

'13

推薦

## 医学部医学科小論文問題1

### 注意事項

1. 試験開始の合図があるまで問題冊子を開いてはいけません。
2. この問題冊子のページ数は8ページです。問題冊子、答案用紙(2枚)及び下書き用紙(2枚)に落丁、乱丁、印刷不鮮明などがある場合には申し出てください。
3. 解答は指定の答案用紙に記入してください。
  - (1) 文字はわかりやすく、横書きで、はっきり記入してください。
  - (2) 解答の字数に制限がある場合には、それを守ってください。
  - (3) 訂正、挿入の語句は余白に記入してください。
  - (4) ローマ字、数字を使用するときは、まず目にとられなくてもかまいません。
4. 試験時間は90分です。
5. 答案用紙は持ち帰ってはいけません。
6. 問題冊子と下書き用紙は持ち帰ってください。

下記の文章はシマリスの冬眠を引き起こす原因となる物質を探するために実験を進めたある研究者の記録である。この箇所以前には著者が冬眠中のシマリスの心臓を取り出して解析した結果、夏の活動時期の心臓とは大きな違いがあることを見出したことが記されている。この文章を読んで設問 A-H に答えなさい。なお\*の付いた語には文末に注釈があります。

## 落胆と光明

心臓での電気生理の研究に並行して生化学的に蛋白質の探索を始めるため、これまで1人で進めてきた研究に力強い助っ人に加わってもらった。蛋白質解析が専門の研究者だった実弟、淳である。ある日の夕食を終えた自宅の1室で、以前まとめた心臓の変化をグラフにした図を見せたとき、弟の協力は即座に決まった。心臓の結果は、それほど強いインパクトを蛋白化学者にも与えたのである。

(1)夏の活動時期と冬の冬眠中の心臓を調べては、採取した血液から血漿\*を分離してマイナス 80℃で保存する。もちろん、1年を通して暖かく保った飼育室で、冬眠していないシマリスからも血漿を保存していった。

シマリスからの採血には辛抱がいる。

後肢の糸のように細い静脈に注射針を刺して行うのだが、冬眠しているときにはわずかな量を集めるにも1時間ほどかかる。冬眠していないときにはどうということはないのだが、冬眠中は心臓の拍動数が100分の1(1分間に数回)ほどにも低下し、しかもゆっくりと収縮しているので、ほとんど血液が流れていないからだ。恐らく日本でこんなことをしているのは自分1人しかいないだろうと思いながら、注射針を刺した血管から滲み出る血液を集めるのだ。5℃の低温室にこもって、じつと座って注射器を保持しているだけでも相当の忍耐を必要とする。

こうして採取し保存した血漿は、弟の手にわたる。いくつかの蛋白質解析法を試しながら、血漿に含まれる蛋白質を分子のサイズ別に細かくふるい分ける。より細かく分けることができればそれだけ、冬眠型と活動型の違いを見つけやすくなる。

ここでは、個体ごとの小さな違いはいくつも見つかってくる。健康なヒトの血漿でも必ず個人ごとに差があるように、冬眠していないシマリスでも必ず個体差がある。冬眠中のシマリスとの間で見出した違いに一貫性があるかどうかを見極めるためには、より多くの個体のデータを比較するしかない。それでも一貫した違いが見つけられないときには、さらに細かく解析できる別の方法を試すことになる。

ある日、待ちに待った明確な違いが見つかったとの連絡が入ってきた。

それまで、冬眠中の個体と冬眠していない個体の血漿を何度となく見ているうちに、冬眠中の血漿に一貫してうっすらとした色彩の違いがあるのを感じていた。異なる物質が含まれている何らかの兆候だと思うようになっていたので、ある程度期待はしていた。解析結果に慎重を期すため、私はあらためて冬眠中のシマリスから採血して血漿の色彩の違いを再確認し、弟に解析を頼んだ。やはり、いつもと同じ結果だった。ついに最初の候補が見つかってきそうだと思った。

違いが見つかった蛋白質の画分を分離して、そこに含まれる蛋白質が何であるかを調べる解析が始まった。

やがて出てきた結果は、ヘモグロビンだった。

ヘモグロビンは赤血球に含まれている、酸素を結合して運ぶ蛋白質である。冬眠動物であろうがあるまいが持っている。わずかな色彩の違いの原因は血液中の赤血球のいくらかが壊れたためだった。寒さに震えながら苦心の末に集めた血液では、注射器での長時間の採血の間にわずかに加わった刺激で赤血球が壊れてしまったのである。冬眠とはまったく関係ない、冬眠中の採血の困難さが招いた結果だった。

