虫組織の崩壊と成虫組織の分化と形態形成が見られる。脂肪体組織(fb)は、比較的早い時期(A~B)に崩壊が生じている。一方、消化管(mg)は黄色体(yb)を形成し、その中で幼虫組織が分解される(G~I)。ガスの流れを矢印で示している。

ここでひとつの楽しい研究に携わることができました。ある日NMR研究者の荒田洋治先生(当時機能水研究所)が名取研究室に現れ、植物の花芽のNMR像をお見せくださいました。NMRといえば低分子の構造解析と思いこんでいた私は大変に驚きました。オーストラリアからきていたWilliam Price博士が味の素研究所から派遣された井出博之氏とこの「NMR顕微鏡」の研究をしていると知りました。

そこで始まった研究が蛹のNMRによる観察でした。虫のMRIといったところでしょうか。ニクバエの蛹がNMRのサンプルをいれる筒にちょうどぴったりのあつらえたようないい大きさでした。NMRの解像能を考え合わせると、ショウジョウバエで同じ実験をしようとしても小さすぎてとても測定できなかったでしょう。更にこのハエには変態の開始を人為的に制御できるという決定的な利点がありました。

ハエのような完全変態昆虫は、胚として生みだされ、幼虫から蛹を経て成虫に至ります。幼虫は採餌期、成虫は生殖期に特化したライフサイクルの一段

階といえます。形態形成は、胚発生期(初期発生)と変態期(後期発生)で生じます。幼虫と成虫ではほとんどの組織は異なっています。変態ホルモン(エクダイソン)の作用により、黒い殻に覆われた蛹の中では、幼虫組織が崩壊し、成虫組織が構築されていくという、文字通りのscrap and buildがおきています。どうやって古い組織と新しい組織は入れ替わっていくのだろうか、古いとはいえ自己である細胞を破壊するには何を見分けていけるのだろうか、という疑問から、認識分子や破壊分子の検索をする研究を進めているところでした。

実験材料としたハエでは10日間の変態期のうち最初の数日ですでに、成虫組織をつくる細胞の分化と共に幼虫組織の崩壊が生じています。殻に覆われ見ることのできなかつた蛹の内部の変化をNMRにより生きたまま経時的に解析してみると、変態時の幼虫組織の崩壊は、対応する成虫組織との構造の連続性からいくつかのパターンがあることがわかります。成虫組織へと分化する細胞塊としては、成虫原基という成虫上皮構造(触覚や眼、翅、肢など)を形成する円盤状の組織が有名ですが、数十からなる未分化な細胞群が幼虫組織に点在する場合があります。その代表例は消化管であり、一過的に出現する黄色い組織(yellow body)に幼虫組織を封じ込め、その中で細胞が排除されながら、成虫組織と入れ替わってゆくのです。一方で、そのような成虫組織との連続性はなく、早い時期に崩壊する組織もあり、幼虫の筋肉組織や脂肪体組織(ひとつでは肝臓に相当する組織)はこちらに属します。これらの細胞から供給される高分子や代謝産物は、形態形成の貴重なエネルギー源や材料となっています。空間的な制約の中で、劇的な組織の再編成が起こっており、しかも無駄に排出されるものはほとんどない、極めて優秀なシステムを形成していたわけです。

ほとんどの成虫原基は幼虫では脳の近くに集まっているので、分化するにつれその空間はいっぱいになってしまいます。成虫に対応する位置にまで移動しなければいけません。NMRではこの一番ダイナミックな空間的変化も捉えることができました。幼虫でも見られ徐々に大きくなっていった腹部中央のガスが抜けた後に、成虫で見られる位置に分化しつつある成虫原基が配置されることがわかりました。またガスが流れる方向は成虫の背中側になることも

観察されました。ガスの消失する時間は最短計測上5分以内ですが、おそらく一瞬でおきています。観測像が乱れているのは蛹全体がその勢いのためにゆれているのです。この感動的な発見を甥に告げると、「ほんとうの虫はおならで変身するんだ」といわれてしまいました。

何千枚もとっていただいたNMR画像と、自ら解剖して確かめた経時的に変化する様子とを照らし合わせる作業を繰り返して調べていきました。残念ながらこの研究は続けていませんが、現在なら可視化技術や遺伝子導入技術と組み合わせて更にこの動きを分子レベルで追跡できると考えたりします。

5)最近のこと

私が現在取り組んでいるのは、異物や異種蛋白の輸送の研究です。これまでは細胞から分泌され体内に侵入した異物排除や発生過程で生じた不要細胞の排除について調べてきました。今度は細胞の中で生じた異常蛋白や異種蛋白にどう対処するのかを調べようとしています。ウイルス感染時の細胞性免疫で重要な、抗原ペプチドをMHC分子に提示する機構には、TAPと略して呼ばれる抗原ペプチド輸送体が働きますが、このプロトタイプと思われる分子を昆虫や線虫など獲得免疫をもたない無脊椎動物にも見出しました。このような生物における、異物の細胞内輸送や分解のシステムはどうなっているのか、慣れない膜蛋白の扱いにとまどいながらも、手がかりを掴もうとしております。

今でも実験が一番楽しいは、結果を知る直前のドキドキする感じです。作業仮説があたった時の喜び、予想に反した時の落胆、しかしそこから新たな発見に至った時の驚きなど全ては、この感覚なくしては成り立ちません。実験結果を待ちながら暗室で現像しているあの時間が怖いけど楽しい、と思えるかどうかは重要です。それがなければ実験は単調な作業になってしまいます。高い志をもち研究を遂行している方々にとっての初心とは違うかもしれませんが、私にとってはこのドキドキ感こそがいつまでも忘れずにいたい感覚です。

今接する機会のある学生諸君も、一度その感覚を掴むともっともっと研究することが好きになると確信しています。ただ、情報が氾濫するこの時代、何でも簡単にできるような錯覚のもとに、一通り急い

で体験してみたいという傾向を感じることはありません。一つのこと执着・徹底する経験が特に初めにおいては大切で、実はとても贅沢なのではないかと思う次第です。我が身を振り返って、講義する時にはそのような錯覚を生んでしまっていることを反省し、最終的な知識だけでなくそこに至った過程を生き生きと伝えられるように、もっと努力したいと思います。

私の関与することのできた研究を振り返ってみても、様々な出会いの中から新しい研究の芽が生まれているように思われます。違いが大きいほど、お互いの関心が結びついた時の広がりも大きい。全く違う視点や興味をもっている方々との出会いを大切に、そしてその時にこそ準備された精神の持主でいられたらと思います。

とりとめなく書き連ねましたが、ここまでおつき合いくださいます、ありがとうございました。

