

宇宙利用のライフサイエンス分野における新たな展開

New Development of Space Utilization in Life Science Field



落合 俊昌^{*1}
Toshimasa Ochiai

村瀬 浩史^{*2}
Hirochika Murase

本馬 敦子^{*2}
Atsuko Homma

行徳 淳一郎^{*2}
Junichiro Gyotoku

当社は、宇宙におけるライフサイエンス研究の有効性を確認するために、航空機実験などによって微小重力環境が小動物やヒトに与える影響を分子レベルで追跡し、宇宙環境が新たな中枢神経系疾患モデルの作製に寄与する可能性を得ている。新たな宇宙での小動物実験の実現及び機会の創出により、地上では未解明の病態メカニズムの解明など、我々の生活へと還元可能な成果を得ることが期待される。宇宙での小動物実験実現に向けた取組みについて述べる。

1. はじめに

1990 年台初頭より、スペースシャトルによる日本のライフサイエンス系の宇宙実験が開始され、当社は実験開始当初より実験用装置の開発に携わってきた。国内のみならず世界において小動物、特にマウスに関する実験のニーズは高く、これらの実験については、NASA やロシアを主体として実施されているのが実状であった。マウスやラットは地上においても生態メカニズムを解明するために非常に重要な役割を果たしており、また宇宙医学においても宇宙実験などを経て、微小重力環境が哺乳類の骨や筋、細胞などの生体反応へ影響を与えることが明らかになっている。実際、バイオ系の米国大手メーカーが社費を投じ複数回の宇宙実験を繰り返しているが、その効果については全く公表されていないことから、宇宙実験の有効性は示唆される。

そのような状況を受け、当社では、微小重力環境下に曝された実験動物の提供や病態モデルの創出などを行う創薬研究に着目し、微小重力環境が与える生態メカニズムへの影響の確認及び宇宙実験プラットフォーム実現のための技術の獲得の2つの観点より社内研究を進めてきた。前者については、小動物を用いた航空機実験による微小重力実験を行い、大学や製薬企業からの評価を踏まえながらその有効性を確認し、また、後者については、HII-A ロケットのピギーバックエリアや副衛星エリアを利用した回収カプセル型生物実験システム構築に向けて、マウスの適正な飼育環境を維持するための要素技術研究や、マウスを用いた閉鎖環境試験や耐環境性試験を実施し、いずれも実現の目処を得てきた。現在、同システムのみならず、早期の宇宙実験を可能にするあらゆる仕組み作りを目標に研究を進めている。

2. 微小重力環境の生物への影響とその利用

微小重力環境が、比較的早い時期に哺乳類の骨や筋、心循環器系・免疫系・中枢神経系など生体反応の全般に影響が及ぶことはこれまでの宇宙医学や宇宙生物実験で明らかになっているが、その個々のメカニズムを解明するまでには至っていない。当社では、微小重力環境の影響を

*1 航空宇宙事業本部宇宙事業部宇宙利用推進室主席チーム統括

*2 航空宇宙事業本部宇宙事業部 宇宙利用推進室

受けた実験動物の提供や病態モデル作出などによる創薬研究を視野に置き、いくつかの基礎実験を繰り返してきた。ここでは、航空機による放物線飛行（パラボリックフライト）で形成される微小重力を含む重力変動ストレス負荷実験にて取得した微小重力環境の有効性を示すデータについて述べる。

2.1 実験仮説

神経伝達物質のひとつであるセロトニンは、特に哺乳動物の高次の情動制御、ひいては精神疾患に深く関わる物質であることが明らかにされている。共同研究者の先行研究から哺乳動物にとって微小重力は未知の環境であり、突然の暴露により惹起されるパニックにセロニンが関与することが報告されている。一方、マウスの血中のストレス指標であるコルチコステロン濃度はパラボリックフライト8回終了時には機上対照より有意な上昇が認められ、微小重力を含む8回の重力変動がマウスにストレスを与えていることが予備実験で明らかとなっている。また1回目のパラボリックフライトを基点としたフライト後3時間以降には急性ストレスの影響は解消され、マウスはストレスから開放されたとみられる。このストレス負荷の現象をより詳細に知るためにセロニンに着目して発現遺伝子を解析した。

