

コラム

月田承一郎が遺したもの

月田 早智子

帝京大学戦略的イノベーション研究センター
大阪大学大学院生命機能研究科

2005年12月に月田承一郎が旅立った。それからおよそ15年の歳月が過ぎようとしている。月田承一郎の名は、クローディング発見という成果と共に記憶されているだろう。しかし、それは彼独特の夢多き、広い生物学への取り組みの一端であった。今回、執筆の機会を得たこのコラムでは、家族として、更に故人と共に研究に取り組んできた同志として、幾つかの記憶の断章を記しておきたい。

形態学を生かした共同研究の端緒

月田承一郎(1953-2005)と共に研究をするようになったのは、同じ解剖学教室に所属していた大学院時代にさかのぼる。当時は電子顕微鏡のいろいろな技法が発達した時期で、細胞を顕微鏡で観察することがとても面白かった。“見る”“見える”というのはとても大事なことだ。そこにそれが存在するということの確認ばかりでなく、新たな考えをひらめかせ、夢を広げつつサイエンスの洞察にまで導いてくれるからだ。これは私たち二人に共通した研究の基本姿勢でもある。加えて、承一郎は実験や研究について話すことが好きで、その日の仕事が一段落すると、ひとしきりお互いの実験・研究談義に花を咲かせるのが常だった。亡くなるまでその習慣は続いたが、おそらく話しながら考えを整理するのはもとより、他者の話から刺激を受けたり気づきを得たりということがあったからではないかと思う。

大学院時代の承一郎は、学部時代に行った軸索輸送の研究から微小管系の運動、更に骨格筋の収縮機構の解析へと研究を進展させていた。軸索輸

送される膜の電子顕微鏡研究では、順行性と逆行性輸送で、各々小胞体、多胞体(multivesicular body)やラメラ膜というように、輸送される膜が異なる種類の膜であることを見いだしたことは当時画期的であった(Brain Research 1979; J Cell Biol 1980)。その後、何が輸送モーターかということで、夢中になってATPaseを探していた。しかし、1980年当時、高名なCold Spring Harbor研究所において、video-enhanced contrast, differential interference contrast light microscopyでイカ巨大軸索の膜輸送を見ることに成功したという講演を聴いた瞬間、彼らがそのATPaseを探索する顕微鏡アッセイ系を持っていることを認識して、「彼らがATPaseをすぐに同定するだろう、僕には勝ち目がない」とATPase実験をすべてやめたことには驚かされた。確かにこのATPaseは、数年後、Cold Spring Harbor研究所にてkinesinとして同定された。承一郎はATPase実験をやめた後、当時所属した東京大学解剖学教室で開発中の急速凍結電子顕微鏡による筋収縮、繊毛運動メカニズムの解明にしばらく打ち込んでいた(Nature 1985; J Cell Biol 1983)。これらは以下に引用した数報の論文と共に、その後100報に近い互いに協力しあった論文(詳細略)の事始めの論文といえる。

私自身は二人の師である石川春律助教授のもとで、ヒト赤血球膜の裏打ち構造について、形態学および生化学の両面からの解析に取り組んでいた(J Cell Biol 1980; 1981)。そして、赤血球裏打ち構造のスペクトリンに似たタンパク質が広く一般の裏打ち構造にあると考え、その同定のために

ラットの肝細胞から、デスモソーム (desmosome) を精製しようと懸命になっていた。その甲斐があって、目的のタンパク質はデスモカルミンと名づけて発表することができた (J Cell Biol 1985)。それぞれの研究に勤しんでいたそんなある日、いつものように研究談義を始めた承一郎に、私は「デスモソームフラクションではこんなのが取れた」と実験の成果を話した。すると、「ちょっと見せて」と電子顕微鏡を覗き込むや承一郎は「これ、デスモソームもあるけど、タイトジャンクション (tight junction: TJ) も、アドヘレンスジャンクション (adherens junction: AJ) もある。面白いフラクションだ。このフラクションをもとに、デスモソーム以外の細胞間接着装置の研究が新しくできるかもしれない」と言い出したのだ。その瞬間、承一郎との新たな研究テーマが決まった。同じ研究テーマでのパートナーとなった端緒でもある。そして、その後の承一郎との様々な研究は、この瞬間から始まったともいえる。

