

生命環境システム工学領域

大阪大学大学院工学研究科
生命先端工学専攻教授

渡 邊 肇

1. はじめに

本研究室は生命環境システム工学領域として2009年6月1日に発足しました。これは生物が環境をセンシングするシステムの解明を通じて、生命と環境のかかわりを理解し、これを社会に役立てることをめざす新たな領域です。地球環境への関心の高まりとともに、環境をどう評価し対処していくかは重要な課題となってきています。本研究室では、生物が環境変化を認識し応答するシステムを明らかにしていくことにより、この問題に答えようとしています。ここでは今までの研究の一端とその背景をご紹介させていただくと同時に、今後の方針についても触れさせていただきたいと存じます。

2. 生命と環境

近年、「環境にやさしい」「エコ」といったことばが非常に頻繁に聞かれるようになり、環境への関心が高まっているかのように見えます。ところがこうしたことばは、省資源、省エネルギーなど限定的に用いられている場合も多く、必ずしも環境への認識は高いとは言えません。特に生物多様性や生態系の保全が重要視されてきている現在、主役は人だけではなく生態系全体であるという認識が必要になってきています。すなわち環境についても「人間をとりまく環境」ではなく、「生命をとりまく環境」として再認識する必要があるのです。私たちの研究室のテーマの1つでもある化学物質の生物影響についても、かつては単に人への影響だけを検討すればよかったのですが、現在では環境中の生物へのさまざまな負荷を的確に評価する必要がでてきています。例えば国内では、新規の化学物質の製造・輸入にあたっては「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）による化学物質の審査が義務付けられています。歴史的に見ると、食用油にPCBが混入し大きな健康被害を出したカネミ油症事件が法律制定の大きなきっかけとなっていることもあ

り、1973年の制定以来、その試験法は長い間、人への健康影響のみを想定していました。この法律自体は、従来の毒劇物とは別の観点、すなわち蓄積性のある化学物質の慢性的な影響をふまえて化学物質を管理するという点では画期的でしたが、一方で欧米では、生態系保全も考慮した化学物質の審査法が確立されてきました。こうした中で日本は、2002年になって経済協力開発機構（OECD）から生態系の保全を含めた化学物質管理を行うよう勧告を受けています。こうした経緯で、2004年に化審法は改正されて、人だけでなく動植物への影響をふまえた審査制度が導入されています。

また近年になって、影響が懸念される化学物質の曝露形態も大きく変化してきています。従来の化学物質影響は、ヒ素・カドミウム・水銀などに代表されるような比較的均一な化学物質の大量曝露によって引き起こされる影響が懸念されてきました。先ほどのPCBについても食品として接種することによる大量曝露の形態の1つです。しかし、およそ10年前に大きな社会問題ともなった内分泌かく乱化学物質問題に代表されるように、近年の化学物質に対する不安や懸念はむしろ低用量で多種類の化学物質の影響に移ってきています。その結果、化学物質の影響を評価する上でも従来の毒性試験法の致死量のような明確なエンドポイントではなく、生体システムのかく乱といった概念が生じてきています。こうした広範なエンドポイントは、従来の化学物質影響の範疇を超えており、種々の解析法や評価法が模索されるようになり、よりの確な化学物質の影響評価が求められるようになってきているところです。

ここでいう的確な影響評価というのは、必ずしも高感度ということの意味しません。化学物質の利用を考えた場合、生産から利用・消費・廃棄にいたるまでのいわゆるライフサイクルにおいて、化学物質は環境中に放出される可能性があります。この化学物質の放出

は、環境への負荷として考えることができ、この化学物質の放出を極力防ぐことは極めて重要な課題です。しかし分析技術の発達によって、環境中の化学物質を測定した場合、感度を上げればさまざまな化学物質が検出されてしまいます。例えば1-ナフトールの検出状況に関する環境省のデータでは、昭和52年に2地点で測定して検出されなかったのに対して、平成20年では20地点で測定して20地点すべてで1-ナフトールが検出されています。実はこれにはトリックがあり、検出下限値が大きく低下しており、昭和52年当時は400-4500ngが検出下限値であったのに対して、平成20年では0.35ngと1万倍も感度が上がっています。これからも検出下限値は下がるでしょうし、コストをかければ多くの地点での測定は可能になります。しかし、化学物質の環境への放出を完全に防ぐことは技術的にもコスト的にも困難ですし意味がありません。環境中の化学物質の多くは、環境中の生物に作用してはじめて負荷となりますから、人間を含めて生物への負荷を的確に評価することが可能になれば、環境中の化学物質の許容範囲についても答えを出すことが可能となってくるわけです。