体温が0℃近くまで下がった体を調べる困難さを痛感しながら、このような一喜一憂が幾度か繰り返されては解析は振り出しに戻っていく。

こんなときには、心臓保存研究から冬眠を発想した際に味わった、暗闇の中で一点の光明を見出したときの感動を思い出すことにしていた。初めて冬眠したシマリスを目の当たりにしたときの鳥肌の立つような記憶も、いつも私を奮い立たせてくれるのだった。

### 冬眠中に減る蛋白質

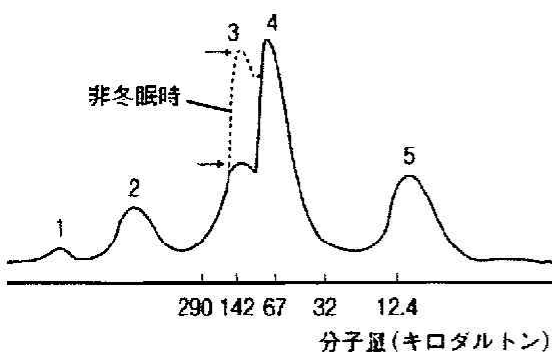
血漿に含まれる多種多様な蛋白質を分離するには、液体クロマトグラフィーという方法を用いる。ステンレス製の細長い円柱管でできた「カラム」に、蛋白質を含んだ液を一定の速度で流す。分子サイズによって流れる速さが異なることを利用して、混合していた蛋白質を分離することができるのである。

カラムの中には網目構造を持つゲル粒子が詰まっている。問題は、分離したい目的の蛋白質に最適な粒子をいかにして選ぶかにある。

弟の解析では、異なるゲル粒子を詰めた幾種類ものカラムを試していた。しかし、どのカラムでも血漿の分離がいまひとつ芳しくないと言っていた。既存のカラムには自分で納得できる分離能を持ったものが見つからなかったのである。

ある日、弟から新しく開発された有望なカラムを見つけたと知らせがあった。このカラムを使って血漿を分離した結果は、これまでになく良好なものだった。いくつかのピークとして分離されていた蛋白質の画分の1つが、2つのピークに別れたのである。その別れたピークこそが、後の新発見となる蛋白質を含んだものだった。

冬眠中の血漿をクロマトグラフィーで分離した記録が弟から送られてきた。そこには、劇的に変化したピークが現れていた。分離された二つのピークのうち、より大きな分子に当たる第3番目となるピークが、冬眠状態では非冬眠時の半分以下にまで低下していた。その形は、心筋細胞から記録した冬眠中の活動電位のプラトー相を連想させた(図1)。



(図1) 冬眠中のシマリスから採取した血漿蛋白質を高速液体クロマトグラフィーによって分離した記録。破線は非冬眠時に採血した血漿の記録で、冬眠中には第3番目のピークが大きく低下していることがわかる。下線の数値は、蛋白質の分子量の目安(標準試料の分子量)。

第3番目のピークに含まれる蛋白質(複合体)の正体を明らかにするために、冬眠していない個体から採った血漿と、冬眠中のものから採った血漿とから、このピークに当たる画分を集めて解析を始めた。

この画分を変性剤で処理し、電気泳動装置を使って個々の蛋白質に分離する。電気泳動装置には2枚の四角いガラス板に挟まれた1ミリほどの薄いゲル(アクリルアミド)が装着されていて、その中を電流に引きずられた蛋白質が、分子サイズの小さなものほど速く移動して分離される。1時間ほどで泳動を完了したゲルを、染色剤に浸して蛋白質を染めると、そこにはバーコードを縦にしたように、分子サイズの違いによって分離された蛋白質が帯状に現れてくる。

最初に違いが見つかったのは55 kDa(kDaは分子量の単位で、キロダルトンと読む)の分子量を持つ蛋白質で、冬眠中に採った血漿からはほとんど消えてしまっていた。この変化を目安にして調べていくと、他に3種の蛋白質(分子量20 kDa、25 kDa、27 kDa)も減少していることがわかってきた。そのほかのピークには、大きく変化する蛋白質を見出すことはできなかった。

(中略)

②このような結果を喜ぶかガッカリするかは、何を期待するかによる。

(中略)

私の場合はさほど落胆しなかった。というのも、差し当たっての目標が、シマリスに致命的な損傷を与えることなく、心臓の変化に代わって変化する物質を見つけることにあったからだ。

見つかった4種の蛋白質のどれかが、生きた心臓の代わりをしてくれることだけを願っていた。そうすれば、シマリスから心臓を取り出して死なせることなく、同一の個体でこれを目印にして次々と本命の物質に迫っていける。

(中略)

