



日本臨床ストレス応答学会

The Biomedical Society for Stress Response, Japan

BSSR Japan NEWS LETTER 増刊号

2022. 4.15

日本臨床ストレス応答学会 新役員について

日頃より会員の皆様には当学会の運営にご協力をいただきまして感謝申し上げます。

昨年度の評議員会・総会でご承認いただきましたとおり、今年度より新役員が就任しました。ご報告とともに、新会長に就任致しました養王田正文先生(東京農工大学)よりご挨拶を申し上げます。

また、ニュースレター後半では大塚健三先生よりご寄稿いただきました「HSP40 物語」を掲載致しました。

今年度の第 16 回大会につきましては 2022 年 11 月 5 日(土)-6(日)に足立弘明大会長のもと産業医科大学にて開催予定でございます。詳細は次号にてお知らせ申し上げます。

新役員 (2022 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日)

会長	養王田 正文 (東京農工大学)
副会長	岩脇 隆夫 (金沢医科大学)
総務	木村 洋子 (静岡大学)
会計	横田 伸一 (札幌医科大学)
広報	江口 傑徳 (岡山大学)
企画	足立 弘明 (産業医科大学)
企画	永井 義隆 (近畿大学)
企画	中井 彰 (山口大学)
企画	西頭 英起 (宮崎大学)
企画	鳥越 俊彦 (札幌医科大学)
監事	鵜殿 平一郎 (岡山大学)

アドバイザー	伊藤 英晃 (東京大学)
アドバイザー	永田 和宏 (JT 生命誌研究館)
アドバイザー	田中 啓二 (東京都医学総合研究所)
アドバイザー	柴田 亮行 (東京女子医科大学)
アドバイザー	樋口 京一 (長野保健医療大学)
アドバイザー	大塚 健三 (中部大学)

名誉会員	野村 馨 (大月市立中央病院)
名誉会員	佐藤 昇志 (札幌医科大学)

ご挨拶

養王田 正文（東京農工大学）

2021年11月の幹事会で新会長に指名され、第15回年会において行われた総会で承認されました東京農工大学の養王田正文です。よろしくお願いいたします。歴代の会長とは全く異なる経歴であり、自分でも適任であるか疑問を感じています。しかし、与えられたMissionを全力で行うというのが私のポリシーなので、微力ですが本会の発展に貢献したいと考えております。せっかくの機会なので、私自身のストレス応答や分子シャペロン研究の経歴を紹介させていただきます。

私は、東京大学工学部化学工学科の出身で、学部卒業まで生命科学とは全く無縁でした。大学院においてタンパク質に興味を持ち、博士課程1年のときに自治医科大学の香川靖雄先生の研究室に居候し、吉田賢右先生とF1-ATPaseの研究を行ったことが今の研究の基盤となっています。居候生活は博士課程の最後まで続き、F1-ATPaseの発現系の構築を行い学位を取得しました(1)。Academicの世界には興味がなかったので、旭硝子株式会社に就職しました。しかし、自由に研究をしたいと考え、4年余りで退職し、理化学研究所に研究員として転職しました。理化学研究所でヒトゲノムプロジェクトに携わっていたときに、吉田先生と好熱性菌*Thermus thermophilus*由来シャペロニンやDnaKの遺伝子配列解析に関する共同研究をしたことが、シャペロン研究のスタートでした(2, 3)。従来のシャペロニンは真正細菌やオルガネラのみ存在し、真核生物の細胞質や古細菌のシャペロニンは異なるタイプ（Group II型）であることを知り、吉田先生と好酸好熱性古細菌*Sulfolobus tokodaii* strain 7由来Group II型シャペロニンの研究を開始しました。しかし、期待に反し、*Sulfolobus*由来Group II型シャペロニンは蛋白質フォールディング活性を示しませんでした。これは、Group II型シャペロニンを発見したTrent博士のグループでも同じであり、Trent博士はシャペロンの研究から離れていかれました。この状況を変えたのは、香川先生たちとの共同研究でした。香川先生は超好熱性古細菌由来のシャペロンの研究を行っており、その遺伝子配列解析などに協力しました。そのころ、日本で超好熱性菌の探索が進められており、鹿児島県の小宝島で*Thermococcus*属の超好熱性古細菌が単離され、その1つである*Thermococcus* sp. strain KS-1のGroup II型シャペロニンが高いフォールディング活性を示すことから、様々な機能、構造解析を行うことが可能となり、東京農工大学に移動しても研究を続けました(4, 5など)。なお、東洋紡が発売しているKOD Polymeraseも小宝島から単離された*Thermococcus kodakaraensis*由来のものです。

Group II型シャペロニンの研究のTopicの1つがX線による1分子運動解析です(6)。これは超好熱性古細菌由来シャペロニンの高い構造安定性により実現できています。超好熱性古細菌由来シャペロニンで面白い研究を進めることはできましたが、インパクトの高いJournalには論文を余り発表することができなかったことから、真核生物型Group II型シャペロニンの研究を目的に好熱性真菌*Chaetomium thermophilum*由来シャペロニンの研究に取り組みました。8種類のサブユニットを同時に発現してComplexを形成させるというアクロバティックな研究でしたが、残念ながらインパクトのある成果にはつながりませんでした(7)。しかし、おまけの研究として行った*C. thermophilum*由来Hsp104(8)がアミロイドの脱凝集を1分子レベルで観察することに成功し、面白い研究となっています。

