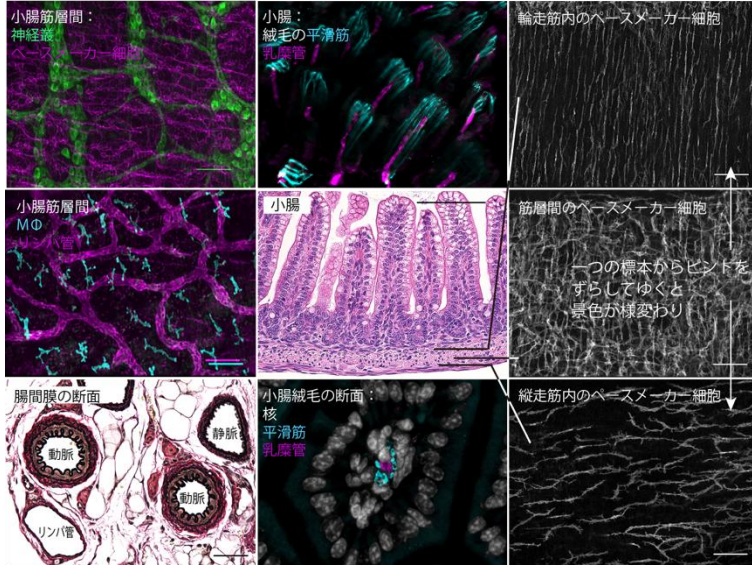


——研究紹介——

2024年1月に、東京大学アイソトープ総合センターに、特任講師として着任致しました。当講座では放射性医薬品開発とそれを世に送り出すための基礎研究を担っております。講座の説明は講座の主にお任せして。

楽しい顕微鏡観察：からだってすごい！



キーエンス顕微鏡 / Sogawa et al, 2020, 2021 より

ここでは、私があたためてきたオリジナル研究、いわゆる私の持ちネタ研究について紹介させていただきます。研究内容は遺伝子変異と病気の関係、希少疾患についての深掘りです。この深掘り、大学3年生の後期（2002年度）に念願叶って希望の研究室に所属し、卒論の研究テーマが決まって以来掘り続けています。掘り続けている…は言い過ぎかな…この研究のことが頭から離れずずっと考え続けていますが、掘りたくても岩盤にぶつかっては中断することも。で

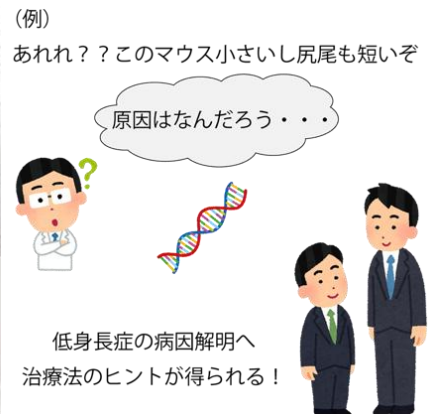
すので“断続的”に気が付けば22年続けています。そんな飽きることのない研究内容とは。

原点は、順遺伝学（フォワードジェネティクス）です。現在では、圧倒的に主流の逆遺伝学（リバースジェネティクス）。リバースジェネティクスは、選択した特定の遺伝子を破壊したり変異を起こさせたりして何が起こるかを解析する、すなわち遺伝子が先で表現型が後、解析過程では想定外の表現型や機能が明らかになることもありますし、この遺伝子って無くても大丈夫なんだ…という衝撃結果になることもあります。

それに対してフォワードジェネティクスは、観察された形質の原因遺伝子を特定してゆく古典的な遺伝学的解析方法です。つまり、表現型が先で遺伝子が後、遺伝病など、どんな症状になるかは分かっているけれど原因遺伝子が不明な場合、その原因遺伝子を特定してゆきます。

