

□ 8: 生体の時間秩序発現機構

8.1 「生体の時間秩序発現機構」グループの活動指針

長谷川建治
山口智彦

khase@kitasato-u.ac.jp
tomo@nimc.go.jp

北里大学医療系研究科
工業技術院・物質工学研

我々のグループは、エントロピー蓄積遅延機構及び自己組織化をキーワードとして、「単純から複雑へ」を促進した生体の時間秩序発現機構の基本原理の解明を目指している。97年度（於：早稲田大学国際会議場）及び98年度（於：総合研究大学院大学）の二回の研究会を行った結果、我々がなすべきことの焦点が絞られてきた。

第一は、本グループ研究第4回一般研究会発表原稿集、「生体の時間秩序発現機構」班・活動報告書に記したように、鉄で出来た熱機関を基本として定義された熱力学的エントロピーに対し、柔らかい素材で出来ている生体のエントロピーの概念、即ち、生体に起こった「単純から複雑への」時間の矢の意義を明らかにすること、である。

— 生体のエントロピーの捉え方 — 昨年度の研究会に招待した石井氏（東海大）と鍋島氏（京大）の話（上記活動報告書363頁参照）等を総合すると、実験生物学的立場からは、図1に示すような「酸化ストレスによる遺伝子の損傷の内、修復され切れないで不可逆的に蓄積されて行く遺伝子の損傷」を生体のエントロピーとするのが妥当であると思われる（ゆくゆくは熱力学的なエントロピーとの誤解をさせるため naming を変えることが望ましい）。

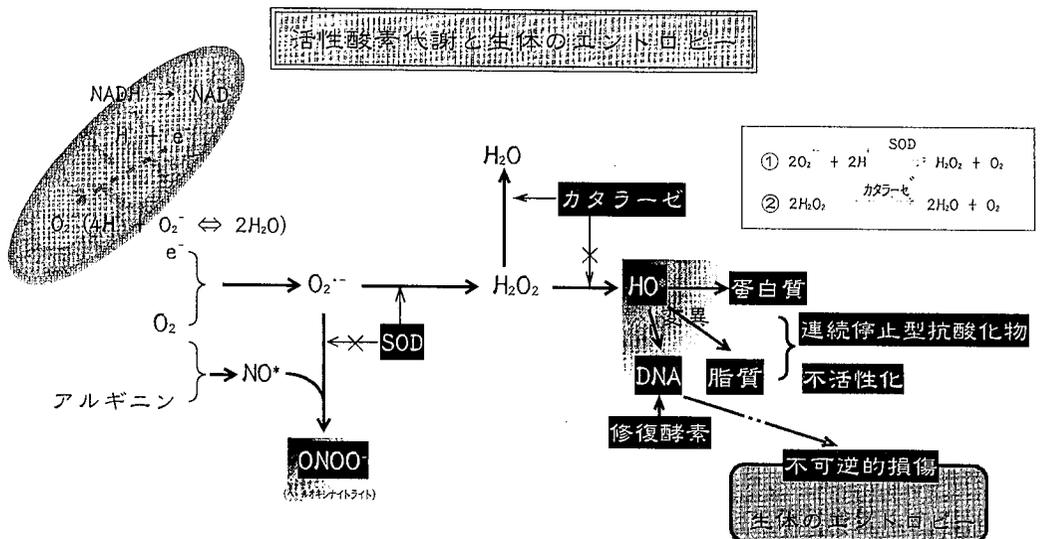


図 1:

その根拠

1) 高等動物になるほど、遺伝子に損傷が起これそれを修復しなければならない事態になることを回避する仕組みを持っている(図2参照)。また、動物の寿命は体重のほぼ1/4乗に比例している(Cutler 1983)。これは、動物の体には大きくすれば1細胞当たりのエネルギー消費に従って、酸化ストレスが小さくなるという内部進化圧が備わっていて、事実動物はそれに沿って小さなものから大きなものへと漸次進化してきたこと、を物語っていると考えられる。

2) DNA損傷の種類とその要因には図3に示すようなものが考えられる(花岡、1998)。その中で、生物が少しずつ自らの体を変えることを可能にしたのは、内的要因の④ 酸化損傷のみである。それ以外は、分子構造の確率的な変性(内的要因の①、②及び③。④に対する対策が決まれば同時に解決されると考えられる)であるか、ある時期に(段階的に)完成し以後の生物に普遍的に取り込まれている[外的要因の物理的要因①(大腸菌などで既に完成している)と②(相同染色体を用意することで対処)]か、あるいは人工的な産物による作用の結果(外的要因の化学的要因)であり、上記1)に記した進化を促進した要因であるとは考え難い(遺伝子に偶然生じた変異は、④を含めた生物学的な活動によって選択されてはじめて意味を持った一進化の中立説の立場—と考える。ここでは種の誕生等はあまり重視しないで、上記1)に述べたような種を越えすべての動物に当てはまる問題として捉える)。