さらに、全く別のアプローチからの研究もあります。私は嗅覚受容体を用いた匂いセンサーの開発を行なっています。嗅覚受容体は他のGPCRと比較して不安定であり、細胞での発現も困難です。Duke大学の松波宏明教授らがRTP1Sという蛋白質が嗅覚受容体の発現をAssistすることを明らかにしたことを知り、共同研究を行なっています。RTP1Sが嗅覚受容体の発現をAssistするメカニズムの解明を進めています (9, 10)。嗅覚受容体は最も大きなGPCRファミリーであり、嗅覚以外でも様々な細胞で機能することが明らかになっています。前会長の鳥越先生たちは、嗅覚受容体OR7C1が大腸がん幹細胞で特異的に発現することを発見し、大腸がん免疫療法の新たな標的として研究を進めています(11)。我々は、嗅覚受容体の発現に関わる分子から臨床ストレス応答研究に貢献したいと考えています。

さて、自己紹介が長くなってしまいましたが、生命は様々なストレスにさらされながら進化してきました。ストレス応答こそが生命科学の本質であり、基礎から臨床までをつなぐキーワードです。臨床ストレス応答学会は小さな学会ですが、臨床から基礎の幅広い分野の研究者が集まる場所であり、稀有な学会だと思います。この価値を生かしながら、さらに魅力的な学会にすることが私の使命だと考えています。私自身の能力は限られているので、会員の皆様のご協力をお願いいたします。

- (1) Biochim Biophys Acta. (1988) 933:141-55.
- (2) J Biochem. (1995) 118:347-54.
- (3) J Biol Chem. (1996) 271:17343-8.
- (4) J Biol Chem. (2008) 283:34773-84.
- (5) J Mol Biol. (2014) 426:447-59.
- (6) PLoS One. (2013) 8:e64176.
- (7) PLoS One. (2017) 12:e0176054.
- (8) Structure. (2021) 29:721-730. e6.
- (9) J Biol Chem. (2019) 294:14661-14673.
- (10) Proc Natl Acad Sci USA. (2020) 117:2957-2967.
- (11) Clin Cancer Res. (2016) 22:3298-309.

< Expert Series No. 2 >

本学会の前身である「臨床ストレス蛋白質研究会」の創設当初からご尽力賜りましたアドバイザーの先生にご寄稿いただき、連載することとなりました。第2回目は、中部大学名誉教授 大塚健三先生です。

はじめに

筆者は約 40 年にわたり、がん温熱療法 (ハイパーサーミア) の基礎研究として、熱ショックタンパク質 (heat shock proteins、HSPs) および分子シャペロンの研究にたずさわってきました。大きな研究グループを形成することはできませんでしたが、哺乳類の HSP40 の発見というささやかながらもオリジナリティーのある研究成果を残すことができました。2020 年 3 月に中部大学を定年退職したこともあり、HSP40 発見の経緯などを、原著論文には記載されないさまざまなエピソードも交えて記録に残しておくことが必要であると思い、筆を取った次第です。

最近、永田和宏先生が「BSSR Japan NEWS LETTER No. 16」に、格調高い回想録を寄稿されています。永田先生は熱ショック応答分野の初期のころから世界のトップランナーの一人として舞台上で活躍されており、海外の一流の研究者と研究の面だけでなく個人的な付き合いもされています。この回想録は華麗なる交友録でもあります。ここに登場する海外の研究者の中には筆者も面識のある方もおり、懐かしく拝読させていただきました。筆者はこの分野の片隅で熱ショック応答研究の動向を見つめてきました。本手記は筆者の個人的な研究の歴史ではありますが、筆者の目からみた、それも微管 (細い管) を通してみたこの研究分野の背景にも言及しています。この手記が永田先生の回想録を補完するものとなれば幸いです。

HSP 研究への道のり

筆者は 1981 年 4 月、31 歳のときに縁があって、愛知県がんセンター研究所放射線部の研究員として採用していただきました。そのときの部長が中村弥 (なかむらわたる) 先生 (故人) であり、マウスを用いたがんの温熱療法の基礎研究をやっていました。筆者もしばらく中村先生と一緒に研究していましたが、2 年ほどで中村先生は退職することになりました。研究室名は放射線部なので、もともとは放射線によるがん治療の基礎研究を目的とした部門です。



中村弥先生と筆者。

1970 年代から 80 年代にかけて、がん細胞は放射線だけでなく、43~45°C という人間にとっては少し高めの温度で処理すると殺すことができることから、温熱によるがん治療の研究が盛んになりつつありました。これが、がん温熱療法、いわゆるハイパーサーミア (hyperthermia) の始まりです。熱というの波長はちがうけれども放射線とおなじ電磁波ということもあり、世界中の放射線生物学の研究者たちの多くが、培養細胞やマウスを用いてがん温熱療法の基礎研究を始めていました。中村先生もそのうちのお一人でした。

培養細胞を用いた熱による細胞死の研究で間もなくわかったのは温熱耐性という現象です。たとえば、細胞を 45°C で 15 分間処理すると、一部の細胞は死にますがまだ多くの細胞は生き残っています。それらの細胞を 37°C で数時間おいてから、ふたたび 45°C で 60 分処理するとします。細胞を最初から 45°C で 60 分間処理すると、ほとんどの細胞は死にますが、あらかじめ 45°C で 15 分間の処理を受けた細胞は死にくくなるのです。つまり、あらかじめ軽い熱ストレスを受けた

