

先端分子医学研究センター (FCAM) 若手ワークショップ - 研究拠点形成に向けての人材育成 -

FCAM 若手ワークショップ運営委員長
医学部講師 藤本 崇宏
先端分子医学研究センター長
医学部教授 白澤 専二

はじめに

先端分子医学研究センター (FCAM) は 1) 癌、2) 糖尿病・肥満・循環器疾患を中心とした生活習慣病、3) 免疫関連疾患・感染症の 3 つの多因子疾患群を対象として、最先端の科学技術を導入し、基礎系と臨床系の研究者が連携して研究を行い、それらの病因・病態の解明とその理解に基づいた先駆的治療法・予防法開発の基盤を構築することを目的として、先端的研究を推進させている。

しかしながら、FCAM 設立の最大の目的・趣旨は福岡大学における医学・生命科学分野の研究拠点を形成させることにあり、もし、「研究拠点形成に必須なものを一つだけあげよ」と言われたら、「若手研究者の育成である」と答えることができると思われる。今回は、研究者育成の一環として取り組んでいる FCAM の基盤的活動としての「FCAM 若手ワークショップ」を紹介する。

1. FCAM 若手ワークショップの発足

基礎生物系や臨床医学系でのプロジェクト研究において、学術的研究成果や保健医療・社会福祉の向上に繋がる研究成果を挙げなければならないことは、研究費に対するレシートとして当然のことである。しかしながら、限られたプロジェクトの期間を超え、研究拠点としての中・長期的視点からすると、研究推進の原動力となる研究者個人の能力向上と同時に、研究者間の連携の構築も有意義な成果の一つに挙げることができる。

数年単位の時限で取り込まれるプロジェクト研究においてもたらされる研究成果は、断片的なシーズ

であることが多く、そのシーズを一般社会が求めるプロダクトへと成長させるにはさらなる年月を一般的に要する。その過程で多くの人材が研究業務に携わるわけであるが、研究の細分化・複雑性が増す今日においては、研究の分業化・協力を必要とし、その連携の質が目標達成に大きな影響を及ぼすことになるのである。すなわち、日々の研究の現場において刻一刻と変化するニーズ・問題点の理解とその解決の必要性を迅速に把握し、従事者間の連携や柔軟な軌道修正を發揮することが求められる。

そこで、多くのプロジェクト研究は、設定当初の目標に従って必要な構成メンバーを適材適所で参画させ、日頃の共同研究やグループリーダー(トップ)間で行われる会合などにより、連携を図り目標達成を試みている。しかし、グループ間を横断した研究従事者の連携は不十分になりがちであり、またトップ間での会合において現場の意向が反映されないことも多々起こり得る。そのような状態に陥らないために、FCAM ではプロジェクト開始時より、各構成グループの現場において中心的な役割を担う若手研究者から成る「FCAM 若手ワークショップ運営委員」を発足し、若手研究者が自ら定期的な「若手ワークショップ」を開催し率直な意見交換を行う機会を設けた。そこでの活動により、若手研究者の育成と同時に、密接なグループ間の連携やコンセンサスの確立などの充実を図っている。

2. これまでの FCAM 若手ワークショップ

これまでに既に 5 回の若手ワークショップが開催され、回を増すにつれて医学部内での認知度が高ま

り、基礎系・臨床系の大学院生、技術員、研究員、助手、助教、講師、準教授、教授といった幅広いメンバーが集うようになった。日頃の研究成果報告や問題点の洗い出しを活発な討論・意見交換にて行うことは勿論のこと、プログラムの取り決めから当日の司会進行を含む運営は若手研究者が中心となって行っており、次世代・次々世代を担う若手研究者の成長を促す良い機会になっている。このような現場に携わる若手研究者が一堂に会して意見交換ができる機会は貴重であり、また少しずつ専門が異なる研究者間の交流は、思いがけない知識の融合を導き出すきっかけになると思われる。扱われる内容は未発表の最新の知見を多く含み、各々を取り巻く研究の動向や互いの研究の位置づけを把握する上で有意義なものになっている。

シニアの先生方からは、厳しい意見の中にも、若手研究者の incentive を高めるような適切なアドバイスが行われている。このような外部の研究者からプラス志向の review を受けることは、研究の発展において、とても重要なステップにもなるものである。

- 第1回発表者：藤本崇宏、伊豫田拓也、伊藤竜太
第2回：高島康郎、白須直人、讃井絢子
第3回：喜多紗斗美、仇 斌
第4回：濱中和嘉子、大石 純、松本太一
第5回：吉田康浩、八尋英二、中島 衡
(敬称略)

3. FCAM 若手ワークショップ運営指針(一部抜粋)

FCAM に所属する若手研究者が中心となって、若手研究者同士が知り合い議論することにより、プロジェクトを推進し新たな共同研究の発展や研究拠点の形成に資することを目的としている。よって、希望する若手研究者は誰でも参加できる。ただし、ワークショップで取り扱われる内容に関しては、参加者全員が守秘義務を負うこととする。

なお、開催日時・テーマは1カ月前から医学部内掲示板またはFCAM ホームページに掲載しているので参照していただきたい。

4. 若手委員(敬称略)