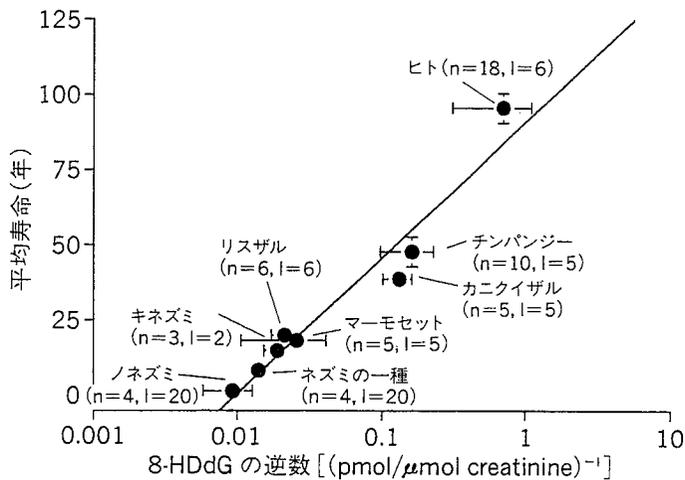


図2 哺乳動物の尿中の8-ヒドロオキシグアノシン(8OHdG)排出量の逆数と平均寿命との関係。尿中の8OHdG量を筋肉量を反映するクレアチニン量で割った値(=DNA 損傷出力)をxとした。寿命(y)との間には、 $y=172x-0.731$ の関係がある。DNAが損傷されにくいため尿中に排泄される8OHdG量が少ない高等動物ほど寿命が長く、DNA 損傷の割合が高くそれを修復する機能が昂進し8OHdG量が多くなる下等動物ほど寿命が短いことを示す(文献⁽¹⁾を改変)。

3) 動物個体の寿命は、神経や筋肉など、非分裂性の細胞の数(ある限度以下になると個体は死を迎える)によって決定されるものと考えられる。従って、これらの細胞内での遺伝子に対する酸化損傷(図3の④)の機会を出来るだけ少なくすることが、長寿命の要因であると考えら

れる。具体的には、図4に示すような、電子伝達系の中から悦脱して細胞質へ流出し酸素と反応して O_2^+ を作り出す電子の割合を出来るだけ少なくすることである。ひとたび O_2^+ が生成されると、細胞内で更に毒性の強い HO^* 等に変化し、それらが、DNA、蛋白質、及び脂質の生体構成分子に損傷を与える。

4) 損傷を受けた蛋白や脂質も細胞内に蓄積して細胞の機能を低下させるものもある。しかし修復されないで残留している損傷DNAの方が影響が大きい。何故なら、正常な遺伝子は通常繰り返して発現するものが多い。変性を起こし排出されないで残っている蛋白や脂質の多くは、細胞の中に存在して代謝の障害物になるのみである(無論プリオンのような例外はある)。従って、生体の秩序を破壊する(老化を促進する)ものとして不可逆的に蓄積するDNA損傷だけを注目しても、本質は失われないであろう。

5) DNA修復機構には大きく分けると3つのものがある(図5参照)。実際の修復は、これらが複雑に絡み合って行われる。従って、1対1に対応付けて考えるのは不可能であるが、これらの修復にはエネルギー消費が伴い、究極的には酸化的損傷の増大に帰することが可能である(一種のconvolutionのようなものを考える)。このことから、酸化的損傷を受けた遺伝子エラーのうち、修復されずに蓄積されて行くものを生体のエントロピーとすることが妥当であると言える。即ち、

生体のエントロピー = 酸化的損傷による遺伝子内のエラー - 修復された遺伝子内のエラー
と表せる。右辺二つの量は、間接的ではあるが、実験的に推量することが可能である。