細胞は、少し後にくる強い熱ストレスに対して抵抗性になるのです。これを温熱耐性

(thermotolerance) といいます。がん治療によく使われる抗がん剤や病原性微生物に対する抗生物質の場合も、かならず薬剤耐性の細胞や病原菌が発生してきて治療の妨げになっています。温熱の場合も耐性が生じるので、がん治療には向かないのではないかと当初は考えられていました。しかしこの温熱耐性は、軽く温熱処理した細胞を 37°C で 3~4 日培養しておく、その耐性が消滅することがわかったのです。つまり、温熱耐性は一過性の現象だったのです。したがって、実際の臨床では、繰り返し治療を行うとしても、1 週間に 2 回程度の温熱療法であれば温熱耐性は消滅しているので、問題にならないだろうということで、臨床応用が始まりました。それにしてもこの温熱耐性という現象は、細胞の中で何が起きているのか、分子レベルではどのように説明できるのか、など不明な点が多くありました。しかし、この温熱耐性という現象は、細胞をストレスから防護するすぐれた防御機構であることがわかってきたのです。

このがんの温熱療法の基礎研究とは別に、もう一つの研究の流れが熱ショックタンパク質 (heat shock proteins、HSPs と略、通常複数形の s を付ける) に関する分野です。これは、最初 1960 年代の初めに、リトッサ (Ferruccio Ritossa) がショウジョウバエで発見した現象ですが、1970 年代後半から 80 年代にかけて、すべての細胞や個体で、それこそ、大腸菌からヒトまで、それぞれの生育温度から 5~10°C の高い温度で短時間処理すると、それまでは合成していなかった新しいタンパク質が合成されてくることがわかってきたのです。熱ショックによって合成されてくることから、熱ショックタンパク質 (HSPs) と呼ばれるようになりました。この HSPs もまた、軽い熱ショックのあと 1~2 日ほどで多く合成されますが、3~4 日もすると次第になくなっていきます。1980 年ころには、先に述べた温熱耐性と HSPs がどうも関係しているらしいということが、いくつかの研究グループから報告されていました。

1982~83 年当時、中村弥先生が愛知県がんセンターを退職することになりましたので、筆者は独立した研究者としてその後どのような研究をしていくか迷っていましたが、基礎の研究者ということもあり、生物学的に興味のある研究で、しかも将来性のある分野として HSPs の研究を開始しました。それは、がん温熱療法の基礎研究、特に温熱耐性の分子メカニズム解明という意味合いもありました。手始めは、当時 HSPs の研究手段として頻繁に使われていたオフアーレルの二次元電気泳動法を独学でマスターし、すでに報告されていた HSP70 について、哺乳類細胞から精製して抗体を作製し、その細胞内局在などを調べていました [1]。1986 年 11 月から 2 年間は、アメリカ・ミズーリ州セントルイスにあるワシントン大学で、アンドレイ・ラツロー

(Andrei Laszlo) 博士と一緒に、おもに培養細胞を用いてさまざまな加温条件下での HSP70 の細胞内局在の研究をしました [2]。ラツロー博士は、チャイニーズハムスター由来の細胞から熱に抵抗性の変異細胞株を最初に単離した方です。



Gloria Li と Andrei Laszlo。Gloria Li は温熱耐性と HSPs の関係について精力的に研究を進めた。

1980 年代の HSP 研究の状況

「HEAT SHOCK From Bacteria to Man」

1970 年代後半から 80 年代にかけては HSP 研究が徐々に盛んになってきた時代です。そのような状況のなか、さまざまな生物種の熱ショック応答の研究にたずさわる世界中の研究者が一堂に会

して、1982年5月にアメリカニューヨーク州のロングアイランドにある Cold Spring Harbor Laboratory (CSHL、分子遺伝学研究のメッカといわれている) で国際会議が開催されました。これはリトッサの熱ショック応答の発見から20周年を記念する会議でした。そしてこの会議での発表内容をまとめた本が出版され、そのタイトルが「HEAT SHOCK From Bacteria to Man」です [3] (図1)。まさにバクテリアからヒトまで、熱ショック応答はそれまで調べられた全ての生物で普遍的に起こる現象であることがわかってきたのです。筆者も1983年ころからヒトやマウスの細胞で熱ショックタンパク質の研究を始めていたので、さっそくこの本を取り寄せて、この分野の最先端の研究は今どうなっているのか貪るように読んだ記憶があります。そこには、まだ論文として発表されていない萌芽的な研究成果が多く記載されています。たとえば、大腸菌や酵母、ショウジョウバエの HSP70 が互いによく似ていること (相同性があること)、ショウジョウバエのいくつかの熱ショック遺伝子上流には共通の塩基配列があること (のちに heat shock element、HSE の発見につながる)、熱ショックタンパク質と温熱耐性との相関性、細胞内の異常なタンパク質が熱ショック応答を引き起こすのではないか (のちにタンパク質毒性 proteotoxic stress による熱ショック応答の誘導という考え方につながる)、などです。この本は、当時の熱ショックタンパク質の研究者にとって一種のバイブルのような存在でした。

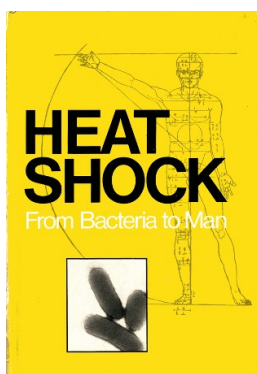
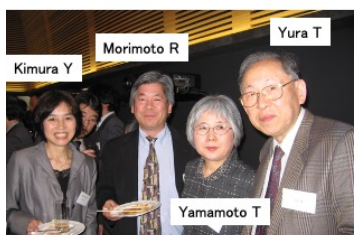