### 冬眠を予告する蛋白質

4種の蛋白質は何物なのか。それを知るには、その分子構造を決定しなければならない。もしかしたら、すでに発見されているかもしれないし、働きが明らかになっているかもしれない。そのためには、やっておかなければならない大変な作業が残っていた。それぞれの蛋白質の精製である。

蛋白質の構造を決定するには、結構な量が必要だ。血漿を液体クロマトグラフィーで分離した、第3のピークに含まれる蛋白質群から、精製技術を駆使して余分な蛋白質を除いていく。困難な作業が繰り返され、時間をかけて進められていった。弟から、進捗状況が逐一知らされていた。ある日、その蛋白質の運命を決定づける知らせが飛び込んできた。

なんと、精製が進むにつれて、4つの蛋白質は個別に存在するのではなく、1つの集合体として残ってきた。このことは、③これらの蛋白質が血液中で互いに結合して1つの複合体を形作っていることを意味している。

蛋白質を部品にたとえると、血液中の何百種類もの部品の中から選び出した4つの部品が、ピタリと合って1つの構造体を構成していたのである。この複合体は、何か重要な役割を担っているに違いない。

蛋白質と冬眠との関わりを知るために、活動時期から冬眠時期にかけてどのように変化するのかを調べることにした。心臓の実験とは違って、血漿を調べるたびにシマリスを失うことはない。冬眠のサイクルは長い時間だが、われわれの健康診断と同じようにわずかな血液を採るだけでよかった。

秋が近づくと蛋白質は減り始め、シマリスはオガクズの中で丸くうずくまっていることが多くなった。やがて蛋白質が急に減ったかと思うと、丸まったシマリスは身動きしなくなっていた。その体は、初めて冬眠を観察したときのように、氷のように冷たく、しかし触れた指には柔らかく生き生きとした生命感が伝わってきた。

冬眠が始まったのだ。低温室は常に 5°C を保っているので季節の変化を感じることはできないが、外ではそろそろ冬が訪れようとしていた。

冬眠が始まって、最初は数時間で覚醒する。徐々に冬眠状態が長くなり、やがて覚醒する頻度は極端に減って深い冬眠の時期に入る。一週間ほども低体温状態が続くようになり、冬の 4 カ月ほどの間、この深い冬眠が続く。この時期に、血漿中の 4 つの蛋白質の濃度は最低値を記録する。最低値に到達すると、今度は徐々に増え始め、冬眠が終わりに近づくころには急激な上昇が起こり、ある日突然、体温が下がらなくなった。

冬眠が終わり、活動期が始まったのである。低温室の外では春が訪れようとしていた。

(4) 血液中の蛋白質はまるで、冬眠がいつ始まりいつ終わるかを予告するかのように変化していた。

## 蛋白質の構造

低温室で採血をして、冬眠と 4 つの蛋白質の関係を調べていた間に、弟の方では精製したこの蛋白質の構造がわかり始めていた。

蛋白質は (5) がひものようにつながってできていて、(6) 配列から蛋白質の構造がわかる。決定できた一部の (5) 配列をもとに、蛋白質データベースを検索すると、これまでに見つかっていない新しい蛋白質らしい。四つの蛋白質の解析が順次進むにつれて、20 kDa と 25 kDa、27 kDa の分子量を持つ 3 つの蛋白質は、いずれもこれまでにない新しいもので、残った 55 kDa のものはすでに構造の似た蛋白質が見つかった。

この似た蛋白質とは、アルファ 1-アンチトリプシンというもので、蛋白質を分解する酵素（プロテアーゼ）に結合してその働きを阻害する蛋白質（プロテアーゼ阻害蛋白質）の 1 種だった。これが欠損すると肺や肝臓に障害が起こり、肺気腫や肝硬変になるし、肺癌にも関わるらしい。10 種類ほどの仲間が知られていて、まとめてセルピンスーパーファミリーと呼ばれている。血液凝固や血管新生を阻害するものも含まれている。

われわれの見つけた 55 kDa の蛋白質では、プロテアーゼに結合する部分の構造がこれまでのものとは異なっていて、新しいものだった。後に、この蛋白質は、動脈壁や筋肉の臄の結合組織を形作るエラスチンを分解する酵素を強く阻害することがわかってくる。

一方、より低分子の 3 つの新しい蛋白質は、いずれも興味深い特徴を持っていた。一端（アミノ基末端側）を構成している 40 残基ほどの (6) の配列に、コラーゲンと呼ばれる蛋白質に似た配列が