研究の基礎となった 細胞間接着装置の単離方法開発

いつしか、ディスカッションはイーブンでありながら、実験、論文構成において、その時々で分担しあうという私たち独特の共同研究のスタイルが生まれた。初期のころは、全体を各々で仕上げるというこだわりを持ちつつ、情報や課題を持ち寄っては知恵を出しあう日々であった。のちのち、どちらかという了承一郎は論文構成寄りに、私は実験構成寄りに分担をシフトしたが、全く遠慮のない心からサイエンスも楽しめるこの協働は、独特の世界を築いた。

東京都臨床医学部総合研究所で初めて小さな月田研究室が誕生すると、共同研究に弾みがついた。そこでの初期の結実が、肝臓からの細胞間接着装置の単離方法開発であり、それをまとめた共著論文である。肝臓はとても柔らかい組織で、その中に毛細胆管が走っている。毛細胆管は隣あう肝細胞が細胞間接着装置で強く接着する部分に作るものだが、そこだけが比較的固くなっているのです、それを利用してうまく取り出し、ホモジナイズした細胞の断片を詳しく形態学的に吟味してい

くという独特の手法だ。この手法を用いることで、私たちは細胞間接着装置を機能的複合体として単離し、純度の高い細胞間接着装置画分を精製することができるようになった (図 1)。なぜこの開発に取り組んだかという、肝臓からうまく細胞間接着装置を取り出し、その単離画分を精製すれば、不明なことの多かった接着関連分子を同定できるのではないかと考えたからだ。

歴史上の大発見というようなものではない。しかし、この手法によって肝臓から取り出した構造精製物は、現在の研究にまで至る宝の山だった。構造を保ったまま精製された細胞間接着装置は、とても美しく、感動的な形態を示す。この技術が開発されたからこそ、その画分から、オクルーディン (Occludin)、クローディン (Claudin)、ZO1、ラディキシンなどの構成タンパク質が多く発掘され、その後の実験が進展したのである。ちなみに、別の手法で同定されたトリセルリン (Tricellulin) も含めて、当時は発見したタンパク質に名前をつけることは研究者にとって 1 つの夢であった。承一郎はプレゼンテーションや論文にこだわり、ご存じのように非常に素晴らしい論文を書いていたが、命名でも才覚を発揮していた。前述の ZO1 以外の 3 つは承一郎の、ラディキシンとそのファミリーネームとしての ERM family は私の発案であった。二人の間で、候補となるタンパク質の名前をほめたりけなしたり、それもまた楽しみであった。

後年、京都大学の月田研究室のホームページでも、承一郎は、細胞間接着装置精製のことに触れていた。著書『小さな小さなクローディン発見物語』でも、「この成功はあとあとのことを考えるとすべての我々の研究の基本となった決定的なものでした」と記している。研究費の申請にも「我々の研究のオリジナリティーは、すべて、肝臓からの細胞間接着装置の単離の開発にある」と記述していた。クローディン発見以降の著しい進展のある TJ 研究は、この単離法開発を基盤として、大成したものといえるからだ。