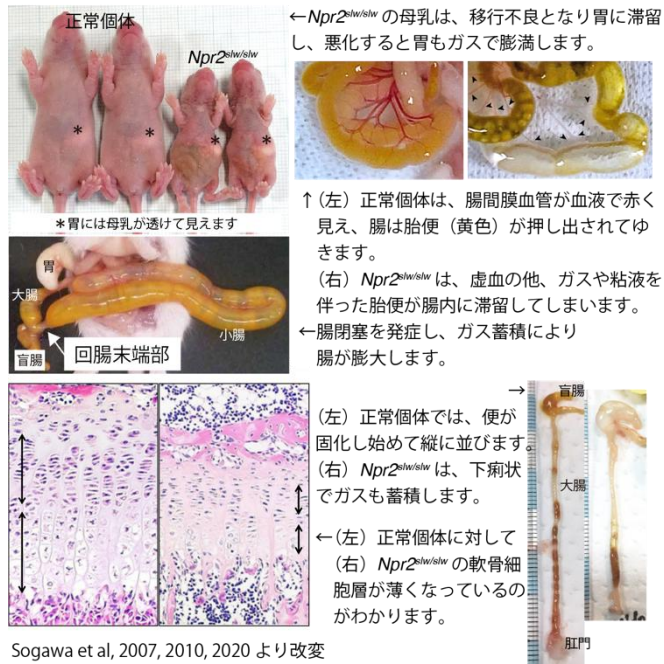


写真：Sogawa, 2017 より



2000年前後、当時NHKでは「脅威の小宇宙 人体」全盛期。遺伝子を構成する塩基にたった一つ違いが生じると・・・と、A・T・G・Cや塩基配列の波形が美しいCGで描写され、それを見て「これだ！病気の原因遺伝子を見つける研究がしたい！」と漠然と熱い思いを抱くようになりました。そんな私を待っていてくれたかのように、所属が決定した研究室で偶然発見され確保されていたのが、今もなお、私の心を掴んで離さない Short-limbed dwarfism (SLW) マウスとの出会いです…このSLWという名称、四肢や尾が短いことに由来しておりますが、当時私が Petite limed と命名しようとしたところ、あっさり却下されました。確かに今考えればプチではなくショートですね…。

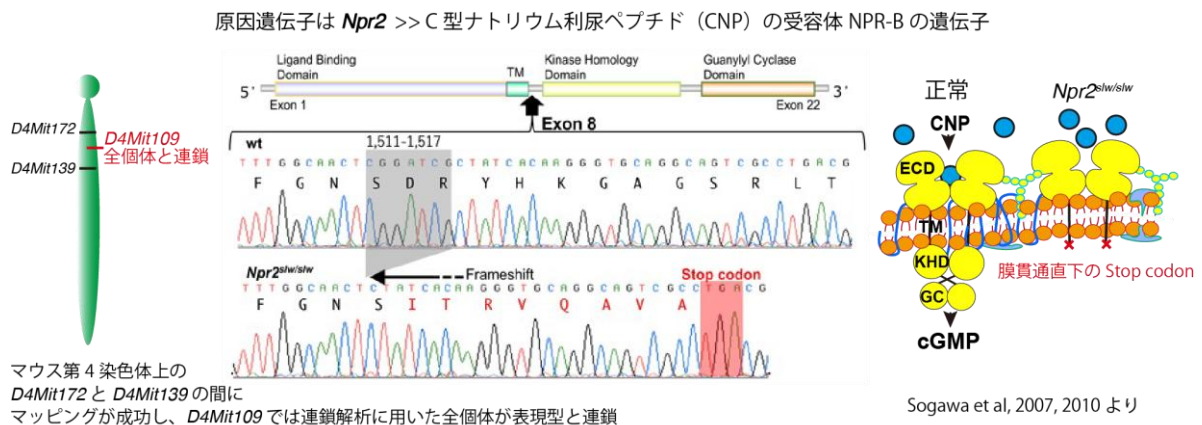
さて、私が大学生の時に出会ったこのSLWマウス、四肢や尾が短いだけでなく「お腹の異常」が最たる特徴です。



初めは、博士課程に在籍していた先輩にくっついて歩き、習いながら交配実験をスタートさせました。表現型は、ヘテロ同士の交配でホモになった場合だけ現れ、潜性遺伝することが明らかとなりました。