図1. HEAT SHOCK From Bacteria to Man の表紙。

この本の参加者リストを見ると、その後のこの分野の大御所となっていく研究者 (たとえばモリモト [Richard Morimoto]、リンドクイスト [Susan Lindquist]、ハイトワー [Lawrence Hightower] など) に加えて、日本からは由良隆氏 (当時京大ウィルス研究所) や矢原一郎氏 (当時東京都臨床医学総合研究所) の研究グループも参加しています。



分子シャペロン研究者の方々。



ちなみに熱ショック応答に関する CSHL における国際会議は、当時研究所長をしていたジェームズ・ワトソン (James Watson) のサポートもあったようで、2 回目の会議が 1991 年に開催され、その後 2 年か 3 年ごとにほぼ定期的に開催されるようになります。筆者も 1994 年と 2000 年の会議に参加し、いずれも、後述する HSP40 についてポスター発表を行いました。

余談になりますが、CSHL の正面玄関に入ったロビーには、高さ 3~4 メートルほどの DNA 二重らせんのモニュメントが飾られており、会議の参加者はこの前で記念写真などを撮影したりしています。ここではさまざまな分野の国際会議が 3-4 日の日程で開催されますが、最終日前日の夜には室内楽のコンサートがよく行われています。そのコンサートにしばしば所長（後に会長）のワトソンも参加することがあり、運が良ければ会うことができ、写真も一緒にとってくれることがあったようです。残念ながら、筆者にはそのような機会はありませんでした。

永田和宏先生との出会い

1986 年 11 月の渡米の前後だったかと記憶していますが、筆者は永田先生の HSP47 の JCB の論文を目にしており、面白い HSP があるものだなあ、と思ったものです。その時点では永田先生とは面識はありませんでしたが、1988 年 11 月に帰国してから、永田先生がハイパーサーミア関係のがん特別研究で研究班を組織するというので声をかけていただき、班員にさせていただきました。その後の矢原氏の「ストレス応答の分子機構」や、永田先生の「分子シャペロンによる細胞機能制御」にも班員として参加させていただきました。筆者の手元には、これら 2 つの研究班の研究者一覧や研究成果報告書がありますが、当時の錚々たる研究者が名を連ねています。後述するように、永田先生には HSP40 発見の論文で共著者になっていただいたこともあり、研究の面で種々ご指導をいただきました。



2003 年カナダケベックにて。

オファールレルの二次元電気泳動法について

さて 1988 年 11 月に帰国後、愛知県がんセンター研究所でこれから何を研究していくのか考えていましたが、すでにわかっている熱ショックタンパク質を研究対象とするには世界的にも競争が激しくなることが予想されました。そこで 1 人前の研究者としてやっていくには新しい熱ショックタンパク質を見つけなければならないと強く思っていました。当時、熱ショックタンパク質の検出は、一次元の SDS-PAGE よりも多くのタンパク質を解析できるオファールレルの二次元電気泳動法が主流になっていました。以下に、二次元電気泳動法について少し解説します。

二次元電気泳動法というのは、1975 年にオファールレル (PH O'Farrell) によって報告された方法です [4]。これはタンパク質のもつ等電点 (isoelectric point, pI) と分子量という 2 つの互いに異なる性質を利用して分離する方法です。つまり、一次元目では等電点の差によって分離し（等電点電気泳動）、二次元目では SDS-PAGE を用いて分子量によってタンパク質を分けます。その結果、個々のタンパク質はスポットとして平面（二次元）に分布します（図 2A）。

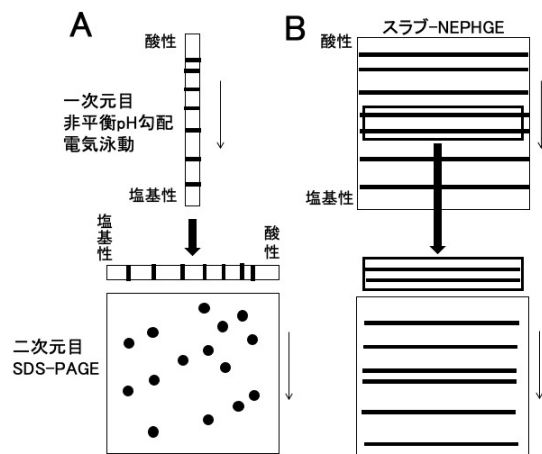


図 2. オファールの二次元電気泳動の原理。
A：通常の二次元電気泳動方；B：スラブ
NEPHGE。詳しくは本文参照。

もう少し詳しく述べると、一次元目は細いガラス管を用いて、電圧をかけると pH 勾配が形成される試薬と一緒にアクリルアミドゲルを作成し、そこに細胞溶解液を入れて電圧をかけます。すると、タンパク質はそれぞれの等電点（タンパク質の電荷がゼロになる pH のこと）のところで移動が停止します。つぎにガラス管からゲルを抜き取り、二次元目の平板状のアクリルアミドゲルの上に横にして乗せて SDS-PAGE を行い、分子量で分離します。その結果数百個から多ければ数千個のタンパク質がスポットとして検出されることになります。この方法を IEF (isoelectric focusing) /SDS-PAGE といいます。

