



“おしっこ”と戦った研究者の物語



国立大学法人 弘前大学

このたび弘前大学では、「社会への新たな情報発信」として、ある一人の先生が研究を成し遂げるまでの物語を作成しました。

高校生の皆さんの「研究とは何？」という疑問に対する答えのヒントになればと思います。

『弘前大学が世界をリードするエンド型グリコシダーゼの物語』

目次

1. 研究のきっかけ—大発見はこうして始まった

- 1) ガリバーに立ち向かう小人達を探そう……………1
- 2) “おしっこ” は体の中からのお手紙です……………2

2. “おしっこ” との戦い

- 1) これから“おしっこ”を研究しましょう……………3
- 2) “おしっこ”を集めるって言ったって、大変なんですよ……………4
- 3) 200 リッターの尿を濃縮するって、とてつもないことなんですよ……………5
- 4) 尿の処理が始まりました。まず透析です……………6
- 5) 大量の尿はどう濃縮されましたか？……………7

3. 尿のグリコサミノグリカンからの大発見

- 1) 尿のグリコサミノグリカンに初めてお目にかかって……………8

4. 尿のグリコサミノグリカンの純化を目指して

- 1) グリコサミノグリカンについて、もう少し詳しくお話ししましょう……………9
- 2) 純粋なコンドロイチン硫酸を求めての長い一人旅の始まり……………11
- 3) 混じりのない純粋なコンドロイチン硫酸を得ることはとても大変です……………13
- 4) 糖鎖の切り口を調べるといろいろなことがわかります……………14
- 5) 初めてのことは誰にも理解されないことが多いです……………15
- 6) 研究結果は誰にでも再現できねばなりません……………17

5. まったく新しい酵素の大発見

- 1) 前人未踏のエンド型酵素の分離に挑もうと決心しました……………19

6. エンド型酵素が遺伝子工学の欠点を補うことになるまで

- 1) 現在のはなやかな遺伝子工学にも欠点があります……………20
- 2) 糖鎖を合成することは難しいが、それをタンパク質に付けることは更に難しいことです……………21
- 3) 研究に突きあたったら、他の人が考えないことを考えることです……………22
- 4) 「柳の下にいつも“どじょう”はいない」だから新しいことを考えます……………23
- 5) エンド型グリコシダーゼは世界的に認められました……………25
- 6) 若いときの思いを生涯持ち続けてこそ真の研究者です……………25
- 7) プロローグ：尿から世界的な大発見が生まれました……………26

弘前大学が世界をリードする エンド型グリコシダーゼの物語



津軽 太郎

ハイ、皆さん。私は、弘前大学医学部の教員・津軽太郎と言います。どうぞお見知りおきください。私はこれから、私の先生の岩木一郎先生が、世界的な大発見をした経緯と、その研究が更に大きな研究に発展したことを皆さんに話そうと思います。どうぞ聞いてください！ きっと、面白いと思いますよ！

1. 研究のきっかけ—大発見はこうして始まった

1) ガリバーに立ち向かう小人達を探そう

岩木一郎先生がまだ若い研究者だった頃のことを、こんなふうに私に語ってくれました。岩木先生の若いときのことで、これから岩木君と呼びます。

岩木君は、ある時ふとこんなことを考えました。

岩木君が大学院の学生になって間もなく、これからお話しする“プロテオグリカン”（当時は未だプロテオグリカンとは呼ばれておりませんでした。）に関する生まれながらの病気の子供の“おしっこ”を調べていました。

「ヒトの体を作っているタンパク質や核酸が、体の中でどう分解されるかはよく知られているけれども、それよりもっと複雑で巨大な物質である“プロテオグリカン”は、どのようにして分解されるのだろうか？」。

皆さん、ちょっと脱線しますが、“プロテオグリカン”というのは、一本のタンパク質に沢山の多糖が結合したものです。多糖とは、ブドウ糖のような、ある種の糖が沢山連なったものです。その多糖を“グリコサミノグリカン”といいます。後で詳しく話しますが、テレビや新聞のコマーシャルで化粧品や補助食品として出てくる“プロテオグリカン”、あれですよ。

岩木君は考えました。

「そうか。ヒョットすると、ガリバー旅行記のガリバーに立ち向かった沢山の小人達のように、ガリバーのような巨大な“プロテオグリカン”に、沢山の小人のような分解酵素が取りかかって分解してしまうのかな？ よーし、その小人（分解酵素）を探してみよう」。

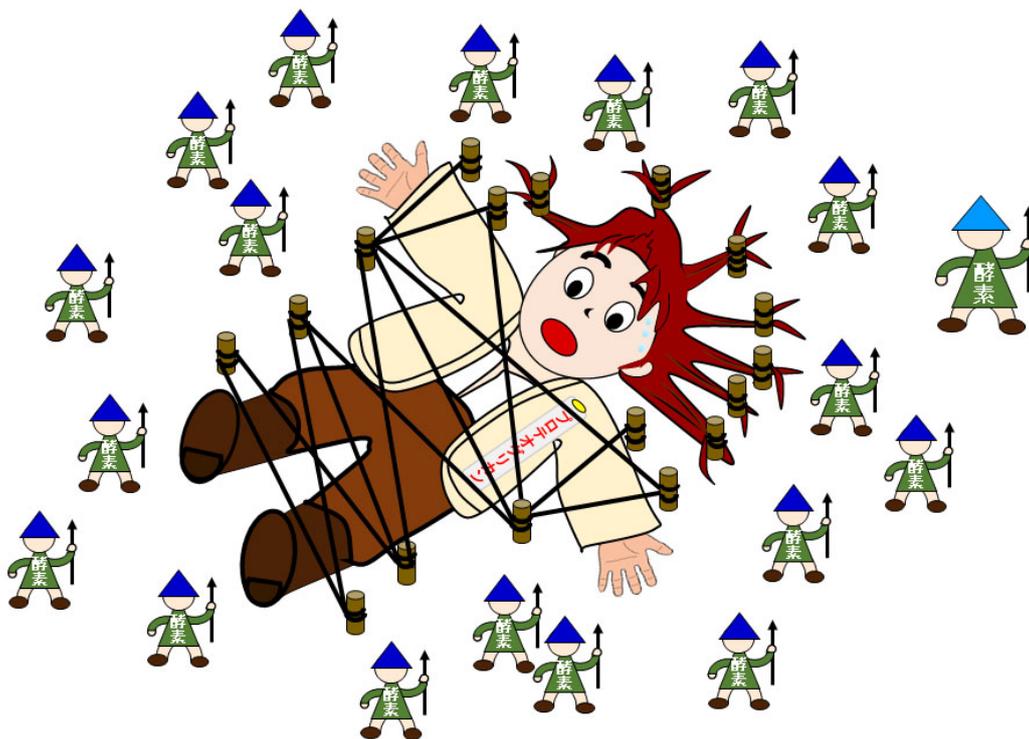


図1. ガリバー(プロテオグリカン)と小人(分解酵素)



津軽 太郎

日常的に何でもないことに疑問を持つということは大切なことですね。ニュートンもリンゴが木から落ちるのを見て、万有引力の発見に達しました。若い学徒・岩木君の研究もここから始まりました。

2) “おしっこ”は体の中からのお手紙です

このことを教授に質問してみました。糖質研究では有名な教授は言いました。「どうせ尿に出ってくるのだから、あまり問題ではない。そんなどうでも良いようなことなど考えないで、別なことをもっと勉強しなさい」。先輩の先生にも聞いてみました。「たい焼きを頭から食べても、しっぽから食べても結局は同じだよ」。誰も取り合ってはくれませんでした。

岩木君は考えました。

そう言えば、ある本に『ヒトの“おしっこ”は、体の中からのお手紙だ』と書いていました。確かに、体を作っている物質の分解産物が、“おしっこ”の中に現れてくるのだから、“おしっこ”は体の中のいろいろなことを教えてくれるお手紙ですね。

岩木君は考えました。



「よし。それなら “プロテオグリカン” が分解されて “おしっこ” に出てきた “グリコサミノグリカン” を徹底的に調べたら、“プロテオグリカン” が、体内でどのように分解されたか、知られるかもしれない」。

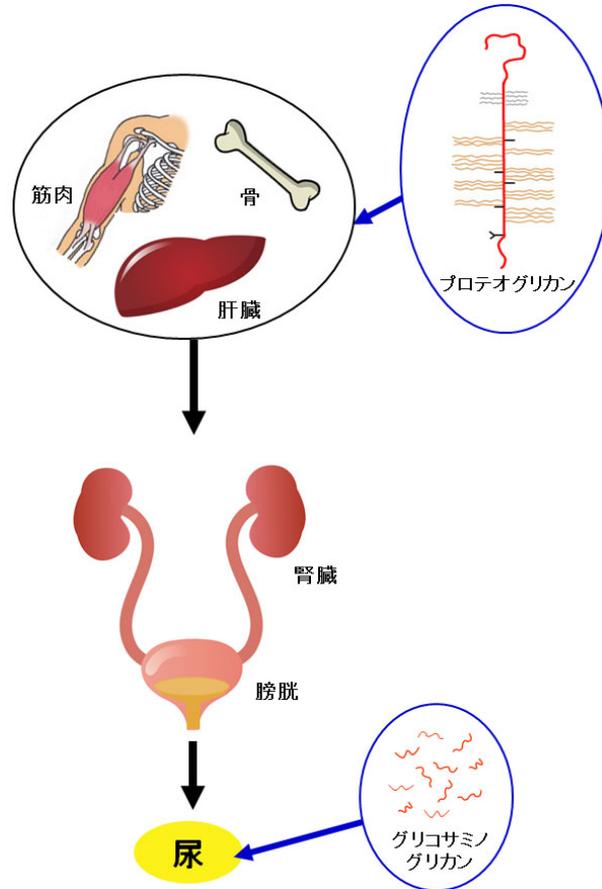


図2. プロテオグリカンが小さくなって尿に出でる様子



津軽 太郎

研究のきっかけは、ちょっとしたところから始まって、大発見につながるものですね。

2. “おしっこ”との戦い

1) これから“おしっこ”を研究しましょう

岩木君は考えました。

岩木君は助手になりましたので、自分のところにいる4人の大学院生と一緒にやろう。岩

木君は燃えるような口調で、このアイデアを説明しました。大学院生は、皆もろ手を挙げて大賛成で、明日から自分のおしっこを集めることにしました。

全員が、研究室での毎日、トイレに行くときはプラスチックの白いビンを持って行って、そこに自分のおしっこを入れて研究室まで持ってきました。そして、今のおしっこは何 ml だったかを壁に貼られた紙に書き込んで、全員の分が一目でわかるようにしました。今とってきたおしっこは、とりあえず大きい冷蔵庫の中に蓄えました。

