

## リン酸化カスケード仮説の真偽

林 正 男\*

アメリカ東部, 首府ワシントン D.C. 郊外の町ベセスダにある NIH (National Institutes of Health) にきて一年半余り, 全米をゆるがしている最近の「話題」を紹介したい。

まず NIH とは, 全米の医学生命科学研究開発費の43% (31億ドル) を費やすアメリカの医学生命科学研究開発の総元締めで, 12の研究所, 1つの病院, その他で構成されている (林・嶋武: 生物物理, *112*: 44, 1981)。その中の最大の研究所, 国立ガン研究所 (National Cancer Institute) に私の所属する総勢93名 (1981年8月1日現在) の Lab. of Molecular Biology がある。チーフは50歳のユダヤ系アメリカ人 Ira H. Pastan で, 彼直属のグループの他に7つのセクション (セクション1つが日本の1~3講座分) を抱えている。その1つ Membrane Biochemistry セクションが私の所属する総勢6名のセクションで, チーフは日系3世の37歳になるケンこと Kenneth M. Yamada である。細胞表面及び血漿中に存在する大きな糖タンパク質フィブロネクチンの研究では世界の5指に入る人である。

本筋と少しはずれるが, 多様な活性をもつフィブロネクチンの話からすすみたい。フィブロネクチンは細胞の接着性を高め, ガン化した丸い形状の細胞を正常の平たい形状の細胞に戻す。ガン化した細胞・組織ではフィブロネクチンが消失するというので大きな関心と呼んだが消失しない例もあり, 今ではむしろガンの転移との相関が論じられている。フィブロネクチンは細網内皮系やマクロファージによるコロイド状粒子の食作用をヘパリンとともに促進する活性もある。つまり血液中の細胞・組織の残滓, コロイド状残滓, ある種の細菌等を血液の中から除くオプソニンの役目を果たしていて, その仕組みは

さだかではないが, 生体防御機構の1つとして臨床的応用も試みられている。傷口の回復にもフィブロネクチンが関与している。傷ができるとフィブロネクチンはフィブリン・フィブリノーゲンに結合して血液凝固を助け, 次いで周辺の細胞相互の接着を促進し, 更にフィブロネクチンの走化性活性によって繊維芽細胞等を傷口に引き寄せ, 傷口の回復に寄与していると考えられる。発生の過程でみられる神経冠細胞や始原生殖細胞の移動, 更に神経冠細胞, 筋原細胞, 軟骨細胞の分化にもフィブロネクチンが関与している。これらのフィブロネクチンの多様な活性は細胞の接着の促進, 細胞の移動の促進の2つの本質的機能に帰結できると考えられる (Yamada・林: 科学, 印刷中)。

フィブロネクチンの多様な活性を分子レベルで理解するのが, わがセクションの当面の目標である。フィブロネクチンの細胞側レセプターの探索をケンが, フィブロネクチンの生化学的な構造解析を私が, コーネル大学の大学院を終わって1980年9月にきた日系3世のステーブ (Steven K. Akiyama) がフィブロネクチンと細胞との関係を, 北九州市の産業医科大学から1981年3月にきた平野英保がフィブロネクチンの遺伝子解析を進めていた。

フィブロネクチンの活性を分子レベルで論じるには, 結局フィブロネクチンが細胞をどのように変化させていくかということが最も重要な問題である。それらを解くべき具体的なプランがしばしば議論され, 消滅し, また提案されていた。従って J. Biol. Chem. 6月25日号の Racker 研の論文 (256: 6069, 1981) (フィブロネクチンを加えるとガン細胞  $Ca^{2+}$  の取り込みが増大し, 分子量45Kの  $Ca^{2+}$  に関係するタンパク質がリン酸化されるといふ論文) はフィブロネクチンによる細胞側の生化学的変化を最も狙いよくつかまえた最初の報告で, 心おだやかではなかった。そして「事件」は, その2カ月後の8月

\* Masao Hayashi: Section of Membrane Biochemistry, Laboratory of Molecular Biology, NCI, NIH, U.S.A. (筑波大学生物科学系)