こうした観点から、従来のモデル動物だけでなく、環境指標となるような生物にも着目して、環境変化や化学物質に対する応答を解明し利用する技術が必要になってきています。そもそも生物は環境をどのようなシステムで認識しているのか、化学物質などをどのように認識し、またエラーをおこすのか、こうした点から生命と環境のかかわりについて明らかにしていきたいと思っています。

3. 環境とゲノム

化学物質影響の評価に対する考え方は上記のように大きく変化してきていますが、これと時期をほぼ同じくしてモデル生物を中心としてゲノム情報が急速に蓄積されてきました。さらにポストゲノムとしてゲノム情報を用いたゲノムの機能や活性を網羅的に解析するゲノミクス技術が発展してきています。これまでの技術は、遺伝子やその産物などを1つ1つ解析せざるを得ませんでしたが、このゲノミクス技術により、遺伝子やその産物の状態を可能な限り網羅的に解析する技術が確立されたと言えます。遺伝子の活性、すなわちどの遺伝子がどの程度活発に機能しているかは、遺伝子から転写される mRNA の種類と量を計測すること

で可能です。ゲノミクス技術では DNA マイクロアレイを用いてこの遺伝子の活性を網羅的に解析することが可能となり、比較的安定した技術として発展してきています。具体的には転写（トランスクリプション）された産物を網羅的に解析することから、トランスクリプトミクスとも呼ばれていますが、この技術の中核が DNA マイクロアレイです。DNA マイクロアレイはガラスなどの基盤上に多種類の DNA を高密度に固定化し、これに相補的に水素結合する DNA または RNA を検出する方法です。DNA マイクロアレイの基板には、1つ1つの遺伝子を検出できるように設計された比較的短い（25-60塩基）1本鎖 DNA が高密度に各々の座標上に固定化され数万の単位で並んでいます（array）。細胞や組織からの全 mRNA を蛍光標識した後に、これを DNA マイクロアレイ上の固定化 DNA と反応させることにより、基板上で mRNA を遺伝子ごとに分離することが可能となります。その結果、それぞれの遺伝子が固定化された位置で対応する遺伝子の mRNA 量に応じた蛍光を発することになります。この蛍光強度を高性能スキャナを用いて読み取ることにより、個々の遺伝子の種類と量を測定することが可能になるわけです（図1）。トランスクリプトミクス解析においては、その検出にあたって相補的な核酸同士の水素結合を利用するという点で、他のプロテオミクス（タンパク質の網羅的解析）やメタボロミクス（代謝産物の網羅的解析）よりもはるかに物理化学的に均質な物質を対象としており、技術的にも安定しているために比較的信頼性、再現性の高いデータの取得が可能となってきています。