- 藤本 崇宏：細胞生物学・講師
白須 直人：生化学・助教
伊豫田拓也：薬理学・助教
伊藤 竜太：微生物・免疫学・助教
讃井 絢子：産婦人科学・大学院生
高島 康郎：FCAM 研究員

おわりに

さらにアクティブな場にするためには、大学院生の参加、若手と熟練の研究者・臨床医の交わりや、専門性が異なる研究者の意見等が必要と思われる。また、若手研究者の育成と並行して、次世代女性研究者の育成・支援を行えるシステムの樹立も、検討していくべき課題であると考えられる。今後も定期的に(1年に4回程度)開催するが、プロジェクトの成功に寄与するものになるよう臨機応変に運営方法を修正していく所存である。

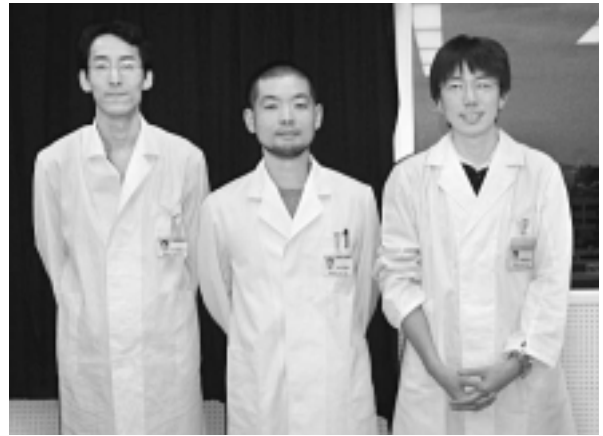
多くの方々の御参加と率直な御意見を賜りたい(上記の運営指針に御理解いただける方であれば参加資格は設けていませんので、新規の飛び入り参加をお待ちしております)。

謝 辞

FCAM 若手ワークショップ運営に際し、FCAM グループリーダーの先生と医学部情報センターの方々には多大な御協力を賜っております。この場をお借りして深くお礼を申し上げます。



第1回若手ワークショップ集合写真



第1回若手ワークショップ発表者



第4回若手ワークショップ発表者



第5回若手ワークショップ



日中韓学生によるサマースクール開催

資源循環・環境制御システム研究所

所長 樋口 壯太郎

1. はじめに

8月30日から9月5日にかけて日本、中国および韓国の大学院生を対象としてサマースクールを開催した。対象は3カ国の大学院生で福岡大学資源循環・環境制御システム研究所をメイン会場に環境修復技術の体験学習および北九州エコタウンの見学を通して環境を学ぶことを目的としている。以下にその概要を報告します。

2. 背景

今回のサマースクールは毎年開催される環黄海圏学長フォーラムにおいて2008年韓国仁川で開催された折に仁川大学学長の提案で日中韓共同で学生交流を実施することが決まりました。翌2009年、中国煙台市で開催されたフォーラムで福岡大学衛藤学長よりその第1回目として日本で環境をテーマにサマースクールを開催することが提案され承認されました。このため日本側は福岡大学の他、九州工業大学、熊本大学、北九州市立大学が幹事大学となり企画準備を進めてきました。今年は10月に北九州市でフォーラムが開催されることから、それに先立ち、夏休み期間を利用して実施することとなりました。

3. サマースクール

プログラムはエコタウンを擁し、環境首都を謡う北九州で開催されることから北九州エコタウンの見学と実証研究エリアで企業が開発研究に用いた施設を用いて体験学習を行うことを中心として構成しました。中国からは山東大学、大連理工大学および天津大学から7名、韓国からは湖西大学校、東義大学から2名、日本からは福岡大学資源循環環境工学専攻の学生3名および日本に留学している中国人学生4名の計16名が参加しました。

(1)オリエンテーリング

8月30日、福岡空港に集合した学生たちはバスで宿泊先の北九州ハイツへ直行し、プログラムの説明等オリエンテーションを受けました。夕方は事務局である福岡大学産学官連携センター職員、資環研職員を交えて交流会を行いました。後に聞いたところ畳みでの生活、共同風呂、浴衣は初めての体験だったらしく女子学生の参加が多かったので心配していましたがすぐに慣れて日本式の生活を楽しんでもらったのには一安心でした。

(2)講演、挨拶

翌31日は北九州エコタウン内のエコタウンセンターにて衛藤学長の挨拶にはじまり、北橋北九州市長の挨拶、ついでエコタウン設立に中心的に関わられた日鉄運輸の川崎常務からエコタウン設立にいたる経緯を含むエコタウン事業の意義についての講演、最後に本学法学部の浅野教授による「日本における環境政策」についての講演が行われました。講演終了後はエコタウンのリサイクル工場の見学を行いました。



講義風景

(3)実証体験学習

9月1日、2日は資環研および周辺の実証研究設備を用いた体験学習を行いました。使用した設備は

資環研の「大型埋立実験槽」、「高度浸出水処理プラント」、福岡大学と共同研究を行った「焼却残渣洗浄設備」、「移動式炭化炉」でしたが特に高度浸出水処理プラントと炭化炉については多くの学生が興味を持ったようで筆者が七隈キャンパスで拾い集めてきた松ぼっくりの炭化物を記念に持ち帰りました。体験学習は時間の関連もあり、必然的に共同研究先企業の研究者や日本人学生が実証プラント稼働作業を行い、中韓学生が作業補助を行いながら質問する形式となりました。