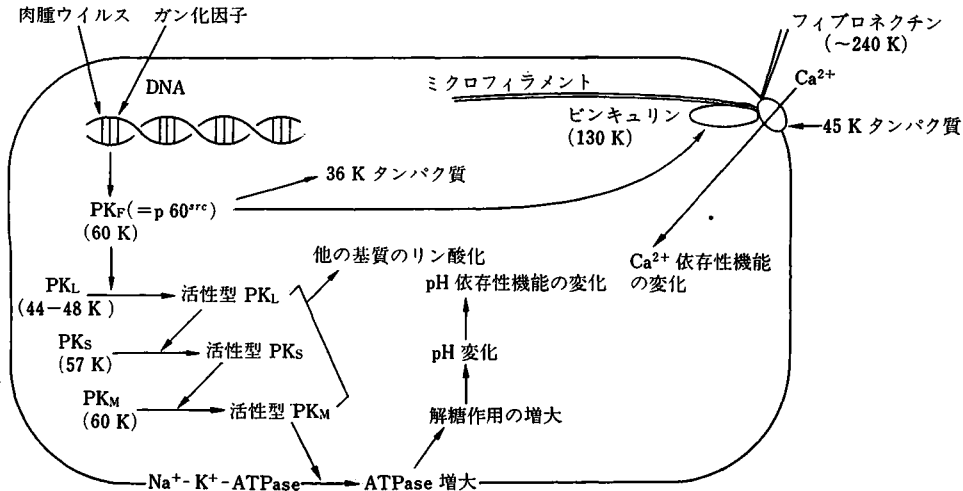


図1 リン酸化カスケードの少し脚色したモデル (本文参照)。本文中の文献を参考にした。

末にとび込んできた。

リン酸化チロシン?

「Mark Spector の話、聞いた?」ステーブが興奮しながらコーネル大学の友人に電話している。電話が終わって、今度はケンと大袈裟に話している。話は、なんと、ビッグスキャンダルであった。ミトコンドリアの酸化リン酸化でノーベル賞もあと半歩であったコーネル大学の有名な生化学者 Efraim Racker (編者注: 高宮訳「エネルギー代謝の機構」, 香川訳「生体膜におけるエネルギー変換」等の著者), その Racker 研の「1日18時間働く」「天才的」な大学院生 Mark Spector がデーターを捏造したのだ。

捏造した報告を含めて彼らの分野を追ってみよう (図1)。ラウス肉腫ウイルス (Rous sarcoma virus) の遺伝子 *src* が細胞をガン化する (Hanafusa: Comprehensive Virology, 10: 401, 1977)。つまり遺伝子 *src* の産物が細胞をガン化する実体だと考えられている。その後、遺伝子 *src* の産物は分子量60Kのキナーゼ活性(キナーゼ; ATPの末端のリン酸を他の物質に共有結合させる酵素)をもつリン酸化タンパク質 p60<sup>src</sup> であることがわかってきた (Erickson: PNAS, 76: 6260, 1979)。従って、次のステップは p60<sup>src</sup> によってリン酸化される基質は何かというのがここ1~2年の争点であった。生体内には多くのキナーゼがあり、ほとんどは基質タンパク質のセリン残基又はスレオニン残基をリン酸化する。ところが、p60<sup>src</sup> は基質タンパク質のチロシンをリン酸化するというきわめて稀な活性をもっていることがわかった (Hunter & Sefton: PNAS, 77: 1311, 1980; Collett

ら: Nature, 285: 167, 1980)。どのくらい稀かという、細胞のリン酸化アミノ酸の0.03%しかリン酸化チロシンはないのである。従って、ガン化に伴ってリン酸化をうける多くのタンパク質の中で、チロシンがリン酸化されるタンパク質を探せば p60<sup>src</sup> の基質タンパク質の可能性が強いのだ。この線にそって基質の有力候補が2つ見つかってきた。1つは機能不明の分子量36Kのタンパク質である (Radke & Martin: PNAS, 76: 5212, 1979; Radke ら: Cell, 21: 821, 1980; Erickson & Erickson: Cell, 21: 829, 1980; Kobayashi & Kaji: BBRC, 93: 278, 1980)。もう1つは分子量130Kのタンパク質ビンキュリンである (Sefton ら: Cell, 24: 165, 1981)。ビンキュリンはミクロフィラメントが細胞膜に投錨した部分に存在する。従って、ガン化に伴う細胞の形態変化、つまりミクロフィラメント配列のくずれ (Edelman & Yahara: PNAS, 73: 2047, 1976; Ash ら: PNAS, 73: 3603, 1976; Wang & Goldberg: PNAS, 73: 4065, 1967) はビンキュリンがコントロールしている可能性が大きいのである。そして36Kタンパク質とビンキュリンは、ともにガン化に伴ってそのチロシン残基がリン酸化される。しかし、ガン化の特性は多岐に亘っている。この2つのタンパク質でガン細胞の特性のすべてを直接表現あるいはコントロールしているであろうか? つまり、例えばフィブロネクチン, コラーゲン, グルコース輸送タンパク質, ヒアルuron酸合成酵素, α-フェトプロテイン, ガン胎児性抗原, 等々の合成を変え (Hanafusa: 前出; Ibsen & Fishman: BBA, 560: 243, 1979), 細胞の増殖を促進し, ワールブルグ効果という好氣的糖代謝の増大までコントロールしているであ

