

【名誉会員寄稿文】

「老化研究とともに」

石井 直明

東海大学 健康学部 健康マネジメント学科

(事始め)

1975年に東海大学医学部にて鈴木曄之教授の元で研究を開始しました。鈴木先生は放射線医学総合研究所で大腸菌を使った紫外線の生物への影響の研究をされていましたが、新設された東海大学医学部では個体の老化の研究をおこないたいとのことで、まずは実験にふさわしい動物探しから始めました。その条件としては(1)飼いやすいこと、(2)寿命が適当なこと、(3)遺伝学が確立していることでした。特に今後の分子生物学の発展を見据え、分子遺伝学ができることが必須で、最初に候補に挙がったのがマウスとショウジョウバエでした。しかし、飼育の大変さやランニングコストの面で断念しました。さらに動物探しを続けているうちに浮上したのが線虫の一種、*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) でした(写真①、②)。*C. elegans*を分子生物学の実験動物として最初に選んだのがイギリスMRCのSydney Brennerで、彼が実験動物探しを始めた頃はウイルスや大腸菌などの単細胞を使った研究が全盛の時代でした。しかし、彼は将来、生命科学の研究が多細胞生物に移行することを予想し、卵も虫も体が透明で生きたまま内部を観察できる線虫に着目し、たくさんの種類の線虫の中からイギリスのBristolという町の橋の下から見つけた*C. elegans*を実験動物として選びました。彼は数多くの突然変異体を分離して遺伝学を確立し、私が医学部に就任する1年前の1974年に“Genetics”に論文を掲載していました。そのような良い機会に「我々も*C. elegans*で!」と思っていたのですが、鈴木先生の「欧米に頼らず、日本独自の線虫を使おう」という指示で、毎日のように医学部の裏の田んぼから泥水をすくっては線虫を探しました。その中でたまたま増えてきた線虫の同定を、線虫の分類学者である石橋信義(当時佐賀大学)に依頼しました。その結果、*Rhabditis*属までは判明しましたが、種までは不明とのことでした。線虫は正式に認められている種だけでも2万種類と全生物種の1%にも達し、実際には1,500万種類以上生息し、地球は線虫で覆われている

というくらい種類が多いので、新規の線虫として自由に名前をつけても大丈夫ということで、*Rhabditidae tokai*と名付けました。しかし、この虫は育ちが悪く、突然変異体がなかなか現れなかったために、結局、*C. elegans*を使うことになりました。当時、東京都老人総合研究所(現在の東京都健康長寿医療センター研究所)で*C. elegans*を使っていた細野隆次先生(その後、金沢大学)から飼育方法を学び株を譲り受け、ハーバード大学において研究を開始し、ちょうど日本に戻ってきた三輪錠司先生(中部大学)から遺伝学的手法を教わりました。この石橋、細野、三輪の3先生が日本における*C. elegans*研究の元祖だと思います。1985年にMITのHoward R. Horvitz、コロラド大学のWilliam B. Wood、カルフォルニア大学サンタクルス校のRobert S. Edgerを招き、京都大学で線虫の遺伝学講習会が開かれ、ここの参加者たちが日本の線虫研究の発展に寄与していくこととなります。

医学部開設時の鈴木研究室では、まずは老化の表現形を見てみようということで、鈴木先生も私も放射線生物学が得意分野だったので、放射線を照射しその寿命を調べる研究から開始しました。わかったのは、線虫は放射線にめっぽう強いことでした。しかし、その分子メカニズムを解くことはできませんでした。当時、分子生物学的研究といっても制限酵素は発見されていたものの、まだ研究者が使えるような時代でなかったため、DNAの研究といえば、DNAの熱変性による2本鎖から1本鎖への解離と再結合の速度が塩基のATとGCで違うことを利用し、ATとGCの含有率の違いを推測する実験くらいしかありませんでしたので、やむを得ないことでした。

現在は遺伝子と環境の両方が老化に影響していることが明らかになり、分子メカニズムも明らかになりつつありますが、当時は、分子レベルの研究手法が発展しておらず、老化の原因については仮説止まりでした。その中で、当時若手の後藤佐多良先生や三井洋司先生、近藤昊先生らが持論を展開しては激論を交わし、学会が熱気に溢れていて、毎回参加するのが楽しみでした。