それぞれは、毎日、蓋付のプラスチックのビンを自宅に持って帰り、夜寝るまで、そして朝起きてからも自分のおしっこを集めて、朝研究室に持ってきて、おしっこの量を記録して、また冷蔵庫に蓄えました。

目標は全員で 200 リッター。200 リッターといえば、どこにでもある石油缶は 18 リットルですから、石油缶 11 ~ 12 個分、実はドラム缶 1 本分です。1 日 1 人のおしっこの量を 1.5 リッターとみて、5 人で約 1 ヶ月もあれば 200 リッターは貯まると簡単に予想していました。

ところが、それがなかなか貯まらないのですね。



図3. 尿を入れるために使った
白いプラスチックのビン



津軽 太郎

おしっこの研究は、昔も今も誰もやりたがりませんね。汚いという感じが先にたって、そして、昔も今もおしっこの研究は、皆が軽く見ていました。簡単なようで、簡単でないのが、おしっこを集めることなんです。

2) “おしっこ”を集めるって言ったって、大変なんですよ

A 君は、新婚ホヤホヤです。A 君は、新婚の奥さんの作った愛妻弁当と、朝まで貯めたおしっこの入っている白いプラスチックのビンとを一緒に持ってアパートを出ます。これを新婚の奥さんがひどく嫌って、新婚早々、夫婦喧嘩にもなったそうです。

B 君は、新車を買いました。朝まで貯めたおしっこの入った白いビンとを、新車の助手席のフロアにおいて、毎日研究室に通っていました。とある日、交差点で急ブレーキをかけたら、フロアにおいたビンが倒れてしまって、おしっこが新車のフロアのシートに全部こぼれてしまいました。

C 君は、独身です。朝研究室に来る前に、朝早くから開いているスーパーに立ち寄って、お昼の弁当を買います。とある日、スーパーでパンを買って研究室に向かって歩いている時、

おしっこの入った白いビンをスーパーに忘れてきたことを思い出しました。あわててスーパーに戻って、店内をくまなく探し、店員にも聞いてみましたが、ついに見つかりませんでした。C君は、誰か他のお客さんが、後生大事に持って帰ったのではないかと、しばらく悩んでいました。

D君、彼は真面目ですが、ちょっとおおらかな性格の人です。今朝もおしっこを持ってきませんでした。彼は言いました。「夕べ友達とビールを飲みました。今朝のおしっこは泡立っていたので、ビールを飲んだせいだと思って捨ててきました」と。誰のおしっこでも、ビールを飲まなくても泡が立ちますよね。

こうして、「おしっこ 200 リッター1ヶ月」の目標が果たせず、2ヶ月もかかってしまいました。200 リッター貯まった夜には、皆でビールを心ゆくまで飲みました。



津軽 太郎

たかが“おしっこ”、されど“おしっこ”。

研究者は、研究をするにあたって、いろんな苦勞をしているんですよ。

3) 200リッターの尿を濃縮するって、とてつもないことなんです

岩木君は考えました。

この研究が始まる少し前に、アメリカのシカゴの大学の教授より、10 リッターの尿の“グリコサミノグリカン”を分析したという論文が発表され、同じ様に尿を研究している世界の研究者を驚かせました。皆さん、世界の研究者が、何に驚いたかわかりますか？

ご承知のように、尿の中には体の成分のいろいろな分解産物が沢山含まれています。この分解産物の中からある特定の物質を取り出すために、余分な物質、特に、尿素、尿酸などを取り除くこと、また、尿、つまり、水を濃縮することなどがが必要です。

皆さん、実はこの話、今から50年も前、昭和40年頃の話なのです。今のように高度な分析の器械器具がなく、手作りのガラス器具で実験をしている時代だったのです。ですから、アメリカのシカゴの大学の教授が10リッターの尿を研究の対象にしたということは、当時としては、とてつもない大変な実験をしたことを意味していたのです。

岩木君は考えました。

「アメリカのシカゴの教授が10リッターなら、それより多い200リッターで徹底的にやろう。まして、人のやらないことを、誰よりも早くやろう」と。



この研究が同じような研究をしている研究者達に知られないようにと、絶対の秘密のうちに進められました。

尿 200 リッターを扱うということは、それはそれは大変な研究であることを承知の上で、そしてこれから先、どれだけ時間がかかるかも予想の立たない研究が始まりました。岩木君と4人の大学院生は、このとてつもない研究を自分の本来の研究の合間を縫って、しこしこ続けました。大発見に至る茨の道の研究は、こうして始まりました。



津軽 太郎

研究は、人の真似をしてはいけません。“誰もやらないことを、誰よりも早く”、これが本当の研究です。研究は、アイデアが勝負なんです。

4) 尿の処理が始まりました。まず透析です

岩木君は考えました。

実は、冷蔵庫に尿を貯めながら、この尿の研究をどう進めるかについて考えていました。まずなんといっても“透析”からです。透析というのは、尿の中に含まれる身体の分解産物である尿素や尿酸のような、小さい分子の物質を除くために、尿をセロファンチューブに入れて、水道水が静かに流れている大きいバケツの中に浸しておくことです。

こうしますと、尿の中の小さい分子の物質は、セロファンチューブの膜にある、目には見えない小さな穴を通過して、水道水の流れているバケツの側に浸み出していきます。一方、これから調べようとしているグリコサミノグリカンやタンパク質の分解産物などの大きい分子のものは、セロファンチューブの中に残ります。

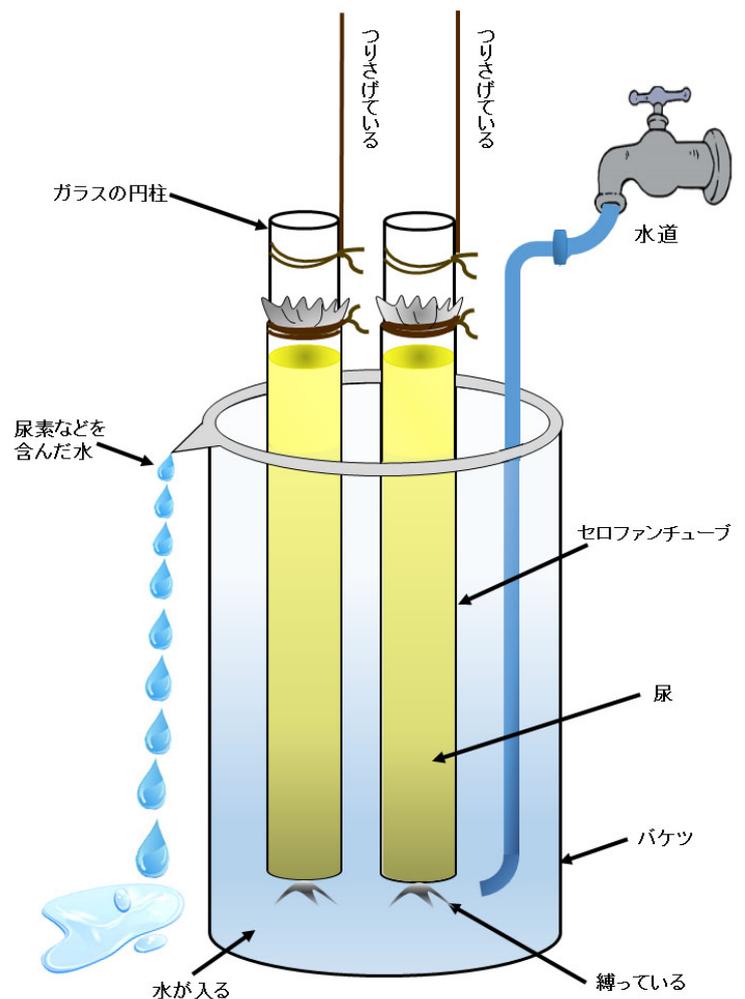


図4. 尿の透析の様子

「なんだ。簡単なことだ」と思ったのではありませんか？ 実は、これはなかなか大変なんです。尿の入ったセロファンチューブを、水道水の流れているバケツに入れておきますと、尿のほうの濃度が高いので（これは浸透圧が高いということです）、水道水がセロファンチューブの中に入ってきます。ですからセロファンチューブの尿の量は増えてくることになります。100 ml の尿を透析すると、一晩で 140 ml ぐらいに膨れ上がります。これを二晩続けると更に増えて、200 リッターの尿は、300 リッターぐらいになった計算になります。

そして、この透析は、せいぜい 2 日間で 2 リッターの処理が限界で、全体 200 リッターでは、200 日かかることになります。しかし、休日、学会出張などあって、1 年近くかかることになりました。

そして、尿の成分は、バクテリアが生えやすく、分解も進みますので、防腐剤を入れたり、低温にするなどの気配りも必要です。実は、セロファンチューブは破れやすいものなので、大事に扱わないといけません。このような一見単純そうな操作を、5 人で手分けして毎日黙々と続けました。



津軽 太郎

実験を進めるには、いろいろと気配りが必要です。これが実験の成功・不成功の鍵を握っています。そして、同じことを何度も繰り返す忍耐も必要です。

5) 大量の尿はどう濃縮されましたか？

岩木君は考えました。

200 リッターが 300 リッターにも増えた尿をどう濃縮するかです。透析した尿は、水と同じです。水の濃縮は現在でも大変なことですが、50 年も前には現在のように水を濃縮する器械装置はなく、それは大変でした。手作りのガラス製の装置を 3 セット作って、1 日に 3 リッター弱。毎日毎日セットを手作りのところから始めるという作業から始まりました。

