

鳥取大学研究成果リポジトリ

Tottori University research result repository

タイトル Title	生命から読み解く遺伝子に惹かれて：学生時代に始まり鳥取大学で研究に携わった30有余年を振り返り
著者 Author(s)	山野, 好章
掲載誌・巻号・ページ Citation	: 1 - 26
刊行日 Issue Date	2021-06
資源タイプ Resource Type	教材 / Learning Material
版区分 Resource Version	
権利 Rights	(C) The Author 2021. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).
DOI	
URL	https://repository.lib.tottori-u.ac.jp/12325

生命から読み解く遺伝子に惹かれて

— 学生時代に始まり鳥取大学で研究に携わった30有余年を振り返り —

令和3年

鳥取大学農学部共同獣医学科獣医生化学

山野 好章

私は昭和期を奈良県の田舎町で育ち、平成期には鳥取大学でお世話になり定年を迎えることになりました。今から思うと人生の丁度半分の期間を鳥取で生活したことに気づかされます。この度、定年を迎えるにあたり、これまでの人生を振り返り、記録を残しておくことにより何らかのお役に立つこともあろうかと思い、この拙文を執筆することを思いつきました。

— 高校卒業までの時代 —

私が過ごした幼少期はもはや戦後ではないと言われた時代ですが、まだ現在のような家電、公共施設が完備されている時代ではなく、昭和39年東京オリンピック、昭和45年大阪万博を迎えてやっと高度成長期、産業の発展を実感しました。父親は岐阜高等農林（現在の岐阜大学応用生物科学部：農芸化学）を卒業し、シベリア兵役抑留後帰国してから、製薬企業の研究職として微生物を使った創薬に関わる仕事を進めてきました。その影響があつてか、私は高校時代には科学クラブに所属して、生物、化学、天体、地学など自然科学に興味を持つようになりました。科学クラブと言いましても、実際は登山を含めて自然環境を歩きつつ、いろいろなことを経験したといった状況で、結構体力を必要としました。これらの経験を積むことにより、私も何となく、将来は農芸化学分野の関する仕事をするのか、といったイメージを持っていました。

— 大学入学後 —

その後、昭和51年に京都大学農学部農芸化学科に入学し、最初に巡り会った恩師は当時生化学講座を主宰されていた駒野徹教授です。入学してすぐに生化学という学問に惹かれ、数人の仲間と一緒に生化学のテキストを講読したいとお願いに上がりましたら、先生から早速にチューターとして東順一先生をご紹介いただき、仲間と一緒にテキストを輪読しました。その過程において、体内には無数の化合物が存在し、これらが日々代謝機構により更新していること、代謝は個々の化学反応の集大成であり、これらの反応に酵素が関わっていることを認識しました。そこで生じた思いが、化学反応を集積したら生命体が構築できるのかといった疑問ですが、現在のところは「否」です。そこで、化学反応の集積と生物の間のギャップを埋めたい、そのような考えに基づいて、

生命科学を深く探究したいと思うようになりました。そのため、大学では先ず生化学と生化学物質の構造を理解するための基本となる有機化学を深く学ぶことにしました。丁度、クラス担当のお世話をいただいていたのが農薬化学研究室の中島稔教授と藤田稔夫先生でしたので、特に藤田先生からは有機化学について厳しく指導を受けました。現在、鳥取大学農学部の石原亨先生は農薬化学研究室のご出身で懇意にいただいています。

駒野教授からの生化学の講義の際には先生は大きなレーニンジャーの英語原本を持参され、学生が生化学に興味を持てるように、時にはユーモアを込めた説明をしてくださったことをよく記憶しています。現在の私自身も生化学講義の際に学生の反応を見つつ、無意識に先生から伺ったユーモアに富んだ説明を加えていることに可笑しさを感じます。3年生後期になりますと、各研究室に所属して卒業研究を進めますので、私は迷わずに駒野研究室で卒論研究を受講すると決めました。生化学教室ではこれまでに生化学物質の基本となる糖質の化学を専門に取扱っていました。駒野先生は、核酸にもリボースという糖が存在するのではないか、それでは遺伝物質である核酸を研究する分子生物学に軸足を移して研究を推進しようと考え、大腸菌に感染するファージウイルスの複製機構に関する研究を実施してこられました。その後、動物、植物も研究対象として広げられてきました。

研究室に所属した際には卒論研究のテーマを決めます。私は当時助教授であった姫野道夫先生に師事することになりました。姫野先生の研究テーマは「昆虫ウイルスを使った生理活性物質の評価」です。姫野先生は助教授という立場で、平日の午後は殆ど学生実習の担当のため、夕方にならないと研究のご指導を頂けなく、苦勞をしましたが、遅くなっても必ず時間をとってくださいました。最初は、慣れない昆虫細胞の培養です。当時は哺乳類の培養液を活用して培地を調製していましたが、水は現在のように簡単に超純水が作成できず、蒸留装置を使って二度蒸留していましたので、培地を調製するにしても大変な手間と時間を要していました。また、培養条件の確立が最初の仕事となりますので、いろいろな条件設定を行い、日々顕微鏡下で細胞数を数えて、細胞増殖曲線を作成することによりかなりの時間を使いました。コンタミ (contamination: 雑菌の混入) を防ぎつつ、やっとのことで培養条件が確立し、昆虫ウイルス力価をブランクアッセイにより分析できるようになった頃には卒論研究期間が殆ど終わりとなってしまいました。そのため、具体的に目に見える成果を得るには至りませんでした。振り返れば実験条件の設定を行うことの重要性を学ばせていただいたのではないかと思います。結局のところ予備実験で時間を費やしてしまいましたが、たまたま姫野先生と共同研究をされていた植物栄養学教室の小林達治先生から光合成細菌の産物の中に抗ウイルス活性を持った成分がある

と思うが、昆虫細胞を用いて分析をしてもらえないかとの打診があったようです。そこで、姫野先生から鱗翅目昆虫培養細胞系における核多核体ウイルスの感染系を使って、光合成細菌の産物がウイルス活性を低減するかどうかを調べてみないかのご指示をいただきました。私は、せっかく確立した昆虫培養細胞系ですから、是非調べてみたいとお願いをしました。その結果、光合成細菌に含まれる特定の産物に可視光を照射した際に、特に抗ウイルス活性を発揮することを見いだしました。今から考えると光合成細菌が光合成の際に副産物として特定の化合物を生産し、ウイルスの増殖を抑制していたのではないかと回顧しています。今日の生化学的なアプローチとしては、有効成分の精製、構造決定と続き、場合によっては抗ウイルス薬の創薬に役立っていたのではないかと思います。例えば、カイコ核多核体病感染症を防護する治療薬の開発などです。しかし、予備的な実験とはいえ、研究成果を学術雑誌にとりまとめたいただき、これが私の研究成果発表第1号となったことは感慨深いことです。¹⁾ また、研究成果は英語論文により内外に発信することにより完結することも経験させていただきました。卒業論文にとりまとめた研究内容が世界に発信できることは素晴らしいことではないでしょうか。現在もそのことを思い出し、卒論学生の指導にあたっています。

—大学院進学後—

卒論研究を通して分子生物学研究の面白さがわかってきたことから、私は大学院に進学してさらに深く研究を進めたいと思うようになりました。昭和55年(1980年)のことです。この当時は丁度分子生物学会が発足した時期にあたり、たまたま京都で会合がもたれた際に参加した記憶があります。「ちょっと長い配列ですが遺伝子情報を示します」といった内容の演題が延々続いていました。今日では遺伝子情報を決めただけでは論文にもなりません、当時はめざましい成果と感心して聞いていました。そのような研究環境でしたので、当時始まっていた遺伝子クローニングにしても、やっと制限酵素が市販されるようになった程度で、場合によっては酵素も自作、キャピラリーピペットを使ったり、マイクロピペットも保管庫からの貸与制で自由には使えない、といった環境でした。今とは隔世の感ですが不自由な割にはいろいろと考えることがあって楽しかった思い出です。

大学院に進学した際には具体的なテーマが決まっておらず大変不安ではありましたが、駒野教授からはまもなく同研究室の卒業生でカナダの大学で研究をされてきた大山莞爾先生が帰国されるのでそれまで待てとのご指示でした。幸いにもこの期間を使って生化学の勉強をすることができました。