2.2 重力変動ストレス負荷実験システム

国内で実施可能な航空機実験の一つであるMU-300によるパラボリックフライトでは $10^{-2}G$ 程度の微小重力環境を最大 20 秒間作り出すことができる。また一度のフライトでは最大 20 回程度のパラボリックフライトを繰り返すことができる。本稿で示す重力変動ストレスでは可能な限り過重力を避けるため、パラボリックフライト前後の機体姿勢制御時の過重力を1.4G以内に抑えるような機体運航に配慮した。したがって、 μG 時間は約 15 秒間/回、また緩やかな機体姿勢の回復により実際に1時間のパラボリックフライト運航の時間枠では8回の μG フライトが可能となる。以降、このフライト方法を重力変動ストレス負荷実験システムとする(図1)。

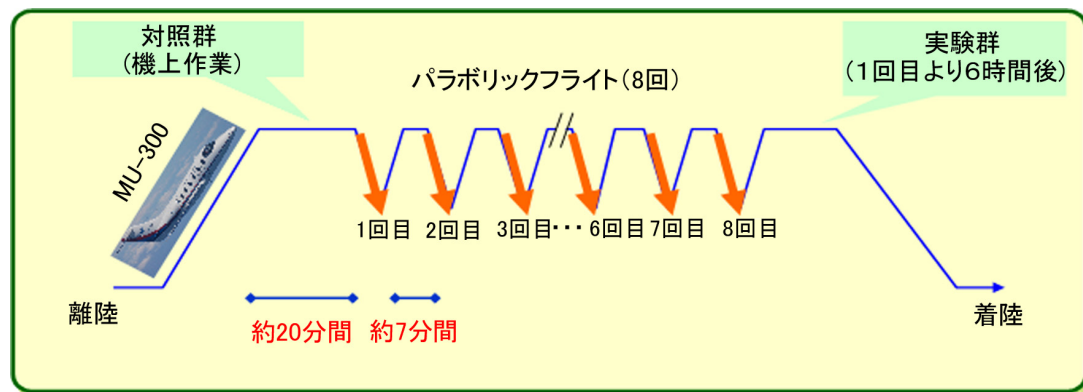


図1 航空機実験イメージ

2.3 実験手法

本実験システムでは、これまでの基礎実験から得たデータに基づきパラボリックフライト直前までの機上処置群をストレス負荷の比較対照とし、またストレス負荷実験群はパラボリックフライト1回目から6時間後に処置した(図1)。また、必要に応じて、パラボリックフライト実験前後の機上で実験動物から血液や各組織の採取など、種々処置できることも本システムの特徴である。次に示すストレス負荷実験例では、遺伝子解析を目的とし、機上でマウスの脳や小腸組織あるいは血液を採取した。

2.4 実験結果

セロニン関連遺伝子の中でTph1は小腸などの抹消神経系に作用するトリプトファン水酸化酵素、またTph2は脳などの中枢神経系に作用する酵素であるが、本実験ではTph2のみが有意に上昇し、セロニン合成系の遺伝子発現上昇が認められた(表1)。

表1 重力変動ストレス負荷方法と高所恐怖ストレスの解析結果

	遺伝子名称	機能	重力変動 ^{*1}	高所恐怖 ^{*1}	社会的
Tph1	トリプトファン水酸化酵素	セロトニン合成系(末梢神経系:小腸)	—	—	ND
Tph2	トリプトファン水酸化酵素	セロトニン合成系(中枢神経系:脳)	↑	—	—
Maoa	モノアミン酸化酵素A	セロトニン分解系(セロトニンを基質とする)	—	—	ND
Maob	モノアミン酸化酵素B	ドーパミン分解系(ドーパミンを基質とする)	↑	—	ND
Sert	セロトニントランスポーター	セロトニン伝達(再利用に要す)	↑	↓	—
Slc7a5	大型中性アミノ酸輸送体1	トリプトファン	↑	—	ND
Htr1a	セロトニン受容体	セロトニン受容タンパク質	—	↑	—
Th	チロシン水酸化酵素	ノルアドレナリン, ドーパミン神経系	↑	—	ND
Gad1(67kDa)	グルタミン酸脱炭酸酵素1	GABA神経系	—	—	ND
Gad2(67kDa)	グルタミン酸脱炭酸酵素2	GABA神経系	—	—	ND