5 人ともに、自分の本来の研究が優先されている一方で、この尿の透析と濃縮が平行して行われていたので、ここまで約 2 年かかってしまいました。それに、透析と濃縮だけですから、論文になるようなデータが出るわけではありません。もし、実験をする研究者が 1 年間もデータが出ないとすると、大変な問題です。それを気にせず、黙々と尿を処理してきました。



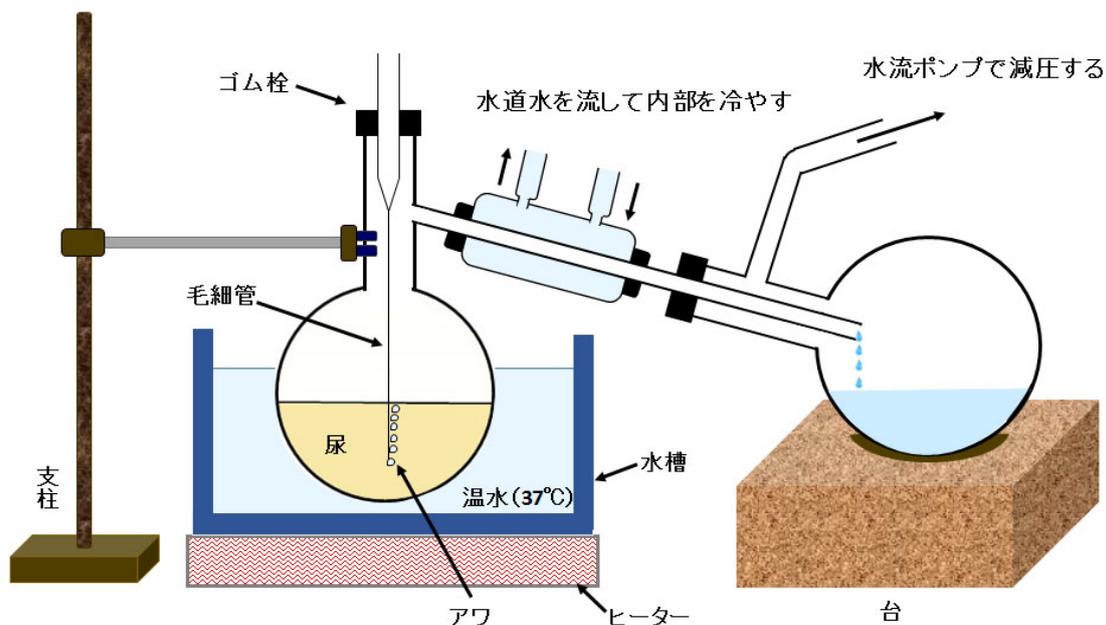


図5. 昭和40年代初めの頃の濃縮装置の略図



津軽 太郎

研究には、信念に基づいて、一旦決めたことに向かって忍耐強く頑張らなければならないこともあります。

3. 尿のグリコサミノグリカンからの大発見

1) 尿のグリコサミノグリカンに初めてお目にかかって

岩木君は考えました。

200 リッターの尿が、約 2 リッターに濃縮されるまで、約 2 年もかかってしまいました。その尿は濃い茶色のどろどろしたもので、まだ尿の匂いがプンプンしています。これを遠心機にかけて、水に溶けない物質を除いた後、クロロホルムという有機溶媒を 2 リッター入れてかき回してそっとしておくと、二つの層に分かれて、下に沈んだクロロホルムの層は真茶色になり、いろいろな色素成分が含まれております。これを取り除き、更にこの操作を何度か繰り返しました。クロロホルムの層の上のおしっこの層は、まだ茶色で尿の匂いがします。今度は蒸留水を使った透析を繰り返しました。透析した後は、尿の量はまた増えますが、透明な茶色な液体でした。これをまた濃縮して 1 リッターにしました。

4 人の大学院生がそろって固唾を呑んで見ていました。その目の前で、大きいビーカーの中のこの 1 リッターに濃縮された尿に 4 倍、即ち、食塩を含んだ 4 リッターのエタノールが

加えられようとしています。

エタノールが加えられて、ガラス棒でかき混ぜられました。一同から歓声が上がりました。自分たちの尿が2年以上もかかって、透析と濃縮を黙々と繰り返してきて、今ここに、グリコサミノグリカンを含む尿の多糖の混合物が薄茶色の沈殿物として顔を現しました。世界の誰もが今までやったことのない 200 リッターという、とてつもない尿のグリコサミノグリカンを含む多糖です。一同大感激です。

ここで、尿にエタノールを混ぜれば、グリコサミノグリカンが簡単に得られたように見えますが、実はここに来るまで、別の尿で何度も何度も予備実験が繰り返されて、尿からグリコサミノグリカンを含む多糖を分離する最も良い条件について、検討されてきていたのです。

この後、何人かの大学院生が自分の所属する研究室に、充実感と満足感を持って帰って行きました。



津軽 太郎

研究には、予備実験が重要で、本番の実験を進めるにあたっての様々な問題を、前もって解決しておくことが必要です。研究の喜びは、誰も知らないことを知りたいと思う期待と、誰も知らないことを知ったという喜びにあります。そして、研究に必要なことは、強い信念と強い忍耐です。

4. 尿のグリコサミノグリカンの純化を目指して

1) グリコサミノグリカンについてもう少し詳しくお話ししましょう

今、岩木君が狙っているものは、体中の成分として、もっとも高分子で複雑な構造である“プロテオグリカン”の一種、“アグリカン”という物質です。

実は、“ムカデ”のようなモデルで示されているのが“アグリカン”で、“プロテオグリカン”とは、アグリカンを含むいろいろな種類の単なる総称で、テレビや新聞では、混同して使っています。

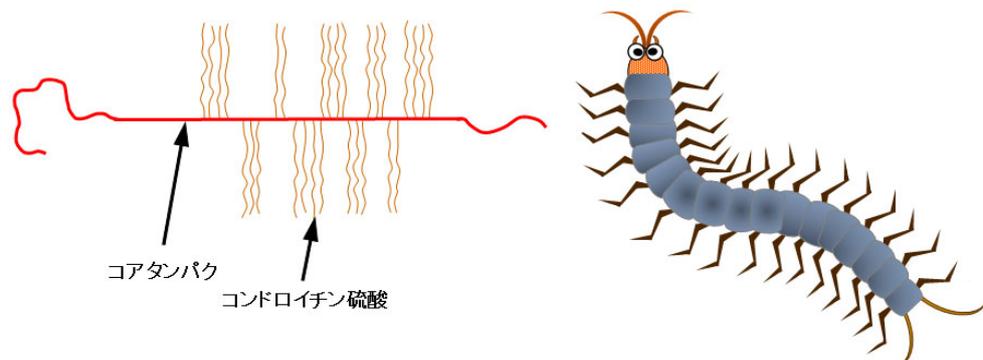


図6. プロテオグリカンの一種：アグリカンのモデルとムカデ

プロテオグリカンの“プロテオ”とは、タンパク質のことで、“グリカン”とは、多糖のことで、特にこの多糖を“グリコサミノグリカン”といいます。このアグリカンのグリコサミノグリカンは、特に“コンドロイチン硫酸”といわれ、グルクロン酸という酸性の糖と、アセチルガラクトサミンという糖の2種類の糖をひとつの単位として、これが一直線上に鎖の様に連なっています。そこで“糖鎖”といいます。この糖鎖がタンパク質に何本も結合していて、ムカデのような形をした物質が、今お話した代表的な“アグリカン”です。

このアグリカンは、化粧品で言われているような皮膚を潤すといった生理作用ではなく、体の中では、もっと重要な働きをしています。例えば、体の中で細胞と細胞をつないで、組織を作っているといったような極めて重要な役割を持っています。アグリカンと共に細胞と細胞を繋いでいる物質には、他にもヒアルロン酸とコラーゲンという物質もありますが、ここで、このことについては省略します。

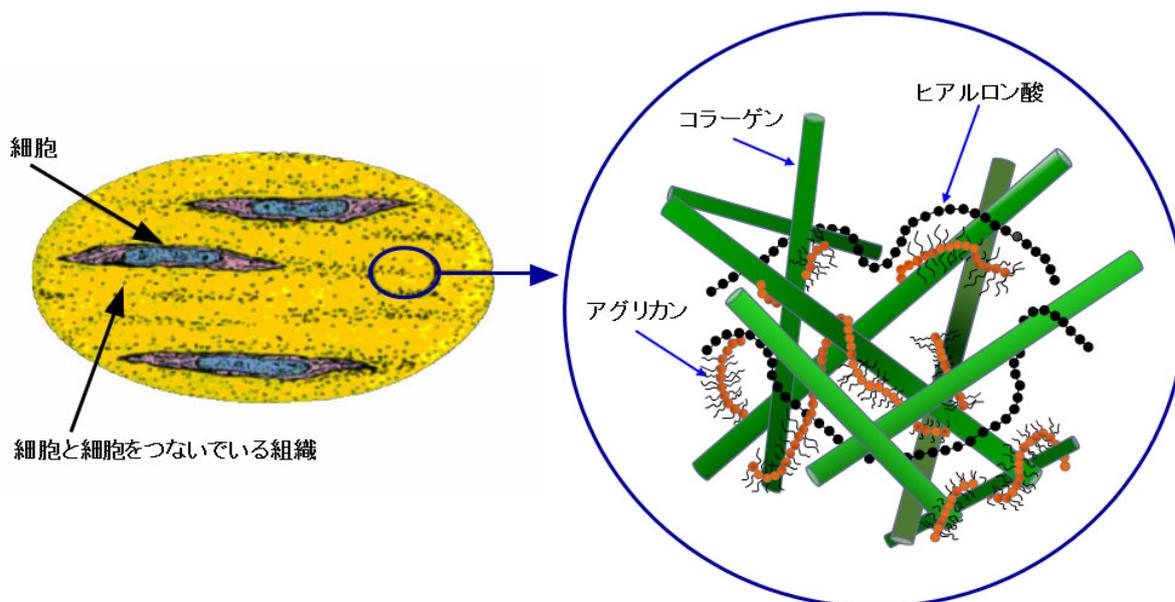


図7. 細胞と細胞をつないでいるアグリカン、ヒアルロン酸とコラーゲン

このアグリカンは、体の中でタンパク質と同様に、ばらばらに分解されて尿の中に現れます。この分解のされ方を調べたいと思って、200 リッターもの尿を集めて研究が始まったことは、前にお話した通りです。