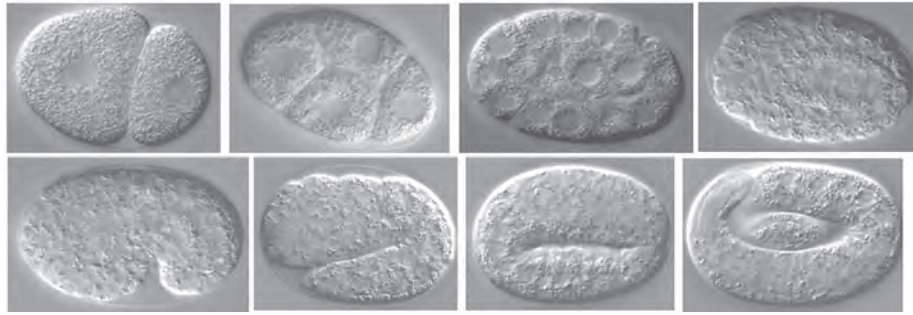
連絡先：石井直明 〒259-1292

神奈川県平塚市北金目4-1-1

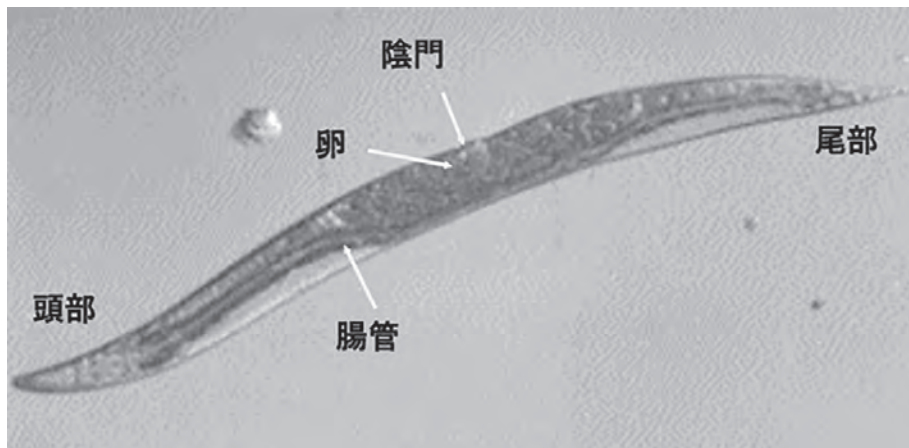
TEL：0463-58-1211 内線5729

FAX：0463-50-2259

E-mail：nao-joynet@tsc.u-tokai.ac.jp



写真① 胚発生 受精から孵化まで約 12 時間



写真② 成虫 体長約 1 mm で表皮、筋肉、消化器官、神経器官、生殖器官と、個体としての体制を持ち、体が透明なことから生きたまま内部を観察できる利点を持つ。最長寿命は約 30 日。

(次のステップへ)

ある日、鈴木先生から「老化の原因は酸素ではないか」という話がありました。それならば「酸素に高感受性の突然変異体を分離し、それが短寿命であれば実証できる」と考えました。酸素を扱ったことがなかったので、適当な酸化剤探しから始めました。私は若手のときから放射線影響学会に所属しているのですが、当時、放射線の分野は DNA 損傷修復や紫外線障害で生じる色素性乾皮症の研究が全盛期でした。その中でただ一人、京都大学の米井修治先生が酸化ストレスの発表をされていたのを奇異に感じていました。自分が酸化ストレスの研究を始めることになって、初めてその重要性に気づき、米井先生から酸化ストレスに関する教えを受け、酸化剤としてパラコートを紹介していただきました。しかし、肝心の酸化ストレス感受性の突然変異体を分離する方法をどうするかで頭を抱えました。パラコートに耐性の突然変異体の分離であれば、高い負荷をかけて生き残ったものを分離するという簡単な方法があるのですが、感受性の突然変異体の分離は、*C. elegans* が雌雄同体で自家受精することから突然変異体を得やすいという利点があるものの、非常に時間のかかる作業になります。そこで思いついたのが、卵の中には化学物質が入らないことを利用することでした。突然変異剤で変異を起こした親(P)から、卵(F3)を抱えた虫(F2)を増やし、高濃度のパラコートで暴露。早期に弱っていく虫を別のプレートに次々と