ろうか? どうもまだ全体像がつかめない。

こういう状況の中で、Racker 一派の打ち出したリン酸化カスケード (図1) は惚々するような説であった。キナーゼ  $PK_F$  ( $p60^{src}$  と同じ) が順送りに、又は一部逆の順に、キナーゼ活性をもつタンパク質  $PK_L$  (分子量44~48K),  $PK_S$  (分子量57K),  $PK_M$  (分子量60K) をリン酸化していく。その4つのキナーゼが更に別のタンパク質をリン酸化して、ガン化に伴う細胞の多様な変化をコントロールすると考えるのである。遺伝子 *src* に導入された1つの変化が多様な変化をもたらすのをうまく説明できそうである。つまり  $PK_F$  は  $PK_L$  をリン酸化する以外に35Kタンパク質 (前述の36Kタンパク質?) と130Kタンパク質 (ピンキュリン?) のチロシン残基をリン酸化し、 $PK_L$  は  $PK_S$  を、 $PK_S$  は  $PK_F$  と  $PK_M$  それに細胞骨格の80Kタンパク質をリン酸化する。そして  $PK_M$  は膜の  $Na^+-K^+-ATPase$  の  $\beta$ -サブユニット (分子量60K) をリン酸化してグルコース代謝の増大をもたらす。その結果生じるわずかの pH 変化も細胞内外の出来事を変えると期待される (Marx: Science, 213: 745, 1981)。彼らのこのリン酸化カスケード説は1981年5月20~24日に Cold Spring Harbor 研究所で行われた腫瘍ウイルス会議の最大のトピックの1つであった (Nature, 292: 15, 1981)。

彼らの説はキナーゼ  $PK_F$ ,  $PK_L$ ,  $PK_S$ ,  $PK_M$  を抗体で、リン酸化を  $^{32}P$  の放射活性でみてきたのであるが、同じ分野の研究者は彼らの結果を追試できなかった。また、驚異的な早さで進展してきたのと、余りにもきれいすぎるというので、彼らの実験はインチキではないかという噂も数カ月前から流れていた。但し、抗体による実験は使った抗体が違えば抗原と同じように反応しない可能性もあるので、追試がうまくいかなくとも決定的ではなかった。そんな中で、共同研究者の1人であったコーネル大学 Assistant Prof. の Volker Vogt が Mark Spector より  $^{32}P$  と  $^{35}S$  でアイソトープ標識されたはずのタンパク質を一部もらって実験を始めようとした。ところが、その試料から  $^{32}P$  ではなく  $^{125}I$  が検出されたのだ。これは決定的であった。つまり、リン酸化チロシンであるという証拠に電気泳動のオートラジオグラフを結果として出しているのだが、そのリン酸化チロシンは、実は別に作ったヨード化チロシンであったというわけである。どちらにしろ放射線が写真のフィルムを感光するのだからオートラジオグラフのスポットが得られるわけなのだ。

この「事件」の顛末の結論(?)はでていないので、Racker 研の最近の仕事のどこまでを本当に信じてよい

のか現在のところ不明である。Racker 自身が Science に送った手紙 (Science 9月18日号, 213: 1313, 1981) 及び米国化学会の雑誌 Chemical & Engineering News (9月7日号, 35, 1981) とのインタビューでは、「エールリッヒ腹水ガン細胞からとったキナーゼが  $Na^+-K^+-ATPase$  の  $\beta$ -サブユニットのチロシン残基をリン酸化するのは私が保証する」、その他のいくつかは「もう一度やってみないとなんとも言えない」そうだ。とにかく、1981年の Science 7月17日号 (213: 303) に出してしまった論文は引き下げるし、J. Biol. Chem. 5月10日号 (256: 4219) と Cell 7月号 (25: 9) に出してしまった論文も引き下げると思われる。また、J. Biol. Chem. と Cold Spring Harbor 会議の論文集に出る予定の論文も引き下げるといふ (Nature 9月10日号, 293: 92; 同月号93頁の Stein, 更に同頁の Newmark も参照, 1981)。米国科学アカデミーの会員にまでなった68歳のポーランド生れの科学者 Racker 老の人生の一コマである。

この「事件」に対して、「Racker は当然もっと早く気づくべきだった」とか「Mark Spector に (いい研究をしなればという) 強い圧力をかけすぎたのではないか」というのがアメリカ人の反応である。大事にあって世間から非難されるのもエライ人の仕事で、何かあると責任が下におしつけられる国柄とは違うようだ。その後のステープの話では、Mark Spector は精神科医にかかっているようで、どうやら「天才」ではなく、「紙一重」の方だったようだ。