こうしたゲノミクスは、ガンの予後、薬効の推定な

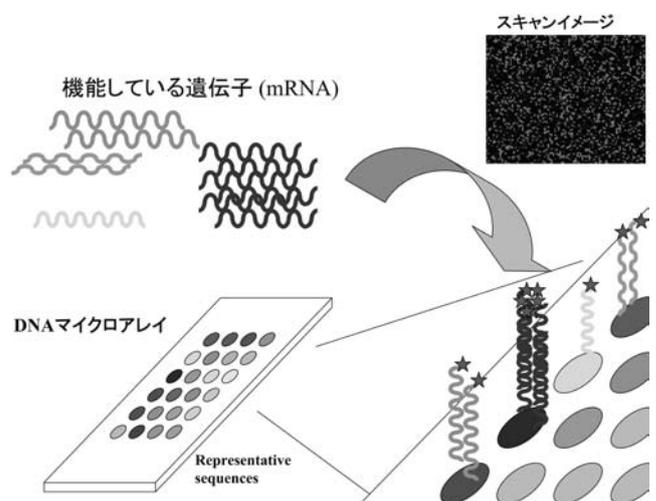


図1 DNA マイクロアレイの概念図とスキャンイメージ

ど医学をはじめとする生命科学の多くの分野に影響を及ぼしてきていますが、毒性学の分野においても例外ではなく、毒性学（トキシコロジー）とゲノミクスを融合したトキシコゲノミクスという概念が形成されています。毒性のエンドポイント（例えば致死など）が発現する以前に遺伝子の発現レベルは変化しているため、トキシコゲノミクスを導入することにより網羅的に遺伝子発現を解析すれば、毒性発現に至る以前の兆候を遺伝子の発現レベルの変化として早期に鋭敏にとらえられるという利点があります（図2）。

トキシコゲノミクスは、主として2つの目的を有しています。1つはトキシコロジーに特徴的なもので、化学物質影響を示す際のバイオマーカーの探索です。生物が化学物質の影響を受けた時に、何に着目したらその影響がわかるのか、マーカーとなる指標が重要です。ゲノミクス技術を用いることにより、こうしたマーカーを遺伝子レベルで探索することが可能となります。これには、個々の遺伝子そのものを遺伝子マーカーとして探索する場合と、遺伝子発現プロファイル全体を化学物質のフィンガープリントとしてとらえる場合があります。いずれの場合にも、生体から見た化学物質の影響をゲノミクスに基づいて検出・評価することを目指しており、リスク評価につなげようとする動きになりますが、莫大なデータを解析し意味づけをする（データマイニング）ためにバイオインフォマティッ

クスの比重が非常に大きくなってきます。

こうしたゲノムレベルからの解析においては、化学物質曝露に対して何らかの遺伝子が反応したら危険、といった短絡的なとらえ方ではなく、遺伝子の応答を理解することも必要になってきます。これが第2の目的です。対象とする実験動物に化学物質を曝露しトランスクリプトミクス解析を行うと、何らかの遺伝子発現状態の変化が多くの場合見られます。ところがこの遺伝子発現状態の変化と実際の化学物質影響は必ずしも直接関係しているとは限らない点が問題です。例えば化学物質の曝露では、一般的に解毒関連の遺伝子発現に誘導がかかり、重金属の曝露では、重金属解毒に関連する遺伝子の誘導がかかりますが、これらの遺伝子発現の誘導は、曝露の指標とはなるものの悪影響の直接的な指標となる変化ではないからです。例えて言うなら細いひもに下げたおもりのようなものです。おもりが振れる程度の摂動でしたらひもは耐えることができますが、過大な入力があると切れてしまいます。化学物質においても同様で、生体システムが化学物質により摂動を受けても通常は固有のロバストネスにより破綻をきたしません、ある程度以上の化学物質を曝露すると生体システムが乱れることとなります。これを明らかにするには、特定の遺伝子群の発現変化から悪影響までの機序を明らかにすることが必要で、実際の化学物質の評価に利用していくことが重要な課題となっています。すなわちトランスクリプトームの解析により、遺伝子機能の解析やその変化を担っている遺伝子発現制御因子の理解を通して、化学物質曝露から悪影響までの一連のパスウェイを解明することが必要となるわけです。酵母の場合には、さまざまな遺伝子欠損変異株を用いて化学物質影響のプロファイルを比較することにより、責任遺伝子の探索を行い一定の成績を得ていますが、高等真核生物においても化学物質の受け手となる生体分子の同定と解析は優先すべき重要な課題となっています。