*1 ↑赤矢印:脳(有意差あり), ↓緑矢印:小腸(有意差あり), ↑紫矢印:脳(傾向, 有意差なし), —横棒:変化なし, ND: not done(調査文献による)

※ 目的遺伝子および標準遺伝子に対して, 合成した cDNA を鋳型として SYBR Premix Ex Taq II インターカーレータ法によるリアルタイム PCR 反応から定量的に RNA の発現量を算出した. HA067799(18SrRNA)を標準遺伝子とした.

一方, 同酵素は高所恐怖ストレスや社会的ストレス負荷によって発現が亢進することはないことから重力変動によるストレス負荷は中脳のセロトニン合成系を刺激することが言える. Maoa はセロトニン分解系酵素に関する遺伝子であり, また Maob は別の神経伝達物質ドーパミンを基質とするドーパミン分解系酵素に関する遺伝子であるが, 結果から重力変動ストレスでは, Maob つまりドーパミン分解系酵素の遺伝子発現のみが亢進し, ドーパミン代謝を促進させ, セロトニンは代謝せずに保持するよう選択的に働いていることが示された. 合成されたセロトニンの有効利用に関するリサイクル経路に関与する sert も重力変動では亢進するものの高所恐怖ストレス負荷ではその発現は低下する. 大型中性アミノ酸輸送体としてトリプトファンを細胞内に取り込む機能を有す Slc7a5 も遺伝子発現が亢進しており同様にセロトニン合成系促進を示唆している. 合成されたセロトニンを受け取る機能をもつ Htr1a は高所恐怖ストレスでのみ発現上昇が認められた.

また Th はセロトニン以外の神経伝達物質であるアドレナリンやノルアドレナリン, ドーパミンの材料のアミノ酸であるチロシンの第一段階の合成酵素に関する遺伝子であり, 一方, Gad1 や Gad2 はグルタミン脱炭酸酵素として, 脳の活性化を抑制する方向に働く神経伝達物質である GABA に関する遺伝子である. このうち Th は発現亢進の傾向が認められ, 本ストレス負荷は脳内で Th の発現亢進していることを意味し, アドレナリン系やノルアドレナリン, ドーパミンなどの活性化を促して神経系全体を活性化しようとする傾向がみられるが, 有意性がないためそれらの影響が少ないことと理解できる.

2.5 実験考察

これまで精神疾患の研究に利用されている高架式十字迷路などのストレス負荷方法ではセロトニン以外にドーパミンや GABA などの複数のアミノ酸が脳内で遊離することを促進するため, セロトニン合成系遺伝子の特異的に発現させることはできなかった. 重力変動ストレス負荷による中脳あるいは小腸における遺伝子発現解析から, これまでにないセロトニン合成系選択的なストレス応答を惹起させる新たなストレス負荷方法であることが示された. この新たなストレス負荷システムにより, 新たな中枢神経系病態メカニズムの解明に繋がる研究が期待できる.

3. 新たな実験手段

当社は, 現在運用中の ISS を利用した, 細胞培養装置(現在運用中)などライフサイエンス系の宇宙実験装置の開発実績を有する. この経験をいかして, 当社では 2004 年から宇宙創薬を実現するための手段の一つとして, 回収カプセル型生物実験システムに関する研究を実施してきた. これは, 本システムを H-IIA ロケットのピギーバックエリアや副衛星エリアに搭載することにより, 打上げから回収まで一貫した生物実験環境の提供を可能とするものである. 開発に当たっては, これまでに小動物の代謝や行動などの基礎データの調査研究, 宇宙での小動物飼養条件の設定や飼養条件を実現するための要素技術の検討や技術実証試験などを行い, 小動物実験のイ

ンフラとなりうる技術を蓄積してきた。

本装置が実用化されれば、小動物実験に宇宙という新たな場を提供することができ、実験に供した小動物(いわゆる宇宙マウス)から、生物学的な知見が得られるだけではなく、新たな創薬プラットフォームとしても期待できるものと考ええる。