DNA損傷の種類と要因

| 要因の種類 | 原 因 | DNA上の異変 |
|-------|---|--|
| 内的要因 | ① DNA複製エラー DNA複製時におけるDNAポリメラーゼの誤り | ミスベア 大腸菌DNAポリメラーゼIIIホロ酵素が1/10の割合でミスベアを起こす。 |
| | ② 塩基の相互変異 (DNAの自然変化) 塩基上のアミノ基が互変異によってエノール基へ | フレイムシフト 同一塩基が連続する部位でDNAポリメラーゼが鋳型上でスリップする。上と同率 |
| | ③ 脱塩基反応 塩基のDNA・リン酸-デオキシリボース骨格から離脱 酸あるいは熱にさらされた場合など | ミスベア |
| | ④ 酸化的損傷 ex. O_2^+ によるグアノシン残基の酸化→8-オキソグアノシン シトシンのみならずアデニンとも水素結合を断つ | ミスベア・一本鎖切断 |
| 外的要因 | 物理的要因 | |
| | ① 紫外線 (大腸菌などで既に完成) | シクロブタン型ピリミジンダイマー (6-4) 光産物 |
| | ② 電離放射線 (x線、γ線) | 一本鎖切断、二本鎖切断 |
| 化学的要因 | ① アルキル化剤 塩基のメチル化・エチル化→アルキル化 | アルキル化塩基 (アデニンの3位及びグアニンの7位の置換が受けやすい) |
| | ② 架橋剤 | 鎖内架橋、鎖間架橋 |
| | ③ 代謝を受けるとDNAに対する反応性が增大し塩基に付加する化合物 芳香環を持つ化合物など。 | |

図3:

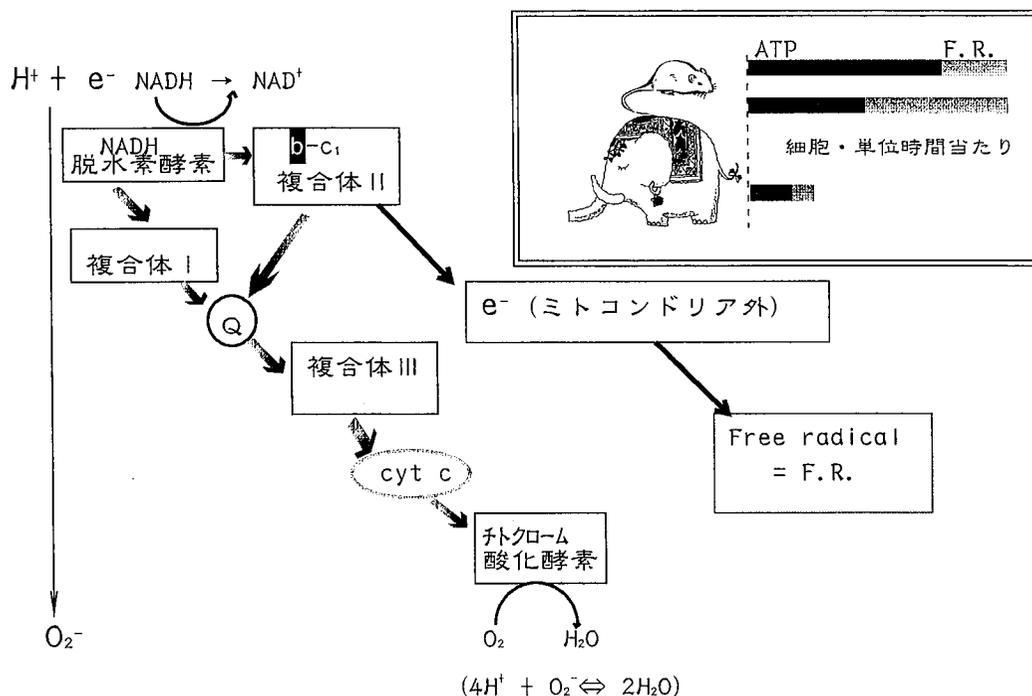


図 4:

以上のように生体のエントロピーが定義されると、次のような「単純から複雑へ」を可能にした生体の時間秩序発現機構の基本原理を理解するための戦略が考えられる。これは先に山口氏（物質研）が纏めたものである。上記したことと重複することもあるが、本グループの全体的な戦略としてよく纏まっており、具体的な共同作業の指針となるものと考えられるので、一部表現を手直しして、ここに記しておく。