大山先生は5月に着任されることになりましたが、どのような先生だろうと気がかりでした。初めてお目にかかった際には少し外国風の雰囲気をお持ちであったとの印象です。新たな研究テーマの開始ということで、天然高分子化学から生化学に進学してこられた福沢秀哉さん、卒論生の三沢典彦さん、大学院生の田中章さんと研究がスタートしました。特に、先生からは国際化時代を見据えて、英語の読解については厳しく指導を受けましたが、この経験は今でも大変役立っています。

まず、大山先生からは植物の分子生物学研究を始めようとお提案がありました。そこで、先生がこれまで細胞培養してこられたゼニゴケを使った葉緑体ゲノム分析か、あるいはアグロバクテリウムを使った植物形質転換系の構築のどちらが良いか、との問いでした。私は即答が出来ないものですから、取りあえず両方をはじめてみますと、欲張った回答をしました。まず、ゼニゴケを使った研究ですが、先生は既に植物細胞の培養系を確立されていたので、毎週1Lフラスコ6本ほどの振とう培養を行い、細胞回収からフレンチプレスによる細胞破壊、遠心分離によりわずかに回収された葉緑体を可溶化して、塩化セシウム平衡密度勾配遠心に二日間かけて、環状葉緑体DNAを精製することを繰り返しました。²⁾ 葉緑体の遠心分離を行う際には大型のローターを使うので、停止するまで相当の時間を要しました。早朝からの実験が終わる頃には夕方となることから、何とか遠心分離を短時間で終わらせたいと、遠心時間が終わったら手でローターを押さえて早く止めようとしていました。今日の遠心分離機はローターが完全に停止しないと蓋が開けられない仕組みでして、回転中にローターを触ったら大けがをする可能性があります。労働安全衛生法によれば、決して勧められない方法を使っていたのが反省材料です。

一方で、アグロバクテリウムの培養を行い、Tiプラスミドの回収を試みました。しかし、京都の夏は実験室内でも30°Cを超える日もあり、何度試してもプラスミドが回収できませんでした。この件につきまして、後日談ですが、アグロバクテリウムは高温培養においてTiプラスミドをキュアリング（脱落）することを知り、このことを納得しました。このようなわけで、結局大学院研究では葉緑体遺伝子分析を行うことがテーマとして確定しました。研究テーマは偶然に決まることもあるのですね。

そこで、まず取りかかった仕事がゼニゴケ葉緑体環状DNAの制限酵素切断地図:restriction mapping（物理地図:physical mapping）の作成です。その当時はまだ市販で使える制限酵素が限られていて、冷凍庫に保管されている酵素を一通り確認、アガロースゲル電気泳動法により切断片のサイズを分析しました。ここからジグソーパズルのような作業となりますが、全長約120kbpの制限地図が完成しました。最終的にわかったことですが、実は葉緑体環状DNA

には逆向き繰り返し配列:inverted repeats が存在していたことです。さらにこの領域には 23S, 16S リボソーム RNA: rRNA 遺伝子が座乗していることがわかりました。それならば ^{32}P 標識 23S, 16S rRNA をプローブ (釣り針) としてサザンハイブリダイゼーションを行えば、制限酵素切断地図のマッピングに有効な情報が得られると考えました。この実験を実施する際に、生化学物質の放射能標識がいかに鋭敏かつ特異的な方法であるのかを認識しました。この経験が私と放射能、放射線との最初の出会いとなりました。³⁾ この時期には、葉緑体は光合成細菌などの原核生物が共生をすることにより植物体に一体化して進化してきたとの説 (共生説) が提唱されていました。そのため、葉緑体には原核生物の名残としてのオルガネラ構造、遺伝子構造、遺伝子発現機構が維持されていると考えられます。葉緑体には環状 DNA が存在することもその証左です。それではリボソームに存在する rRNA も原核生物型であろうと推測して、rRNA 構造を決定してみようとの考えに至りました。rRNA は葉緑体の全核酸をポリアクリルアミドゲル電気泳動に供して精製回収することができました。生化学の研究の基本は相手を知り、それに見合った手技により物質を精製、単離し、構造を決定する方法です。まず、ゼニゴケ葉緑体特有の 5S, 4.5S rRNA を精製し、構造決定を試みました。次に、構造をどのようにして決定するのか、という課題です。当時は DNA 塩基配列決定法として化学修飾法であるマキサム・ギルバート法が確立していました。しかし、ゲノムプロジェクトで汎用されるサンガー法はまだ広く行き渡っていませんでした。今日では、rRNA 塩基配列を決定するならば多くの方は DNA 側から解読するでしょう。

当時はそのような状況でしたので、私は rRNA 塩基配列を直接解読してみようと考えました。文献調査の結果、rRNA の 5'末端を ^{32}P で標識し、各種 RNA 分解酵素で部分分解を行い、これをアクリルアミド一次元ならびに二次元電気泳動に供し、一つずつ塩基配列を決定することに挑戦しました。その結果これら rRNA の全塩基配列を RNA レベルで解読し、二次元構造を決定することに成功しました。^{4,5)} その成果としてゼニゴケ葉緑体に存在する低分子 RNA (rRNA ならびに tRNA^{Ser}) の情報を取りまとめて学位論文完成に至りました。⁶⁾ 本研究プロジェクトは明石欣也先生 (現鳥取大学農学部教授) に引き継がれ、葉緑体全ゲノム DNA 塩基配列決定を達成しています。ワトソン・クリックが DNA 二重らせんモデルを提唱したのが 1953 年、これから 50 年を経過した 2003 年にヒト全ゲノムの解読に至っています。この 50 年間にモデル生物となる細菌、酵母、ショウジョウバエ、シロイヌナズナなどの全ゲノム配列が次世代シーケンシング法を使って次々と解読されています。その点では、1990 年代に大山先生のグループが従来のサンガー法により約 120kbp にもおよぶ全塩基配列を決定したのは画期的な業績でした。その当時は連日 DNA 断片を ^{32}P 標識し、反応産物

を約 90cm もの長さの多数のアクリルアミドゲルにかけ、オートラジオグラフィにより一つずつ配列を読む作業でしたから大変な労力を要したと感じていただけると思います。

以上のように、生化学物質の構造を決定するための有用かつ鋭敏な方法が放射能標識です。その当時は今日のように蛍光標識法などの非放射能標識法はまだ充分に行き渡っていませんでした。放射性同位元素は確かに便利なツールですが、その取扱については放射性同位元素等規制法（当時の放射線障害防止法）により厳密に規制されています。幸いにも学部内に放射線管理区域が設定されており、放射線取扱主任者資格者も配置されていたので学生、教職員は放射性同位元素を取扱う恩恵を受けていました。そのような環境が整っていたからこそ、学位論文作成が達成できたと思います。その当時、放射線施設は整備されているとして、むしろ管理者である放射線取扱主任者資格取得が求められていました。そのため、学生たちも放射能を安全に取り扱うために資格取得の必要性を認識しており、第 1 種放射線取扱主任者資格取得に向けて勉強会を行ったり、順番に資格取得に挑みました。しかし、試験科目には放射線に関わる物理、化学、生物に加えて、管理測定技術、法令などと幅広い領域が含まれており、一朝一夕での合格は困難でした。私自身も何度か試験に挑戦し、ちょっと無理かなと思ったのですが、幸いにも博士課程最終年に何とか合格をいただくことが出来ました。しかし、試験に合格してからも、更に東京のアイソトープ協会においてほぼ 1 週間の実地講習を受けて、最終試験に合格してからの免許交付の手続きとなります。ちなみに、現在は主任者に任命された場合には、3 年ごとの主任者定期講習の受講も義務づけられています。

— 助手に採用されて —

いよいよ博士課程が修了したら、次は研究者としての将来設計、就職を考えることになります。幸いにも教室の駒野教授から当研究室の助手に採用してやるかどうか、とのお話をいただきました。私はこれまでも生化学を背景とした分子生物学研究をライフワークにしたいと考えていましたので、二つ返事で是非採用をお願いしますと申し上げました。これが私の研究者人生の始まりとなります。その当時、駒野先生は畜産学科の入谷明教授との共同研究を実施されており、ヤギの成長ホルモン遺伝子のクローニングを行うようにとの課題をいただきました。入谷先生は卵子への遺伝子導入、胚移植に関する大御所の先生で、共同研究の目的はヤギのような中型哺乳類の成長、泌乳促進を目指して、ヤギ受精卵に成長ホルモン遺伝子を導入してトランスジェニックヤギを作成することです。入谷先生からはこの技術に長けた細井美彦先生（現近畿大学長）を紹介いただき、私の方ではヤギ成長ホルモン cDNA クローニング、細井