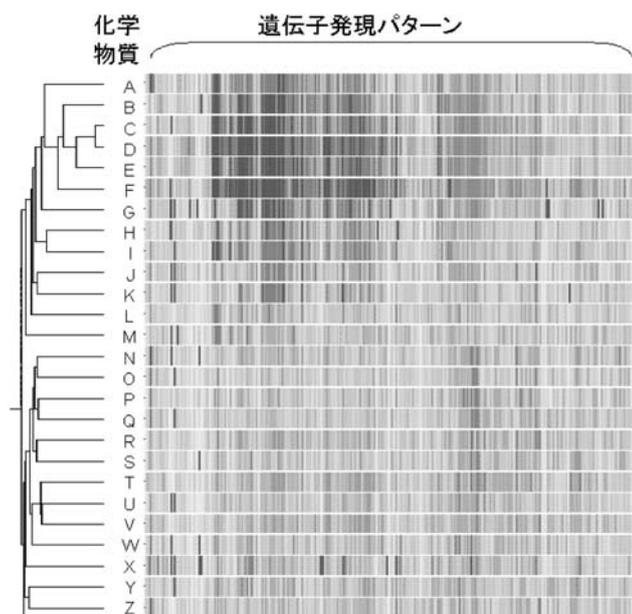


図2 遺伝子発現パターンによる化学物質影響の解析例
縦のバーが1つ1つの遺伝子とその活性化状態を示している。色の濃い部分は遺伝子発現が活性化されていることを示しており、化学物質 A-M は遺伝子発現に対して類似の影響を及ぼしていることがわかる。

4. 環境影響評価へのゲノミクス技術の利用

先にも述べたように従来の化学物質影響評価は、ヒトを前提としておりラットをはじめとする実験動物は単にヒトへの影響評価のためのモデル動物として評価されていたために、実験動物データからヒトへの外挿が問題となっていました。しかし、近年になり地球環境の保護、生態系の保全などが重要な課題となり、化

学物質影響についても単にヒトへの影響だけでなく、環境中の生物に対する影響を考慮する必要が生じてきたことにより、環境指標となる動植物への影響に着目した審査・規制制度が導入されています。一般に、これらの生物への影響評価は、増殖阻害濃度、半数致死濃度を重要なパラメーターとしていますが、これらの動植物に対してトキシコゲノミクスを適用する動きも出てきています。例えば環境影響評価用の動物として100年以上の歴史を持っているミジンコ(図3)については、今年になってゲノムのドラフト配列が発表され人よりも多くの遺伝子を持っていることが明らかになってきています(図4)。ゲノム配列が明らかになった環境指標生物については、トランスクリプトミクスによる解析が可能になることから、従来の致死量の測定よりはるかに多くの情報を得ることが可能となってきています。



図3 *Daphnia magna* (背中の育房に卵をうみ、泳ぎだせるようになるまで背中で育てる)

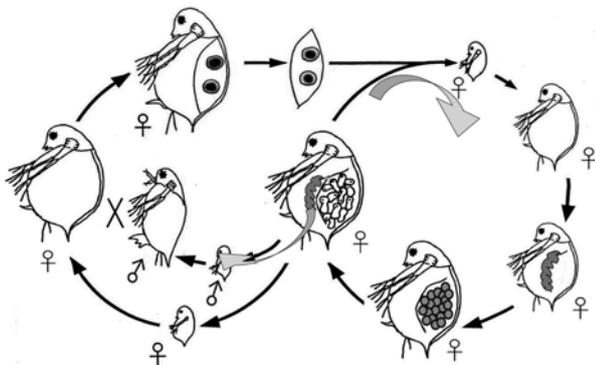


図4 *Daphnia magna* の生活環 (右が単為生殖、左が有性生殖)

こうしたゲノミクスからのアプローチにはゲノム配列の情報が不可欠ですが、米国においては、Department of Energy の Joint Genome Institute が中心となって非常に多岐にわたる生物種のゲノム配列、EST 配列の取得を行っており、さらに次世代シーケンサーの

利用もあいまって、The Institute for Genomic Research (TIGR) (<http://www.tigr.org/index.shtml>) や サンガーセンター (<http://www.sanger.ac.uk/>) などのゲノムセンターがデータベース化してきており、情報が急激に増え、より多様な生物種に対してゲノミクスのアプローチが可能になると思われます (http://genome.jgi-psf.org/tre_home.html)。環境中の化学物質影響をゲノミクスで実際に評価する可能性については、経済協力開発機構 [Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)] や米国環境保護庁 [Environmental Protection Agency-(EPA)] をはじめとして多くの国や機関で関心が持たれ、対象となる生物種や手法について討議されているところです。