単離しました。翌日、F2の虫が死に、F3の卵が孵化して幼虫がいるプレートから虫を再度増やして、パラコートの感受性試験をしました。その中でパラコートに高い感受性を示した虫を *mev-1* と名付けました(パラコートの別名が Methyl Viologen のため)。その後、東京都健康長寿医療センター研究所の本田修二先生から酸素ガスの扱いを教わり、*mev-1* が酸素濃度依存性の短寿命突然変異体であることを突き止めました。*mev-1* の原因遺伝子がミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系複合体 II のサブユニットである *cyt-1* (マウスやヒトでは SDHC) であることを突き止めたのは、実験を始めてから 15 年も経っていました。線虫 *mev-1* の詳細や、その後作成した変異 SDHC 遺伝子を導入した培養細胞やマウスについては私や石井恭正講師がさまざまところで述べてきましたので省きますが、1956 年に Denham Harman 先生が提唱された「老化の活性酸素原因説」を分子遺伝学的に証明したことで、基礎老化学会創設者の一人であり、この説を再び世の中に出した鈴木先生への恩返しを含めて、老化研究に少し貢献できたかなと思っています。

(老化研究がもたらしてくれたもの)

私の研究のキーワードは、「線虫」、「老化」、「活性酸素」ですが、研究を始めた当初はすべてマイナーな分野でした。「線虫」は医学部の研究材料としては相応しくないと外科の教授から怒られたことがあります。当時は

*C. elegans* は国際会議でも参加者は100名にも満たない小さな分野でしたが、今では千名以上の参加者があり、6名のノーベル医学生理学賞受賞者を輩出し、線虫はショウジョウバエやマウスに並んで生命科学のモデル実験動物として確立されました。「活性酸素」が体に有害であることを今は一般の人にも知られていますが、当時は酸素が生体に毒性を示すという考えは専門家以外にはありませんでした。「老化」は自然崩壊の現象であり遺伝子は関与しないというのが当時の一般的な考えでしたので、ある偉い先生から「線虫を使った活性酸素の研究は面白いが、老化に結び付けると結果があやふやになるので、老化というキーワードは外したほうが良い」と言われたことがあります。現在の老化研究の発展を考えると、「外さなくて良かった!」と思っています。

研究生活の中で老化の研究を中断した時期が一度だけあります。それは1986年から2年間のアメリカ留学の期間です。老化の研究は2年間では難しいと判断したこと、分子レベルの研究をしたいと思い、留学先をニュージャージー州にあるロッシュ分子生物学研究所に決め、そこで神経発生の研究をしました。与えられた課題は「神経の軸索の伸展をガイドする遺伝子の同定」でした。神経が発生する過程で最初にできるのがパイオニアニューロンです。この神経が体内を走れば、あとから発生する神経はこの神経をたどって伸展していきます。UNC-6という突然変異体はパイオニアニューロンの伸展をガイドする物質が欠損しているために、神経が迷走してしまうというもので、この遺伝子の同定はR. H. Horvitzと熾烈な競争になりました。結局、私が同定に成功し、ラミニン様物質(後に鳥類の脳の研究者がネトリンと発表)であることを突き止めました。帰国直前にハーバード大学で発表し、演壇を降りたときにHorvitzから「2年間頑張った!」と褒められたときは、アメリカに来て良かったと思いました。