I. 熱力学的エントロピーに対比される生体におけるエントロピーの定義

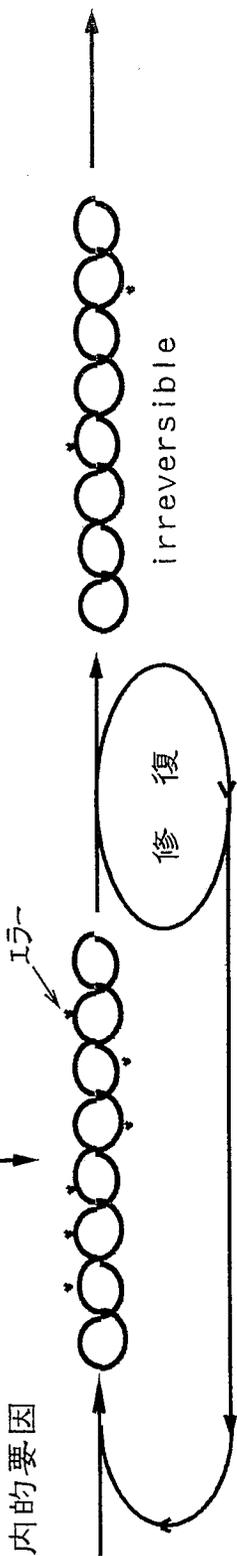
- 老化の一大要因は遺伝子に蓄積されるエラーにある。これは情報エントロピーに対比されることから、これを生物のエントロピーと考えるのが妥当である。
- エントロピー蓄積速度の低減に成功した生物は、長寿命化への道をたどった。この種の生物は、エントロピーの生成をできるだけ小さくするための自己組織化を繰り返すことを内部進化圧としたらう。
- 系統進化や個体発生も「同様に」エントロピー蓄積と対応づけられなくてはならない。
- それゆえ、我々が目指す「原理」とは、エントロピー蓄積遅延のメカニズムを説明するものでなくてはならない。
- そのメカニズムは、経験的な事実である寿命に関する体重の1/4乗則に則ったものでなければならない。

II エントロピー蓄積遅延と生物の自己組織化

< DNA修復機構とBiological Entropy >

外的要因

分裂性細胞と非分裂性細胞
二本鎖の場合・相同染色体



(修復によるエネルギー消費の増大=エントロピー蓄積)

DNA修復機構

① 損傷の直接的・可逆的な修復 [特異的な単分子反応 (酵素) で特定の損傷を修復する]

- ex. 1. 米回復酵素: ピリミジンダイマーに結合、ピリミジン-ピリミドン (6-4) 光修復
- ex. 2. 脱アルキル化
- ex. 3. 電離放射線等による一本鎖DNA切断のDNAリガーゼによる再結合

② 除去修復 [損傷を含む塩基又はヌクレオチドとその周辺のヌクレオチドを取り除き、損傷を含まない相補鎖を鋳型として修復する]
 塩基除去修復: 損傷特異的DNAグリコシラーゼが損傷部位を認識→N-グリコシル結合 (塩基とデオキシリボ糖結合) 加水分解→APサイト (塩基を失った部位) でAPヌクレアーゼによる一本鎖の切断→相補鎖を鋳型にDNAポリメラーゼβが合成→DNAリガーゼIIIが切れ目を繋ぐ。
 ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair = NER): 紫外線によるピシンド、イマ、鎖内架橋など比較的大きな塩基修復。転写の誘起型となるDNA鎖から選択的に損傷を除去する速い修復反応とそれ以外のゲノム全体をカバーする遅い修復反応とがある。
 ミスマッチ修復: ミスマッチ塩基・メチル化の有無による新生鎖の認識→一本鎖切断→ミスマッチ塩基の除去→修復合成とDNA鎖の連結。

③ 組換え修復 [切断された二本鎖の末端同士の間で再結合または相同的DNA組換えによる修復]

- 複製後修復
- 相同的組換えによる二本鎖切断の結合: 電離放射線
- 非相同的組換えによる末端結合

図 5:

- エントロピー蓄積遅延機構の進化は、様々な外的・内的環境に対する自己組織化の機会を増大させた。
- 例えば概日時計機構は、生物が、エントロピー蓄積遅延機構を進化させながら徐々に進行の遅い代謝機構を獲得する過程の中で、地球の自転に伴う24時間スケールの環境のサイクリックな変化（明暗サイクルなど）に自己組織化した結果確立された（24時間周期で降ってくる光エネルギーを効率よく獲得できるようになったシアノバクテリアの時代）ものであると考えられる。
- そこで、遺伝子損傷に関わるエントロピーと、一般的な自己組織化に関わるエントロピーを同じ枠組みで語ることのできる、新しい熱力学が必要である。

III 眼の系統発生をエントロピー蓄積遅延の立場で考察する

- 明暗サイクルに同調させるための光受容器を持つ概日時計の完成は、概日ペースメーカー集団の自己組織化による光（時間）情報処理器官としての脳（及び眼）の系統進化の内部進加圧となったことが考えられる。
- これは、1)概日性を示す単細胞生物テトラヒメナが、光受容に応じて引き込みを起し、個体群として時空の秩序パターンを示すこと（第4回一般研究会発表原稿集、110頁参照）、2)眼の系統発生が、一次元散在型（ホタテガイなど）から2眼集中型（アメフラシ）へと向かっていること（脳の発達）（第4回一般研究会発表原稿集、111頁参照）、からも支持されよう。
- 従って、Iで定義した生体のエントロピーの妥当性は、この概日ペースメーカーの引き込みとおした内部進加圧による脳の系統発生を作業仮説として、検証することが可能である。

