

## Regulatory Mechanisms of Gene Expression for Adaptation

### 環境適応の遺伝子発現制御機構

プロジェクトリーダー 山本 雅之

筑波大学 基礎医学系及び

先端学際領域研究センター 教授

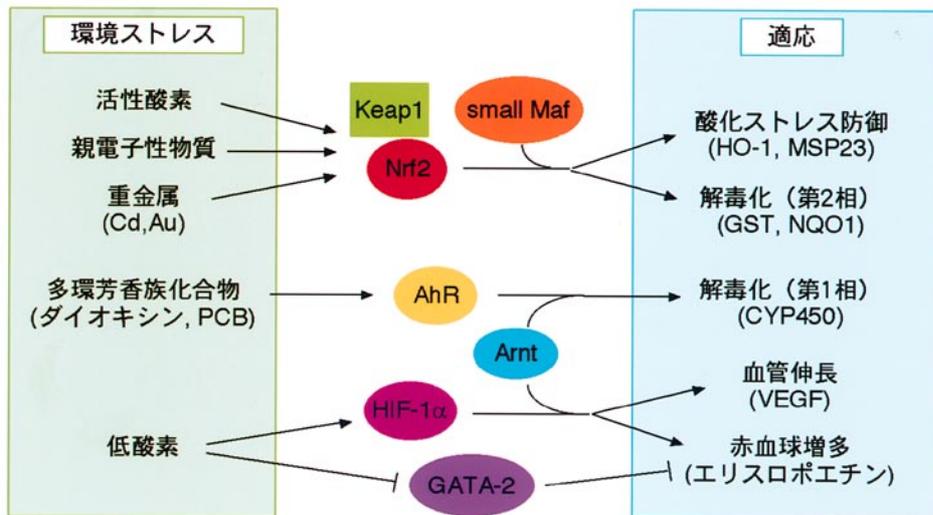


図1 環境ストレスに対する適応機構のモデル

## 1. 研究の目的

私たちの体を取りまく環境は、細胞にとって悪影響を及ぼすもので満ちています。にもかかわらず、私たちが健康な生活を営めるのは、体の細胞が、さまざまな環境情報に応答して、これらに適応する機構を備えているからです。科学の発展は、私たちの生活を非常に豊かなものにしましたが、一方で、ダイオキシンや有害農薬・食品添加物などの社会問題をひき起こしました。これは環境中に新しく出現した物質群が、私たちの体にとって未知のものであり、従来の能力では適応しきれず、病気や癌の誘発要因になったからだと考えられます。この難問題の解決には、私たちの体がどんな物質に適応できるのか、また、どのような生体機構で応答しているのかを知る必要があります。環境適応の実働部隊は、体内に数多くある環境ストレス防御酵素です。私たちの体は、さまざまな環境変化に対し、適切なタイミングで相応の酵素群を発現させる「しくみ」をもっています。すなわち、体内のセンサー分子がストレスとなる環境情報を感知すると、これに適したストレス防御酵素のセットを選び出し、その遺伝子発現を誘導する生体機構です。

このプロジェクトの目的は、環境ストレス感知から防御酵素遺伝子群の発現誘導までの機構を分子レベルで解明し、この成果を利用して、臨床医学的あるいは産業的な応用につなげることです。目標達成に向けて、代表的な環境適応機構である酸化ストレス応答系・外来異物代謝系・低酸素応答系の遺伝子発現制御を解析対象にして研究を進めています。

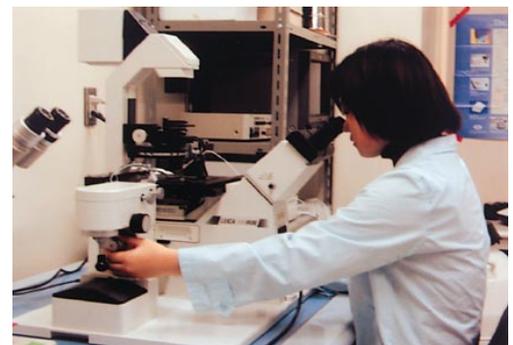


図2 マウス受精卵にDNAを注入



図3 ゼブラフィッシュの飼育

## 2. 研究の内容

今までの研究から、環境ストレス防御酵素の遺伝子発現誘導を担うのは、いくつかの転写因子であることがわかってきました。このプロジェクトでは、この「環境適応転写因子」群が、どのような生理機能を持ち、どのようなメカニズムで活性化されるのかを解くことに焦点をあて解析を行っています。研究方法の特色としては、動物個体(マウスとゼブラフィッシュ)を重点的に用いる点が挙げられます。ある遺伝子の生理機能を明らかにするためには、その遺伝子を破壊した動物を用いて調べる必要がありますが、マウスは遺伝子破壊解析ができる唯一の脊椎動物です。私たちは「環境適応転写因子」遺伝子を壊したマウスを解析することにより、環境ストレス応答の「しくみ」を調べています。こうしたマウスは、環境ストレスに基づくさまざまな病態の疾患モデルや、発ガン性を誘引する化学物質のモニターとしての活用も期待されます。一方ゼブラフィッシュは、バイオテクノロジーが適用できる水棲動物として最近注目を集めている熱帯魚です。私たちがこの魚を選んだ理由は、稚魚の段階で体が透明なため、環境ストレスに反応して発光するモニター魚の作製が可能だからです。以下に、具体的な研究内容を解析対象ごとに解説します。