さあ！ここから未知の原因遺伝子の探索です。手掛かりは表現型(見た目)だけ、他の情報は一切無し。「連鎖解析」という研究手法は、恐らく研究が進化を遂げる昨今では、もうあまり行われ不会再せん。が、この「連鎖解析」と「表現型解析」「系統樹立に向けた交配」、これが卒論のミッションとなりました。フォワードジェネティクスを、ゼロからのスタートです。

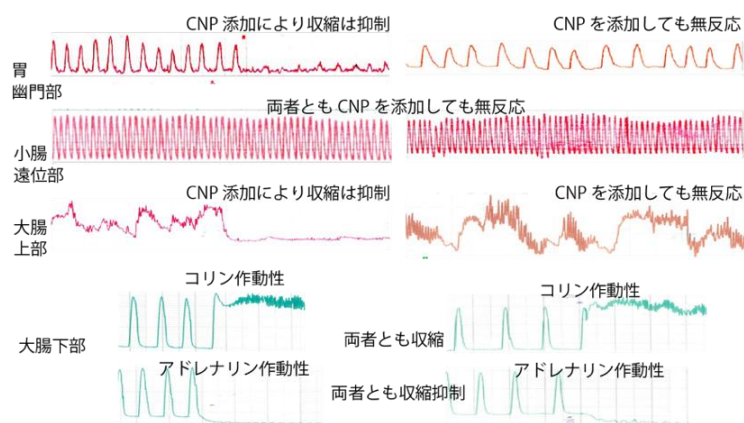
「連鎖解析」では、マイクロサテライトマーカー等の遺伝子マーカーを用いて未知の原因遺伝子が何番染色体にあるのか、そしてその染色体のどの辺りに位置しているのかを特定してゆきます。連鎖解析の結果、原因遺伝子はマウス第4染色体上の *DAMit172* と *DAMit139* の間にマッピングされ、*DAMit109* では解析に使用した全個体が表現型と連鎖しました。引き続き修士課程ではポジショナルクローニングをおこない、最終的に一つの原因遺伝子 “*Npr2*” の同定に至りました。簡単に思わないで下さい！これは当時、本当に粘って頑張った私なりのすごい研究成果です。原因遺伝子は、ナトリウム利尿ペプチドファミリーの一つ、C型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) の受容体、膜貫通型グアニル酸シクラーゼ B (NPR-B <NPR2, GC-B など複数の名称有り>) の遺伝子 *Npr2* であること、ホモマウス (*Npr2<sup>shw/shw</sup>*) の *Npr2* は、NPR-B の膜貫通直下をコードする領域に7塩基の欠失とフレームシフト変異を起こしていることを明らかとしました。そしてタンパクの生合成を停止する終止コドンが早期に出現し NPR-B の細胞内ドメインがまるごと喪失していると予想されました。病気の原因遺伝子を見つける研究がしたい…その夢が叶った瞬間でした。



そもそも、偶然にも不思議なマウスが発見されたこと、その最初の1匹が交配したこと、表現型を支配する突然変異がジャムラインに乗っていたこと、これらは全て驚くべき奇跡です。そして、そのタイミングに私がそこに入った。そんな運命も奇跡です。奇跡と頑張りの賜なのです。そして、ジェノタイプング用のプライマーができたことで系統維持が本当に楽になりました！



飼育管理と表現型に対する観察眼は、その後の研究の方向性を左右する重要な要素です。*Npr2<sup>slw/slw</sup>*は、生後の授乳期に約75%が死亡してしまいますが、飼育管理の過程で「お腹の異常」に気づき、これが研究にのめり込むきっかけとなりました。「お腹の異常」なんで？幽門狭窄症？ヒルシュスプルング病？でも *Npr2*-KO マウスに消化管異常の報告はありません。そこで、遺伝子変異と表現型の関連を証明するために、*ex-vivo*薬理反応実験や *in vivo*投与実験などをおこないました。意外なことに、*Npr2<sup>slw/slw</sup>*の消化管は活発で規則正しい蠕動を認め、閉塞部位には腸管神経節細胞/ペースメーカー細胞ともに存在、神経伝達物質への反応も正常個体と同様でした。ただ胃と大腸だけは、正常個体が CNP による弛緩反応を示すのに対して *Npr2<sup>slw/slw</sup>*では無反応でした（受容体変異ですから当然ですが）。面白いことに、小腸は正常個体でも収縮運動に関しては無反応でした。この様にして CNP は“運動性”に対して部位特異的に弛緩作用をもつことを証明し、*Npr2<sup>slw/slw</sup>*では NPR-B の機能が喪失したために、弛緩しないことがお腹の異常の一端となっていると特定できました。