その後、岡崎国立共同研究機構生理学研究所、そして京都大学医学部医化学教室と研究の場が変わり、次第に研究室の規模も大きくなっていっ

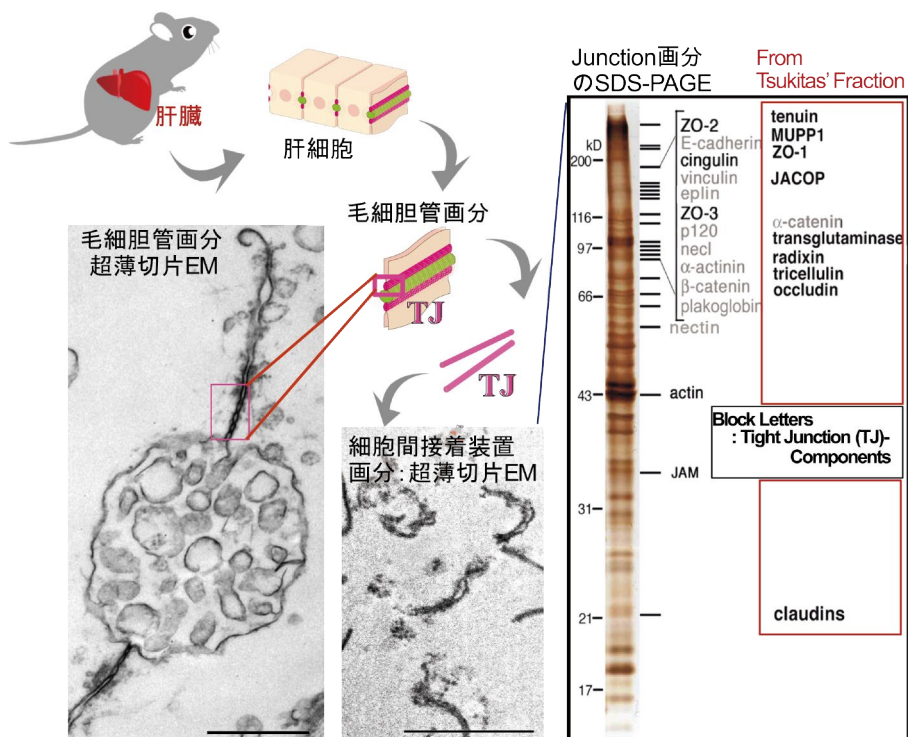


図 1 肝臓からの毛細胆管およびタイトジャンクション (tight junction : TJ) を多く含む細胞間接着装置 (junction) 画分の単離 (スケール棒 : 2 μ m)

た。院生や技官など、研究室に新たに加わったメンバーの多くにとって、月田研で最初にマスターするのがこの実験手技であった。承一郎から直接伝授された思い出を持つメンバーも少なくない。

承一郎の遺志と タイトジャンクション研究の継続

共に過ごした歳月の後半は個々の研究に取り組むことが多くなったが、お互いの研究についての情報共有とディスカッションは続いていた。クローディン発見に至るプロセスはもとより、クローディンファミリーの同定や細胞間バリア、チャネルとしての機能などに加えて、関連する細胞骨格や情報伝達、そして上皮細胞アピカル面の構築における ERM ファミリーの同定、一次繊毛の構築に重要な Odf2 の同定など、サイエンスを追求するテーマは多々あった。

京都大学に移ってからは、承一郎は研究室を取り巻く状況に感謝し、大きな責任も感じながら後進の指導にも力を注ぐ一方で、自身は TJ 研究に

打ち込んでいた。承一郎がいろいろなプレッシャーもあるなかで、元気で好きな研究を長く全うできるようにと、私は精一杯、裏方にも回り応援にも努めた。

京都大学時代の後半、50 歳に近づくあたりでは、「社会的活動でこれまでの恩返しをしたいし、そのことで相当忙しくなるだろう」と、研究に費やす時間が減っていくことを予想してもいた。そのせいか「お互い大学院生だった原点に戻って、だんだんに、TJ を中心に一緒に研究を進めてくれないか」としばしば口にするようになった。そして定年後には、大学院のころのように、また二人でささやかに TJ 研究やその先の広がりの研究を続けようと、次のステージの夢をしばしば語っていた。私もそんな将来の夢を楽しみにしていたが、思いがけずに病魔に襲われた。発症した膀胱がんは、難治性である。身がすくむほどの恐怖感であった。生きた心地がせず、叶うならば私が身代わりになりたいと、どれほど痛切に思ったことか。何となく私が先に逝くと思いこんでおり、承

一郎を先に旅立たせることになるとは、痛恨の極みであった。せめて承一郎の余生はできる限りやすらかにと願い、そのために全力を尽くした。そして、万が一回復することを願い、そんな奇跡をどこかで信じた日々でもあった。