ただ、この方法では一次元目で形成される pH の範囲がせいぜい pH 4 から pH 7 くらいなので、pI 8 以上の等電点をもつ塩基性タンパクの検出は困難でした。そのときにわかっていた熱ショックタンパク質の多く（HSP90、HSP70、HSP60、HSP27 など）は等電点が pI 7 以下の酸性タンパク質だったので、IEF/SDS-PAGE の二次元電気泳動法で検出できていました。

オフアーレルはさらに 1977 年に塩基性タンパク質も検出できる二次元電気泳動法を発表しました [5]。この方法の一次元目は電圧をかけると pH 勾配は形成されますが平衡状態にならず、電圧をかけ続けるとタンパク質はどんどん移動していくので、適当なところで電気泳動を止めることになります。二次元目はやはり SDS-PAGE です。この方法では酸性タンパク質とともに pI が 8~10 程度の塩基性タンパク質もよく検出できます。一次元目の電気泳動は非平衡 pH 勾配ということで、non-equilibrium pH gradient electrophoresis (NEPHGE) と呼んでいます。

HSP40 の発見

話は元に戻ります。1988 にアメリカから帰国してから、愛知県がんセンター研究所の同僚の中村普武（なかむらひろむ）氏と話しているとき、彼がひょっとしたら塩基性の領域にも熱ショックタンパク質があるのではないかと示唆してくれました。



愛知県がんセンター研究所のメンバー
（右端が中村普武氏）。

そこでさっそく、オファール 1977 年の方法、つまり、上で述べた NEPHGE/SDS-PAGE を試してみたところ、なんと熱ショックを与えたマウスの細胞において、塩基性で分子量が約 40 kDa のタンパク質が現れたのです (図 3)。そのときには小躍りして喜んだものです。再現性があるかどうか何回も何回も実験を行いました。マウスだけでなくヒトやラット、またニワトリの細胞でも同じ 40 kDa のタンパク質が検出されました。この 40 kDa のタンパク質は既知の HSP70 と同様に、熱ショックだけでなくヒ素やアミノ酸アナログ (アゼチジンカルボン酸) でも誘導されます。さらに転写阻害剤のアクチノマイシン D で処理するとその発現が抑制されます。このことは 40 kDa タンパク質が熱ショックによって新しく合成された mRNA から翻訳されてくることを意味します。まさに、他の熱ショックタンパク質 (特に HSP70 など) の誘導条件によく合致します。またこのタンパク質は塩基性タンパク質で pI が約 9.2 と推定されました。

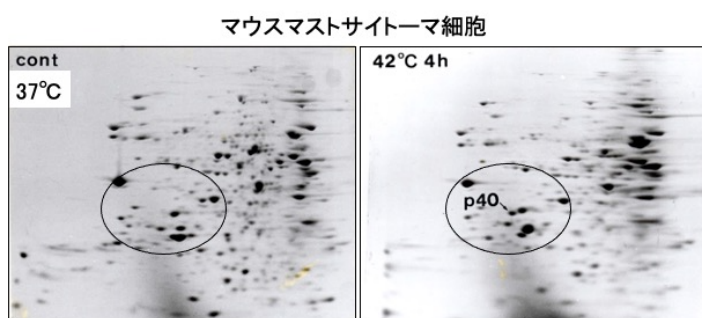
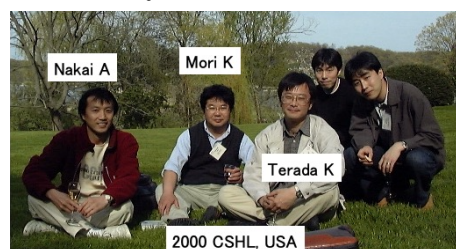


図 3. HSP40 の発見。矢印の p40 が HSP40。

ただ、そのころ解糖系のエノラーゼという酵素が熱ショックによって誘導されるという矢原氏らの報告もあり、この 40 kDa タンパク質が解糖系の酵素ではないことを確かめなければなりません。そこで解糖系の酵素のうち分子量が 40 kDa 付近で塩基性の、アルドラーゼ、グルセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ホスホグリセリン酸キナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼなどを購入し、二次元電気泳動でスポットの位置の異同を検討、さらにスポットを切り出してペプチドマップによっても、40 kDa タンパク質とは異なることを確かめました。

また、既知の HSPs の分解産物ではないか、との懸念もありました。これも私が既に持っていた抗 HSP70 抗体とは反応しないことから、少なくとも HSP70 の分解産物ではないことが示されました。

さらにもう一つの問題は、このときすでに永田先生が HSP47 を報告していたことです。HSP47 も pI が約 9.0 で分子量が 47 kDa であり、二次元電気泳動では 40 kDa タンパク質と非常に近くに検出されます。それから、当時永田先生と一緒に研究していた中井彰氏 (現在は山口大学) が、やはり分子量 37 kDa で pI が 8.8 のタンパク質が熱などのストレスで誘導されることを見出していました。ひょっとしたら 40 kDa タンパク質はこれらのタンパク質と同じものを見ているのではないかと懸念がありました。そこで、永田先生や中井氏とお互いに情報を交換して検討したところ、別のタンパク質であることが判明しました。まさにニアミスの状態でした。そこでこの 40 kDa タンパク質に HSP40 と名付けて、永田氏と中井氏の共著論文として、無事に 1990 年に発表することができました [6]。なおもう一人の共著者は増田彰氏です。彼は愛知県がんセンター研究所で隣の研究室の研究員で、彼が持っていた細胞を分けてもらったり一緒に議論したりしていました。