先生にはマイクロマニピュレーションによる受精卵遺伝子導入を担当いただくことになりました。当時の私は分子生物学手技には慣れていましたが、生きたヤギの解剖は経験なく、細井先生のご指導をいただき、貴重な脳下垂体を供与していただくことが出来ました。今から考えますとこの経験が今日の共同獣医学科での研究につながっていると思います。当時は今日のような便利な分子生物学研究キットの販売もなく、研究室の試薬を組み合わせ、必要な酵素類などは購入といった体制でしたが、研究のデザインを行うためには良い経験になったと思います。現在の学生さんは何でもキット頼りの節があり、結果が芳しくなかった場合に、キット操作部分がブラックボックスとなり、改善点の確認が難しい場合があります。現在の便利な研究環境においても、学生さんには自分で実験システムを構築する経験をしてもらいたいと思います。当時の技術ではベクター導入前の cDNA 末端テーリングにおいて付加塩基数を厳密に制御する必要があり、塩基数を放射能強度で評価できたこと（目に見えない分子構造を数値的に評価できること）に感動を覚えました。結局ヤギ成長ホルモン cDNA 合成、ライブラリーの作成は試行錯誤の連続ではありましたが、結果的にクローニングに成功し、初めて自分が主体となる論文発表に至りました。^{7,8)} その当時、金属により発現誘導されるメタロチオネインプロモーター制御下で成長ホルモンを高発現するトランスジェニックマウスを作成し、巨大なマウスに成長することを確認した論文が公表されまして、同様の手技が中型動物にも適応できるのかと期待をして研究を進めていました。同時にヤギ成長ホルモン遺伝子解析も実施し、複数のサブタイプをコードする遺伝子を発見し、成長ホルモン遺伝子が進化過程において重複した可能性を見いだしました。⁹⁾ しかし、丁度形質転換ヤギを作成する段階になって、駒野教授から海外留学のお誘いを受けました。あと少しのところまで形質転換ヤギの作成に至ると思っていましたが、将来の研究の発展性を見据え、海外留学の決心をしました。しかし、同時に鳥取大学への赴任のお話も出てきました。

―鳥取大学への赴任―

先ず平成2年1月に鳥取大学農学部代謝生化学研究室に助教授として赴任しました。教室の主宰者は京都大学農学部駒野先生の研究室の先輩である森嶋伊佐夫教授でした。このタイミングで海外留学が決まっていたので、森嶋先生にはご無理を申し上げまして、前期の講義は担当するとの約束で、赴任半年後に約1年間の海外留学を認めていただきました。研究室大学院生の池谷くん、川端くんの面倒を見てくれるようにとのご依頼でしたが、赴任後直ちに留学となり、特に川端くんには不自由をさせました。川端くんの帰省先が京都で

したので、この間、京都大学生化学研究室の駒野先生のご厚意により同研究室において遺伝子クローニングに関するご指導をいただきました。

—米国に留学して—

以上のような背景により、平成2年7月には海外留学することができました。留学先は米国バンダービルト大学医学部生化学の稲上正先生の研究室でした。海外に出かけるのはこれが初めての経験で、それも最終乗り継ぎの小型飛行機には日本人の姿もなく、だんだん不安になってきましたが、到着したナッシュビルの空港には稲上教授が迎えに来てくださっていてとても安心しました。当時は空港において自由に搭乗口まで行ける時代でした。それから数日は生活環境の立ち上げですが、アパートの手配、銀行口座の開設など、戸惑うことも多かったのですが、稲上先生の奥様が親切に対応してくださいました。また、テネシーの町中ではある程度の生活はできますが、買い物等には車が必須でして、先ず免許取得が必要になります（国際免許もある程度の期間有効ではありますが、免許証がIDになりますので、免許取得は必須です）。そこで、取り急ぎ免許センターに行ったのですが、受付で多分簡単な質問があったと思いますが、南部の英語故、ちんぷんかんぷんで、答えに窮したところ、お前は英語が理解できないので出直してこいと言われ、なかなか大変な船出となりました。戻ってから研究室のテクニシャン相手に少しリスニングのトレーニングを積み、出直しの後に、やっと受験手続きが完了しました。免許試験自体は大変簡単で、先ずコンピューターによる法規の試験を受けます。お前は英語とドイツ語と日本語のどれで受けるかと言われるので、多分英語を選んだと思います。日本の自動車企業がテネシーに進出していたので日本語の試験もあったのかもしれませんが、日本語試験があるとは面白かったです。交通ルールは右側通行であることはさておき、赤信号でも安全を確認して右折可能、踏切の一時停止は不要などと、日本とは異なるルールについては覚えておく必要があります。あとは実地の試験として自分で持ち込んだ車の助手席に教官が座って、直進や右左折などの指示をしますから、指示に従って運転して帰ってきたらめでたく合格となります。日本の免許試験と比べてとても簡単と思いました。また、車を免許センターに持ち込むのですから、私たちは国産免許証があったので良かったのですが、アメリカ人が試験を受ける際にはどうなるのだろうか、ちょっと疑問に思いました。実際に運転する際には特に交差点において右、右！と意識しておくことが必要でした。道路は広く、特にインターステートは快適でした。しかし、ダウンタウンを離れて郊外に出ると一面の原野で、ここで車が故障したら一体どうなるのだろうか、携帯電話も普及していない時代でもあり、一抹の不安がありました。また、アメリカでは距離や速度に今

でもマイルを使うので換算に慣れることが必要でした。温度も華氏を使っていましたので真夏の温度が 100° F といった具合です。アメリカのような進んだ国でもいわば尺貫法のような単位を維持していることが面白い点でした。これらは日本においてはとても経験できないことで、民族間の考え方の相違など、新たな発想につながるアイデアもあり、現在の若者には是非留学経験をした方が良いと伝えたい点です。研究室には日本人が多く、教授や研究者との会話は殆どが日本語で、日本の研究室と雰囲気はあまり変わらず、英語力もあまりつかなかったようですね。

そのようにして生活環境が整ってから本格的な留学生活が始まります。生化学研究室主宰の稲上正教授は京都大学農芸化学生化学研究室のご出身でした。稲上先生は大学紛争時に渡米されて以来、今日に至るまで米国で研究生活を継続されてきました。先生は高血圧の分子機構に関する研究を一貫して進めてこられ、血圧上昇ホルモンであるアンギオテンシン II 合成に関わる酵素であるレニン¹⁰⁾を初めて精製されたことで有名です。当時はレニンの阻害剤が高血圧治療薬として普及していましたが、空咳などの副作用発症が問題となっていました。そこで、先生は血圧上昇に関わるより下位のシグナリング系に注目されました。すなわち、アンギオテンシン II が血管内皮細胞表面に存在すると考えられる受容体に結合し、最終的に血管収縮を起こすことにより高血圧を発症するのならば、受容体拮抗薬が高血圧治療の特効薬となるのではないかという発想です。今日では、抗ヒスタミン薬が花粉症による咳くしゃみ、皮膚掻痒などの特効薬として使われているのでおなじみのことかと思えます。そのためには先ず、アンギオテンシン II 受容体遺伝子のクローニングと構造決定を行うことが必須となります。先生からは遺伝子クローニングの経験があるなら、このプロジェクトを実施しなさいとのご指示をいただきました。遺伝子クローニングの基本的な考え方として、先ず、生化学的手技によれば目的タンパク質の精製と一次構造（アミノ酸配列）の決定を行うことです。当時は、多くの研究者が受容体タンパク質の精製に挑戦していたようです。しかし、精製タンパク質が目的物であるかどうかの検証ができて始めて達成できる方法ですので、この場合には受容体にアンギオテンシン II が特異的に結合することを検証しなければなりません。今から振り返れば理解できるのですが、アンギオテンシン II 受容体は膜タンパク質ですから、細胞膜から単離精製した状態でアンギオテンシン II と結合することは出来なかったのです。同様の例として酵素の精製においても、酵素が失活して活性を失った場合には酵素の存在を追跡するための指標を失うこととなります。生化学的アプローチが出来ない点が最初の壁となりました。当時は少なくとも 1 年間ほどの留学期間が認められていましたが、時間は刻々と過ぎていくのでした。そこで当時の協和発酵の松田譲博士より、佐々木