資環研大型実験槽



炭化炉の前で

(4)工場見学および交流

9月3日からは再度工場見学（シャボン玉石けん）を行い、その足で阿蘇山まで足をのばし一泊の交流旅行を行いました。さすがにこのころになると国境の垣根がなくなり若者らしい交流を行っていたようです。今回のサマースクール中、唯一の観光で日本の夏を楽しんだようです。

(5)閉講式

9月4日夕方、熊本から帰福し、福岡市内の福岡大学セミナーハウスで閉講式を行いました。衛藤学



阿蘇山観光

長から修了証を受け取りそのあとはフェアウエルパーティーでさらに懇親を深め、翌5日それぞれ帰国の途につきました。

4. おわりに

サマースクールを終えて、国の異なる学生達が起居を共にし、同じ釜の飯を食った体験は参加した学生達の表情や意見あるいは交流状況を見るに大成功であったと思います。また福岡大学でしかできない大型実証設備を用いた学習を体験した一部の学生からは福岡大学に留学したいとの発言もあり、PR効果もあったと思います。これを手始めに日中韓持ち回りで継続されることが望まれます。今回のサマースクールは初めての企画であったことから皆、手探りで進行させることとなった。準備幹事大学間の連絡調整、プログラム作成、そして何より3カ国の夏休み期間が異なることから韓国の学生には夏休みが終了しているにも関わらず参加してもらうなどの予想外の出来事があった。これらの調整、研修学生達と起居を共にしていただいた研究推進部の角中教授、産学官連携センターの浦課長をはじめスタッフの方々に感謝します。また会場設営、体験学習のサポートをしてくれた研究室ならびに資環研スタッフ、学生および共同研究企業の方々に感謝します。

タンパク質の機能発現に対する溶媒効果

理学部化学科教授 山口 敏 男
助教 吉田 亨 次

はじめに

一次元的なタンパク質ポリペプチドが取り得る立体構造は天文学的な数になるが、タンパク質はその中から唯一熱力学的に最も安定な立体構造（天然構造）に折り畳まれて機能を発現している。一方、アルツハイマー病に代表されるアミロイドーシスでは、老化やストレスなど様々な要因により、タンパク質ポリペプチドが誤って折り畳まれてアミロイド線維が形成される。このような一見複雑に見える生命現象には、数千種類のタンパク質や核酸分子などの生体分子が関与しているが、生体中にはたった一種類で生命体の重量の約70%程度を占める物質がある。それは水であり、生命活動において水は不可欠の物質であることは言うまでもない。分子間相互作用を基にした生命現象を理解するためには、水分子と生体分子を等価に扱い、両者が共存することによりつくり出される新たな構造形成を研究する必要がある。すなわち、生体分子の周りの水和構造や溶質分子により形成されるメソスケール構造と水素結合ネットワーク構造との関わりを調べるのが重要である。我々のグループでは、生命活動を司る生体分子のひとつであるタンパク質分子やペプチド分子の構造安定性や会合体形成を含めた高次構造形成について、溶媒の液体構造との関連を明らかにするため、以下の5つのテーマを中心に研究を行った。

中性子同位体置換法およびEPSR解析によるアルコール-水混合溶媒の液体構造

エタノール、トリフルオロエタノール（TFE）、ヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP）と水の各混合溶液について、同位体置換中性子回折実験を行った。アルキル基および水酸基の水素原子を重水素置換することにより、得られた部分構造因子を基

に改良したポテンシャルを用いて、Empirical Potential Structure Refinement（EPSR）法により、全ての二体分布関数ならびに空間分布関数（図1）を求めた。エタノールモル分率が0.2以上で、水の正四面体類似構造は壊れていること、また、液体構造は正四面体類似の三次元的網目構造から直線状のジグザグ構造へ変化することが明らかになった。この構造変化は他のアルコールについても同様に起こることがわかったが、構造変化が生じるアルコール濃度はアルコールの疎水基の大きさが大きくなるにつれて、水の高濃度側にシフトすることが明らかになった。また、水の濃度が高い領域では、アルコールの疎水基同士が接触した構造をとることが示唆された。これは、界面活性剤のミセル形成と類似している。この液体の構造転移が生じるアルコール濃度において、タンパク質の二次構造（ α ヘリックス構造）が強化されることから、溶媒構造とタンパク質の構造安定性の相関が示唆された。

多孔性シリカに閉じ込められた水のダイナミクス

直径が数ナノメートルの細孔に閉じ込められた液体はバルクとは物理的・化学的性質が異なっている。身近にありふれた液体である水もその例に洩れず、細孔サイズが ~ 2 nm以下では氷の均一核形成は生じず、生体内の不凍水のモデルとして研究されている。中性子回折（ND）測定および、ナノ秒程度の時間分解能での測定が可能な中性子スピンエコー（NSE）法を用い、多孔性シリカガラスMCM-41C10（2.04 nm）中に閉じ込められた水の構造とダイナミクスを明らかにした。中性子回折実験により得られた細孔内の水の構造因子 $S(Q)$ について、 17nm^{-1} 付近に存在する第1ピークは温度の減少とともに低い Q 側にシフトして、低密度アモルファス氷の値に近づ