このアグリカンを含むプロテオグリカンが、何かの理由で傷害されると、さまざまな重大な病気になります。では、健康な人でプロテオグリカンの分解はどのようなのでしょうか？

何事も健康ではどのようなのか？ということが原点です。ですから健康人の200リッターの尿で、健康な人の体の中では何が起きているかを見ようとしていたのが、この研究なのです。

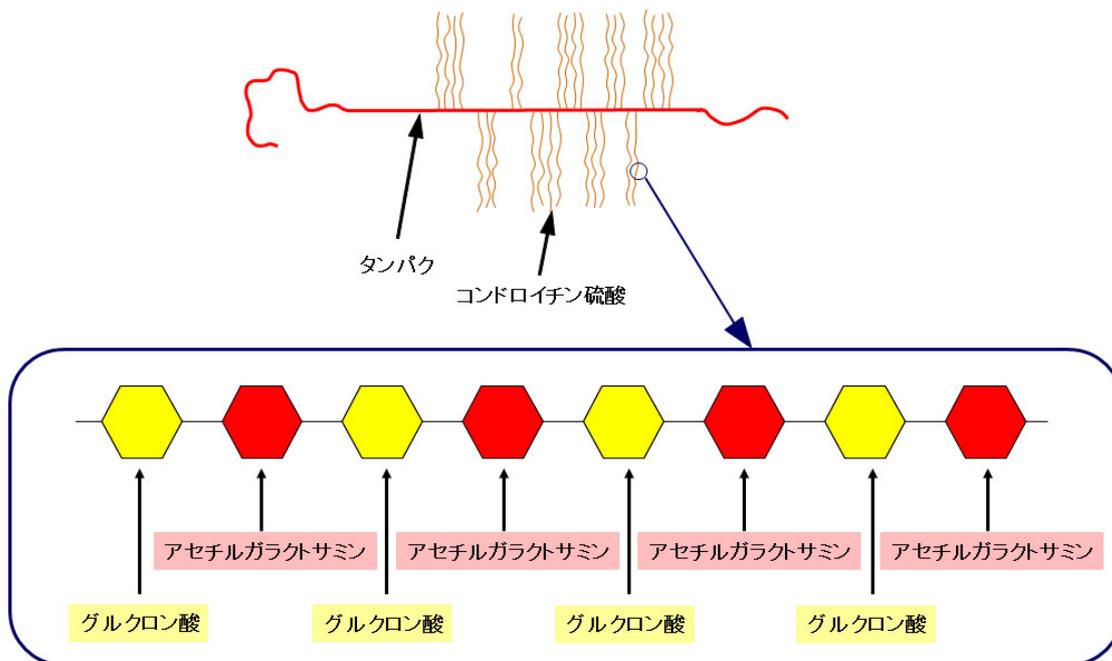


図8. アグリカン構造



津軽 太郎

研究はすべからく、正常状態はどうかから始まります。特に医学の研究は、健康な人を基準に、病的状態を考えることが基本です。

2) 純粋なコンドロイチン硫酸を求めての長い一人旅の始まり

岩木君は考えました。

理解と協力を惜しまなかった大学院生はもうおりません。たった一人での分離と分析の長い道のりを覚悟しました。

コンドロイチン硫酸は、後でまたお話ししますが、酸性の物質です。先の混合物を水に溶かして、酸性の物質だけを沈殿させる試薬を入れて、コンドロイチン硫酸を含む酸性物質を沈殿させました。まだまだ不純物を含んでいますが、酸性物質を 3.3 g 得ました。ようやくここまでたどり着きました。

グリコサミノグリカンは種類によって、エタノールに対する溶解性が少し違うので、これを利用しました。粗製のグリコサミノグリカンを水に溶かしてから、食塩を含んでいるエタノールを少しずつ加えてゆき、エタノールの濃度が 10% になったところで生じた沈殿物を遠心することによって集め、更に 20% にして生じた沈殿物を集めました。このようにして、更に 30%、40%、50%、60%、70%、最後に 80% にして、エタノールの濃度にしたがって 8 つに分けました。

コンドロイチン硫酸は、先に酸性の物質であるといいましたが、実は、硫酸基という酸性を帯びた小さな分子が、色々の度合いで結合しているからです。ですから今度は、塩基性（簡単のためにアルカリ性と云う言葉と同じだとしておきましょう。）を帯びた樹脂に結合させ、酸性度の違いによって分離する方法で、8つをそれぞれ10に分けましたので、したがって合計80に細かく分れたこととなります。細かく分けられたもの一つ一つを“画分”と呼ぶことにしましょう。

1画分ごとに、透析、濃縮、凍結乾燥し（凍結されたまま乾燥して粉にする方法です。）、これを簡単な分析によりチェックなどを行って、1年以上かかりました。この80画分のうち収量が20 mg以上のものは18画分ありました。

このグリコサミノグリカンは、それぞれの大きさの異なる分子が混じっています。そこで、方法は省略しますが、分子の大きさによって、それぞれ更に4、5に細かく分けました。その結果、また、90に分けられました。その中から、収量が多く、電気泳動法という方法で調べて単一であると思われる27の画分が選ばれました。また、半年が過ぎました。

もうこの実験は、岩木君がひとりで行っていました。もちろんこの尿に関する論文は1篇も発表されておりません。普通の研究者ならば、論文がないのでポストを追われるか、いや、その前に自分からこの実験を放り出してしまっていたでしょう。

この時点で、他の大学などの研究者が、岩木君が尿について大掛かりな実験をしていることにまだ気付いていませんでした。むしろ岩木君は、硫酸基の結合した糖タンパク質を発見して、その物質の体内での分布や、作られる仕組みなどの研究で学会からかなり注目されておりました。

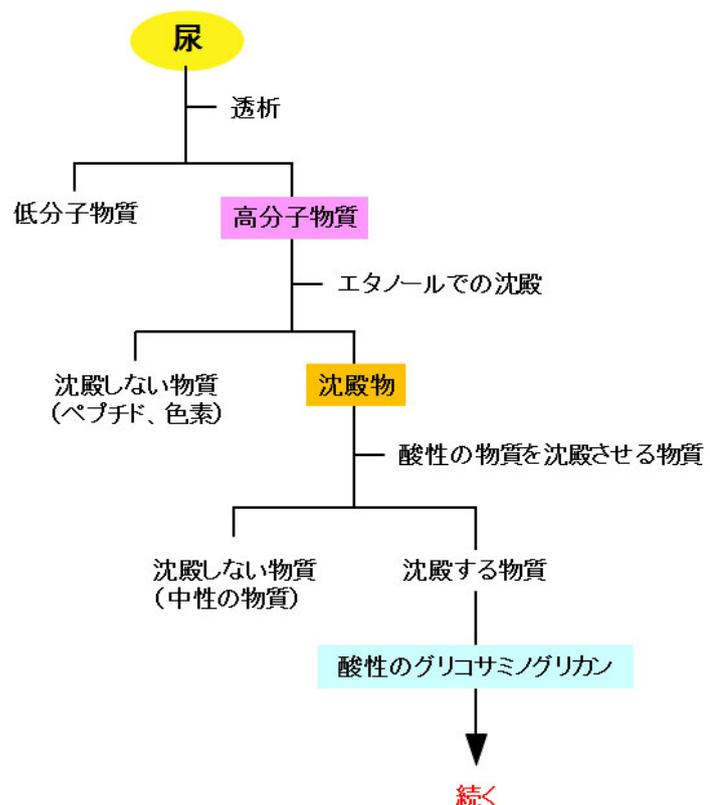


図9. 尿中の粗製のグリコサミノグリカンから酸性のグリコサミノグリカンを分離した流れ



津軽 太郎

ある物質を精製するためには、原理の異なる方法をいくつか繰り返すということが大切です。ここでは、アルコールに対する溶解性、物質の酸性度、分子の大きさの違いなどです。

3) 混じりのない純粋なコンドロイチン硫酸を得ることはとても大変です

岩木君は考えました。

今までに得られた27の画分について、世界の誰もが今まで行ったことのない分析をどう進めるか？現在のように、便利で精密な分析器械のない時代のことです。試薬を用いた反応による化学分析以外に方法はありません。

得られた画分を何種類もの厳密な化学的に分析することです。その一定量を試験管に入れて化学反応をすることですが、これには一つの反応に、時には2日以上もかかることがあります。そして、標準品の溶液で同じようにして反応させたものと比較することによって、それぞれの画分内の特定の糖の濃度が分かります。この比較されたときの数字を、今のように電卓のない時代には、自分で計算しなければなりませんでした。

27画分について、それぞれの画分のある種の糖の分析のために、一定量を一定の水に溶かして、同じ濃度で同時に3本測定し、その平均値を取るのが普通のやり方です。再現性を確認するために、同じ画分について少なくとも3回は繰り返します。そしてまた、別の種類の糖の分析のために別の分析法で分析します。合計6種類の糖の分析をしました。毎日毎日分析です。ここでまた、半年以上過ぎました。

アグリカンの糖鎖は、コンドロイチン硫酸という糖鎖ですので、目指す尿の純粋な糖鎖は、コンドロイチン硫酸に特有なガラクトサミンのみを含む糖鎖を見つけ出すことです。27画分を分析して探したところ、たった4画分だけが、ガラクトサミンのみでした。

更に厳密な検討の結果、たった一つの画分のみが厳密に純粋なコンドロイチン硫酸であり、これを3mgを得ました。200リッターの尿からたった3mgのコンドロイチン硫酸を得るために約4年以上もかかりました。この3mgはこれからの分析に必要と予想される最低の量でした。もし、10リッターの尿から始まっていたのでは、この純粋なコンドロイチン硫酸は得られなかったでしょう。