克敏氏をご紹介いただき、さらに佐々木氏のご協力を得るべく、研究室に派遣していただくことになりました。当時、佐々木氏は細胞培養系を用いたパンニング法（抗体を用いた特異性タンパク質の精製法）を得意とされていたのでこの技術が使えると考えました。佐々木氏が研究室に到着されて早速に決められた方針が「発現クローニング法」です。精製タンパク質（アンギオテンシンⅡ受容体）がリガンド（ホルモンであるアンギオテンシンⅡ）に結合できないのであれば、細胞膜にアンギオテンシンⅡ受容体を自然な形で発現させて、ここに標識アンギオテンシンⅡを結合させてスクリーニングを行えば良いとの発想です。cDNA合成はこれまでの経験を生かして実施可能です。まず、アンギオテンシンⅡ受容体を多量に発現していると思われる材料を決める必要があります、ウシ副腎を選びました。早速に、早朝、屠場に行き、たくさんの副腎をもらい、氷中に保存して持ち帰るのです。ラボに戻って急いでウシ副腎皮質の球状帯(BAG)と言われる部分を回収します。ここから mRNA を精製し、cDNA 合成、クローニングと進みます。その後がユニークな方法となります。それは、全 cDNA をミドリザル腎臓由来の COS-7 細胞に形質転換し、細胞膜にアンギオテンシンⅡ受容体を発現させることです。その上で、標識リガンドとして、アンギオテンシン誘導体として受容体結合能が高いことがわかっている ^{125}I -[Sar¹, Ile⁸]アンギオテンシンⅡを結合させ、シグナルを認めた細胞から cDNA を回収し、増幅、スクリーニングを繰り返し、最終的に単一クローンに行き着いたのです。以上の研究は佐々木氏と研究室に以前からおられたインド人研究者の Bardhan 氏が中心となり達成しました。

この研究にもリガンドの標識には放射性同位元素である ^{125}I を使いました。当時は思う存分に標識リガンドを手に入れることが出来なかったので、 Na^{125}I を使って自分で合成をするのでした。そのようにして多量の標識リガンドが使えたことも放射線を学んでおいたメリットでした。意外にもアメリカの放射線管理は日本における管理とはかなり違っているようで、標識体を廃棄する流しは決められていましたが、特に貯留しているようでもなく、結局は全て一般排水系に流入していたのかと思います。また、放射性同位元素も一般の実験室で自由に使っていました。昼食時に隣でリガンドの放射能標識を行っている研究者がいたり、さすがに警戒はしましたが、日本の管理方法とはかなり違っていることを知りました。これも海外留学したからこそわかった点です。

これまでにクローニングしたアンギオテンシンⅡ受容体遺伝子の塩基配列から推定アミノ酸配列を決定し、疎水性、親水性領域を決めるハイドロパシーブロットにより、多くの受容体に見いだされている 7 回膜貫通領域を持った構造 (7TM) と推定されました。しかし、本当にこの cDNA がアンギオテンシンⅡ受容体をコードしているのかは、生理学実験で決着をつける必要があります。

そこで、この cDNA を COS-7 細胞に形質転換をしてアンギオテンシン II で刺激をしました。その結果、細胞内の Ca^{2+} の濃度上昇を確認して、結果的にこれがアンギオテンシン II 受容体遺伝子 (AT_{1A}) と確定し、論文に投稿採用されました。¹¹⁾ 実は後日わかったことですが、我々の投稿した論文の次のページにアトランタ大学の Murphy らの研究が投稿されており、これがラットの血管から AT_{1A} のクローニングを実施したとの報告でした。¹²⁾ これを知った際には薄氷を踏む思いで、先端研究を実施するにあたり、世界の研究動向をつかんでおく重要性を改めて認識をしました。 AT_{1A} 受容体の構造決定は拮抗薬である降圧剤開発において重要な知見となります。そこで、 AT_{1A} のアミノ酸配列である 1 次配列より推定される高次構造を構築し、これまで受容体結合化合物として使われてきた構造をリードとして新規拮抗薬を開発するための研究に取りかかりました。しかし、 AT_{1A} のクローニングを達成した時期にはすでに留学期間が終わりを告げ、実際にはこの研究は帰国後に稲上先生の研究室で継続されることになりました。その後、 AT_{1A} のサブタイプである AT_{1B} や AT_2 がクローニングされ、それぞれの生理機能が提唱されています。留学期間には山梨大学医学部小児科学の大山建司先生に巡り会うことになりました。先生は文部科学省派遣研究員として稲上先生の研究室に留学されており、高血圧の原因を追及するための生理学研究をテーマとされていました。当初は大山先生とは接点がなかったのですが、稲上先生の研究室で AT_{1A} のクローニングに成功したことが情報共有され、大山先生も分子生物学的アプローチにより高血圧の原因追及をしたいと思われることになったようです。そこで、自分も分子生物学研究を経験したいので、お前と一緒に研究、経験をしたいと申し込まれました。私としましてはこれについては特に異存はなかったのですが、稲上先生がどう思われるかとの不安はありました。しかし、結果的には稲上先生自身もアンギオテンシン II 受容体遺伝子のクローニング、機能解析を推進したいとお考えであったと思いますので、大山先生がプロジェクトに参加されることをお許しになったのだと思います。実は大山先生との巡り合いが私の研究生生活後半のテーマである精子形成に関係する分子機構の研究につながっていることも奇遇に感じます。

—鳥取大学農学部応用生命科学講座における活動—

1 年あまりの留学期間が終わり、いよいよ帰国となります。鳥取大学農学部代謝生化学の森嶋伊佐夫教授には長期の留学を許していただき、大変感謝をしています。これからが本格的に研究室運営に参画することになります。大学教員の業務としては、教育、研究、運営の 3 つの柱が求められます。教育面においては生化学、遺伝子工学に関する講義、演習、実験実習を担当しました。当時はまだパワーポイントもなく黒板にチョークで直接板書する方法でした。学生

は板書をノートに書き写す必要があるので、時間を取ってできるだけ大きな文字でまっすぐに書く、黒板の左半分、右半分と交互に使うなど、基本的な教授法を身につけました。研究面においては留学の際に立ち上げたプロジェクトの推進を行いました。しかし、1990年代当時、世の中では分子生物学の黎明期から発展期に至る段階でした。例えば今日話題のコロナウイルス分析に用いるPCR(polymerase chain reaction)法もこの頃から一般的に使われるようになってきました。これ以前にもその技術は確立していたのですが、私たちは3つの恒温槽を準備して、3人でストップウォッチを見ながら何サイクルか繰り返して反応をしたことを懐かしく思い出します。

鳥取大学ではこの時流に合わせて遺伝子実験施設設立準備委員会が設置された時期です。その頃の環境として、むしろタンパク質分析システムはある程度構築されていたのですが、遺伝子分析システムはほぼ皆無でした。そのため、少しずつ設備の整備から始めることになるのです。米子地区医学部キャンパスにおいて、湖山地区よりは少し整備が進んでいたこともあり、結果的には米子地区に遺伝子実験施設が設立されることになりました。湖山地区はサブセンター扱いですが、両地区一体となって遺伝子実験が発展するように関わらせていただきました。特に米子地区の難波栄二先生には湖山地区に高額な遺伝子解析装置などの導入に特段の便宜を図ってくださいましたこと、大変お世話になり、感謝しております。また、当時は遺伝子分析のための標識には放射性同位元素の利用が主流でした。しかし、先述のように日本の放射線管理につきましては法律で厳密に規制がなされています。すなわち、ハード面の設備とソフト面の管理の両面が求められるのです。私は既に第1種放射線取扱主任者資格を取得していましたので、早速に当時の放射性同位元素等共同利用施設長であった農学部北本豊教授より主任者の任命を受けました。加えて、設備面ですが、当時、温室は全体換気、廃棄施設は屋外、排水設備は地下埋設型と、今日の法令においてとても認められないような状況でした。しかし、私はこれまでの研究プロジェクトを推進するためには設備の改善については避けては通れないと考え、予算要求を続けていく内に、幸いにも平成12年に設備の改修を認めていただきました。後日、学長のリーダーシップによるものと伺っています。安全安心は当たり前のこと、目に見えるものではないのですが、法令コンプライアンス遵守の精神をいち早く取り入れてくださいました当時の執行部の方々には感謝を申し上げたいと思います。新利用施設の設計につきましては全面的にお任せをいただきました。その結果、上記の課題対応に加えて、新規に放射能モニタリングシステムの導入、隣接する農産加工場を管理区域に取り込んだ形での改修を完了することができました。改築を行うためには本省に許可申請書を提出し、許可承認をいただくのですが、放射線障害防止法に則った形での設