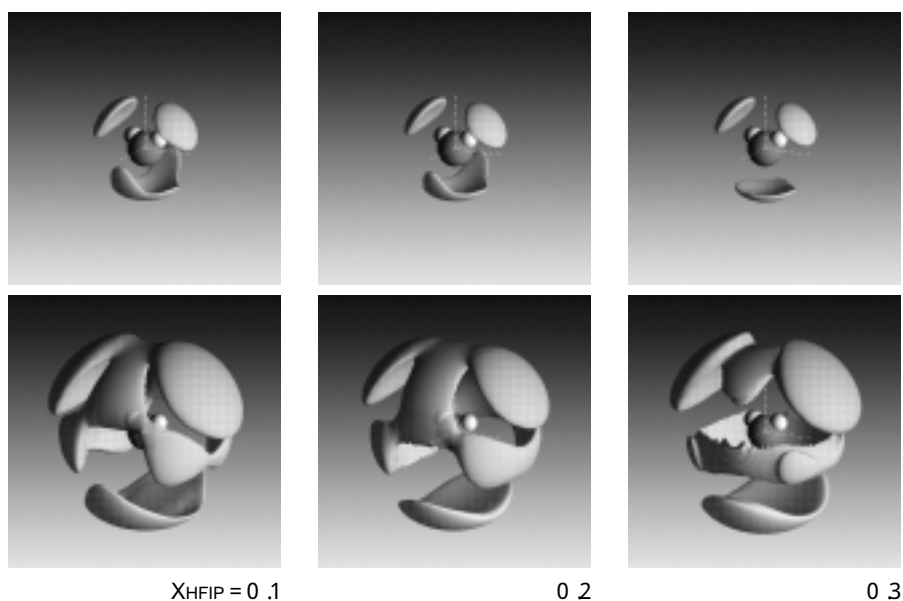


図1．ヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP）水混合溶液における水分子周りの水分子の空間分布図。上のパネルは第1配位圏、下のパネルは第2配位圏の分布を表す。アルコール濃度が高い領域では、第2配位圏の分布に非局在化が見られる。

いた。これは、温度が低下すると細孔水の水素結合が発達していることを示唆しており、以前に行われたX線回折実験の結果と一致した。一方、中性子スピンエコー測定から得られた中間散乱関数は引き伸ばされた指数関数でフィットされ、緩和時間、指数 β 、弾性散乱項を得た。測定された全ての温度に対して、指数 β は1よりも小さく、緩和時間に分布があることが示された。また、緩和時間は $S(Q)$ の第1ピーク付近で極大となることがわかった。次に緩和時間の温度依存性をVogel-Tammann-Fulcher (VTF) 式でフィッティングを行った。229K以上の温度範囲ではVTF式に従うFragile液体の挙動を示すのに対して、229K以下ではArrhenius型の挙動を示した。

タンパク質（ペプチド）の立体構造およびダイナミクスと液体構造変化

アルコール-水混合系における β ラクトグロブリンの立体構造に対する溶媒効果を分子論的に解明した。中性子小角散乱ならびに非弾性散乱法（飛行時間法ならびにスピンエコー法）により、水-アルコール混合溶媒中の β ラクトグロブリンの構造とダイナミクスを観測し、タンパク質の立体構造形成と溶媒構造との関連を考察した。広い Q （運動量遷移の大きさ）範囲で中性子準弾性散乱を測定する

と、タンパク質における複数の運動のモードが観測された。そのいずれもがアルコールの添加により、タンパク質を構成している原子の運動が遅くなることを示した。また、レプリカ交換分子動力学計算（REMD）により、アルコール水混合溶媒中において、モデルペプチドの溶媒和構造を明らかにした。（図2）その結果、アルコールの添加によりペプチドの分子内水素結合の数が増加し、二次構造（ α ヘリックス構造）が強化されることが示された。そして、溶媒構造の観点からタンパク質のフォールディング機構を解明する指針を得た。

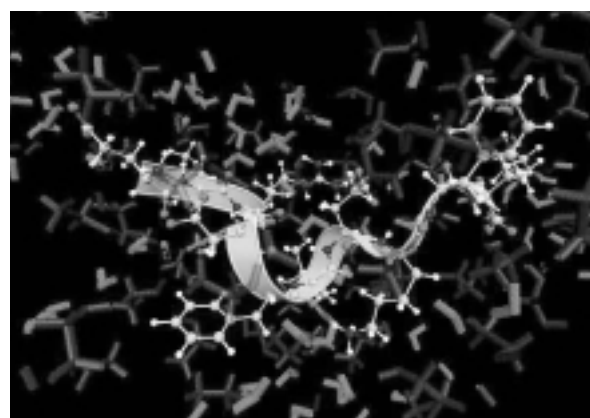


図2．分子動力学計算から得られた、エタノール-水混合溶媒中（エタノールのモル分率は0.4）の10残基ペプチドのスナップショット。エタノール分子は灰色、水分子は白色で表されている。ペプチド分子内の水素結合が形成されている。