2000 年 CSHL にて。左端が中井彰氏。



愛知県がんセンター研究所のメンバー（右端が増田彰氏）。

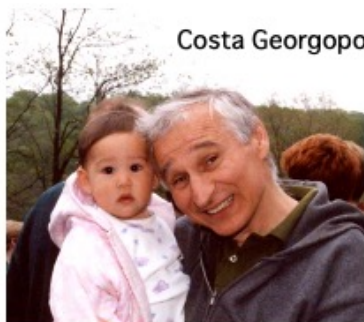
同じタンパク質を別の方法で後から見つけても新規性はありません。2 番手では評価されないのが科学の世界です。あとで永田先生から聞いた話では、HSP47 を調べた二次元電気泳動のデータをよく見たところ、確かに HSP40 のスポットも認められたと述べていました。彼は HSP47 を調べていたので他のタンパク質には気がつかなかったのかもしれませんが。

コスタ・ジョージオポラス (Costa Georgopoulos) 氏との出会い

HSP40 発見の論文は 1989 年 12 月に投稿し、翌年 1990 年 1 月に発表されました。その 1990 年春に由良先生と永田先生が、京都で HSPs に関する国際シンポジウムを開催し、私も HSP40 について発表する機会をいただきました。そこには当時のコロラド大学で大腸菌の HSPs である DnaK、DnaJ、Grp E などの機能を研究しているジョージオポラス氏も出席していました。私の HSP40 の話を聞いて、ジョージオポラス氏が「Is not it a DnaJ protein?」と質問してきました。その頃は HSP40 のアミノ酸配列や DNA 塩基配列についてのデータはなかったので、HSP40 が DnaJ の相同体であるかどうかは不明でしたので、「Is it (DnaJ) a basic protein?」と逆に問い返したところ、「Yes」という返事でした。

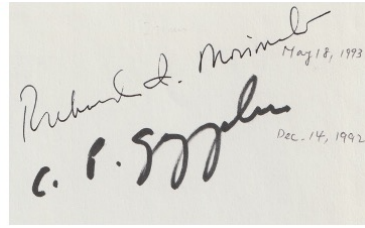
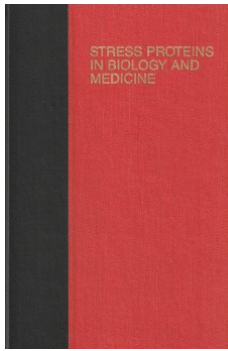
1990 年当時、HSP 研究は大腸菌、酵母、ショウジョウバエ、哺乳類細胞などで研究されており、大腸菌の DnaK が真核細胞の HSP70 の相同体であることはアミノ酸配列な（約 50% の相同性）から分かっていました。しかし大腸菌 DnaJ に対応する哺乳類の相同体は未知だったので。この後に述べるように、私の発見した HSP40 が、まさにジョージオポラス氏が予想したように DnaJ の相同体であることが判明したのです。

なお、ジョージオポラス氏とはその後 1992 年に京都での日本分子生物学会に招待講演で来日したおりに、ついでに愛知県がんセンターに来ていただき、彼の研究を講演していただきました。その時には HSP40 の部分的なアミノ酸配列が決定しており、HSP40 が DnaJ の相同体であることを彼に話しました。それ以降も国際会議でたびたび彼とは会う機会がありました。



1994 Cold Spring Harbor Lab.

1994 年 Cold Spring Harbor Lab.にて。



1990年に発刊された「STRESS PROTEINS IN BIOLOGY AND MEDICINE」(Edited by RI Morimoto, A Tissieres, and C Georgopoulos)の表紙。右は、この本に記されたRI Morimoto氏(1993年5月18日)とC Georgopoulos氏(1992年12月14日)のサイン。いずれも愛知県がんセンター研究所に来ていただいたときに書いてもらった。

HSP40の精製—点から線へ—抗体作製、cDNAクローニング

さて、このあとも一苦勞でした。二次元電気泳動法で新しいHSP40は見つかりましたが、タンパク質を詳しく研究するためにはまず大量に精製して部分的にでもアミノ酸配列を決めたり、抗体を作製したりしなければなりません。しかし、HSP40は何かの酵素活性があるのかどうかわかりませんでしたので、酵素活性を手掛かりに精製することもできません。それでもとにかく数種類のカラムクロマトグラフィーを用いて部分的に精製しては各分画を二次元電気泳動にかけてHSP40が濃縮されているかどうかを調べる、という手間のかかるやり方も試みましたがうまくいきません。しまいには、100枚以上の二次元電気泳動のゲルからHSP40のスポットを切り出し、ゲルからHSP40を溶出してアミノ酸配列を決めましたが、せいぜい10個ほどしか決めることができませんでした。これではすでに知られているタンパク質との相同性を比較するには不十分です。