3.1 社内研究開発から得られた小動物実験技術

H-II A ロケットを利用した生物実験システムは、小動物(マウス)の打上げから地上帰還までの実験環境を提供するため、輸送インフラとなるバス部と小動物実験のインフラとなるミッション部で構成される。特にミッション部は、環境制御・生命維持機能、汎用的な実験機能の各系統を有する(図2)。

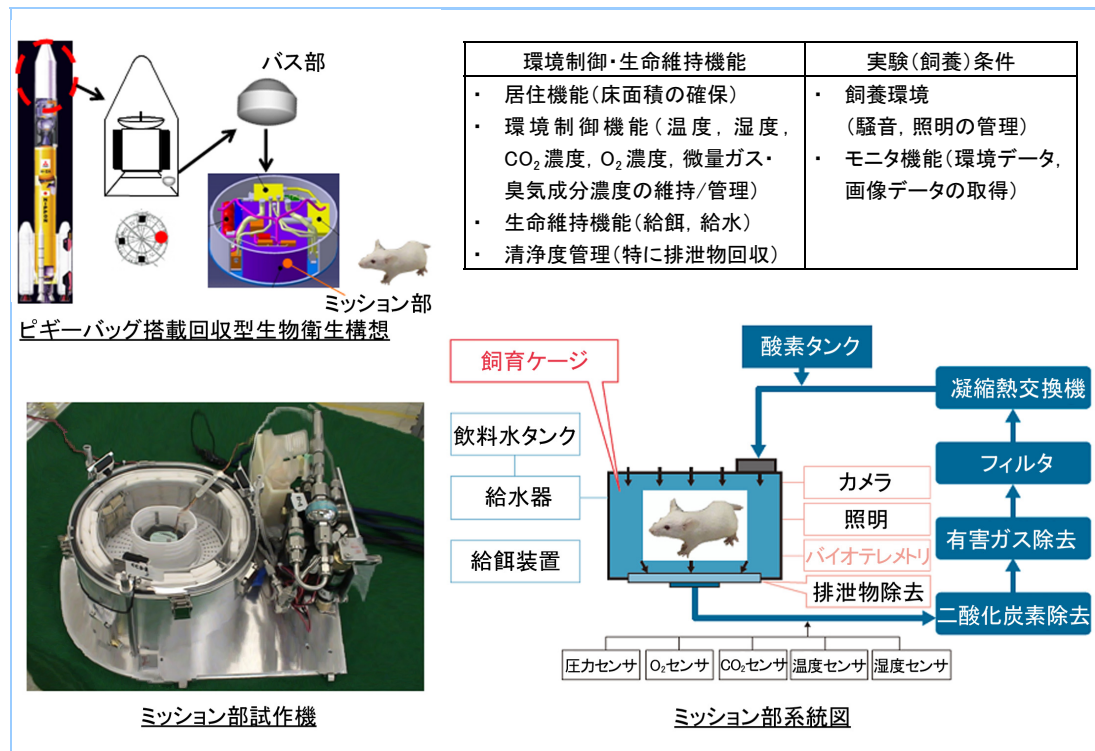


図2 ピギーバック搭載回収カプセル型生物実験システム 系統図

これらを実現するためには、微小重力(方向性のない空間)、液体の濡れ性変化、打上/帰還による環境変化といった宇宙実験特有の現象に伴う技術課題の対策が重要である(表2)。