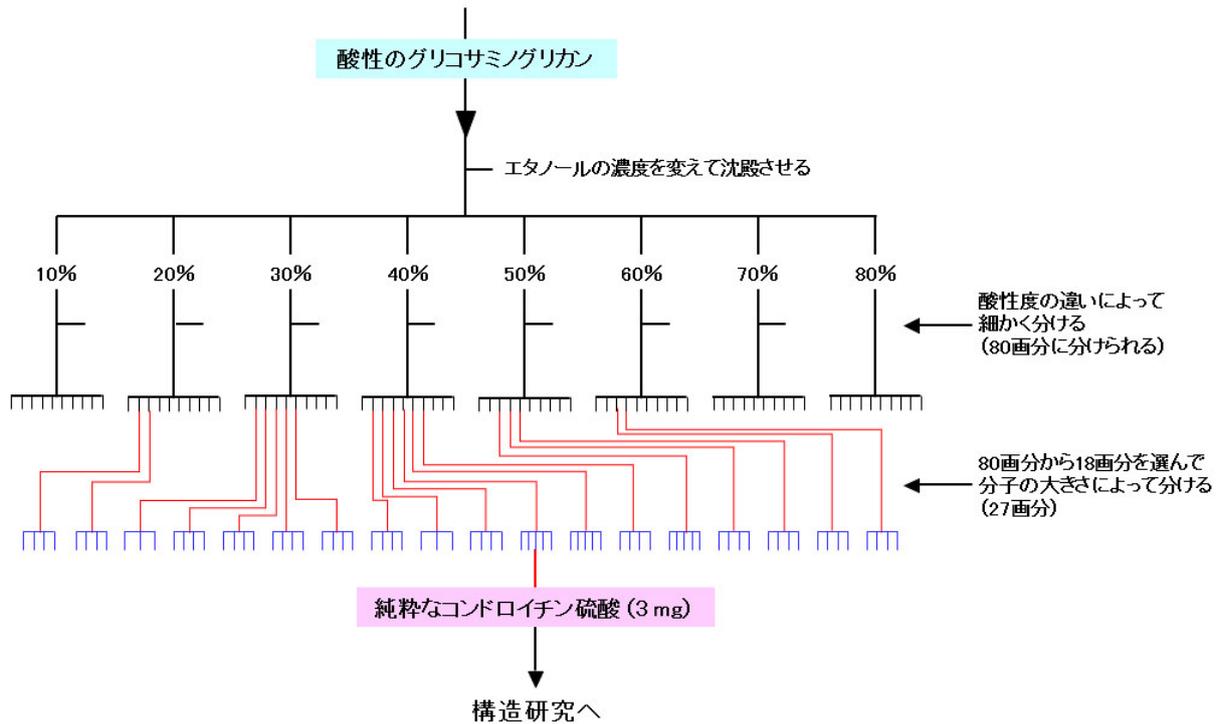


図10. 尿中の酸性のグリコサミノグリカンから純粋なコンドロイチン硫酸を精製した流れ



ミッチェルという研究者は、トラック一台の“ほうれん草”から、ビタミンの一種である葉酸数 mg を世界で初めて抽出しました。最初は大量の材料から出発しないと新しいものは見出せないものです。ちなみに、アメリカの漫画・ポパイがほうれん草を食べると、もりもり元気が付くのは、ほうれん草に葉酸が含まれることに由来しているそうです。

4) 糖鎖の切り口を調べるといろいろなことがわかります

岩木君は考えました。

先に、細胞と細胞とを繋いでいる物質が、ムカデのような形をしている“アグリカン”であると話ししました。このアグリカンの分解は、どのように起こるのかは未だ知られておりません。このことを知ることは、人間を含めた生物の生命現象の基本の一つを解明することになり、同時に人の病気の原因を明らかにすることにもなります。

そのムカデの足が壊れていくとき、足のつま先から足の付け根に向かって少しずつ順に壊れていく場合と、ムカデの足が途中からばらばらに壊れていく場合も考えられます。そのムカデの足こそが、“コンドロイチン硫酸”というグリコサミノグリカンです。

先に、プロテオグリカンに異常があると重大な病気になることもあるとお話ししました。生まれながらに異常をもった子供の場合、プロテオグリカンに結合しているグリコサミノグリカンが脳に蓄積して、発育障害や知的障害を起こして重症になります。この脳に蓄積しているグリコサミノグリカンの分解が不十分なように見えます。しかし、これをどのようにして調べたらよいのでしょうか。

グリコサミノグリカンを構成しているのは糖で、これが一本の鎖のようにつながっているので“糖鎖”といいます。ムカデの足ですね。この糖鎖であるムカデの足が、タンパク質であるムカデの胴体に付いているほうを“足の付け根”として、タンパク質に付いていないほうを“つま先”としましょう。

今まで多くの研究者が、尿のグリコサミノグリカンの大きさは、体の中の分子が中くらいに壊れた大きさだということには気が付いていました。この“つま先”のほうから糖を一個ずつ分解して、はずしていく酵素は知られています。けれども、この酵素によって、長い糖鎖を分解していたのでは、尿に中くらいの糖鎖が出てきたことの説明になりません。先にお話しした生まれつきプロテオグリカンに異常があつて、脳に蓄積したことも説明できません。

ですから、“足の付け根”から“つま先”までの間でばらばらに分解する酵素があると予想したのが、岩木君です。ですから、200リッターの尿から、体の中のアグリカンの糖鎖であるコンドロイチン硫酸の分解産物の切れ端を調べようとして、約4年以上もかけて不純物のない尿のコンドロイチン硫酸を精製してきました。



物質の分析では、そこに混じっていた超微量の不純物のために、間違っただけの結果が出たという例は沢山あります。そのために、有機化学でも、無機化学でも、生化学でも、研究対象の物質を精製純化することに、エネルギーと時間の多くを割いているということは、昔も今も変わりはありません。

5) 初めてのことは誰にも理解されないことが多いです

ばらばらに切れた足の付け根側の切に口を調べればよいと。しかし、今までにこの切れ端の足の付け根側の切り口を調べる決定的な方法はありませんでした。岩木君は、また大きな壁にぶつかりました。

岩木君は、図書館で古い文献を調べました。コピー機もない時代です。論文は、すべて手書きで書き写しました。一つのヒントを見つけました。これを確かなものにするために、尿のコンドロイチン硫酸に似た構造を持っている沢山の糖を集めて、尿のコンドロイチン硫酸と比べました。

そして、ようやく予想していた通り、尿のコンドロイチン硫酸は、ばらばらに切る酵素によって分解されていること、即ち、長い糖鎖の中間を分解する酵素である“エンド型のグリコシダーゼ”の存在を証明することができました。更に半年が過ぎました。

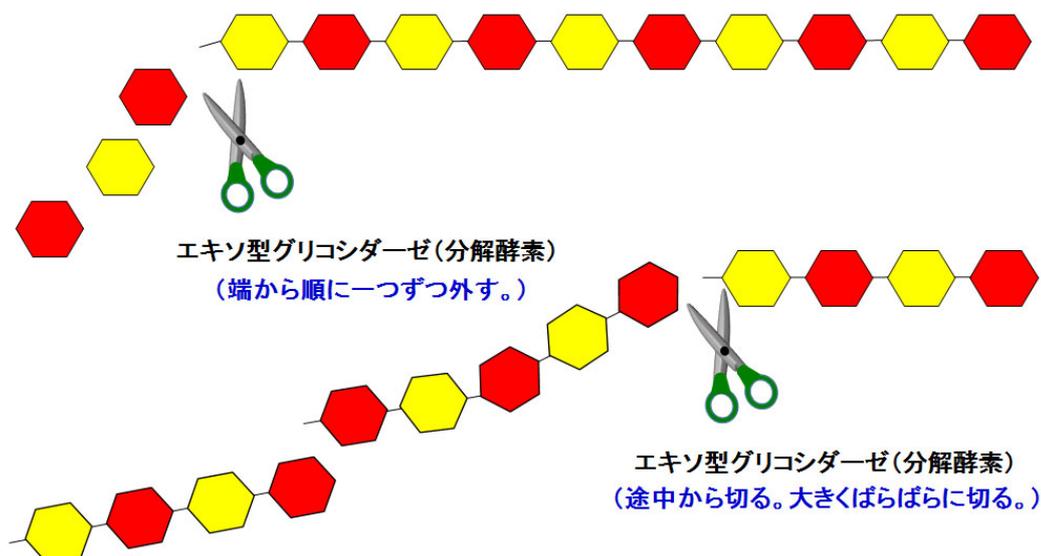


図11. コンドロイチン硫酸の分解のされ方の予想図

200 リッターの尿を集め始めてから、もう4年半も経っていました。ここで初めて専門の学会に報告しました。岩木君は、自信満々でしたが、むしろ岩木君は興奮すらしていました。

学会での発表が終わってみると、ほとんど反応がありませんでした。第一に、尿のコンドロイチン硫酸を専門としているライバルの研究者が誰一人として、“エンド型のグリコシダーゼ”による分解など思っても見ませんでしたから、岩木君の発表が理解できませんでした。岩木君の落胆ぶりは、ただ事ではありませんでした。

実は、岩木君の指導教授すら、いくら岩木君が説明しても、“エンド型のグリコシダーゼ”など信じてはいませんでした。尿で何かやっている程度にしか理解してはおりませんでした。論文を作り、いくつかの国際学会誌に投稿しましたが、すべての学会誌は、「そんなことがあるはずはない」と、論文は受け取られませんでした。

岩木君は考えました。

これを最後にしようと。この一連の200リッターの尿のグリコサミノグリカンの論文を、国内の英文の学会誌に投稿しました。ところが、驚くことに受理されて、ようやく論文として公表されました。論文が発表されてみると、更に驚いたことに、外国の研究者から論文の別刷りの請求が、実に約200通も来ました。

“別刷りの請求”というのは、当時インターネットのない時代、論文が発表されると、そ

の論文の概要を速報することを専門とする雑誌に掲載され、世界中の研究者がこれを見て、著者、即ち岩木君に、論文を別に印刷したもの（だから別刷りと言います。）か、または、コピーを請求してくることで。岩木君は驚き、多くの国外の研究者が岩木君の研究を認めてくれたものと喜びました。