アルコール添加によって形成されるタンパク質のゲル形成

これまでに、タンパク質の熱変性や圧力変性に伴う会合やゲル化は広く研究されているが、共溶媒の効果による会合やゲル化は比較的知られていない。本研究では、アルコール添加によって形成される β ラクトグロブリン(β -LG)ゲルの構造とダイナミクスに対するアルコール濃度依存性を円二色性測定(CD)、中性子小角散乱(SANS)、中性子スピネコー(NSE)、動的光散乱(DLS)によって明らか

にした。アルコール濃度が低い領域では β -LGはモノマー分子として存在しているが、アルコール濃度の増加により、架橋ゲルの特徴であるネットワーク構造を形成することがわかった。(図3)また、ゲルの構造や動的性質はアルコールの種類によらないこと、また、熱変性ゲルとは構造が異なることが明らかにされた。そして、アルコール添加による β シート構造から α ヘリックス構造への二次構造変化がゲル形成の引き金となることを提唱した。

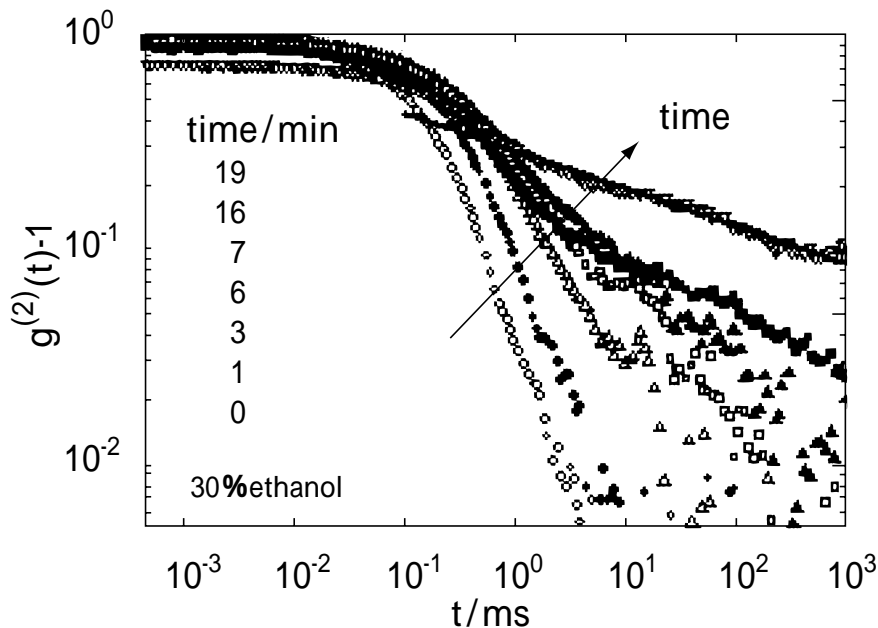


図3. 動的光散乱から得られた、エタノール-水混合溶媒中の β ラクトグロブリンの強度-時間相関関数。時間の経過とともに、相関関数の緩和は遅くなり、ゲルが形成されると相関関数はべき関数の挙動(架橋ゲルの特徴)を示した。

ジメチルスルホキシドによるアミロイド線維の溶解機構の解明

β_2 ミクログロブリンが形成するアミロイド線維は、ジメチルスルホキシド(DMSO)水混合溶液中で、DMSOモル分率0.2付近から溶解し始め、0.5付近でほぼ完全に溶解することが報告されている。X線回折実験とEPSR法を組み合わせ、DMSO水混合溶液の構造解析を行った。DMSO水混合溶液ではDMSOモル分率0.3付近と0.7付近で構造転移することを見出した。両者の傾向はよく一致しており、アミロイド線維の溶解にDMSO水混合溶液の構造が深く関与していることが示唆された。さらに、酵母プリオンタンパク質Sup35p由来の7残基フラグメントGNNQQNYを合成してアミロイド様

線維を形成させた。水-ジメチルスルホキシド(DMSO)混合系において、液体構造が変化する組成でアミロイド様線維が溶解することを明らかにした。次に、水、DMSOおよびその混合溶媒中での溶解過程の分子動力学シミュレーションを行った。純水の系でアミロイド様線維モデルの構造がtwist構造(図4a)が安定であることが明らかになった。アミロイド様線維溶解の指標として、平均二乗変位(RMSD)と β シート間の水の濃度を調べた。その結果、DMSO濃度が増加するとアミロイド様線維の疎水性 β シート間に隙間が生じ、その隙間に水分子が侵入することで、水分子がくさびのような役割を果たすことによってアミロイド様線維が溶解すると結論した。