化学物質の環境や生態系への影響を評価しようとする場合、対象となる生物種は非常に多岐にわたりますが、ゲノミクスのアプローチを展開するには、まずランダムマークとなるような適切な生物種を選択しアプローチを行うことが必要となります。化学物質に対する応答性は、実験動物のラットにおいてさえ遺伝的背景の影響を大きく受けることが知られています。遺伝的背景が明確でない非モデル生物についてやみくもにゲノミクスを導入することは、遺伝的要因と実際の曝露の影響とを明確に区別することが困難となりますから、十分な検討が必要となってきます。

しかし一方で、種々の生物を用いたトランスクリプトミクスの情報が収集できれば、生態系全体に対する化学物質の負荷を評価する上でも重要であるのみならず、異種生物間で共通に存在している遺伝子ネットワークの発見など大きな貢献も期待できます。さらには生物種間の共通性、相違点などを明らかにすることにより、ヒトをはじめとする他種への生物への外挿も可能となり、リスク評価などにも利用できる可能性が出てきます。

こうした意味で、環境指標生物として長く用いられてきたミジンコは、実際のフィールドで容易に観察できるだけでなく、いくつかの系統としても保持され、さらにゲノム情報が明らかになったことから、今後さらに有用な生物として利用できる可能性があります。

5. ミジンコの利用

環境中の化学物質影響を評価する上で、ミジンコは重要な役割を果たします。生態系すべての動植物につ

いて、化学物質影響を評価することは不可能ですが、ラットや人などは大きく異なったシステムを有しているミジンコは、化学物質影響に対しても敏感であり、この生物の応答を理解することは、環境を人以外の観点からとらえる上で非常に重要なアプローチとなります。

しかしミジンコは、単に化学物質影響を見るためのツールとしてだけでなく、さまざまな興味深い特徴を持っています。例えばミジンコは通常、単為生殖をします。メスが直接メスを産むことにより、オスを介さずに効率的な増殖をします。しかし日照時間の短縮、餌の減少、個体密度の上昇などいわゆる生存環境が悪化するとミジンコは単為生殖から有性生殖に生殖戦略を移行させさせます。この場合に、2つの大きな変化が生じる。1つはオスの産生であり、通常育房に産む単為生殖卵からはメスではなくオスが発生します。もう1つはメス自身の変化であり、卵巣では1倍体の卵がつくられ、交尾能力を獲得します。このメスはオスと交尾後、受精卵（有性生殖卵）を育房の丈夫なさやの中に納めた耐久卵と呼ばれる特殊な卵を産みます。耐久卵は、脱皮時に脱皮した殻と一緒に水底に沈み、そのまま孵化することなく存在し、乾燥にも耐えることができるため、冬や乾季をこすために有利な戦略といえます（図4）。

こうしたミジンコの興味深い性質は、さまざまな示唆に富んでいます。例えば単為生殖から有性生殖に移るには個体密度を検知している可能性が高いのですが、どうやって検知しているのでしょうか。微生物においては、クオラムセンシングと呼ばれるシステムが存在し、個体密度に応じた物質産生などが行われるために、生物工学においても興味深い課題となっていますが、多細胞生物であるミジンコにもこうしたシステムが存在するのかもしれませんが。こうしたメカニズムを解明することは、効率的に個体を殖やす上でも重要な知見となります。また耐久卵については、受精後細胞分裂がしばらく進んでから休止状態に入ることが知られています。動物細胞におけるこのようは長期間の細胞休止メカニズムはまだ明らかになっておらず、こうした解析を通じて効率的な細胞や生物種の保存法を開発できる可能性があります。