そのころ名古屋大学医学部口腔外科から派遣された大学院生の服部浩朋君と一緒に仕事をしてくれていました。



1992年愛知県がんセンター研究所にて。右端から服部浩朋君と山根光雄君。左端の徳増幸子さんには論文作成などでお世話になった。

彼と苦勞を共にしながら、二次元電気泳動法を使ってHSP40を大量に精製する方法をようやく思いついたのです。まさに発想の転換が必要でした。どういふことかといいますと、二次元電気泳動法ではタンパク質は「点(スポット)」として検出されますが、この「点」を「線」にすれば大量にタンパク質が得られるはずだ、と考えたのです。通常の二次元電気泳動では一次元目はガラス管を使いますが、そのガラス管を何本も並べた状態、つまり一次元目を平板の状態で泳動し、HSP40の部分を切り取って二次元目の泳動(SDS-PAGE)をすれば各タンパク質は「線」として検出されることに思いいたったのです(図2B)。実際にやってみると、確かにHSP40は1本の長い「線」として検出されました(図4)。この「線(バンド)」を切り出してゲルからHSP40を溶出することで、大量に精製することができたのです。ここからHSP40の研究が大きく前進しました。まさに「ブレイクスルー」できた瞬間です。「コロンブスの卵」のようなものかもしれません。HSP40の発見から2年近く経っていました。

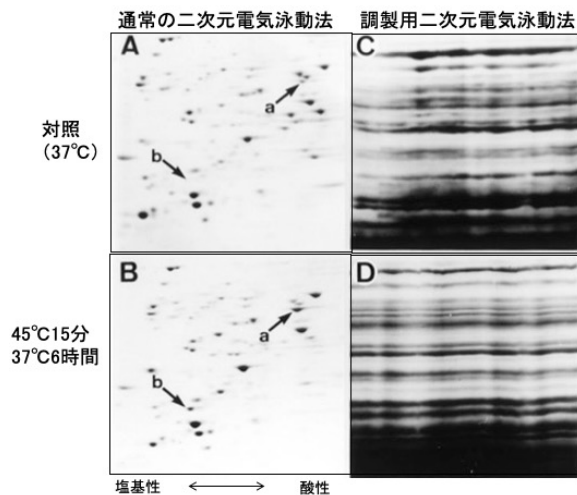


図 4. 調整用二次元電気泳動法による HSP40 の精製。D の矢尻が HSP40 のバンド。詳しくは本文参照。

この方法は、一次元目を非平衡 pH 勾配 (NEPHGE) で、しかも平板 (スラブ、slab) で行うので、Slab-NEPHGE/SDS-PAGE 法と名付けて、その実験方法を調整用二次元電気泳動法として報告しました [7, 8]。

この「線 (バンド)」から HSP40 を溶出して精製し、ウサギに免疫して抗体の作製もできました。また溶出した HSP40 のアミノ酸配列を決めたところ、アミノ末端から 48 残基の配列が決定できました。その配列をこれまで知られていた熱ショックタンパク質と比較したところ、なんと大腸菌の DnaJ とよく似ていました。さらに酵母の DnaJ 相同体ともよく似ていたのです [9]。その後、HSP40 の抗体を用いて、ヒト cDNA の発現ライブラリーから HSP40 の cDNA も単離できました。その塩基配列から、ヒトの HSP40 は大腸菌の DnaJ の相同体であることが明確になったのです [10]。その当時、大腸菌の DnaJ の相同体として酵母では SIS1 と Sec63 が同定されていましたが、哺乳類での相同体はまだ報告されておらず、いわばミッシングリンクでしたので、筆者たちの HSP40 がまさに哺乳類での DnaJ 相同体の最初の報告となりました。

HSP40 と HDJ1 との異同について

ところがじつは、このときすでにヒトの DnaJ 相同体として、HDJ1 (human DnaJ 1) が報告されていました [11]。この論文はたまたま見つかった cDNA の塩基配列を決めたところ、そこから推定されるアミノ酸配列が大腸菌の DnaJ に似ているということで、塩基配列だけの報告でタンパク質の解析はありません。そこで、HSP40 の塩基配列と比較したところ、98% の一致が見られました。しかし、HDJ1 の塩基配列から推定されるアミノ酸配列は、HSP40 のそれと 77% の相同性しか見られませんでした。よく見てみると、HDJ1 の塩基配列がどうも間違っているらしいことが判明したのです。HSP40 はアミノ末端の 48 個のアミノ酸配列がわかっていたので

[9]、それは HSP40cDNA の塩基配列から推定されるアミノ酸配列と完全に一致していました。しかし、HDJ1 のアミノ末端のアミノ酸配列は違っていたのです。違っている箇所の塩基配列を見てみると、HDJ1 は塩基が一つ抜け落ちていたり、余分に付け加わったりして、いわゆる「フレームシフト」を起こしていたのです。そのほかにも数カ所で「フレームシフト」が見つかりました。「フレームシフト」とは、3 つの塩基で 1 つのアミノ酸を規定しているので、塩基が 1 つや 2 つが抜け落ちたり付け加わったりすると、「読み枠」がずれて違うアミノ酸配列になってしまうことです。HDJ1 はタンパク質の情報がないので、その塩基配列が正しいかどうか確かめるすべがなかったのだと思われます。そのようなことから、HSP40 と HDJ1 は同一の遺伝子産物であると結論しました [10]。後日談ですが、筆者が作製した HSP40 に対する抗体が HDJ1 を認識することは、モリモト氏らによって確かめられました [12]。これはこの両者が同一のタンパク質であることの証拠です。

なお、筆者のグループ（秦眞美氏との共同研究）は、ヒト HSP40 の遺伝子を単離して、3つのエキソンからなること、またそのプロモーター領域には熱ショックエレメント（heat shock element、HSE）の存在も確認し、HSP40 は HSF1（heat shock factor 1、熱ショック転写因子）が HSE に結合することによって発現誘導されることも示しました [13]。