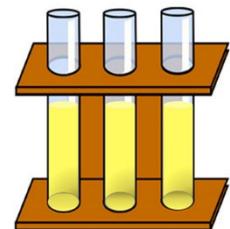


我が国には、自国の研究を素直に評価しないで、外国の研究をありがたがる傾向があります。岩木君は、以来この一連の研究を、すべて外国の学会誌に投稿することしました。

6) 研究結果は誰にでも再現できねばなりません

岩木君は、ちょうどこの時、弘前大学に助教授として栄転してきました。しかし、この新しい大学では、残念なことに研究環境が整わず、6年間この研究は中断しました。そして教授に昇任しました。

そこで岩木君は、研究を再開しました。前の結果が正しかったかの“再現実験”にかかりました。研究は、誰によっても再現されなければなりません。そうでなければ、“捏造”、即ちでっち上げたことになります。岩木君は、もう教授になったのですから、これからは岩木教授と呼びます。



岩木教授は考えました。

今度は、2名の若い助手と一緒に、また尿を集めることから始めようと。ところが、一度大々的に行った経験があること、実験器具や分析器械はかなり進歩していること、そして、何よりこの尿の研究が片手間ではなく、自分の研究の中心になったことで、研究はどんどん進みました。そして、新しい分析の器械を使うと、以前は1ヶ月近くもかかった実験は、数日くらいで終了し、更に前の研究を超えるすばらしい結果を得ることができました。

尿から得られたコンドロイチン硫酸の“足の付け根”側の糖に、キシロース、ガラクトース、そして、グルクロン酸という糖が付いていることを見つけました。

岩木教授は、飛び上がらんばかりに驚きました。これは体の中のプロテオグリカン、そのタンパク質にグリコサミノグリカンが付いているとき、グリコサミノグリカンとタンパク質の間に、グルクロン酸-ガラクトース-ガラクトース-キシロースという順に、糖が連なっていて、“橋渡し”をしていることが知られています。したがって、プロテオグリカンが“橋渡し”の部分で分解されていることが初めて分かりました。したがって、これらの部位を分解する

酵素の存在を示しています。しかもこれらの酵素は、エンド型の酵素、即ち、内部に作用すると言う意味ですが、そのエンド型の酵素の存在を初めて明らかにしたことになります。新発見であり、大発見です。

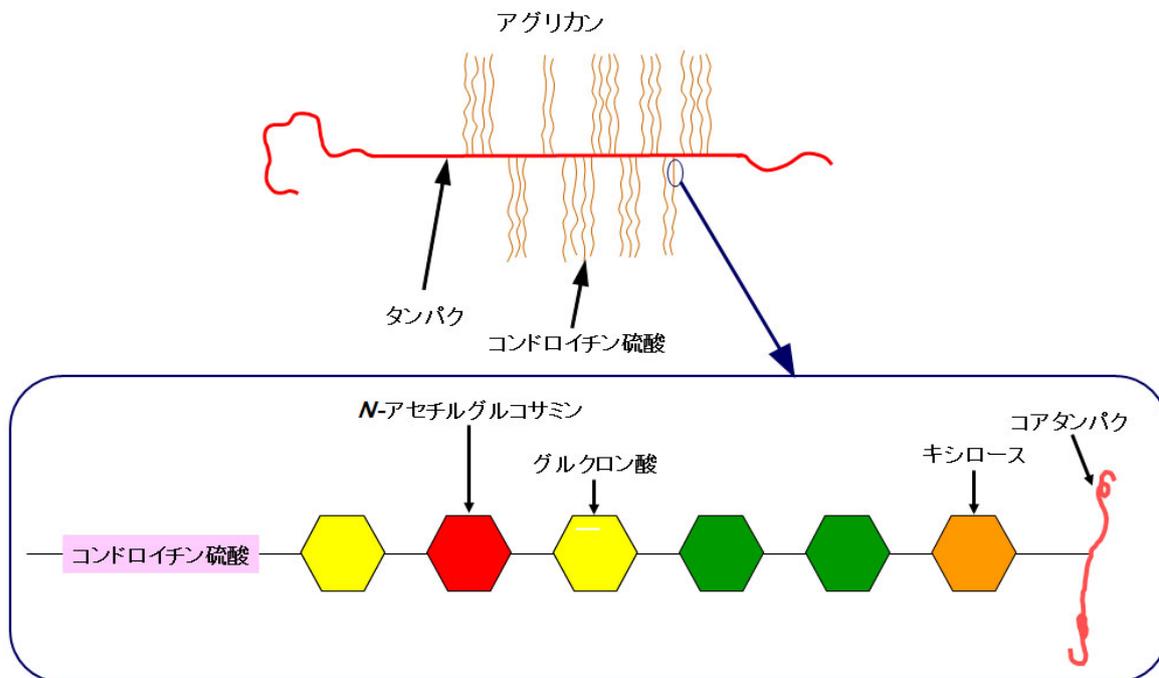


図12. アグリカンのタンパク質とコンドロイチン硫酸の橋渡しの構造

結果として、アグリカンのタンパク質とグリコサミノグリカンの“橋渡し”のところに作用する、エンド-グルクロニダーゼ、エンド-ガラクトシダーゼとエンド-キシロシダーゼの存在することが分かりました。今まで誰も気付いていなかった大発見です。岩木教授は、早速このことを論文にして、外国の一流の学会誌に投稿しました。驚くことにその論文は、何のクレームも付かずにそのまま受理されて、公表されました。

200リッターもの大量の尿から、たった3mgというごく少量のグリコサミノグリカン抽出して、その“足の付け根”側を丹念に分析し、新しい酵素の存在を証明したことで、今度は国内外の多くの人に関心を示してくれました。



津軽 太郎

研究は、パズルを解くように、一つ一つ解いていくものです。この一つ一つ解いていく過程の中に、突然まったく新しい解き方がひらめき、そして、新しい発見があります。それは、一つ一つ解いていく過程の中にしか生まれません。

5. まったく新しい酵素の大発見

1) 前人未踏のエンド型酵素の分離に挑もうと決心しました

岩木教授は考えました。

今度は、酵素を実際に分離して、その存在を証明しなければなりません。しかし、その長い糖鎖の途中のある特定の糖のところ分解を受けるということを調べる方法は、今まで誰も行ったことがありません。この前人未踏の酵素の分離に挑もうと決心しました。しかし、なかなかいい方法が見つかりません。いろいろ考えた結果、先に糖鎖の“足の付け根”を調べたときの方法は、手間が掛かるけれども、それを使うことにしました。

いろいろ紆余曲折がありました。プロテオグリカンはタンパク質に、グリコサミノグリカンが付いていますが、その根元のところに作用するエンド-グルクロニダーゼという酵素の分離に世界で初めて成功しました。この論文は、世界で最高峰といわれるアメリカの専門誌に投稿されました。この論文の審査員からのクレームはまったくなく、「一部英語だけ直すように」とのことで受理されました。

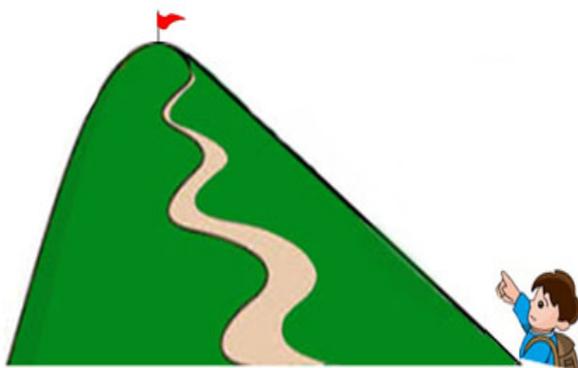


そして、次々とエンド-キシロシダーゼとエンド-ガラクトシダーゼが分離されて、いずれも先のアメリカの専門誌に投稿され、クレームなしで受理されました。

大学院生4名と一緒に200リッターの尿を集め始めたのが昭和43年（1968年）、エンド-グルクロニダーゼの世界で初めての分離の論文がアメリカの専門誌に発表されたのが昭和63年（1988年）ですから、尿を集め始めてから論文の発表まで、実に20年の歳月がかかりました。

その後、エンド-キシロシダーゼとエンド-ガラクトシダーゼの論文がアメリカの専門誌に発表されたのが平成2年（1990年）と平成4年（1994年）と、更に未だ続いておりました。

このグリコサミノグリカンを糖鎖の途中で切るエンド型の酵素の発見によって、体の中でのアグリカンの分解機構が一段と理解できるようになりました。長い、長い、道のりでした。



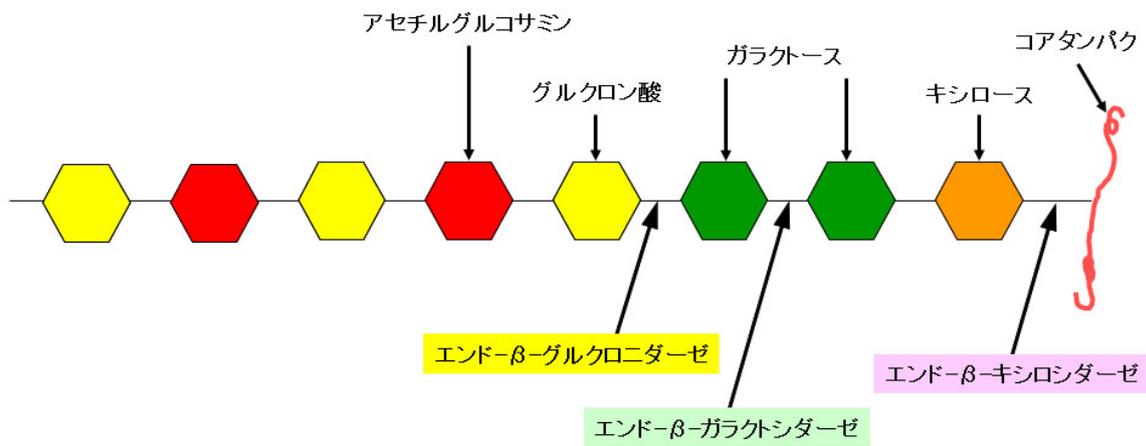


図13. アグリカンの橋渡しに作用する3種のエンド型の酵素の作用点



津軽 太郎

研究には長い年月がかかります。ですから、研究をして大きな成果を挙げるのには、根気と辛抱が求められます。

6. エンド型酵素が遺伝子工学の欠点を補うことになるまで

1) 現在のはなやかな遺伝子工学にも欠点があります

細胞の中で、遺伝子、即ち DNA ですが、その DNA の情報によって、タンパク質が合成されます。この遺伝子を人為的に操作してタンパク質を人工的に作る技術は確立されており、この技術を“遺伝子工学”といいます。そして、遺伝子工学で作られたタンパク質を“リコンビナントのタンパク質”といいます。この遺伝子工学によって、医薬品として沢山のリコンビナントのタンパク質が作られて、実際に患者さんの治療のために使用されております。