備改修案を作成する必要があります。その際に貯蔵能力、使用量を前提として空気中、排水（混入率）、排気中（揮散率）放射能濃度を計算し、管理区域境界線量を算出し、法令の条件を満たすような設計を考えたのです。大変手間のかかる作業でしたが、実験目的に合った実験室の設計、使用核種数量の決定に関わることが出来たのは大きな収穫でした。最終的に改修計画を書面にまとめて許可申請書として東京の文部科学省に持参してヒアリングを受けることにより書面が完成し、許可が通ったときには一応の達成感を覚えました。

当時はまだ法人化前でもあり、また、運営費交付金や若手研究者支援のための財団支援金も充実していたので、設備投資もあまり気にならず、思うままに鳥取大学での研究活動を開始することが出来ました。私は主として留学で得られたAT_{1A}の機能解析の継続と、森嶋教授からいただいた鱗翅目昆虫（カイコ）の生産する抗菌タンパク質（セクロピン等）の遺伝子解析を始めることになりました。

我々の体内には獲得性免疫に加えて自然免疫系が備わっています。昆虫には獲得性免疫機構が存在しないために感染防御のためには自然免疫系に頼ることになります。昆虫の抗菌性タンパク質であるセクロピン、アタシンやリゾチームなどは自然免疫系に関与しているのではないかと推測されています。そこで、カイコセクロピン遺伝子のクローニングを試みました。セクロピン遺伝子にはサブタイプA, B型が存在し、推定アミノ酸配列の相同性は73%でした。また、細菌の細胞壁成分であるペプチドグリカン刺激により、いずれの遺伝子も脂肪体（動物の肝臓に相当する組織）において、発現上昇することを見いだしました。¹³⁾ 続いてペプチドグリカンが本当にセクロピン遺伝子の発現亢進に関与しているのかを検証する必要があります。そこで、セクロピン遺伝子の発現のスイッチとなるプロモーター領域の解読と、ここに結合して転写を制御するタンパク質が実際に転写のスイッチを押しているのかどうかを検証することにしました。今日でも遺伝子発現、転写制御機構は生命現象の基本となる研究対象で、細胞分化、疾病発症などに関わる研究、創薬開発などにおいて基本となるアプローチです。例えば、皮膚細胞にも体全体の設計図となるおよそ2~3万個と言われる遺伝子が約30億塩基対のDNA上に搭載されており、これが核内染色体にコンパクトに格納されています（人の染色体構成は46XX, 46XY、すなわち22対の染色体に2本のXY性染色体が加わっています）。しかし、実際には皮膚でタンパク質を生産する遺伝子はそこに必要な遺伝子に限定されています。これはすなわち、皮膚においてのみ特定の遺伝子の発現スイッチをいれる転写制御タンパク質が存在するからです。決して皮膚において肝臓や神経に発現する遺伝子のスイッチを入れることはありません（むしろこのような機構の破綻が発がんなどの疾病の原因となるのでしょうか。ガンの原因は基本的には

遺伝子の突然変異によると考えられます)。しかし、ノーベル賞受賞者として皆さんがご存じの山中伸弥教授は皮膚由来の細胞に4つの因子(発現スイッチを押す山中4因子)を導入することにより、細胞の初期化に成功し、これを再分化することで再生医療に活用することに成功しています。¹⁴⁾ここからも、遺伝子発現制御機構の分析研究は生命現象を解明するための基本となることをご理解いただけたと思います。私たちの研究結果によれば、カイクセクロピン遺伝子のプロモーター領域にペプチドグリカンで刺激した際に脂肪体で誘導されるタンパク質が結合し、転写のスイッチを押すことが明らかになりました(ゲルシフトアッセイといって、プロモーター領域に転写制御タンパク質が結合し、分子量が大きくなることをゲル電気泳動法で検出することにより分析をします)。¹⁵⁾この結果は、昆虫が細菌感染した際に細菌の細胞壁成分であるペプチドグリカンを脂肪体が認識し、そこから誘導される転写制御に関わる転写因子がセクロピン遺伝子発現のスイッチを入れ、抗菌タンパク質であるセクロピンが発現誘導することを示しています。これより、昆虫における自然免疫系活性化のメカニズムに対する一つの答えが得られたと思います。哺乳類にも自然免疫系が備わっており、感染症初期の生体防御機構として重要な位置づけとなっています。昆虫で発見された成果がヒト医療においても活用されることを願っています。

また、同時期に並行して米国でクローニング分析をしていたAT_{1A}の構造解析も進めました。AT_{1A}のcDNA配列からアミノ酸配列が推定されます。立体構造はヒドロパシープロット(アミノ酸の特性から疎水領域、親水領域を推定する方法)により7回膜貫通型(7TM型)受容体と考えられることは先述の通りです。しかし、ホルモンリガンドであるアンギオテンシンII(Ang II)の結合部位は不明でした。AT_{1A}とAng IIの結合様式を確定することは、AT_{1A}に対する拮抗薬を開発する上で必要不可欠の情報となります。拮抗薬として、例えば花粉症治療薬のヒスタミンブロッカーが使われた方がおられると思いますが、これは花粉症を発症してくしゃみや涙が出る原因として、花粉が肥満細胞に作用して自己防御のためヒスタミンというアミノ酸誘導体を生産し、これが細胞表面のヒスタミン受容体に結合し、細胞内でシグナル伝達(シグナリングカスケード:滝の流れのような一方向の反応性のこと)のボタンタッチを行うことにより先述の花粉症を発症することになります。それならば、ヒスタミン受容体に結合するが、細胞内のシグナル伝達は引き起こさない化合物が開発できれば、これがまさに花粉症治療薬となるわけで、実際に市販されているヒスタミンブロッカーはこのような機構で花粉症を軽減しています。同じような機構が高血圧発症にも当てはまり、昇圧ホルモンであるAng IIが血管内皮細胞に存在するAT_{1A}に結合し、種々のシグナル伝達を経て、例えば血管平滑筋が収縮すれ

ば、血管圧が上がり、血圧上昇になるのです。そこで抗ヒスタミン薬と同様に、AT_{1A}に結合するがシグナル伝達を起こさない化合物が見つければ、それがまさに直接的な降圧剤として利用できるのです。先述の稲上先生が開発されたレニン阻害薬と比べれば直接的に血圧上昇を抑える機能が推測され、副作用の少ない降圧剤として期待されることとなります。そこで、先ず Ang II が AT_{1A}にどのように結合しているのかを明らかにすることにしました。米国留学中にミドリ十字株式会社（当時）との共同研究が進んでおり、当社所属の井上佳久氏がコンピュータドッキングモデル作成を専門とされていることを知り、リガンド・受容体結合モデルを作成いただきました。あくまでもモデル上での推測ですが、AT_{1A}の数多くのアミノ酸残基のなかで、どのアミノ酸が Ang II と相互作用をしているのかを特定していくためには必須の情報となりました。それでも候補のアミノ酸残基は 10 個余りとなりましたが、当時鳥取大学代謝生化学研究室の大学院生であった桔梗くんの修士論文研究においてそれぞれのアミノ酸をアラニンに置換するように部位特異的突然変異導入法を行ってもらいました。大変手間のかかる作業でしたが、一連の変異導入を達成し、組換え DNA を COS-7 細胞に形質転換し、AngII との結合活性を調べました。その結果 167 番目のアルギニン (Arg¹⁶⁷) と 199 番目のリジン (Lys¹⁹⁹)、特にこれら 2 つのアミノ酸残基が AngII との結合に関わっているとの結論を得ることが出来ました。¹⁶⁾ これ以外のアミノ酸についても変異導入により影響を受ける残基が数個存在しましたが、これら情報が明らかになったことにより、今日の高血圧治療拮抗薬の開発につながっているのだと考えると誇らしく思います。