### (1) 酸化ストレス応答系：

酸化ストレスとは、有害な過酸化化物やラジカルが体内に蓄積する状態をいいます。私たちの体は、ヘムオキシゲナーゼ(HO-1)やペルオキシドレドキシン(MSP23)などの抗酸化酵素群を発現して、過酸化化物やラジカルを消去につとめます。私たちは、この抗酸化酵素群の遺伝子発現誘導を、Nrf2という転写因子が行っていることを明らかにしました。Nrf2がない細胞では、弱い酸化ストレスにさえ耐えきれず、壊死を起こします(図4)。Nrf2の活性化には、Neh2ドメインとよばれる領域が必要ですが、私たちはこれを利用して、薬剤に反応して光る動物を作り出しています(図5)。さらに私たちは、Keap1という面白い構造をもつNeh2ドメイン結合蛋白質を発見しましたので、その酸化ストレス応答との関連性を現在調べています。

### (2) 外来異物代謝系：

重金属や多環芳香族化合物などの化学物質は体内で毒性を発揮しますが、私たちの体は、数百種類にのぼる異物代謝酵素群を備えてこれに対処しています。体に入った異物は、チトクロムP450(CYP450)などの異物代謝第1相酵素群による極性化反応をうけたのちに、グルタチオンS転移酵素(GST)などの第2相酵素群による抱合反応をうけ無毒化されます。第1相と第2相酵素群の遺伝子発現誘導は、それぞれAhR及びNrf2(前述と同様)という転写因子が担っていると考えられています。その制御機構は不明な点も多く、現在詳細な解析を行っているところです。この解析過程で私たちが作り出したNrf2-galマウスは、細胞障害を与えない程度の低レベルの薬剤処理に対しても、敏感に反応します(図6)。このマウスが食品添加物の有害性検定などに利用できないか、さまざまな薬剤を用いて検討しているところです。

### (3) 低酸素応答系：

生命活動を続けるためには、酸素の供給は欠かせません。私たちの体は、虚血や貧血などにより低酸素ストレスにさらされると、血管を新たに作ったり、赤血球を増やしたりして対応します。この現象は、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)やエリスロポエチン(EPO)などの遺伝子の発現誘導が引金となっていると考えられています。VEGFとEPO遺伝子の発現誘導は、HIF-1とよばれる転写因子が担うことが明らかとなりました。HIF-1は非常に壊れやすいタンパク質ですが、低酸素ストレスにより安定化されます。どのような機構によりこの安定化が行われているのか、調べているところです。

## 3. 研究の体制

期 間：1998年7月～2003年3月

構 成：プロジェクトリーダー1名、コアメンバー1名、研究協力者13名ほか

実施場所：筑波大学基礎医学系分子発生生物学研究室

同先端学際領域研究センター生物形態変換研究アспект研究室

東北大学大学院理学研究科生物化学研究室

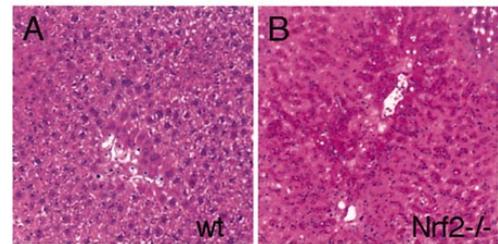


図4 解熱鎮痛薬であるアセトアミノフェンの急性毒性に高感受性となるNrf2遺伝子破壊マウス(Aの野生型コントロールマウスと比較して、Bでは著明な肝細胞壊死が観察される)

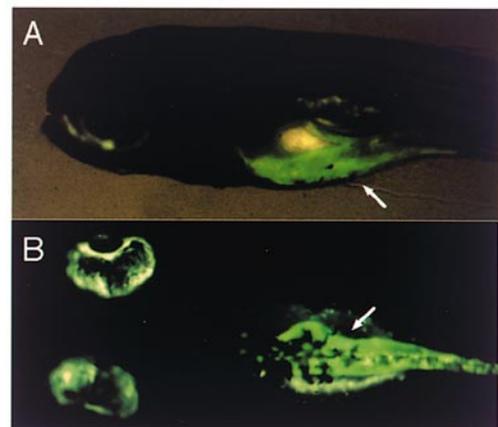


図5 薬剤に対して発光を示すNeh2-GFPゼブラフィッシュの腸(矢印。Bは腹側からの観察。眼の発光は自家蛍光)

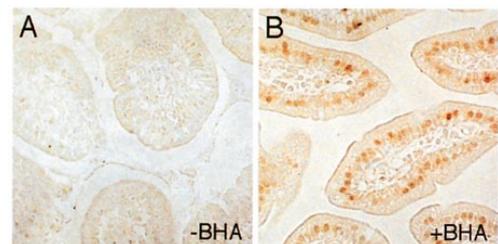


図6 食品防腐剤BHA経口投与により、LacZ遺伝子発現を誘導するNrf2-galマウスの小腸壁(免疫染色解析で褐色標識。Aは無処理時)