

杏林医学会 第7回例会

医学部衛生学公衆衛生学教室

角田 透

2014年5月15日に第7回医学会例会講演会が開催された。本会は衛生学公衆衛生学教室の谷口善仁教授を講演者として第5回イブニングセミナーとの共催で行われた。谷口教授は本学に4月に着任し、これまでの研究内容と今後の研究の方向性の紹介を兼ねて、「遺伝子改変メダカを用いた環境化学物質のリスク評価」というタイトルでセミナーを行った。三十五名の聴衆を集め、セミナーの後には懇親会が行われた。

メダカは取り扱いが容易な脊椎動物であり、長くモデル動物として使われてきた。2000年以降、ゲノム情報やESTが整備されるとともに、近年はTALENやCRISPR/cas9によるゲノム編集技術により非モデル動物を含めた様々な生物で遺伝子改変が可能となっている。谷口は当時の最先端技術であるTILLING法により様々な遺伝子変異メダカを作製した。脊椎動物におけるTILLING法の適用は、2002年にオランダのR. Plasterk博士らのrag1ゼブラフィッシュ変異体が嚙矢である。谷口はメダカ変異体を作製するためにオランダのHubrecht研究所を訪問し、TILLING法による初の変異メダカであるp53遺伝子ノックアウトを作製し、2006年にGenome Biology誌上に報告した。p53はゲノム損傷を受けた細胞で安定化される転写因子で、細胞周期停止やアポトーシスに関連する遺伝子群の発現を誘導する。魚類のがん抑制におけるp53の機能は不明であったが、哺乳動物同様、自然発がんに対して抑制的に働いており、生物種を超えたp53の機能の保存性が証明された。

TILLING法は、突然変異誘導剤エチルニトロソウレア(ENU)によるランダムな点変異集合体から、特定遺伝子が破壊されている個体をハイスループットシーケンスなどの高速スクリーニング法により選別する方法である。したがって、目的とする遺伝子の変異以外にENUによって誘導された多数の変異を含む。そのため、変異誘導されたアレルを正常型アレルと置換するために複数回の戻し交配が必要である。谷口は戻し交配前後の

p53遺伝子ホモ変異体の表現型の違いに着目した。すなわち、戻し交配する前の個体では、腎臓、肝臓、網膜、精巣など様々な臓器に固形腫瘍が現れるのに対し、戻し交配後の個体では主として腎臓の間質に腫瘍細胞が出現した。これはTILLINGライブラリー中の未同定の変異アレルが腫瘍の性状を規定することを示唆する。谷口は次世代シーケンサーにより戻し交配前の個体のゲノムの全ゲノムのディープシーケンスを行った。現在、北里大学との共同研究で、戻し交配前のメダカのSNVsを網羅的に解析中である。

ヒトではp53遺伝子を先天的に欠損している家系は、軟部組織肉腫、骨肉腫、乳がん、脳腫瘍、副腎皮質腫瘍などを若年時から多発し、Li Fraumeni症候群という稀な疾患として知られている。一方、p53遺伝子を欠損させたマウスではリンパ腫が多発する。メダカと並んでモデル動物としてよく使われるゼブラフィッシュはコイ科に属する真骨魚であるが、悪性末梢神経鞘腫瘍(Malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST)が発生することが報告されている。このように生物種により発生する腫瘍の種類やその由来する組織・臓器に特異性があるが、これらの違いが何に起因するかということの解明にも取り組みたいとの話があった。

次に、代表的な解毒代謝酵素のcyp1a遺伝子欠損メダカについての説明があった。cyp1aはシトクロムP450に属する遺伝子で、ダイオキシンや多環芳香族炭化水素(polyaromatic hydrocarbon, PAH)などにより活性化したbHLH-PAS構造を持つAhR(aryl hydrocarbon receptor)がそのパートナーARNTと結合し、核内へ移行してcyp1aなど解毒代謝に関する一連の遺伝子群の発現を調節する。谷口はTILLING法によりcyp1a遺伝子欠損メダカを作製した。このメダカをPAHの一つである3-メチルコラントレンに暴露すると、野生型ではほとんど影響のない濃度で著明な心嚢水腫を起こして死亡した。このようにcyp1aノックアウトメダカではAhRシグナルによ

り解毒代謝される外来性物質が代謝されず、これらの物質に対して高感受性になっていた。興味深いことに、非暴露群においてもノックアウトは野生型に比べてAhRシグナルが亢進していることがトランスジェニック動物

などを用いた実験から明らかとなった。これはAhRを活性化する内因性の生理活性物質が存在することを示唆しており、今後はメタボローム解析などによりその物質の同定を目指したいとのことだった。