旅立つ直前まで承一郎の気持ちはとても揺れていた。そんな承一郎に対するまわりの状況と対応はいろいろである。去る、戸惑う、果敢に訪ねる。想定外のことが多々あった。遺した著書『小さな小さなクローディン発見物語』は比較的元気のあったころに執筆しており、その後、まわりの状況の刻々の変化から承一郎の心は非常に揺れ動いたが、原稿を修正する力は残っていなかった。承一郎は本当の最期に「TJ 研究や細胞間接着、アピカル研究を続行し、どんどん新しく展開してほしい」「後進にも伝えてほしい」と、TJ クローディンのノックアウトマウスを、私とその共同研究者に託した。それは、関係者に託した最期の手紙の何通かに記されている。そして私には、「どうなるか予測不能であるが、自身がやりたい研究を続けられるように」と、「天国からメールもする」と、「立派に生きて、まず、生きてください」と精一杯励ましてくれた。その気持ちの強さが、共同研究者方との今日までの長きにわたる共同研究につながっている。元気な時分はもとより、闘病中でさえも絶えることなく研究の話をしていた承一郎の表情の輝きは、今でも私の研究に対する駆動力の一つになっている。私にとって、その後に抱えるようになった喪失の苦しさは筆舌に尽くしがたいものであった。今なお消えることのないそうした苦痛のなかにあっても、信頼する周囲のご理解やご支援のおかげで、これまで研究とサイエンスを楽しめ、続行できていることに、心より感謝している。

承一郎が旅立ってすぐ、2007 年より、私は大阪大学大学院生命機能研究科・医学系研究科に転じた。新たに設けた月田研究室では、「TJ の構造と機能」や「TJ アピカル複合体」の研究に取り組んでいる。クローディン (Cldn) が 27 種類のサブタイプを持つことや、その重合で TJ が構成されることに加え、クローディンの遺伝子改変マウス解析の研究も進めた。私共の TJ 関連分子の遺伝子改

変マウス解析は、アトピー性皮膚炎 (Cldn1KD)、肝代謝異常 (Cldn3KO)、全身性炎症傾向 (Occludin)、慢性胃炎・胃腫瘍形成 (Cldn18)、潰瘍性大腸炎 (Cldn7)、致死的栄養失調 (Cldn2, 15) などにより、上皮バリアの変調が種々の重篤な病態を引き起こすことを示した。逆に、生体システムにおけるクローディン、あるいは、TJ の重要性が明らかとなった。最近では、更に TJ によって構築される上皮表層が上皮バリアに重要との考えから新しい展開を目指している (図 2)。

上皮細胞シートにおける個々の細胞は、タイトジャンクション (TJ) によって強く接着し、敷石状の規則正しい細胞輪郭を有している。これをアピカル側から見ると、上皮細胞アピカル面と TJ は、ひとつながりに一体化しているように見える。そこで、上皮細胞アピカルに存在する細胞骨格とタイトジャンクションを TJ アピカル複合体というシステムとして定義し、上皮バリアシステムとしての TJ アピカル複合体という研究分野の開拓にも乗り出した。そのような複合体が組織機能の構築にいかに重要かを究める一方で、私共の上皮バリア研究は、これまで私共で進めてきたアピカルに存在する中心体/繊毛研究ともリンクし、多繊毛上皮機能構築をも含め発展途上にある。その際も、超解像顕微鏡や超高圧電子顕微鏡トモグラフィなどを用い、見ることへのこだわりから、新しいライブイメージングのシステム構築も行った。これらは新しい発展型であるが、亡き承一郎と取り組んできた細胞間接着や細胞骨格研究とも密接なかかわりがある。何よりも、細胞間接着装置を単離する際に重要な毛細胆管画分は、TJ アピカル複合体を主要要素としているからだ。

2014-19 年にかけて、藤吉好則教授らの研究グループとの共同研究で、皮膚や血液脳関門を形成するなどの生体内でのバリア機能を担うタンパク質として知られているクローディン-15、-19、-3 の立体構造を原子レベルで明らかにしたことを発表した。クローディンの構造を明らかにすることは、承一郎の大きな夢でもあったため、最初にクローディン-15 の構造を知ったときの感動は忘れられない。特筆すべきは、クローディン分子の構造から、“クローディンがいかに重合して TJ がで