表2 要技術課題と対応する当社提案技術

機能	宇宙特有の主要技術課題	当社提案技術	検証ステータス
居住機能	マウス搭載匹数に応じた空間を確保し、かつ、浮遊した排泄物のマウスへの二次付着を避けるため、居住区内のエア流路長さを短くする必要がある。	無限回廊(ドーナツ状)タイプの居住区を採用し、マウス同士の行動を極力制限せず、エア流路長さの短縮化を実現。(図3)	・34hr 閉鎖環境試験実施(マウス3匹) ・2週間閉鎖環境試験実施(マウス5匹)
排泄物回収	液体排泄物のマウス体表面への拡散、固形排泄物のマウスへの二次付着を防止する必要がある。	吸水性壁面による液体排泄物(特に尿)の即時吸収、エア循環による固形排泄物の下部への回収を実現。(図3)	・排泄物処理要素試験実施(航空機実験)
環境制御	実験環境の変化(打上時の気圧変化、宇宙飛行士の代謝による空気組成・温湿度変化など)による影響の排除、実験環境の汚染(特に宇宙飛行士の居住環境汚染)防止が求められる。	吸着剤・パルプ制御技術により、マウス居住環境を外部と遮断する閉鎖タイプの環境制御(CO ₂ ・有害ガス除去、O ₂ 供給制御)を実現。また、外部(特に宇宙飛行士の居住環境)と通気するタイプとして、吸着剤・フィルタ技術により、マウス居住区環境中の微量ガス・臭気成分濃度を所定の飼養基準に維持し、外部への漏洩を防止する技術を整備した。	・34hr 閉鎖環境試験実施(マウス3匹) ・2週間閉鎖環境試験実施(マウス5匹) ・脱臭機能確認試験実施(マウス5匹)
生物固定	微小重力実験前後に生じる過重力などの外乱は、実験評価において不確定パラメータとなるため、極力排除する必要がある。	ガス置換・冷却による、生物の自動固定技術を実現。微小重力前後で固定したサンプルを用いて、外乱をキャンセルできる新たな実験手法を確立した。(図3)	・生物固定特性/組織健全性確認実施

居住及び排泄物回収の各機能は密接に関係する。居住の観点からは小動物の行動を極力妨げないよう十分な空間を確保する必要があるが、排泄物回収の観点からは、二次付着防止のために小動物の排泄物、特に液体分が体表に広がる前に除去できるよう小さな空間が好ましい。社内研究では、このように相反する機能要求に対し居住形状や居住区内のエア流れ、排泄物回収方法の最適化を図るべく要素技術の開発を行い、外部環境から遮断し居住区内だけで環境制御を行う閉鎖環境試験やパラボリックフライトによる微小重力環境への適用性実験を実施し、各要素技術の有効性の確認を行った(図3)。

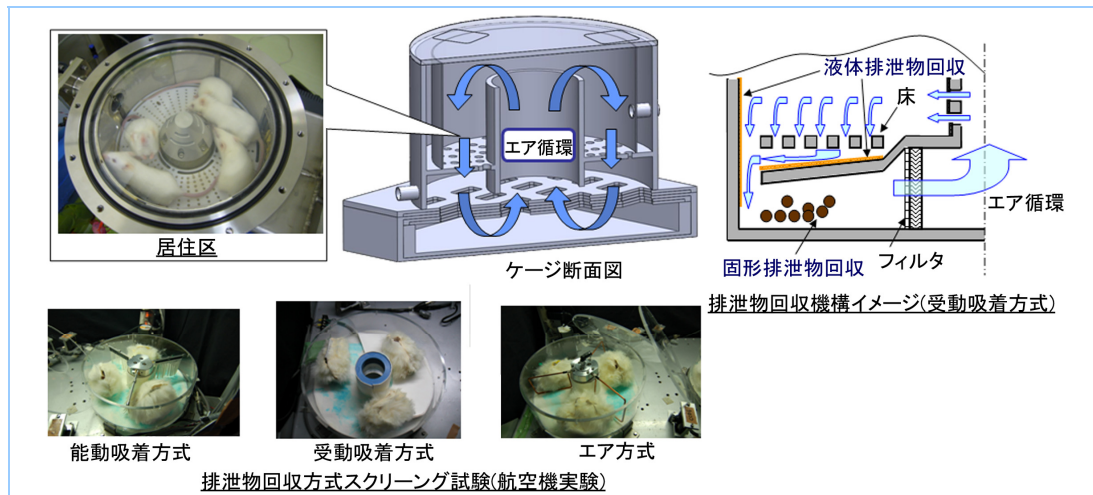


図3 居住性確認／排泄物回収確認試験

排泄物回収方式に関するスクリーニング試験では、マウスの液体排泄物である尿と同等の粘性、表面張力特性を有する色素を入れた模擬尿を作成し、微小重力実験開始と同時に模擬尿を自動的に排出する機能をもつ、マウス体表を模した模擬マウスを製作し、模擬尿の体表面への付着に関する挙動について確認を行った。その結果、液体排泄物の処理については、短期的には受動吸着方式が、長期的には能動吸着方式が有効であることを確認した。

