

一期一会



若者

伊藤伸介*

once in a lifetime chance

Key Words : Xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome, Nucleotide Excision Repair, TFIIH, protein complex

1 : はじめに

2001年の秋、私が大阪大学工学部4回生として卒業研究に勤んでいた頃、細胞周期制御機構の解明に対してノーベル賞が授与された事や、世界的に活躍する日本人研究者の癌研究に関する成果を報じる記事を目にした。私はこの頃から工学的な応用を目指す研究よりも、より基礎的な生命現象の解明を目指す研究を志向するようになった。しかしながら、この時期には来年度に入学する大学院試験はほとんど終了していたため、私の基礎研究への思いは潰えたように思えた。ところが幸運なことに、2002年度の大阪大学大学院生命機能研究科の発足にあたり、学生募集が春先にあり、その一期生として大学院に進学することができた。その後、生命機能研究科の授業の中でも、田中亀代次教授のDNA修復機構に関する授業に感銘を受け、田中教授に研究室への受入をお願いし、現在でも御指導を賜っている次第である。本稿では、私の田中研究室での研究と、その過程での出会いに関して綴っていききたい。

2 : XP研究

生命の設計図とも言えるDNAは、遺伝情報を担う重要な物質であり、生命が正常に営まれるためには安定に維持されなければならない。しかしDNAは紫外線、放射線、化学物質などの外的要因、およ

び細胞の代謝過程で発生する活性酸素などの内的要因により絶えず損傷を受けている。これらのDNA損傷は、細胞死や突然変異を誘発し、ひいては老化・癌化等の原因になる。ヒトを含めた全ての生物はこれらのDNA損傷を修復して遺伝情報を安定に維持することのできる多様なDNA修復機構をもっている。ヌクレオチド除去修復 (Nucleotide Excision Repair: NER) は、紫外線、化学発癌剤などによって誘発されるDNA損傷を除去することのできる重要なDNA修復機構である。NERに異常をもつヒト遺伝性疾患として、色素性乾皮症 (Xeroderma pigmentosum: XP) とコケイン症候群 (Cockayne syndrome: CS) がある。2006年に映画とテレビドラマ「タイヨウのうた」にて、主人公が太陽の光にあたれない病気に苦しむ姿が演じられていたが、その病気がXPである。XPは、NERとDNA損傷乗り越え複製に関与するタンパク質をコードする8つの遺伝子のうち、いずれ

相補性群	遺伝子	疾患	紫外線感受性	タンパク質の機能
XP-A	XPA	XP	+++	損傷DNAに結合
XP-B	XPD	XP, XP/CS	++	TFIIHのサブユニット
XP-C	XPC	XP	+	DNA修復認識
XP-D	XPD	XP, XP/CS	++	TFIIHのサブユニット
XP-E	hHR23E	XP	±	DNA修復認識
XP-F	XPF	XP	+	DNA切断
XP-G	XPG	XP, XP/CS	++	DNA切断
XP-V	XPD/ERCC1	XP	+	損傷乗り越えDNA合成

表1 8つのXP遺伝的相補性群とその機能

かの遺伝子の変異によって発症する高発癌性疾患である(表1)。田中教授は世界に先駆けてXPA遺伝子を同定され、その後に世界から残りのXP遺伝子が同定されることとなった。田中研究室では、XPやCSなど遺伝性疾患の分子病態の解析を通じて、NERおよび転写機構の解明を目指している。その



*Shinsuke ITO

1979年9月生
 大阪大学大学院生命機能研究科 博士5年一貫課程修了(2007年)
 現在:大阪大学 大学院生命機能研究科, 個体機能学講座, 特任研究員
 理学博士, DNA修復
 TEL: 06-6879-7974
 FAX: 06-6877-9136
 E-mail: shinsuke@fbs.osaka-u.ac.jp

一環として私は、XP-G群の原因遺伝子産物XPGに着目した。XP-G患者の中には神経身体発育異常や早期老化徴候を示すCSの臨床症状を併発する症例(XP/CS)があり、いずれの患者もXPGタンパク質の欠失変異をもっている。この修復タンパク質XPGの変異によってなぜこのような重篤な遺伝病に至るのか不明な点が多く残っていた。私は、患者がもつ欠失型XPGは他のタンパク質と相互作用する機能を喪失しているのではないかと仮説を立てた。そこで、正常なXPGが相互作用する因子を網羅的に同定するために、XPGを含むタンパク質複合体を精製することを始めることになった。