ところが、遺伝子工学には、ひとつの重大な欠点があります。それは、遺伝子工学的に作られたリコンビナントのタンパク質は、天然のタンパク質には本来結合している“糖鎖”が不完全であったり、結合していなかったりすることがあります。このためにリコンビナントのタンパク質の持っている活性が失われたり、又は、早く分解してしまう等の問題が起こります。

エンド型の分解酵素を探しているうちに、遺伝子工学は、長足の進歩を遂げている一方で、リコンビナントのタンパク質に糖鎖が結合していないという問題が浮上してまいりました。

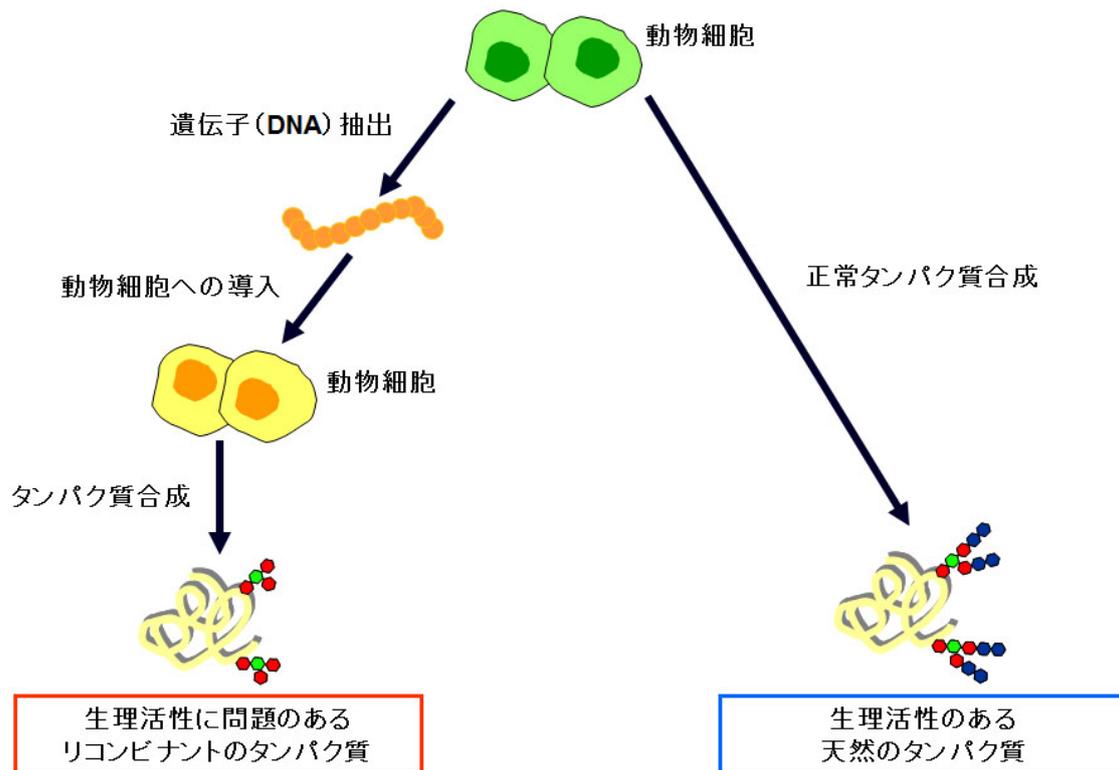


図14. 遺伝子工学で合成されたリコンビナントのタンパク質の糖は不完全



現在は、遺伝子工学全盛ですが、これからは糖鎖に関したこともバイオテクノロジーの重要な部分を占めるようになって予想されております。

2) 糖鎖を合成することは難しいが、それをタンパク質に付けることは更に難しいことです

岩木教授は考えました。

どうしてこうなるかといいますと、実は、遺伝子・DNAには、タンパク質を作る情報が含まれておりますが、このタンパク質に糖鎖を結合させるという情報が全く含まれてはおりません。そのためにリコンビナントのタンパク質には糖鎖が結合していないことになり、その結果として、医薬品として利用した場合に、薬としての効果が低かったり、副作用が現れたりします。

それでは、リコンビナントのタンパク質に糖鎖が結合していないならば、糖鎖を付ければ良いと簡単に考えますが、この付ける方法が今のところありません。化学反応は、反応の途中の激しい反応のために、タンパク質に分解が起こります。タンパク質に糖鎖を結合させる

酵素は今のところありません。

同時に、糖鎖を合成することも難しい。現在、理論的には、グルコースのような簡単な糖を、10個ぐらいまで結合させることは、多くの手間と、時間と、経費とが必要で、収量も多くを期待できませんし、当時も現在も、分子の大きいグリコサミノグリカンの化学的な合成は不可能です。



津軽 太郎

糖鎖を、遺伝子のように組み替えたりすることを、“糖鎖工学”といいます。これからの時代は、この糖鎖工学の時代が訪れます。

3) 研究に突きあたったら、他の人が考えないことを考えることです

岩木教授は考えました。

糖鎖である“AB”が“ $AB \rightarrow A+B$ ”となるという反応が、加水分解反応です。この反応が通常の反応ですが、時には、 $A+B \rightarrow AB$ と逆行する逆反応をすることがあります。「そうだ。この逆反応を使えば、長い糖鎖も作ることが出来るかも知れない」。そう思い立った岩木教授は、彼の配下の助手と大学院生と共に、世界で初めての“加水分解反応の逆反応で糖鎖を合成する”という反応に取り掛かりました。

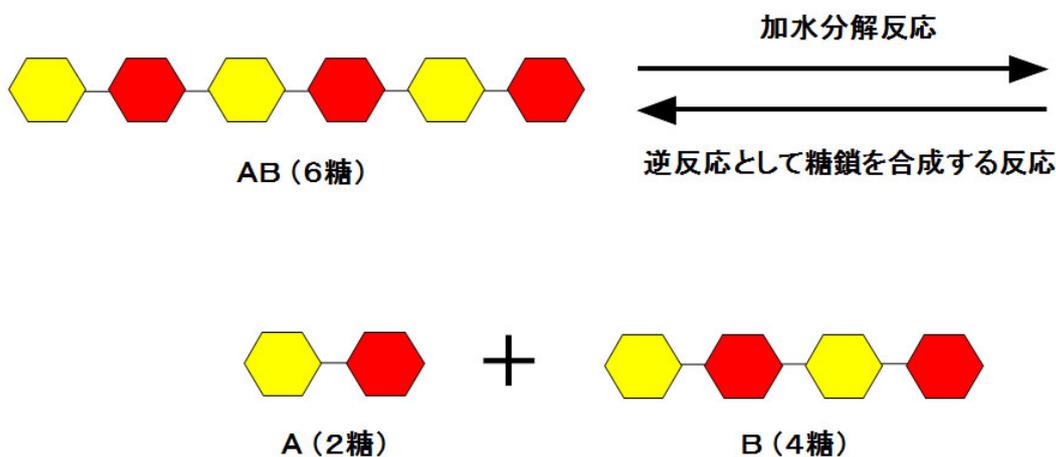


図15. 加水分解反応とその逆反応を用いた糖鎖を合成する反応

これには、ムカデに似た形のアグリカンの糖鎖であるコンドロイチン硫酸とヒアルロン酸とを、エンド型に分解する、即ち、糖鎖の内部を分解する“ヒアルロニダーゼ”という酵素の

存在に気が付きました（ヒアルロン酸は、前にちょっとお話ししましたが、やはり細胞と細胞を繋ぐ役割をしています。これは、化粧品としてテレビのコマーシャルなどに出てくるあれです）。

ヒアルロニダーゼで、コンドロイチン硫酸を分解すると、オリゴ糖、それはブドウ糖のような糖が2つ以上結合したままのブロック状のものが、遊離してきます。そのブロック状のものがヒアルロニダーゼの逆反応で次々と連なって、元のコンドロイチン硫酸のようになります。

岩木教授たちがやってみると、意外に簡単に成功しました。他人がやらないことをやりました。思惑はピッタリでした。学会に次々と報告され、論文もほとんど外国の超一流の学会誌に掲載されました。もうこの領域は岩木教授の独壇場です。

ある時、糖の化学合成に関する学会から、講演を頼まれました。岩木教授が講演の中で、エンド型の分解酵素の逆反応でいろいろな種類の糖鎖を合成したことを話したとき、会場からどよめきが起こりました。化学合成の専門家ですらできなかったことを成し遂げたのでしたから、驚きは大変なものだったと思います。



研究が何かに突き当たって困ったときには、研究方法の改善をすると新しい道が開けます。りんご箱に上がってみると、今まで見えていた周りの世界と違った新しい周りが見えてきます。りんご箱のような簡単な新しい方法も、ちょっとしたところにあります。

4) 「柳の下にいつも“どじょう”はいない」だから新しいことを考えます

岩木教授は考えました。

もう一つ重要な課題があります。それは、糖鎖の付いていないリコンビナントのタンパク質に糖鎖を付ける技術を開発することでした。そのことは、エンド-キシロシダーゼを分離したときから、既にアイデアとしてふつふつと沸いていました。

そうです。「アグリカンのタンパク質とその糖鎖であるコンドロイチン硫酸との橋渡しを切るエンド-キシロシダーゼを利用し、その逆反応を使えば、タンパク質にコンドロイチン硫酸を結合させることができる」。