古い話になるが、進化論のダーウィンにもデーター盗用の疑いがあると聞いているし、遺伝学の祖メンデルも気に入らないエンドウ豆のいくつかを除いて遺伝の法則を導いた節がある。酸化的リン酸化の Green の研究室の大学院生がリン酸化中間体を単離したという話も少し古い。米国スローンケタリング研究所でマウスの皮膚移植に成功したのは、実は、マウスに塗料を塗ったのだったという有名な話もある。

最近の「話題」をもう少し綴ってみよう。ヨルダン人研究者の Alsabti なる人物が1979年に13編、1980年1~5月に10編の論文を発表し、内容が「天才的」かどうかはともかく、優秀な研究者のようにみえた。ところがなんと、そのいくつかは他人の論文の盗用で、例えば、1979年の Japanese J. of Medical Science and Biology にでた彼らの論文は1979年の European J. of Cancer に出た Wierda & Pazdernick の論文と酷似していたり、Oncology (36: 11, 1979) の論文は、Japanese J. of Clinical Oncology (7: 5, 1979) の Yoshida らの論文と

よく似ているのだ (Nature, 285: 12, 1980)。

また、アメリカのボストン大学の大学院でガンの臨床的研究をしていた Marc J. Strauss がデータ捏造と患者虐待の理由でかつての共同研究者に告訴されている。Strauss はその騒ぎの中、1978年に退職してしまっているが、この事件は NIH と FDA (米国厚生省の一部局で食品や薬の安全基準を定めたりするところ) によって現在も調査中で、91万ドルのグラントを支給されていることから、研究費のムダ使いであると政治問題になっている (Broad: Science, 212: 1366, 1981)。

さらに、カリフォルニア大サンディエゴ校のタンパク質化学者 R. Doolittle とソーク研究所のウイルス学者 G. Walter がウイルスタンパク質の抗原性と似た10個程のペプチドを人工合成し、それがワクチンとして機能するという合成ワクチンのアイデアを検討していた。1979年の暮にスクリプス医学研究所の分子生物学者 R. Lerner の訪問をうけた。詳しい話を省くと、Doolittle 派が5日程早く第1報を投稿したのはいいが、Lernerの方が先に特許を申請してしまったのだ。Doolittle は Lerner がアイデアを盗んだと思っているが、Lerner は

「独立に思いついたのさ」と言っている。とにかく、その特許に対し医薬品会社のジョンソン & ジョンソンが世評3000万ドル (邦貨で約70億円) もの金をスクリプス医学研究所に払ったというのだから大騒動である (Wade: Science, 213: 623, 1981)。

「化学と工学の分野では基礎研究が実用化されるには20年の開きがあるが、分子生物学の分野ではその開きはときにより数週間」(V. Bush の言葉) なのだから、うかつに名アイデアを喋るわけにはいかない。ちなみに、2,3のアメリカ人に「ノーベル賞級の研究をしたら、最初はどうやって公表するか?」と問うと、答えは1つ「学会等では決して喋べらない。まず論文に書く」そうだ。とにかく記録に残る「確かな」ものは論文なのだ。その論文も勿論追試可能でなければならない。ボスの方針に基づいて実際に実験する人は、大学院生、テクニシャン、ポストドクなのだから、私達はもっと分りやすく、追試しやすいように論文を書こう。そうしないと Mark Spector の論文のように疑われ……いやいやそんなつもりでは。とにかく、書きかけの論文を今夜にでも再検討しなくては。

## □ 編集室より

### ◀ コミュニケーション欄への投稿のお願い ▶

コミュニケーション欄は、読者の方々の交流の広場として一層の充実を計るべく、つぎのような内容のご投稿をお待ちしております。

- ① 最近の国内・国際学会における興味あるトピックス
- ② 最近のシンポ、講演会における興味あるトピックス
- ③ セミナー、研究会等で見聞された興味ある知見
- ④ 日頃お考えの事で、広く本誌の読者に知らせ討論の材料にしたい事柄

⑤ 新しく登場した概念、術語や技術についての解説

⑥ 本誌掲載の論文に対する討論あるいは批評

⑦ その他、新しい情報として広く読者に伝えたい事

投稿原稿は、400字詰2~8枚とし、必ず、住所・氏名・所属を明記して下さい (掲載時はペンネーム等も可)。採否は編集委員会で決定いたします (掲載文には薄謝進呈)。

原稿送り先: 〒 113-91 東京都文京区本郷郵便局

私書箱第5号

医学書院「生体の科学」編集室あて