アメリカ留学から帰国後、神経の研究を続けるか、老

化の研究に戻るか、ずいぶん迷いました。当時はインターネットも電子メールもなく、国際電話は3分間で3,600円、手紙を出しても半月以上待たないと返事が返ってこない時代でした。しかし、アメリカ国内ではほぼ毎日、ポスト同士が電話でライバルの研究の進み具合を探るなど、最新の情報が溢れていました。日本に帰国してみると、ファクシミリが医学部の図書館と情報センターにあるだけで、アメリカからの情報がぱったりと止まってしまいました。その時、小原雄治先生(国立遺伝学研究所)が線虫研究でイギリスに留学していたので、つい愚痴の手紙を書いたら、彼からの返事は「情報は受け取るものではなく、発信するもの」。この言葉に目覚め、外部に向けて発信を始めたら、ライバルの研究者からも返事が来るなど、海外の研究情報が入ってくるようになりました。この言葉は研究者としての、私の座右の銘になっています。神経の研究は日本で一人頑張っても、直接会って頻繁に議論をしている海外のライバルたちには勝てないと考え、また待っていていた鈴木先生への恩返しと思い老化研究に専念することにし、気が付くと老化研究を始めてから40年を越してしまいました。

自分が分離した突然変異体の遺伝子の染色体上の位置を知るには違う突然変異体との交配実験が必要なことから、突然変異体の個人的な譲渡が頻繁に行われ、*C. elegans* 研究は自然と仲の良い分野になっていました。アメリカに*C. elegans* Genetic Center (CGC) が設置され、そこに保存されている数千の突然変異体が無料(現在は有料)で配布され、実験方法などの線虫の情報を公開しています。イギリスのサンガーセンターから線虫のcosmid DNAを送ってもらうことができますので、手間をかけずに実験に集中できます。*C. elegans* の生みの親であるS. Brennerが研究を始めたとき、彼の元に世界中からポストドクが集まり、帰国後、多くの弟子たちが育ちました。それがまるで線虫の細胞系統樹(図1)のように見えたので、*C. elegans* の国際会議で仲間の系統樹

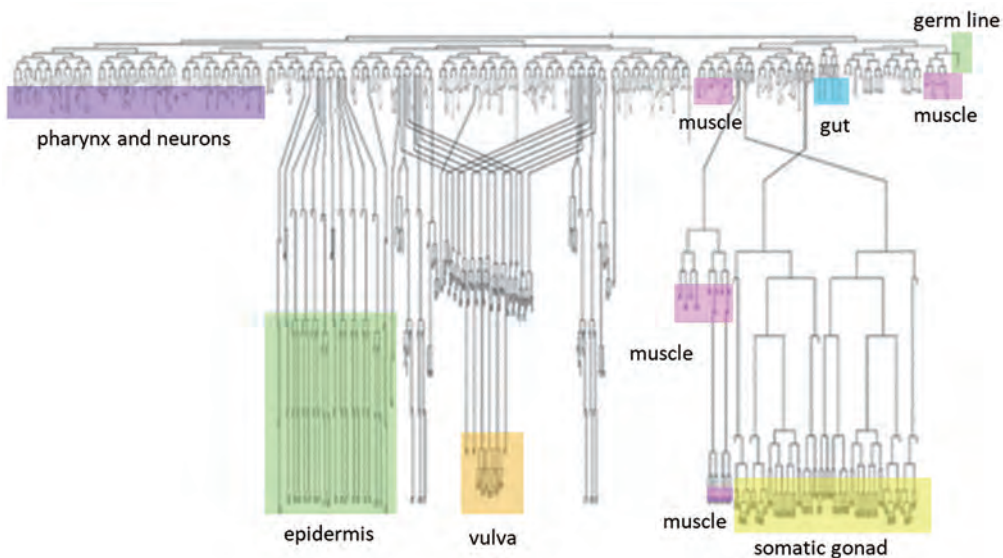


図1 *C. elegans* の全体細胞の系統樹 (DEVELOPMENTAL BIOLOGY 3235 より改変)  
成虫は959個の体細胞から成り立っている。