ここまでの研究が一段落したのが 1995 年の頃です。そこで将来を見据えて何か新しいプロジェクトを立ち上げることができるかどうかと考え始めました。丁度その頃、内分泌攪乱物質（いわゆる環境ホルモン）が生殖系に悪影響を与えることが世界的に問題となっていました。その時に巡り会った本が Theo Colborn が著作した“*Our stolen future: 1996*”でした。当時、船底の塗料であるトリブチルスズ:TBT の影響による貝類の生殖器障害や、ダイオキシンによる発がん、生殖障害の発症などが報道されるようになっていました。ダイオキシンの中でも 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾジオキシン(TCDD)がふぐ毒にも匹敵する最強の毒性を持っていることが知られていました。これは、塩化ビニルなどのプラスチック類が低温焼却された際に発生する化合物です。今日では、家庭用の焼却炉や野焼きの禁止、廃棄物焼却炉においては焼却温度を 800°C 以上に設定することにより、ダイオキシン類の環境への排出は抑制されるようになっています。現在は保管中のダイオキシンの一種である PCB の処理が問題となっています。そこで、先ずダイオキシン類がどのように生殖障害、特に精子形成障害を引き起こしているのかを調べることにしました。そのためには、先ず

精子形成期精巣において精巣で発現変動する遺伝子を網羅的にスクリーニングすることが最初の仕事になります。現在は DNA マイクロアレイ法により、およそ 2 万から 3 万といわれる遺伝子の中から網羅的に発現変動遺伝子のスクリーニングをすることが可能となっていますが、当時はディファレンシャルディスプレイ法といたしまして、若齢期と性成熟期ラットの精巣から mRNA を調製し、逆転写 cDNA 合成、任意配列のプライマー DNA を用いて PCR 増幅を行い、厚さ 1mm 程度、長さ 60cm 程のアクリルアミドゲル板を用いて電気泳動を行うのです。電気泳動後に蛍光色素 SYBR Green 染色により増幅断片を検出します。遺伝子の数だけ、多数の断片が検出されますが、その中から、こまめに若齢期と成熟期で差のあるバンドを拾い上げ、これをプローブ（釣り針）として、cDNA ライブラリーから目的クローンをつり上げ、DNA の全長配列を決めます。気の遠くなるような作業ですが、最初に配列を決めた遺伝子は、細胞内モータータンパク質の一種であるキネシンをコードしていることがわかり、これが精子減数分裂の際に重要な役割を演じているのではないかと推測しています。遺伝子の命名については、本研究プロジェクトの最初のターゲット遺伝子となったことから、それを記念として SRF-1(spermatogenesis related factor-1)と命名させていただき、DDBJ/EMBL/GenBank 遺伝子登録番号 No. AB046606 を取得しています。¹⁷⁾

—鳥取大学農学部共同獣医学科における活動—

これまでの研究プロジェクトを始めた時期は全国の大学においても鳥取大学においても大きな変革期にさしかかっていました。すなわち、平成 16 年に国立大学が大学法人に改組され、合わせて平成 17 年には農学部獣医学科に全国でも珍しい獣医生化学教室が開設された年になります。元来、獣医学科では生理学と生化学を合体した形での生理化学教育が一般的でした。しかし、「化学構造を知らないで動物の生命現象が理解できない」との号令のもと、全国的に獣医学教育に生化学を導入すべき、との動きが始まりました。そこで、いち早く本学に生化学教室を立ち上げたことは当時の大学執行部に先見の目があったのだらうと思います。また、国際水準の獣医学教育を実施するには丁度二大学の規模での教育が適当であるとの考えにより、全国的に共同獣医学組織の構築が進んでいました。そこでこのタイミングで鳥取大学・岐阜大学共同獣医学科を構築し、鳥取大学からは生化学教育を提供するようになりました。この甲斐があって、岐阜大学獣医生理学教室とのお付き合いも始まりました。私はそれまでは現在の農学部生命環境農学科に所属していたのですが、これまで動物に関する分子生物学研究に携わってきたこともあり、より医学系に近づいた研究を推進するチャンスにも恵まれたと思い、獣医生化学教室を主宰することに関

しまして、二つ返事で受諾させていただきました。もちろん、生化学は農学部における二学科共通講義科目に相当しますので、学部全体に関わる教育にも貢献できたと思います。農学部内とはいえ、生身の人間が獣医学科に所属変更することは当時の改組においても象徴的な事象だったと思います。また、教室開設に伴い、北海道大学獣医学部から浅野淳先生（現鹿児島大学獣医学部教授）をお迎えできたことも教育研究システムの構築に当たり大変助けていただきました。

そこで、既に始めつつあった精子形成期精巣で発現変動する遺伝子のスクリーニングを発展的に継続しました。これまでに、ディファレンシャルディスプレイ法でスクリーニングした DNA 断片に注目し、これらをプローブとして片っ端から精子形成関連遺伝子のクローニングを行いました。その結果、精子形成期に発現する主要な遺伝子を網羅することに成功したと思います。具体的には、分子シャペロン、¹⁸⁾ 細胞分裂シグナリング、¹⁹⁾ 発がん、^{20, 21)} がん抑制²²⁾ などに関わる遺伝子ですが、これらの遺伝子が精子形成期精巣に発現亢進している意義を興味深く感じます。また、これらの遺伝子が精巣で発現する一方で、正常な体細胞においても共通して重要な機能を持っていることから、精子形成期精巣は体細胞における生命現象の縮図のようなイメージです。また、これらの遺伝子は正常な体細胞あるいは特定の病態で発現する遺伝子を総括しているのではないかと思い、生殖に関わる現象は生命現象を考える上で興味深い対象であると考えようになりました。特に、精子形成期精巣において結腸ガン抗原 *SDCCAG8*²⁰⁾ や骨髄性白血病誘発因子 *TAL-1*²¹⁾ 遺伝子の発現亢進を見いだしたのは興味深い結果です。ガン細胞と生殖細胞には共通する因子が存在します。それぞれの細胞の共通点として不死性に関する因子の存在（例えばテロメアーゼ活性）が考えられます。生殖系細胞は次世代に遺伝情報を継承する意義を持ちますし、一方で腫瘍系細胞は突然変異に伴い体細胞中に発生した不死性、永遠の命を持った細胞と考えられます。そのため、生殖系細胞で発現する遺伝子の追求が、老化の防止や、ガン治療に対する発想につながるのではないかと考えて、精子形成に関わる遺伝子の解析を本研究の意義と考えています。精巣では精子形成期に発がん遺伝子の発現亢進が認められる一方で、精巣ガンは希な疾患であるが一旦発症すると予後が悪いこと、また同時にガン抑制遺伝子の発現もみられることより、精巣において緻密で独特な遺伝子発現制御機構が存在すると推定しています。このような制御機構を明らかにすることが不妊症や発がんの原因究明につながると思いますが、そこまで追求し切れていないのが今後の課題です。本研究を推進するにあたり、特に *TAL-1* 遺伝子の発現解析につきましては、本研究室で学位を取得したスーダン国からの留学生 Ahmed 氏の貢献によるところが大きいです。

続いて、当初計画していた内分泌攪乱物質が生殖系「精子形成」にどのような影響を与えるのか、生殖障害に対する影響評価について追及することにしました。当時は、まだ動物実験に関する研究システムが十分に立ち上がっていませんでした。当時のことより、暴露実験は米国留学中に知り合った山梨大学医学部小児科学の大山教授と共同研究体制を構築しました。実験動物としてラットを使用しました。母ラットに TCDD を注射し、オスの仔ラット精巣の病理変化と精巣で発現する遺伝子の発現変動を調べました。曝露ラット精巣において、細胞内シグナリングに関わる RabGAP/TBC に相同する遺伝子が TCDD 曝露により有意に発現減少することを見いだしました。ちなみに、本遺伝子についても当研究グループのプロジェクトにちなんで、SRF-2 (spermatogenesis related factor-2) と命名しています。²³⁾ その他にも、性ホルモン受容体や精子鞭毛を構築するタンパク質をコードする遺伝子についても曝露影響を調べており、これらの知見より、TCDD 曝露による精子形成不全や雄性不稔との関連性が明らかになるのではないかと期待しています。²³⁻²⁵⁾ この時期までに、多くの精子形成関連遺伝子の解析が終わり、そのタイミングで浅野先生は鹿児島大学共同獣医学部の教授として栄転されることになりました。