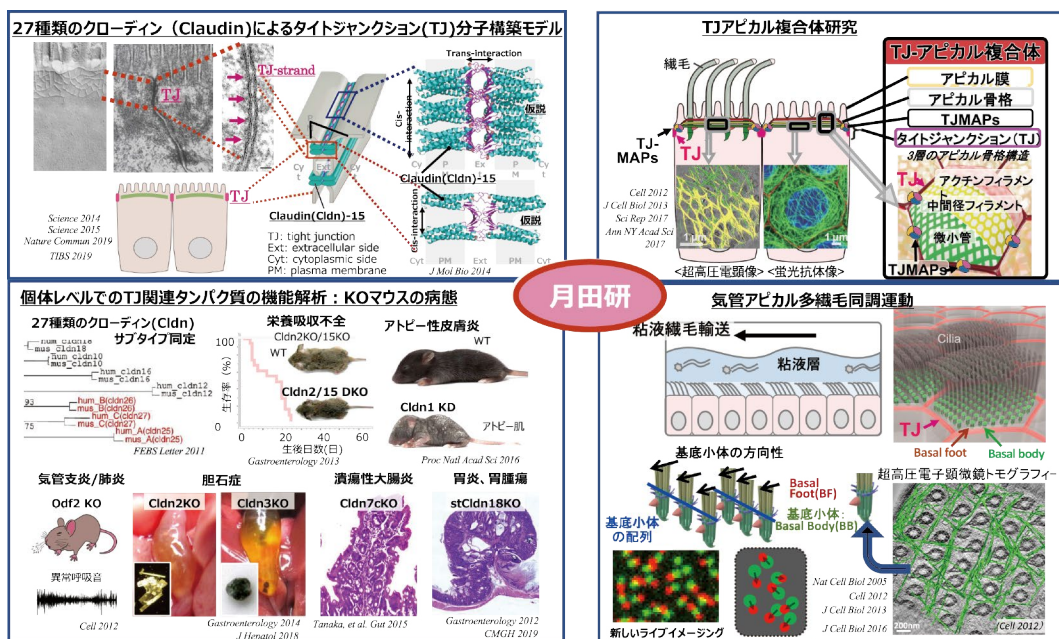


図 2 最近の研究成果

最近の月田研究室の主な4つのテーマの概説。いずれもタイトジャンクションの多い毛細胆管画分の単離から派生する。承一郎との研究は今も躍動しつつ広がる。

きあがるか”, “いかにして, 細胞間バリアやそのバリア内に生体の必要度に応じて細胞間チャンネルが, 構築されるか”について, 分子モデルを提案できていることだ。もちろん, モデルの常として, はっきりした証明が必須だ。現在, その証明にも真摯に情熱を傾けて取り組んでいる。

おわりに

私は2019年4月より, 定年に伴い, 帝京大学戦略的イノベーション研究センター教授・大阪大学大学院生命機能研究科特任教授の所属となった。新しい状況で, このうえなく貴重な共同研究者方と継続しているところである。クローディン研究, TJ研究, TJアピカル複合体研究を含めて, いずれも私が現在取り組んでいる研究の根底において, 承一郎と共に開発した細胞間接着装置の単離方法は実験に不可欠だ。単なる単離ではなく, その画分は多くのことを示唆しているからである。承一郎が遺したのはそれだけではない。クローディンの発見はもとより, その後のTJ研究やその関連で大きく躍進があった。いずれも承一郎が成し遂げた, あるいは夢見た研究から導き出

された結実といえる。承一郎とその多くの共同研究者(承一郎亡き後もパートナーシップが続いた共同研究者も少なくないうえに, 新たに加わっていただけただけの共同研究者を含む)の協力と理解のもとで, 幾つも積み重ねられてきた研究の結実と言い換えてもいいだろう。

科学の進歩は, 日々の実験や様々な研究の積み重ねが, 1つの結実となり, 次の出発点となって続いていくのではないだろうか。そのなかで数々の醍醐味があり, 時として大きな感動を引き起こす。常に変化を伴い, 時にスランプにも見舞われながら, 時に躍進もあり, 手探りで開拓しながら進めていく。そういう意味で, 大学院から始まった二人の共同研究は, 今なお続いているような気がする(図2)。

謝辞 本稿では, 月田承一郎・早智子の共同研究に焦点を当てて記したが, 研究には多くのメンバーの協力・支援が不可欠だ。実際に, 月田研関係者, 家族, 他研究室の共同研究者や理解者などを含めると, 200人を優に超える皆様方に心から感謝の気持ちを捧げたい。