(左) 正常個体、(右) *Npr2<sup>slw/slw</sup>*, Sogawa et al, 2010, 2020 より

この様にこれまで「腸閉塞」に着目し、腸管神経系をはじめとする腸の形態や運動性、神経伝達物質に対する薬理反応を中心に研究を行ってきましたが、未だ発症機序については決定的な結論を得られておりません。要するに、まだ NPR-B の消化管での役割の“全容”を特定できていないのです。内容物の状態から水・イオン代謝に着目しています。

キーは“cGMP”。

消化管制御機能のうちセカンドメッセンジャーcGMP に焦点を絞り調べると、グアニル酸シクラーゼ C(GC-C)、可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)、そして NPR-B という異なる3つの生成経路に気付かされます。それぞれのcGMPが、どこでどの様に使い分けをされているのでしょうか？既に、GC-CとsGCについては消化管における主たる作用機序が知られています。GC-Cはウログアニリン、グアニリン、または耐熱性エンテロトキシンの結合によりcGMPを生成し、最終的にクロールイオンチャンネルCFTR(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)を活性化させます。その結果、腸内に塩化物イオンとともに水を分泌して水分吸収が抑制されます。その作用が過剰な時は水が吸収されず身体は脱水になり腸の内側は水浸し…下痢の誘発にもつながる反面、その作用を利用した抗便秘薬も存在します。便秘処方薬の一つ「リナクロチド(リンゼス)」というお薬はその作用を応用しています。腸内に水分を保持して便を柔らかくしてくれます。sGCは一酸化窒素(NO)の受容体として知られています。平滑筋内でNOが結合するとcGMPを生成し、消化管平滑筋を弛緩させるといわれています。そして自律神経系のうち非アドレナリン性・非コリン性神経への作用因子として、はたまた NO/sGC/cGMP の作用は循環器分野では特に有名な因子の一つです。

しかし、NPR-Bは消化管分野においてあまり注目を浴びる因子ではないものの、*Npr2<sup>slw/slw</sup>*の消化管はユニークな抜群。私は、引き続き *Npr2<sup>slw/slw</sup>* の腸閉塞発症機序と、CNP/NPR-B の消化管での役割を明らかにしてゆきたいと思っています。そして生成経路の異なるcGMP達がそれぞれどのような特異性を持つのか明らかにしてゆきたいと思っています。

CNPは、アナログ製剤が軟骨無形成症の治療薬として認証されるなど実際に病気の治療に役立

っています。しかし  $Npr2^{Iw/sIw}$  の様に受容体が壊れている場合は効きませんから、そこにも目を向けたと思っています。 $Npr2^{Iw/sIw}$  は他にも、不妊や白色脂肪の減少など面白い表現型を伴っており、興味が尽きることはなさそうです。

・・・私は、当時ではまだ珍しかった、子持ちの大学生でしたから博士後期課程には進学しませんでした。就職して稼がねばなりませんでしたから。働きながら（仕事という研究をしながら）、この気持ちに理解を示して下さった上司、学生時代の恩師、学振 PD では見ず知らずの私を受入れて下さった獣医薬理学教室、完全なる異分野出身の私に沢山の新しい視点を学ばせて下さいましたクロマチン構造機能研究室をはじめ、様々な出会いに感謝しながら…また続きを掘り始めたいと思います。もちろん、放射線の研究を進めながら。放射線研究、これも知りたいことがいっぱい興味がたくさん詰まっています。悩んだり止まったり上手くいかなかったり、、、そんな事の繰り返しですが、小さな証明の積み重ねを大切にしたいと思っています。