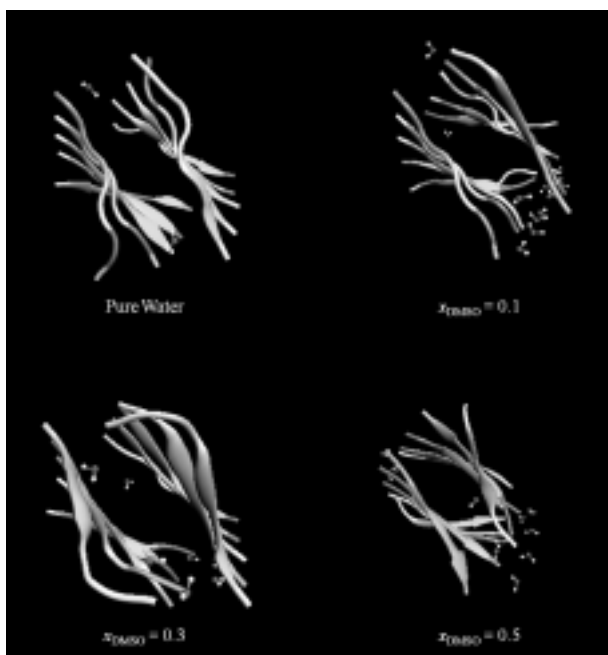


図4 . DMSO 水溶液中のペプチド GNNQQNY10 量体アミロイド様線維における4.5ナノ秒後のMDシミュレーションナップショット。(a) 純水、(b) DMSO モル分率 $X_{\text{DMSO}} = 0.1$ 、(c) $X_{\text{DMSO}} = 0.3$ 、(d) $X_{\text{DMSO}} = 0.5$

研究業績

A Study of alcohol-induced gelation of β -lactoglobulin with small-angle neutron scattering, neutron spin echo, and dynamic light scattering measurements, K. Yoshida, T. Yamaguchi, N. Osaka, H. Endo, M. Shibayama, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12**, 3260-3269 (2010).

Collective dynamics of hydrated α -lactoglobulin by inelastic X-ray scattering, K. Yoshida, S. Hosokawa, A. Q. R. Baron, T. Yamaguchi, *J. Chem. Phys.*, **133**, 134501-1-7 (2010).

Ion hydration in aqueous solutions of lithium chloride, nickel chloride, and cesium chloride in ambient to supercritical water, T. Yamaguchi, H. Ohzono, M. Yamagami, K. Yamanaka, K. Yoshida, H. Wakita, *J. Mol. Liq.*, **153**, 2-8 (2010).

X-ray absorption spectroscopy study of solvation and ion-pairing in aqueous gallium bromide solutions at supercritical conditions, C. Da Silva, O. Proux, J.-L. Hazemann, J. James-Smith, D. Testemale, T. Yamaguchi, *J. Mol. Liq.*, **147**, 83-95 (2009).

Thermodynamic and FTIR studies of supercooled water confined to exterior and interior of mesoporous MCM-41, S. Kittaka, K. Sou, T. Yamaguchi, K. Tozaki, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 8538-8545 (2009).

Effect of water on structure of hydrophilic imidazolium-based ionic liquid, T. Takamuku, Y. Kyoshoin, T. Shimomura, S. Kittaka, T. Yamaguchi, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 10817-10824 (2009)

On the solvent role in alcohol-induced α -helix formation of chymotrypsin inhibitor-2, K. Yoshida, J. Kawaguchi, S. Lee, T. Yamaguchi, *Pure Appl. Chem.*, **80**, 1337-1347 (2008).

Thermodynamic, structural and dynamic properties of supercooled water confined in mesoporous MCM-41 studied with calorimetric, neutron diffraction and neutron spin echo measurements, K. Yoshida, T. Yamaguchi, S. Kittaka, M.-C. Bellissent-Funel, P. Fouquet, *J. Chem. Phys.*, **129**, 054702-1-054702-11 (2008).

Neutron scattering and dielectric studies on dynamics of methanol and ethanol confined in MCM-41, S. Takahara, S. Kittaka, T. Mori, Y. Kuroda, T. Takamuku, T. Yamaguchi, *J. Phys. Chem. C*, **112**, 14385-14393 (2008).



ヒト疾患の分子病態モデル動物

医学部教授 廣 瀬 伸 一

理学部化学科准教授 弟子丸 正 伸

福岡大学の付置研究所である、てんかん分子病態研究センターの最終の目標は、てんかんの分子病態に基づく治療の開発であると言って過言ではない。今までのてんかん薬の開発は、てんかんの病気に似た症状を呈する動物を使用して行われてきた。このため、薬の効果が不十分であったり、副作用が出現したりと問題も少なくない。最近の分子生物学の発達により、ヒトと同じ分子病態を持つ動物の作出が可能となってきた。本項ではこうしたヒト疾患の分子病態モデル動物の作出意義と、我々の動物作出の取り組みを紹介したい。

てんかんは、脳の電氣的興奮により、けいれんなどの突発的な症状をきたす疾患で、その頻度は全人口の数%にあたり、決してまれではない疾患である。すでに、古代ローマ時代には脳の病気として認識されていた。にもかかわらず、分子病態に基づき開発された抗てんかん薬は未だないと言える。