あった。コラーゲンは3本の蛋白質がより合わさってらせん構造形成している繊維で、筋肉の腱を作ったり細胞同士を接着したりする働きを持っている。この3つの蛋白質もアミノ基側の末端で三重らせんを作ってより合わされ、1つの複合体（三量体）となっていた。ほかにも<sup>(5)</sup>配列が互いに似ている部分があったことから、ファミリーの関係にあることもわかってきた。

見つかった4種の蛋白質はすべて新しいものであることが確実になったので、名前をつける必要があった。働きがまだわかっていなかったこともあり、初めて見つかった冬眠に特異的な蛋白質ということで、冬眠特異的蛋白質（hibernation-specific protein、略してHP）という、どうということのない名前になった。

4種の冬眠特異的蛋白質には、それぞれの分子量の数字の前に英語のイニシャルのHPをつけて呼ぶ。HP20とHP25、HP27の三種がコラーゲン様構造部分で三重らせんを形成した複合体を、HP20cと表記することにした。HP20cは、さらにHP55と疎水結合という様式で相互作用して1つの複合体になり、血液中に存在していた。まるでHP55がHP20cの働きを阻害しているといわんばかりに。

このような複雑な構造を持つ蛋白質が一気に見つけ出されることはそうあることではなく、地道に積み上げてきた研究が正しかったことをしみじみと感じた。

## HP 遺伝子の調節

蛋白質の<sup>(5)</sup>配列がわかってきたことで、それを<sup>(6)</sup>コードする遺伝子の探索が可能になった。やがて、この配列をもとにして、北里大学の協力で遺伝子がクローニングされた。決定された塩基配列から、各々の蛋白質の<sup>(5)</sup>配列の全貌も明らかになった。

クローニングの過程で、HPを作り出す組織を突き止めることもできた。

(中略)

HPを作り出す組織は、脳でもなく、心臓や腎臓、筋肉などでもなく、肝臓だった。4つともすべて肝臓で作られていた。

こうして、HP複合体は肝臓で作られ、そこから血液中に分泌されていることがわかった。

さて、血中のHP複合体が冬眠中に減少していたことを思い出していただきたい。

(中略)

<sup>(7)</sup>私は、この減少に関して2つの可能性を考えていた。

(中略)

HP発見以後の1990年代中期から、世界の冬眠研究は、遺伝子こそが冬眠の謎を解くカギだとばかりに、一斉に冬眠中に発現が増える遺伝子の解析に走った。これには、遺伝子の解析技術が飛躍的に進歩して、遺伝子からのアプローチが誰にでも容易にできる時代になったことも大きく影響していた。

しかし、重要な生理機能の本体となるのは蛋白質であり、それ自身では何の機能も持たない遺伝子の偏重はともすれば機械論的な思考に陥りやすく、生命現象との間に大きな空白を残すことになりかねな

い。発現が増える遺伝子がしらみ潰しに調べられているが、冬眠に関わる新しい遺伝子も蛋白質もいまだに見つかっていない。

(近藤宣昭著、「冬眠の謎を解く」岩波新書 2010年 より一部改変)

(注釈)

\*血漿：「けっしょう」血液から血球成分を除いた液体成分のこと。

## 設問

- A. 冬眠物質（冬眠を引き起こす物質）を見つけるために筆者が取った方法は、下線部(1)に示されているものである。この方法で活動期の血漿と冬眠中の血漿で濃度差がある物質が見つかった場合でも、その物質は必ずしも冬眠物質とは限らない。他にどのような可能性が考えられるか？可能性を三つ、答案用紙 **1-1** の A に記載しなさい。
- B. 下線部(2)でガッカリするのは何を期待していた場合か？それを答案用紙 **1-1** の B に 30 字以内で記載しなさい。
- C. 下線部(3)を示唆する事実は、この前の部分で既に提示されている。それを答案用紙 **1-1** の C に 50 字以内に要約しなさい。
- D. 下線部(4)のように、この蛋白質が「冬眠がいつ始まりいつ終わるかを予告するかのように変化していた」と筆者が記述したのは、どのような環境条件でシマリスを飼育していたためか？その条件を2つ考え、答案用紙 **1-1** の D-1、D-2 にそれぞれ 30 字以内で記載しなさい。
- E. 空欄(5)には全て同じ物質名が入る。それを答案用紙 **1-2** の E に記入しなさい。
- F. 下線部(6)のコードする遺伝子から蛋白質が作られるまでの過程を答案用紙 **1-2** の F に 100 字以内で記載しなさい。
- G. 下線部(7)でどのような可能性が考えられるか？答案用紙 **1-2** の G-1、G-2 に考えられる可能性を2つ 20 字以内で記載しなさい。
- H. 冬眠物質を発見したら、どのような医学応用が可能か？答案用紙 **1-2** の H に 200 字以内で記載しなさい。