遺伝子改変マウスが教えてくれたこと

浅野 雅秀

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

私が京大理学部で4年生であった1982年に、ラットの成長ホルモン遺伝子をマウスの受精卵に導入して、ジャイアントマウスが誕生したというニュースが新聞の一面を飾りました。マウスの全身の細胞に遺伝子を導入して、その結果が体の大きなマウスとして表れるというのはたいへんな驚きでした。大学院は京大のウイルス研に進み、米国留学でマウスの胚操作を学んできた岩倉洋一郎先生の下で研究を始めることになりました。このことがTgマウスやKOマウスを作製することで、生体内での遺伝子の機能を解析し、あるいは疾患モデルマウスを作製して病気のメカニズムを追求するという道に進むきっかけになりました。

大学院生やポスドク、助手の時代は、TgマウスやKOマウスを作製して、インターフェロンやIL-1、IL-17などのサイトカインの生体内での機能解析に従事し、またたくさんのKOマウス作製の共同研究に参加し、多くの論文を発表することができました。その一方、東大医科研の助手時代に糖転移酵素遺伝子のKOマウスを作製して、生体内での糖鎖機能を解析するという新しい分野に足を踏み入れました。2000年に金沢大学医学部の実験動物研究施設の教授になって、自分の研究室を持ってからは、翻訳後修飾である糖鎖とヒストン修飾を中心に研究を進めてきました。どちらも遺伝コードでは決まらない暗号をコードしており、前者はグライココード、後者はヒストンコードと呼ばれています。私たちの最終目標はこの2つのコードを解読して、生命科学の謎を解くことにありました。

2014年12月に京大の動物実験施設に赴任し、翌年の3月に第125回関西実験動物研究会において「糖鎖は様々な生命現象の鍵となっている」というタイトルで講演をさせていただきました。あれからあつという間の10年でしたが、研究室のスタッフ、大学院生、共同研究者と一緒に、遺伝子改変マウスを用いたグライココード研究とヒストンコード研究をさらに発展させることができ、充実した10年間を過ごさせていただきました。

本講演では京大に来てからの10年間の話を中心にさせていただきます。糖鎖は核酸やタンパク質に並ぶ生体情報高分子であり、第三の生命鎖と呼ばれています。全タンパク質の約50%が糖鎖修飾を受けており、特に細胞表面の糖鎖は細胞間相互作用に重要な働きをしています。私たちは様々な機能性糖鎖に関与するガラクトースに注目して研究を進めました。ガラクトースを $\beta 1 \rightarrow 4$ に転移するガラクトース転移酵素($\beta 4\text{GalT}$)は、同じ結合様式にも関わらず7つの遺伝子が存在します。当初の疑問はなぜ7つも存在するのか、それぞれ役割分担があるのかということでした。 $\beta 4\text{GalT-1}$ から-5の遺伝子改変マウスは当研究室で作製し、 $\beta 4\text{GalT-6}$ は名大の古川先生から分与いただきました。最初に作製した $\beta 4\text{GalT-1}$ 欠損マウスは、炎症反応(Asano, *et al*, Blood, 2003)やIgA腎症の発症(Nishie *et al*, Am J Pathol, 2007)に関わることを報告しましたが、京大では造血幹細胞(HSC)のホーミングにも重要な役割を持つことを明らかにしました(Takagaki *et al*, Sci Rep, 2019)。一方、最も広く発現が見られる $\beta 4\text{GalT-3}$ の欠損マウスは外見上の異常は見られませんでした。ヒトの様々ながん組織で $\beta 4\text{GalT-3}$ の発現が上昇しており、

一部のがんでは患者の予後に相関が見られました。様々ながん細胞をこのマウスの皮下に移植したところ、免疫原性の強いがん細胞の増殖が野生型マウスに比して有意に抑制されました。B4GalT-3 欠損によるがん細胞増殖抑制には CD8 T 細胞が関与し、グライコプロテオミクス解析によりインテグリン α L の糖鎖不全が CD8 T 細胞の抗腫瘍活性に関与することが示唆されました (Wei *et al*, *Front Immunol*, 2023)。また、B4GalT-5 と -6 は糖脂質である LacCer の生合成を担い、その欠損マウスではガングリオシド群が合成できないことを明らかにしました。B4GalT-5 欠損マウスは胚発生の中期に致死となりましたが (Nishie, *et al*, *Glycobiology*, 2010)、脳神経系特異的な B4GalT-5 cKO マウスは顕著な異常はなく、相同性の高い B4GalT-6 とのダブル KO マウスを作製したところ、授乳期に運動失調を示して 3 週齢までに死亡しました。軸索やミエリン形成に異常が見られ、ガングリオシドの GM1 とラミニンの結合ができないために NGF からのシグナルが減弱していることが示唆されました (Yoshihara *et al*, *PLoS Genetics*, 2018)。胚発生では B4GalT-5 が主要な LacCer 合成酵素でしたが、脳神経系では B4GalT-5 と 6 の 2 つが担うことがわかりました。以上のように B4GalT KO マウスを作製・解析することで、それぞれに明確な役割分担があり、ガラクトース糖鎖は炎症反応や IgA 腎症、がん細胞増殖、HSC ホーミング、発生過程、脳神経系とたいへん多岐にわたる生理機能を担っていることを明らかにすることが出来ました。一方、ヒストン修飾の研究は成瀬准教授が中心となって進めてくれ、メチル化 H3K27 を脱メチル化する Jmjd3 と Utx の欠損マウスは、前者が前方ホメオティック変異を示しました。Jmjd3 は前後軸の位置情報を担う Hox 遺伝子群の発生過程での精緻な発現制御に関わっていることがわかりました (Naruse, *et al*, *FASEB J*, 2017)。

この分野での対外的な活動としては、日本実験動物学会の理事を通算 6 期 12 年務め、2019 年には安東田嶋賞を受賞しました。今年の 5 月には本研究会の皆様のご支援を得て、第 71 回日本実験動物学会総会を京都で開催させていただきました。また、NBRP ラットの代表機関課題管理者としてラットリソースの普及に努めるとともに、ラットの生殖工学技術の開発 (Honda, *et al*, *Sci Rep*, 2019) と研修による普及に努めました。国立大学法人動物実験施設協議会では 2011 年に金沢大で総会を主催し、2012-23 年の会長を務め、先日は高度技術研修を本学で開催しました。その他、日本実験動物協会の実験動物技術者の資格認定試験の京都会場責任者や農林水産省の拡散防止措置確認会議委員も努めました。最後になりましたが、関西実験動物研究会では集会幹事として幾つかの研究会の企画に参加しました。本研究会の皆様には大変お世話になり、忙しくも充実した 10 年間でした。心より感謝申し上げます。