その理由はてんかんの分子病態が、長い間、全くと言って良いほど不明であったことである。このため、抗てんかん薬は、ねずみに電撃刺激を与えたり、けいれん誘発物質を投与したりして、けいれんを起す「急性モデル」を使って、各種の化学物質の中から発見するしかなかった。しかしながら、これらのモデルは、「けいれん」のモデル動物であり、必ずしも「てんかん」のモデル動物ではなかった。このため、開発された抗てんかん薬も、効果が不十分であったり、副作用が強かったりと、問題も多い。

最近、日本で発売された抗てんかん薬レベチラセタムは、実際のてんかんに大変有効であるが、上述の「急性モデル動物」では効果が強くない。これから分かるように、抗てんかん薬のみならず、創薬には単に症状が似ている動物を使うのではなく、ヒトの疾患と同じ分子病態を持った動物を使用すること

が必須である。

最近の分子生物学的技術の進歩は目覚しく、ヒトと同じ遺伝子異常、分子病態を持った遺伝子改変動物を作出することが可能となった。現在作出できる遺伝子改変動物は大きく二種類に分けることができる。一つは遺伝子組換え動物で、他方はノックイン動物である。

遺伝子組換え動物は、外来の遺伝子や遺伝子異常を動物の卵母細胞に注入することにより作出する。外来の遺伝子が入る染色体上の位置をコントロールできないなどの問題はあるが、様々な動物種で作出できる利点がある。最近では遺伝子組換えのサルも作出されている。

もう一方のノックイン動物は、マウスの胚性幹細胞（ES細胞）を利用して、狙った遺伝子にピンポイントで遺伝子変異を導入することができるため、理論的にヒトと全く同じ分子病態をもつ疾患モデル動物を作出できる利点がある。一方で、現時点では哺乳動物種としてはマウス（二十日ねずみ）に限られる点や、一系統のモデルマウスの作出に年余の時間と一千万円近い費用が必要とすることが短所といえる。

ここで、モデル動物の評価法について触れておきたい。すなわち、どのようなモデル動物が真のヒト疾患のモデル動物といえるだろうか。これについて、すぐれた三つの評価基準が提案されている。第一はFace validityと呼ばれるもので、モデル動物に現れる症状がヒト疾患のそれと酷似しているか。第二はconstruct validityと呼ばれ、理論的にヒト疾患の病態を反映しているか。最後は、Predict validityで、ヒトの疾患から予想されることがモデル動物で見られるのか。例えば、ヒト疾患では奏功する薬がモデル動物の症状に同様に効くのか、良く見られる合併

症がモデル動物にも出現するか、などを意味している(1, 2)。

福岡大学てんかん分子病態研究センターでは、てんかんの分子病態の解明とそれに基づく革新的な治療法の開発を最終目標としている。そのためには、このような、ヒトてんかんと同じ遺伝子異常、分子病態異常を有する真のヒトてんかんモデル動物の作出が必須であった。このため、我々は遺伝子組換え法と、新しい手法のノックイン法を用いて、前述の三種の評価基準に耐えうる真のてんかんモデル動物の作出に挑戦した。

はじめに取り組んだのは、遺伝子組換えラット(大黒ねずみ)作出である。基になったヒトてんかんは、常染色体優性夜間前頭葉てんかんというてんかんで、睡眠中にのみ、前頭葉てんかんという特殊な症状を呈する疾患である。このてんかんの分子病態は、すでに我々が日本人の患者でニコチン受容体の遺伝子異常とその異常電気生理に由来することを報告していたものである(3-5)。

作出したモデルラットは、ヒトの疾患と同じように、睡眠中に前頭葉てんかんの症状を呈し、評価基準の一つである、face validity を満たした。分子生物学的さらに電気生理学的手法を用いたモデルラットの詳細な実験により、ヒトと同様に、ニコチン受容体の遺伝子異常と、その異常電気生理が確認された。すなわち、評価基準の第二、construct validity を満たすことが確認された。さらに、この疾患で効果が異なる抗てんかん薬三種類をモデルラットに使用したところ、患者と同様な抗てんかん薬に対する感受性を示して、評価基準の第三の predict validity を満たした。こうして、作出したラットは常染色体優性夜間前頭葉てんかんの真のモデル動物であることが証明された。(6)

続いて、ノックインマウスの作出を行った。すでに述べたが、ノックインでは分子生物学上ヒトと相同の遺伝子変異をマウスの染色体上に導入できる。このため、他の手法に比べ、construct validity で優れたモデル動物として評価される。しかしながら、作出の期間と費用が大きく、多くの遺伝子変異に対応する、複数のノックインマウスの作出は事実上困難であった。

我々はこの問題に対処するため、キックインと呼

ばれる、革新的なノックインマウスの作出法を開発に成功した。この方法では一旦、目的遺伝子に特殊構造を持ったアクセプタークローンと呼ばれるES細胞を樹立してしまえば、その後目的遺伝子内のような遺伝子変異でも、短時間に安価に作出できる。ボール(遺伝子変異)を狙ってゴールに次々と蹴りいれるように、ノックインマウスが作出できることから、キックインとよぶことにした。