従来はこのミジンコに対して、遺伝子工学的手法を用いることができませんでした。私たちの研究室では、世界にさきがけて遺伝子工学的手法の導入に成功し、

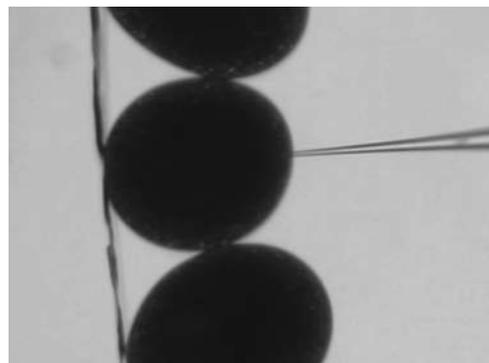


図5 マイクロインジェクション中の *Daphnia magna* の卵



図6 マイクロインジェクションにより外来蛍光遺伝子産物を発現している *Daphnia magna*

外来の蛍光タンパク質などの遺伝子をミジンコで機能させることができるようになってきました（図5、6）。こうした技術を使うことにより、化学物質影響についても遺伝子レベルで解析するだけでなく、遺伝子レベルの変化を蛍光タンパク質などでわかりやすい形にして利用することが可能になります。またこのミジンコは真核生物ですから翻訳反応によって作られたタンパク質の修飾についても哺乳細胞に近いものを作ることができます。培養細胞のように高価な培地を必要としませんので、安価で効率的なタンパク質の生産が可能になります。

また私たちの研究室では、ミジンコに曝露すると強制的にオスを産むようになるホルモン様化学物質を見つけてきました。これは、このホルモン様化学物質がミジンコの性別の決定に関与している可能性を示唆しており、この化学物質の特性を明らかにすることによって、個体の生育や増殖の制御につながることを期待できます。一方で、これらホルモンの受容体を哺乳類細胞などで人工的に合成させることにより、私たちはホルモンのセンサーを作るのに成功してきています。この技術は、単にホルモンセンサーだけでなく化学物質センサーとしても発展できる可能性があります。試

験管内で応答するシステムの構築も可能になってきます。

6. 今後の課題と展望

トキシコゲノミクスは非常に有力な化学物質影響評価ツールとして期待できますが、どこまで解析・評価できるかは未知の部分も多く残されています。問題点を解決しながら、データを蓄積、解釈することによって、新たな知見が得られることが期待されます。トランスジェニックマウスやノックアウトマウスは、遺伝子レベルで変調をかけることにより、遺伝子の機能を探ることができますが、一方で、化学物質曝露によっても遺伝子の発現に変動をきたすことができますから、トキシコゲノミクスを体系的に発展させることにより、単に化学物質影響評価のみならず、生体システ

ムの解明などにも大きく寄与できると思われます。

一方、ミジンコは分子生物学の台頭以前は、発生から神経生理に至るまでさまざまな研究がなされてきましたが、その後長い間基礎的な研究の舞台から姿を消していました。しかし、そのサイズと飼育のしやすさは実験動物として十分な要件を満たしており、近年急速に進んだゲノム情報の理解とあいまって、今後さまざまな面で研究が進展することが期待されます。特に遺伝子操作技術を併用することにより、環境評価としてのツールとして利用できるだけでなく、微生物では困難であったタンパク質や生理活性物質の産生にも大きく貢献することが期待できます。

(学界)

❖❖❖ 年会費納入はお早めに!! ❖❖❖

平素は、会費納入にご協力を賜り厚く御礼申し上げます。

年会費会員の皆様には毎年テクノネット4月号に、郵便局の『払込取扱票』を同封しておりますが、未納の皆様にはテクノネット送付の都度『払込取扱票』を同封することとなりますので、コスト削減の観点からも6月末までに納入いただきますようご協力をお願い申し上げます。

また、2年間会費の納入がない場合は、会費規定により、会誌の送付を停止させていただきますのでご注意ください。

年会費会員のみなさまへ 免除会員のお知らせ

平素は会費納入にご協力いただきありがとうございます。

年会費会員の方は卒業後50年経過すると会費免除となります（会費規定第6条）。

平成23年度より昭和36年卒業の会員の皆様が、免除会員となりました（会誌送付や諸行事への参加等今までと変わりはありません）。

今年から免除になられた皆様、及びすでに免除になっておられる会員の皆様には、長い間の会費納入誠にありがとうございました。今後も工業会へのご支援・ご協力のほど宜しく願いいたします。

昭和37年卒業の会員様におかれましては、本年度の会費納入をもって免除会員となります。

お忘れなく納入下さいますようお願い申し上げます。