岩木教授は、彼の選りすぐりの大学院生であるK君に、「エンド-キシロシダーゼの逆反応を使ってタンパク質にコンドロイチン硫酸を結合させること」という研究を指示しました。そして、「これは世紀の大実験である」とも付け加えました。

岩木教授には、これまでの経験から、いとも簡単に実験は成功するだろうと思っていましたが、K君からの毎日の報告は、失敗続きでした。岩木教授は、K君を期待していたので、普通なら「能あるタカは爪を隠す」というところを、「能あるタカは爪を出せ」と言って、K君を何度も催促しました。研究開始後もう一年が過ぎていました。そのころ、岩木教授は、「柳の下にはいつも“どじょう”はいない」と感じるようになりました。

発想の転換、K君と話し合っ、実験のやり方を変えてみました。数日後、K君が部屋へ飛び込んできました。実験の成功です。手を取り合っ、喜んだことは言うまでもないことです。

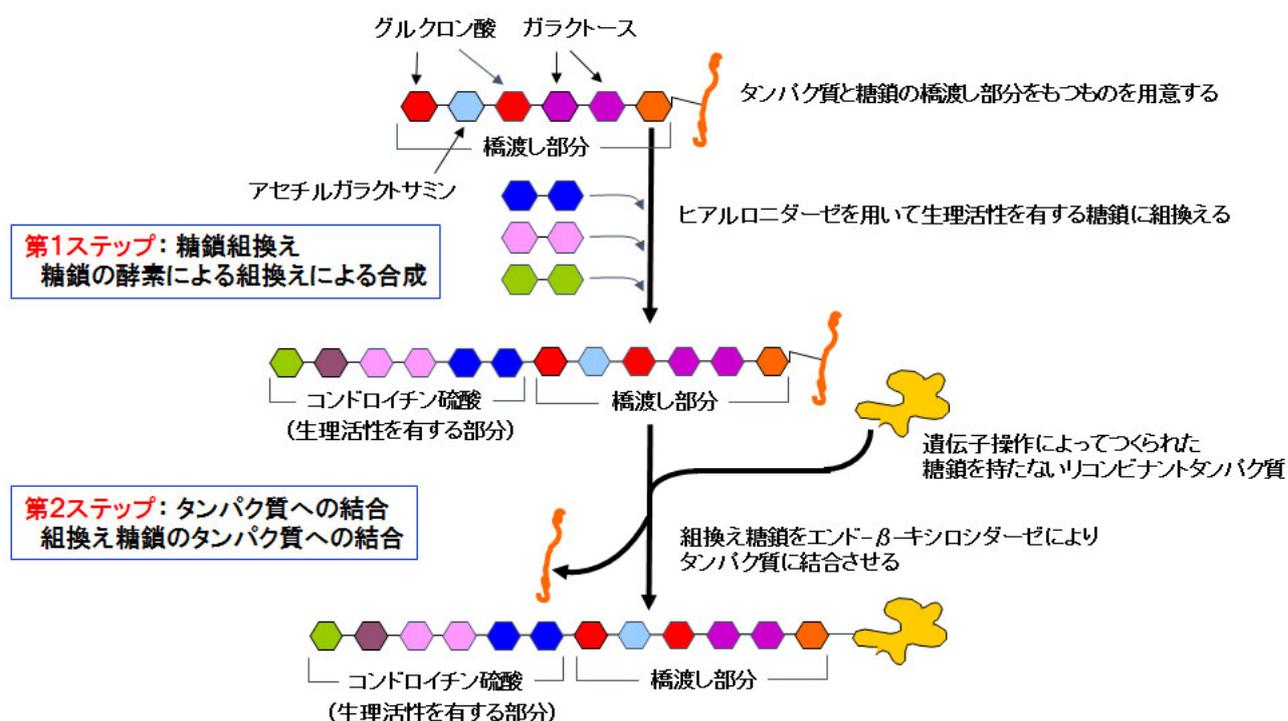


図16. コンドロイチン硫酸の合成とそれをタンパク質へ導入する方法

この研究内容をオランダで開催の国際会議で、K君が英語で発表しました。発表が終わり、討論が終わるや否や、K君が未だ壇上にいるときに、講演会場の最前列に座っていたある高名なアメリカ人S教授が、K君に駆け寄り、「あなたは、私の研究室に留学しないか」と猛烈に誘いをかけてきました。よほどK君の発表に驚き感動したのでしょうか。留学は、残念ながら断ってしまいました。K君の論文は、もちろん世界最高峰の学会誌に発表されました。

そして、岩木教授の研究成果が、我が国の学問の殿堂、“日本学士院”から発行されている、我が国の代表的な研究を世界に紹介する機関紙に掲載されました。



津軽 太郎

実はこの糖鎖工学の領域は、日本が世界をリードしています。特にプロテオグリカンの糖鎖工学は、日本の独壇場です。

5) エンド型グリコシダーゼは世界に認められました

話は少しさかのぼります。岩木教授のエンド型の分解酵素の研究論文が次々と発表されていたとき、この論文の影響もあってか、日本の他の糖質の分野で、次々とエンド型の分解酵素が発見されてきました。

これらのエンド型の分解酵素の発見者だけが集まって、岩木教授を班長にして、文部省の科学研究費を受けるための研究班を組織して、申請しようということになりました。地方の大学教授が班長ということは珍しく、しかも初めての申請ではだめであろうとの予想でしたが、驚くことにこの申請は直ちに認められて、研究班会議が組織されました。

以来、文部省から多額の研究費が配分され、毎年弘前で研究班員の研究成果を報告する“公開セミナー”が開催されました。

4年間続いた研究班会議の最終の年に、岩木教授を会頭にして、京都でエンド型の分解酵素に関する“国際会議”が開催されました。アメリカ、ドイツなどから多数の外国人研究者が参加しました。このエンド型の分解酵素の研究は、世界の中でも日本の研究が群を抜いてリードするほどまでに発展していました。

この研究成果を記録に残すために、岩木教授が筆頭監修者となって、エンド型グリコシダーゼについて、研究班のメンバーと国際会議の参加者を中心に、英文の著書が国際的出版社から出版されました。

そして、岩木教授は定年を迎えました。岩木教授の定年を記念して、全国の糖質関係の研究者が大勢弘前に集まってきて、「岩木教授退官記念シンポジウム」が盛大に開催されました。そして岩木教授は、研究生生活に別れを告げました。



津軽 太郎

研究者にとりまして、その研究において世界に先鞭を付けることと、その研究が世界に広まっていくこと、これは大きな喜びです。

6) 若いときの思いを生涯持ち続けてこそ真の研究者です

そして、私・津軽太郎は考えました。

岩木教授は学生時代に、ふと思いついたことを大事にして、それを自ら解決していったということは、すばらしい事の一つです。ノーベル賞級の研究者の中に、若いときの疑問が発端となって、大発見につながったという事例が沢山あります。

さらに、岩木教授は、一つのことにこつこつと長く研究を続けたことです。自分の研究を大事にして、更に研究を積み重ねていくという研究者としての姿勢は大事です。こうすると、次々に研究が発展し、次々と成果が上がります。

この話では触れませんでしたでしたが、実は岩木教授は、学生時代から生化学の研究室で“尿”を扱っていました。そして大学定年退職後もエンド型の酵素に関わる尿の研究に携わっていました。岩木教授は、学生時代から実に55年もの間、尿を研究対象にしてきました。もうギネスものですね。

その結果、この尿の研究の中で、尿にたくさんのヒアルロン酸が排泄される“ヒアルロン酸尿症”や、フコースという糖が尿にたくさん排泄される“フコース尿症”を世界で初めて発見しています。ヒアルロン酸尿症は、教科書や治療指針にも記載されております。



津軽 太郎

「継続は大事なり」ですね。

7) プロローグ：尿から世界的な大発見が生まれました

岩木教授は、大学教授を退官後、大学の管理職についていましたが、教授会の要望により、元の研究室の併任教授を、更に管理職退任後は、民間からの寄附で設置された寄附講座の特任教授として、若い研究者を育てながら研究を続けておりました。もちろん尿も研究の対象でした。

この寄附講座の退任も近くなったとき、15年前の文部省の科学研究費班会議のメンバーから連絡がありました。「その後、エンド型分解酵素は、関連酵素の開発、糖鎖構造研究への応用、糖鎖の酵素的合成へと目覚しく発展し、最近ではエンド型の分解酵素の生物学的機能の解明へと新しい展開を見せております。そこで、エンド型の分解酵素研究のその後の発展と今後の展望を、公開セミナーで討議したい」と、元の研究班メンバー全員からの申し出がありました。退任して15年もたってから、公開セミナーを開催するということは、あまり例がありません。こうして、昨年4月21日に弘前で公開セミナーが開催されました。

当日集まった元のメンバーは、当時の教授は、現在は名誉教授、当時の助教授は教授、そして助手ですら教授になって、それぞれの研究を目覚しく発展させておりました。また、当

時メンバーではなかったが、その後この研究領域に入って現在活躍中の研究者も多数参加しました。



図17. エンド型グリコシダーゼに関する公開セミナーの風景
(平成27年4月21日)

セミナーでの発表者の中の数名は、発表の中で、かつての班会議の中で、岩木教授から示唆を受け、影響を受けたことを述べておりました。岩木教授は、尿から始まって、自分が先鞭をつけた研究が大きく広がって、15年経った今でも忘れ去られずに発展を続けていることに、大変感動して、皆さんの発表を聞いておりました。自らもすっかり若返って、自分の研究を話していました。それは、今から48年前、200リッターの尿を集めようと言い出したときと少しも変わってはいなかったと思われます。



津軽 太郎

皆さん、岩木教授のお話はこれで終わりです。お話を聞いてどう思いましたか？ 研究者としての岩木教授は、本当に研究が好きだったのですね。研究が進まない、研究成果が出ない、研究の失敗が続く、論文が出ない、こうした時の、あせり、不安、苛立ち、怒り、こういったことが新しい事実の発見によって氷解し、突然喜びに変わる。この瞬間こそが研究者の喜びなのでしょう。皆さんの何人かは研究者の道をぜひ歩んでほしいと思います。

終わり