また当社では、宇宙実験前後の環境、主に重力の変化による小動物への影響を評価する手法として、生物固定技術の実用化を行った。当社の開発した生物固定装置によるマウスの全身固定評価試験結果例を図4に示す。

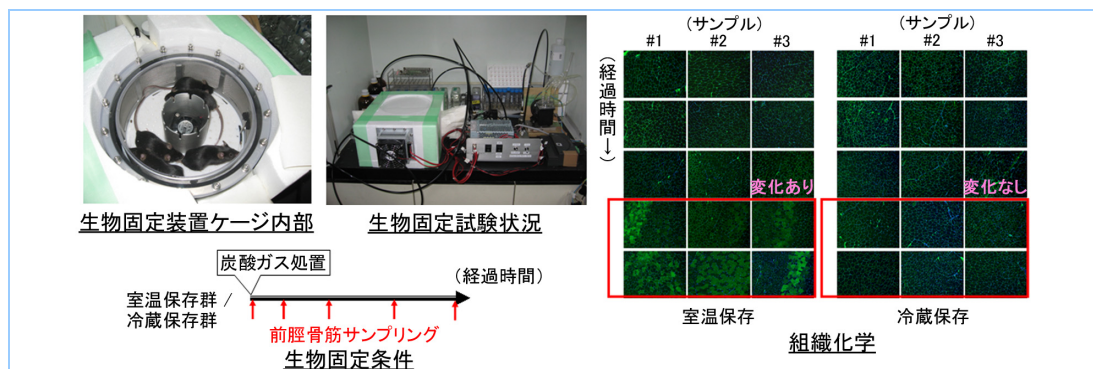
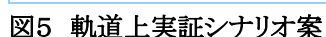


図4 生物固定試験技術

本装置は、マウス居住区内の空気を短時間で炭酸ガスに置換し、冷蔵温度内に維持することを可能とする。評価試験は、10 週齢の雄マウスを用い、炭酸ガス処置後、常温及び冷蔵保存したサンプルの前脛骨筋から、たんぱく質、RNA、筋横断切片をそれぞれ抽出し、保存形態の違いによる状態を比較した。その結果、常温保存では筋損傷時に類似した局在の異なる筋繊維の出現が認められるのに対して、生物固定後冷蔵保存したものは正常に維持されており、本装置にて十分な成果が得られたことが分かった。

特にISS搭載向けについては、ISS内の環境制御機能を利用できるため、基本仕様としては最低限の生命維持機能(給餌、給水、排泄物回収、アンモニア除去)を保持すればよく、さらに小動物実験の実験目的やニーズに合わせて、交換を想定した各機能のカートリッジ化や、CO₂の低濃度化、生体モニタや生物固定機能を提供することが可能である。ISS搭載向け小動物実験装置の運用シナリオ案を図5に示す。本シナリオでは輸送手段による搭載質量やレイトアクセス時期の制約を考慮し、装置は装置本体、マウスを搭載するケージ、補用品(カートリッジ)の3部構成とした。装置本体は実験運用終了までISSに設置し、ケージは実験に合わせてマウスごと入れ替え、実験期間に合わせて定期的にカートリッジ交換を行うことで、継続的かつ効率的に複数の実験テーマを行うことを可能にする。将来的には、固定されたサンプルを軌道上で分析できる装置を整備し、本小動物実験装置と組み合わせることにより、実験評価を加速させ、ISSを利用した小動物実験ユーザの裾野の拡大を期待する。



- (1) 吉岡ほか、パラボリックフライト(放物線飛行)によって誘導されるセロトニン関連遺伝子、日本薬理学会部会 Vol.135 No.3(2010)
- (2) 松本ほか、宇宙創薬の実現に向けて、Vol.45 No.4(2008) p.50-54