この方法を用いて、家族性良性新生児けいれんと呼ばれるてんかんのモデル動物の作出をおこなった。家族性良性新生児けいれんでは、カリウムチャンネルに我々を始め多くのグループが遺伝子異常を発見しており、その電気生理学的異常も我々自身で確認していた(7-10)。このうち、異なる二種の変異を持つ、二系の動物を作出することが出来た。現在、この動物を用いた詳細な病態解析を当センターで実施中である。二系統の動物作出にもかかわらず、キックイン法により期間や費用は一系統と変わらず、更なる変異導入も容易である。このように、多くの遺伝子変異が発見され疾患の、変異ごとの症状、病態、また治療の開発の研究をするのに、キックイン法は相応しいと思われた。

これらのヒト疾患モデル動物の作出はてんかんモデル動物の作出に留まらず、おおよそすべてのヒトの疾患に応用できる。作出法は福岡大学の名前で特許出願済みである。このため、本法を用いて福岡大学で様々なヒト疾患モデル動物の作出が可能である。これを通じ福岡大学の医学、薬学、自然科学の発展に資することが出来れば、てんかん分子病態研究センターは福岡大学付置研究所としての責務の一端を果たすことになると思われる。福岡学内の各分野での研究に利用して頂けることを期待している。

- 1 . Sarter M, Hagan J, Dudchenko P. Behavioral screening for cognition enhancers: from indiscriminate to valid testing: Part I. *Psychopharmacology (Berl)* 1992;107:144-159.
- 2 . Sarter M, Hagan J, Dudchenko P. Behavioral screening for cognition enhancers: from indiscriminate to valid testing: Part II. *Psychopharmacology (Berl)* 1992;107:461-473.
- 3 . Hirose S, Iwata H, Akiyoshi H, et al. A novel muta-

tion of CHRNA 4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* 1999;53:1749-1753.

- 4 . Ito M, Kobayashi K, Fujii T, et al. Electroclinical picture of autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy in a Japanese family. *Epilepsia* 2000; 41:52-58.
- 5 . Matsushima N, Hirose S, Iwata H, et al. Mutation (Ser 284 Leu) of neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit associated with frontal lobe epilepsy causes faster desensitization of the rat receptor expressed in oocytes. *Epilepsy Res* 2002;48: 181-186.
- 6 . Zhu G, Okada M, Yoshida S, et al. Rats harboring S 284 L Chrna 4 mutation show attenuation of synaptic and extrasynaptic GABAergic transmission and exhibit the nocturnal frontal lobe epilepsy phenotype. *J Neurosci* 2008;28:12465-12476.
- 7 . Hirose S, Zenri F, Akiyoshi H, et al. A novel mutation of KCNQ 3 (c.925 T->C) in a Japanese family with benign familial neonatal convulsions. *Ann Neurol* 2000;47:822-826.
- 8 . Uehara A, Nakamura Y, Shioya T, Hirose S, Yasukochi M, Uehara K. Altered KCNQ 3 potassium channel function caused by the W 309 R pore-helix mutation found in human epilepsy. *J Membr Biol* 2008; 222:55-63.
- 9 . Ishii A, Fukuma G, Uehara A, et al. A de novo KCNQ 2 mutation detected in non-familial benign neonatal convulsions. *Brain Dev* 2009;31:27-33.
- 10 . Sugiura Y, Nakatsu F, Hiroyasu K, et al. Lack of potassium current in W 309 R mutant KCNQ 3 channel causing benign familial neonatal convulsions (BFNC). *Epilepsy Res* 2009;84:82-85.



レーニングと持久的トレーニングが骨格筋内のミトコンドリア機能を改善し、メタボリックシンドロームの危険因子を改善することに関与していることをご説明されました。

Dr. St-Amand は、血中乳酸閾値（LT）強度の運動による骨格筋の遺伝子発現について、LT 強度のトレーニングが複数の遺伝子を誘発するが脱トレーニングはそれらの誘発のほとんどを低下させてしまうこと、しかし19種類の遺伝子はトレーニング後も過剰発現しており、それらはエネルギー代謝やタンパク質合成、骨格筋の酸化能に関連するものであることを示されました。



講演の様子（Dr. Goodyear）



質疑応答の様子（Dr. Yoshioka と田中研究所長）

3．施設見学と懇親会

国際シンポジウム終了後、招待講演者及び学外研究者を対象とした身体活動研究所の施設見学が行われました。研究所には国内には数台しかないメタボリックチャンバーや安定同位体比質量分析計などの測定機器が設置されています。参加者同士で研究方法についての意見交換がなされました。

夜には懇親会も行われ、運動生理学を志す学生にとって世界を舞台に活躍する研究者と直に話をするまたとない機会となりました。



メタボリックチャンバーに興味深く見入る参加者

4．最後に

本シンポジウムの内容はいずれも身体活動研究所の研究推進に寄与するものといえます。今回、国際的な共同研究を視野に入れた交流を深めることができました。学外研究者に対しても最先端の情報を提供することができたと考えています。

本シンポジウムを開催するにあたり、運動生理学研究室の皆様には大変お世話になりました。また大学より開催に際して多大なご支援をいただきました。ご協力およびご支援、厚く御礼申し上げます。

「身体活動を科学する国際シンポジウム」ホームページ

<http://www.cis.fukuoka-u.ac.jp/~htanaka/fuipa/fuipasymposium.html>