3：ポストン滞在

生体内においてタンパク質の大部分は、それ単独ではなく他のタンパク質と複合体を形成し、複合体を機能単位としてダイナミックに動いている。タンパク質複合体精製の重要性は、その機能単位を知る情報が得られることであり、これまで予想し得ないタンパク質が複合体に含まれることが明らかになる可能性を秘めている。この手法をぜひ習得したいと考えていた私は、田中研究室に立ち寄られたハーバード大学医学部・ダナファーバー癌研究所の中谷喜洋教授に受入をお願いし、許諾して頂いた。中谷研究室では、数々のタンパク質複合体を精製・同定し、多くの生命現象を明らかにしている。冒頭に述べた日本人研究者は、何を隠そう中谷教授であったため、研究室訪問できることが決まった時は歓喜したことを今でも憶えている。

2003年10月31日、私はアメリカ合衆国・ポストンにいた。ポストンは、松坂大輔が活躍しているレッドソックスの本拠地として有名であるが、それに加えマサチューセッツ工科大学（厳密には隣のケンブリッジ市）やハーバード大学等を擁する学術都市でもある。とりわけハーバード大学医学部と、その関連施設で占められるロングウッド・メディカルエリアは、生命科学の領域において世界最先端の研究が行われている。私の渡米の目的は、中谷教授が主宰されている研究室を訪問し、中谷研究室で行われているタンパク質複合体の精製技術を習得することであった。約1週間の滞在ではあったが、ポストンの方々と議論できた事、この訪問により得られた技術・知見によって、博士課程における私の研究方針は、

少なからず影響を受けた。また、このポストン滞在によって私はポスドクとして海外に留学してみたいと思うようになった。

4：TFIIHを通じた出会い

習得した手法をベースとして、自ら改良してXPGタンパク質複合体を精製してみた。精製した複合体は、ゲル上で電気泳動して大きさに従ってタンパク質を分離後、タンパク質を染色・検出した。最初にXPGタンパク質複合体のバンドパターンをみた時、複数のタンパク質がXPGと複合体を形成している事は分かったが、それが何のタンパク質なのかさっぱり見当もつかなかった。そこで、バンドをカミソリで切り出し、質量分析にかけた。その結果、XPGは

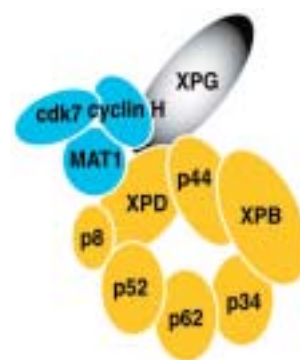


図.1 XPG-TFIIH複合体の模式図

基本転写因子TFIIH (XPB, XPDを含む10個のサブユニットから構成される複合体で、転写とNERの両機構に必要)と複合体を形成していることが判明した(図1)。XP/CS合併症はXPG以外にもXPBとXPD遺伝子の変異によって発症することから、生体内に存在するXPG-TFIIHタンパク質複合体の欠損とXP/CS発症は、何らかの関連があることが示唆された(表1)。更に、TFIIHが転写に必須であることが分かっていたため、TFIIHと複合体を形成しているXPGが転写機構に関与するのではないかという考えは直ぐに浮かんだ。ただ、田中研究室には転写活性をみる実験系が確立されていなかったため、フランス・ストラスブールIGBMC研究所のJean-Marc Egly教授に連絡をとり共同研究を行うこととなった。Egly教授は、TFIIH研究において世界をリードする研究者であり、とても心強い存在であった。結果と

しては予想通り、XPGを欠損する細胞では転写の活性化機能に異常をもつことが示された。よって、一部のXP-G患者で認められる神経身体発育異常や早期老化徴候は、転写異常に起因することが示唆された。

これらの結果をまとめて論文にするに当たり、結果の解釈や結論に関して最初是我々とEgly教授の間で意見の食い違いが生じた(Egly教授は、TFIIHの権威であるため、譲れない部分をもっている)。しかし、議論を重ねるに従い、次第に論文としての体裁が整い、科学誌に投稿し、紆余曲折ありながらも2007年に受理された。この過程で、Egly教授の人柄に触れ、研究に対する情熱・姿勢を垣間見ることができ、貴重な体験をさせて戴いた。特にEgly教授が自らの未発表データを面白いだろと言わんばかりに嬉しそうに見せてくる姿は、とても印象に残っている。

5：終わりに

生命機能研究科に所属することとなり、国際的な

会議や学会に参加し、セミナーを聴き、外国人研究者と交流する機会が多くなった。また、研究室には国内外を問わずに研究者が頻繁に訪れ、議論する機会を設けて下さっている。本稿を執筆している隣では、現在サバティカルで滞在中のスタンフォード大学のPhilip C. Hanawalt教授がDNA修復に関する最新のレビューを書いていらっしゃる。ぜひ、今行っている研究について議論してみたい。

今回、挙げさせて頂いた先生方と接触し、論文を発表することができたのは、生命機能研究科に入学し、田中研究室に所属することができたことに尽きる。タイミングと全ての出会いに感謝したい。

謝辞

今回の執筆の機会を与えて頂きました大阪大学大学院生命機能研究科の小倉明彦教授、「生産と技術」の関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