しばらくの空白期間は教育研究活動において困難な状況が続きましたが、平成 27 年には樋口雅司先生を明治大学からお迎えすることができました。樋口先生は脳下垂体の幹前駆細胞がホルモン産生細胞に分化する機構に関する分析を内分泌学、分子生物学手法を使って推進し、最先端の研究活動を行ってこられました。これまでに当研究室では性腺（精巣）における遺伝子発現解析を行ってきた実績から、視床下部・脳下垂体・性腺軸（HPG 軸）における上位の制御機構から見た性腺発達に関する総合的解析を行うシステムの構築にご協力をいただいています。そこで、アルキル化制がん剤（ブスルファン）曝露により発症する不妊症の原因究明に関する研究課題を立ち上げました。ブスルファンは幼児期骨髄性白血病の治療薬として著効を示しますが、成熟後に高頻度に無精子症を発症することが問題となっています。本研究では幼児期にブスルファン処置を行った際に将来無精子症を発症することを予想するマーカー分子を血清中に見いだすことを目的としました。そのため、ブスルファン曝露ラットを使って、まだ精子を形成していない精巣において発現変動する遺伝子を DNA マイクロアレイ法により網羅的にスクリーニングをしました。その結果、曝露影響を受けて発現変動する遺伝子を多数見つけていますが、現在のところ血清中に逸脱する生化学物質の発見には至っておらず、今後の研究の進展に期待するところです。このようなマーカー分子を使えば、幼児期に発症する白血病を寛解に誘導することに加えて、まだ精巣において精子形成が進行していない時期において、低侵襲性である採血により将来の精子形成不全が予想されること

になります。精子形成不全そのものは生命維持には直結する問題ではないのですが、生活の質 Quality of Life: QOL 向上に役立ちます。ブスルファン曝露に留まらず、原因不明の男性不妊は不妊症の中でも大きな割合を占めており、昨今の隠れた少子化の原因の一つとも言われています。本研究の成果は制がん剤治療に伴う男性不妊のみならず、原因不明の不妊症の解明にも役立つことと期待しています。

一大学における管理運営とは一

続いて、大学における管理運営について記述してみたいと思います。一つは大学の管理運営における資格者の養成についてです。私は大学院の時代に既に第1種放射線取扱主任者免許を取得していましたが、先述のように平成16年の大学法人化に伴い、民間で求められる労働安全衛生に関わる資格者の養成が必要となりました。もちろん労働安全衛生法は労働者に対する法律規制であります。大学のような少量多種類の薬品や放射線を取扱う教育機関においては独特の管理方法が必要となります。また、労働者ではない学生についても、実験実習を行う当事者である立場から、法令を守っていただくことの教育、指導が必須となります。

私は本学において安全衛生委員会委員を拝命していましたので、率先して必要資格の取得に努めました。そこで、先ずX線管理等に必要なX線作業主任者とγ線透過写真撮影作業主任者の資格取得（電離則）を検討しましたが、放射線取扱主任者資格認証により申請のみで取得することができました。また、労働安全衛生法においてその他の必要な資格として、有機溶剤作業主任者（有機則）、特定化学物質等作業主任者（特化則）、酸素欠乏・硫化水素危険作業主任者資格を取得しました。また、火災原因となる薬品類を取り扱う際の規制である消防法に関わる甲種危険物取扱者の資格も併せて取得しました。毒物劇物取扱責任者につきましては、農芸化学科卒業により資格認定されています。実験が終われば廃棄物が生じます。廃棄物についても不法投棄をすると法令により罰せられます。実験系においても廃棄物を管理する資格者が求められます。特に管理を必要とする廃棄物処理に関する資格としては特別管理産業廃棄物管理責任者ですが、その資格も取得済みです。また、排水についても水質汚濁防止法、下水道法の遵守が求められます。

以上の資格を網羅することにより、放射性同位元素に加えて、実験系における薬品を使った研究における使用から廃棄にわたる全ての行為について安全管理体制が確立します。さらに、労働安全衛生法において、教職員はもとより学生に対する安全衛生教育、局所排気装置等の管理も求められることから、衛生工学衛生管理者の資格も取得しました。放射線施設においては毎月の空気中放

放射性物質濃度の測定が求められますので第1種作業環境測定士の資格も取得しました。以上の資格は大学における安全衛生管理指揮において必要とされますが、それに加えて、これらの内容を習熟した学生が就職先の社会において活躍する際の資質にもなります。そのため、「大学入門ゼミ」や「教養ゼミナール」などの教養科目講義の機会を生かし、学生に対して法令遵守の意味を伝えるとともに、資格取得のモチベーションを高めるようにしています。また、学生には実習前に以上の点について改めて習熟していただくために、自身で実験現場を想定した「リスクアセスメント」も演習形式で実施していただいています。他にも遺伝子組換えに関わるカルタヘナ法や動物の管理に関する法令についても理解、遵守することが求められます。本学ではこれらの業務に関わる委員を長期にわたり務めさせていただき、私自身のスキルアップにもつながりました。

このように安全衛生管理に関する活動を進めて参りましたが、そのきっかけは先述のように学生時代に放射性同位元素を取扱うチャンスに恵まれたことです。生化学物質を可視化するための有効な方法は放射線分析です。鳥取大学ではこれまで長年にわたり、放射線取扱主任者を勤めてきました。また、対外的には大学等放射線施設協議会設立当時より常議員を拝命し、全国大学ネットワークを生かして放射線管理に関する提言などにも参画してきました。もちろん、放射線取扱については放射性同位元素等規制法（旧放射線障害防止法）や労働安全衛生法（電離則）の遵守、さらには意外にも電子顕微鏡観察において使用する酢酸ウラニウムは核燃料、核原料、原子炉に関する法律の規制も受けることなど、注意が必要です。科学的には同じグループにとらえられる物質も管轄法令が異なることがあり、それぞれの法律を網羅しておくことが重要です。

大学も1事業体としてコンプライアンスの遵守には注意を要する時代となってきました。私たち研究者は新たな発見を目指して日々研究活動を行っていますが、その活動を支える遵法精神をおろそかにすることは出来ません。それは単に法令を守ることに留まらず、学生も含めた私たちの身の安全を守ることに通ずるからです。専門外の各個人レベルでは法令の全てを理解することは困難であると思います。そのためには安全衛生管理を網羅する安全衛生委員会を中心とした安全衛生管理部門の早期の構築が求められるのでしょう。放射線施設は改築から既に20年ほどが経過しています。現在では放射線取扱主任者、作業環境測定士として研究推進機構鳥取地区放射線施設の北実先生が専門的背景により一括して管理をしてくださっていますので安心です。作業環境測定実施当初はいろいろと試行錯誤がありましたが、当時の米子施設を管理されていた木村宏二先生がとりまとめられた論文にその状況が記載されています。²⁶⁾

ー全学共通科目との関わりー

最後に全学共通科目について述べさせていただきます。私はこれまで長年にわたり全学共通科目「教養ゼミナール（旧読書ゼミナール）」を担当させていただきました。私は化学教科集団に属していましたが、これ以外にも全学共通一般教育に何らかの関わりが出来ないかと考えていました。学部横断的共通教育の充実が鳥取大学としての学生ポテンシャル増強につながると考えたからです。丁度その折に、教育センターの武田修志先生から「読書ゼミナール」を担当してみないかとお声がけをいただきました。それでは取りあえずやってみようかと思ひまして、二つ返事でお受けしました。他の講座は文学を読むなど、人文系の読書が主体でしたので、私の方では鳥取大学の強みである実験系を少し意識したゼミを試みようと思ひ、「細胞夜話」と「分子生物学に魅せられた人々」をテキストとして選びました。細胞夜話はトリビア的な内容で、先端的な生命科学を紹介する内容でもなく、研究の試行錯誤が記載されています。また、分子生物学に魅せられた人々は分子生物学会を立ち上げられた先生方の幼少期から後進の指導に至る人生経験が記載されています。これらの読書は、全学を通してどの分野に進む学生にとっても自分の将来を見つめる指針になると思います。特に1年生の受講生にとって、他学部の学生と一緒にテキストを読んで自分でまとめる作業をすることは貴重な体験になると思います。そのため、講義では声を出してしっかりと読書、その後、毎回読書内容の要約と自分の考えの取りまとめ、最後にプレゼンテーション形式で他の学生に対して口演を行います。このような鳥取大学発の教養演習はユニークであり、高大教育連携においても貴重な体験機会になると思います。講座担当の際にお知り合いになった後藤和雄先生（令和2年度退職）は教育センターで数学を担当されていました。先生とは今でもお付き合いをさせていただいていますが、親しく情報交換をさせていただくことになったきっかけは農場FSC販売でお見かけをしたことです。毎週の販売を楽しみにご一緒させていただき、現在でもいろいろと交流をさせていただいています。