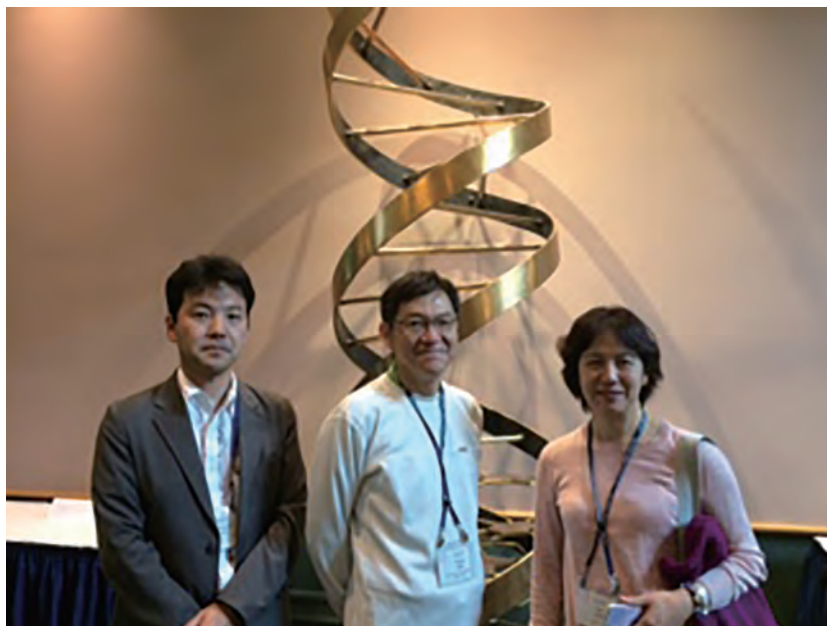
を作ろうということになり、ポスター会場に設置されたボードに弟子、孫弟子、ひ孫弟子と名前を入れていきました。これに感激した Brenner が新築した自宅に飾ると言っていたそうです。ちなみに私は Brenner の孫弟子、石井恭正講師と健康学部の安田佳代講師はひ孫弟子になります (写真③)。

線虫仲間も初めは仲の良い同士の集まりでしたが、遺伝子クローニングの競争が始まるとそこそこで軋轢が生じるようになりました。この頃になると線虫の突然変異体を分離するために突然変異剤はほとんど使われなくなり、線虫に存在するトランスポゾンによる分離方法が主になっていました。トランスポゾンは染色体のどこに飛ぶかわからないので、目的の突然変異体を探している最中に目的とは違う突然変異体が見つかることが多々あります。そのためまったく分野の違う研究者が突然学会で発表したり、論文を投稿したりするので、大きな混乱が起きました。私もその真ただ中にいたので焦りましたが、留学先のボスである Edward Hedgecock が「全遺伝子のクローニングはすぐに終わるが、それぞれの遺伝子の機能解析には時間がかかる。だから今は焦る必要はない」と冷静にしていたのが印象的でした。確かに遺伝子の機能性を調べる段階になった今は落ち着きを取り戻しています。全体細胞の細胞系統樹が完成し、全塩基配列が決定された時点で線虫の研究はやることが

なくなったと言う人もいましたが、いまだに Nature や Science に論文が頻繁に出ており、まだまだ線虫でやることはたくさんあると思います。

ライバルであり、理解者である R. H. Horvitz と立ち話をしたときに、「我々が研究を始めた頃は Nature や Science など一流雑誌からことごとく拒否されたけど、今は毎週のように紙面を飾っているね」と言われたことがあります。彼はその2年後の2002年に細胞死のメカニズムの研究でノーベル医学生理学賞を受賞しています。C. elegans の国際会議での彼の受賞記念講演の最後の言葉が、“Pioneer is not Popular, Popular is not Pioneer” でした。今の若い人たちにも今流行りのものではなく、新しいことにチャレンジして欲しいと思います。

最後に、研究の分野でも情報が溢れ、解析技術の発展とともに、研究が細分化されてきた現在では、後藤先生や三井先生、近藤先生のような熱い議論はしにくくなってきたと思います。しかし、この時代だからこそ、他の研究にも関心を持ち、自分の研究がヒトという個体の老化にどのようにかかわってくるかという大きな視野に立って、学会で活発な議論をして欲しいと思います。私がこれまで老化研究への情熱を保ち続けられたのは仲間のおかげ。みなさんも基礎老化学会で知り合った縁を大切にして、切磋琢磨できる良い仲間作りをして欲しいと思います。



写真③ Cold Spring Harbor Meeting: Mechanisms of Aging 2016にて  
医学部 石井恭正講師 (左) と健康学部 安田佳代講師 (右) と共に参加