IV 実際の研究Iで定義した生体のエントロピーを前提に、上記作業仮説を実験とシミュレーションで検討する。

- 実際には、異なる種における異なる眼をエントロピー生成の立場から論じるのは困難である。そこで、個体発生に痕跡として残っている系統進化の過程を利用する。もしも発生の過程で複数個の眼が統合されて行くなかで、それぞれの眼に概日ペースメーカーとしての特性、あるいは非線形振動子としての特性が認められ、なおかつそれらを統合する機構が存在している場合には、眼の発生過程におけるエントロピー生成を計測することが可能になるかもしれない。
- 実験の立場では、発生過程における非線形振動子としての個眼の挙動に関するデータを蓄積するとともに、それらの統合様式を明らかにする。変異体の利用や解剖学的実験を援用して、ペースメーカーの非線形性や統合様式が異なるケースについてデータを蓄積し、正常個体と対比する。変異体や解剖学的実験に関しては理論グループの知見を活用する。
- シミュレーションでは、上記実験データをもとにモデルとなりえる結合非線形振動子系を構成し、不可逆過程の熱力学で定義されるところのエントロピー生成速度と新定義によるエントロピーの生成速度を対比する。発生過程の始めと終わりまでの遷移過程に対応して、その時間発展の方向を示す物理的な指標の存在について検討を加える。こうして得られる指標が「生物のエントロピー＝遺伝子に蓄積されるエラー」という仮説を満たすようにチューニングを行う。

－ おわりに －

以上の見解を基に、山口氏は、生体におけるエントロピーの理論的取り扱いについて別紙のような卓越した考察を寄せてくれた。これを叩き台にして、Soft non-linear thermodynamics と

も言うべき「単純から複雑へ」の生物学的事実と旨くかみ合う理論的体系が生み出されることを我々の次なる作業としたい。

最近の我々の研究結果からは、概日時計機構で中心的な役割を果たす分子と老化の原因となる分子群は、ミトコンドリア電子伝達系の限られた共通の部位に局在している可能性が出てきた（第4回一般研究会発表原稿集、108頁参照）。これは、活性の強い酸素をエネルギー源としなければならなかった生物が酸素の毒性を軽減するためにエントロピー蓄積遅延機構を少しずつ進化させてきた過程の中で、厳密に24時間周期で変動する地球環境（明暗サイクルなど）に自己組織化することが可能となって獲得されたのが概日時計であり、寿命を長らえることも同じ戦略上で培われてきたと言えよう。

概日時計の分子機構に関しては、岡村氏（神戸大）に、生物物理学学会シンポジウムで戴いた話を別紙に纏めて貰った。近年概日時計の分子機構は、ショウジョウバエ概日リズムの周期異常株から単離された *period* 遺伝子(*per*)を中心に進展してきた。岡村氏は、ヒトも含めほ乳類の *per* ホモログを哺乳動物の概日時計の座と言われている視床下部に見だし、膨大な研究成果に基づいた *per* mRNA とそれによる合成蛋白 *PER* との間のネガティブフィードバックが概日時計発現の基本とすると言う考えを展開して多くの研究者の支持を得ている。個人的には、そのネガティブフィードバック過程が何故おおよそ24時間の時間スケールになるのかを解き明かすことが今後の課題であると思う。現在知られている時計遺伝子には、必ず ATP-binding motif か磷酸化部位が存在することから、24時間スケールのエネルギー代謝がその鍵を握っているのではないかと、我々の研究成果はそのことを暗示しているのではないかと、我田引水的な期待を抱いている。

ゾウリムシやミドリムシなどの細胞分裂は、栄養環境が良好なとき（餌が豊富なとき）は、1日何回も分裂するが、栄養が枯渇してくると概日時計によって支配されて24時間に1回しか分裂しなくなる。これは、発生初期の胚細胞が速い周期で分裂を繰り返すが、発生が進行し体細胞に分化すると概日時計に支配されて大凡24時間周期で分裂するようになる、個体発生時の分裂の時間秩序の変遷過程と一致する。このことに関連する基礎的な問題について、大隅氏〔東工大〕に日本生物物理学会シンポジウム「生体の時間秩序発現機構」で話をして貰ったものの要旨を紹介する。