ー今後の鳥取大学の発展に向けてー

これから大学において次期中期目標に向けて数多くの改革が計画されていると思います。大学運営においては発想だけがあっても機能しません。法人化前には教員当たり相当額の教育研究活動費が準備されていました。しかし、今日では基盤経費については重点化配分により非常に些額の配分費になっています。卒論を取りまとめる経費は研究費ではなく教育費と考えるべきではないでしょうか。卒論研究は鳥取大学卒業生が鳥取大学ブランドを背負い社会で活躍する際の基盤となるものです。従って「豪華なおかずまでは求めないが、日々

食する最低限のご飯代程度の幅広い支援は必要」と考えます。是非基盤的経費の公平な配分と増額をお願いしたいと思います。また、安全衛生については事故がなくて当たり前の運営ですが、その点も考慮した予算配分を行い、法令違反を起こさないよう、余りギリギリの運営にならないようにと願っています。今後は、学生教育を発展した研究活動、それを支える管理運営がバランス良く機能し、鳥取大学発の新たな展開がなされることを願っています。

引用文献

- (1) M. Kobayashi, Y. Yamano, M. Himeno, and T. Komano:
Inactivation of insect DNA virus (AcNPV) by phototrophic bacteria product.
Microorganisms and Resources, **4**, 1-3 1983

- (2) K. Ohyama, L.R. Wetter, Y. Yamano, H. Fukuzawa, and T. Komano:
A simple method for isolation of chloroplast DNA from *Marchantia polymorpha* L. cell suspension cultures.
Agricultural and Biological Chemistry, **46**, 237-242 1982

- (3) K. Ohyama, Y. Yamano, H. Fukuzawa, T. Komano, H. Yamagishi, S. Fujimoto, and M. Sugiura:
Physical mapping of chloroplast DNA from liverwort *Marchantia polymorpha* L. cell suspension cultures.
Molecular and General Genetics, **189**, 1-9 1983

- (4) Y. Yamano, K. Ohyama, and T. Komano:
Nucleotide sequences of chloroplast 5S ribosomal RNA from cell suspension cultures of the liverworts *Marchantia polymorpha* and *Jungermannia subulata*.
Nucleic Acids Research, **12**, 4621-4624 1984

- (5) Y. Yamano, T. Kohchi, H. Fukuzawa, K. Ohyama, and T. Komano:
Nucleotide sequences of chloroplast 4.5S ribosomal RNA from a leafy liverwort, *Jungermannia subulata*, and a thalloid liverwort, *Marchantia polymorpha*.
FEBS Letters, **185**, 203-207 1985

(6) 山野 好章

Structural analysis of chloroplast RNAs in liverwort: nucleotide sequences of rRNA and tRNA^{Ser} in chloroplasts of *Marchantia polymorpha* L. and *Jungermannia subulata* Evans-(京都大学) 1985

(7) Y. Yamano, K. Oyabayashi, M. Okuno, M. Yato, N. Kioka, E. Manabe, H. Hashi, H. Sakai, T. Komano, K. Utsumi, and A. Iritani:
Cloning and sequencing of cDNA that encodes goat growth hormone.
FEBS Letters, **228**, 301–304 1988

(8) M. Yato, Y. Yamano, K. Oyabayashi, M. Okuno, N. Kioka, E. Manabe, H. Hashi, H. Sakai, T. Komano, K. Utsumi, and A. Iritani:
Nucleotide sequence of the growth hormone gene cDNA from goat *Capra hircus* L. (Tokara).
Nucleic Acids Research, **16**, 3578–3578 1988

(9) N. Kioka, E. Manbe, M. Abe, H. Hashi, M. Yato, M. Okuno, Y. Yamano, H. Sakai, T. Komano, K. Utsumi, and A. Iritani:
Cloning and sequencing of goat growth hormone gene.
Agricultural and Biological Chemistry, **53**, 1583–1587 1989

(10) T. Inagami.
Structure and function of renin:
Journal of Hypertension Suppl, Review, **7**, S3–8 1989

(11) K. Sasaki, Y. Yamano, S. Bardhan, N. Iwai, J.J. Murray, M. Hasegawa, Y. Matsuda, and T. Inagami:
Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor.
Nature, **351**, 230–233 1991

(12) T.J. Murphy, R.W. Alexander, K.K. Griendling, M.S. Runge, and K.E. Bernstein:
Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor.
Nature, **351**, 233–236 1991

- (13) Y. Yamano, M. Matsumoto, K. Inoue, T. Kawabata, and I. Morishima:
Cloning of cDNAs for cecropin A and B, and expression on the genes in the silkworm *Bombyx mori*.
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, **58**, 1476–1478 1994
- (14) K. Takahashi, and S. Yamanaka:
Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors.
Cell. **126**, 663–676 2006
- (15) Y. Yamano, M. Matsumoto, K. Sasahara, E. Sakamoto, and I. Morishima:
Structure of genes for cecropin A and an inducible nuclear protein that binds to the promoter region of the genes from the silkworm, *Bombyx mori*.
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, **62**, 237–241 1998
- (16) Y. Yamano, K. Ohyama, M. Kikyo, T. Sano, Y. Nakagomi, Y. Inoue, N. Nakamura, I. Morishima, DF. Guo, T. Hamakubo, and T. Inagami:
Mutagenesis and the molecular modeling of the rat angiotensin II receptor (AT1).
The Journal of Biological Chemistry, **270**, 14024–14030 1995
- (17) Y. Yamano, K. Ohyama, T. Sano, M. Ohta, A. Shimada, Y. Hirakawa, M. Sugimoto, and I. Morishima:
A novel spermatogenesis-related factor-1 gene (SRF-1) expressed in maturing rat testis.
Biochemical and Biophysical Research Communications, **289**, 888–893 2001
- (18) Y. Yamano, K. Ohyama, M. Ohta, J. Nakamura, and I. Morishima:
Expression of small stress protein Hsp20 gene in the maturing rat testis.
Journal of Veterinary Medical Science, **67**, 1183–1186 2005
- (19) Y. Yamano, A. Asano, K. Ohyama, M. Ohta, R. Nishio, and I. Morishima:
Expression of Ha-ras suppressor family member 5 gene in the maturing rat testis.
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, **72**, 1360–1363 2008

- (20) T. Kamio, A. Asano, Y. Z. Hosaka, AM. Khalid, S. Yokota, M. Ohta, K. Ohyama, and Y. Yamano:
Expression of the centrosomal colon cancer autoantigen gene during spermatogenesis in the maturing rat testis.
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, **74**, 1466–1469 2010
- (21) AM. Khalid, A. Asano, YZ. Hosaka, M. Ohta, K. Ohyama, and Y. Yamano:
Rat stem–cell leukemia gene expression increased during testis maturation.
Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, **76**, 2118–2123 2012
- (22) AM. Khalid, A. Asano, YZ. Hosaka, T. Takeuchi, and Y. Yamano:
Tumor suppressor candidate TUSC3 expression during rat testis maturation.
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, **77**, 2019–2024 2013
- (23) Y. Yamano, K. Ohyama, M. Ohta, T. Sano, A. Ritani, J. Shimada, N. Ashida, E. Yoshida, K. Ikehara, and I. Morishima:
A novel spermatogenesis related factor–2 (SRF–2) gene expression affected by TCDD treatment.
Endocrine Journal, **52**, 75–81 2005
- (24) K. Ohyama, M. Ohta, T. Sano, K. Sato, Y. Nakagomi, Y. Shimura, and Y. Yamano:
Maternal exposure of low dose of TCDD modulates the expression of estrogen receptor subunits of male gonads in offspring.
Journal of Veterinary Medical Science, **69**, 619–625 2007
- (25) Y. Yamano, A. Asano, M. Ohta, S. Hirata, T. Shoda, and K. Ohyama:
Expression of rat sperm flagellum–movement associated protein genes under 2,3,7,8–tetrachlorodibenzo–*p*–dioxin treatment.
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, **73**, 946–949 2009
- (26) K. Kimura, M. Kita, T. Suzuki, and Y. Yamano:
Status report of the working environment measurement of the radioisotope facilities at Tottori University.
日本放射線安全管理学会誌第5巻1号, 45–48 2006

キーワード

分子生物学、生化学、遺伝子工学、放射線、労働安全衛生、資格、教養ゼミナール、葉緑体遺伝子、昆虫、高血圧、環境ホルモン、精子形成