1994 愛知県がんセンター研究所にて。左が秦眞美さん。

愛知県がんセンター研究所では、やはり名大医学部口腔外科から派遣されていた大学院生の山根光雄君、杉戸一博君、兼子隆次君などが HSP40 の研究を手助けしてくれました [14, 15, 16]。



1993 年秋、愛知県足助町の香嵐溪にて。杉戸一博君と Hartl 氏。

筆者たちがウサギに免疫して作製したヒト HSP40 に対する抗体（ポリクローナル抗体）は非常に特異性が高く、二次元電気泳動で展開したタンパク質に対してウェスタンブロット（抗体を用いてそれと反応するタンパク質を検出する方法）を行っても、たった一つのタンパク質（HSP40）とのみ反応し、それ以外の DnaJ 相同体とはまったく反応しません [7]。また抗体価も高く、得られたウサギ抗血清を数千倍に希釈しても HSP40 を検出できます。このようなことから、この抗体を当時のストレスタンパク質関連の抗体などを専門に扱う「StressGen」という企業に販売を委託したこともあります。

余談になりますが、緑色蛍光タンパク質（green fluorescent protein、GFP）の発見により 2008 年にノーベル化学賞を受賞した下村脩氏の著書に、名古屋大学の平田義正教授のもとで研究していた頃の苦労話がつづられています [17]。

「当時は、もし『ウミホタルルシフェリンの精製と結晶化』に成功しても、それで私がどうなるという話はまったくなかった。しかし、不成功なら、私は多分、万年助手で生涯を終わることになると思った。それは、考えるだけでもいやな人生である。私は全身全霊で努力した。そして実験をはじめて 10 ヶ月たった 1956 年 2 月のある寒い夜に、意外なことから突然結晶化に成功したのである。」とあります。筆者も似たような心境で HSP40 の精製に日夜奮闘していた 1991～92 年ころのことが懐かしく思い出されます。

リック・モリモト氏との接点

モリモト氏は、前述した「HEAT SHOCK From Bacteria to Man」にも登場しているように、熱ショック応答研究の初期からこの分野を牽引してきている大御所です。じつは筆者は海外に留学するときに、モリモト氏をはじめとしてこの分野の主だった研究者 10 数人に留学申請の手紙を送っていました。最終的に引き受けてくれたのがアンドレイ・ラツロー氏でした。筆者は 1986 年 11 月に渡米しましたが、その年の 12 月に、セントルイスにあるワシントン大学にモリモト氏が招待されて講演に来ていました。筆者も彼の講演を聞いていましたが、彼の話す英語がうまいので感心していました。一緒に聞いていた日本人の友人も、「なんと流暢な英語を話す日本人なんだろう」と、驚いていました。モリモト氏は講演の後にラツロー氏の研究室に立ち寄りしたので、筆者は初めて彼にお会いすることができました。そこで話していたら、彼は「I am sansei (三世)」と言ったので、筆者は彼の英語のうまさを納得した次第です。彼の正式な名前は、Richard I. Morimoto ですが、ミドルネームの I は、Isamu (イサム) という日本名ということも話してくれました。なお、1993 年頃モリモト氏がサバティカルで大阪大学に来ていたときには、愛知県がんセンターにも来ていただき講演をしていただいたことがあります。その後もモリモト氏とは国際会議などでたびたびお会いする機会がありました。



1993 年愛知県がんセンターにて。

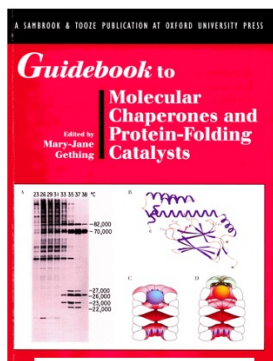


1999 年キーストーンにて。

余談になりますが、モリモト氏と永田先生との対談記事が、特定領域研究「タンパク質の一生」(領域代表：吉田賢右)の情報誌 No. 12 に掲載されています。モリモト氏がどのような経緯で熱ショックタンパク質を研究するようになったか、などの経歴が詳しく紹介されています [18]。

HSP40 が正式に登録される

1997 年に Oxford University Press から、その時点までにわかっていた熱ショックタンパク質や分子シャペロン、およびタンパク質折りたたみに関与するすべてのタンパク質を網羅するカタログのような本が出版されました [19]。このなかに、永田先生の HSP47 や筆者の HSP40 についても記載されています。この本に記載されたことで、HSP40 が HDJ1 と同一であることとともに、正式に熱ショックタンパク質の仲間入りしたことになります。つまり HSP47 と HSP40 は日本発の HSP ということになります。



(1997 Oxford University Press)



引用文献 14 の表紙と HSP40 の本文、右はこの本の編者 Gething 氏。森和俊氏と。

HSP40(DnaJ)ファミリータンパク質の命名法の提案

筆者の HSP40 の発見以降、1990 年代には哺乳類において DnaJ 相同体が相次いで見出されるようになりました。それらの DnaJ 相同体タンパク質のアミノ酸配列を比較してみると、3つのグループに分けられることが報告されていました。大腸菌の DnaJ は、アミノ末端から 70 アミノ酸は、他のすべての DnaJ 相同体と非常によく似た配列を持っているので J ドメイン、と名付けられました。その後ろにはグリシン (G) とフェニルアラニン (F) の多い G/F ドメインが、また中央部分にはシステイン (C) の多い C ドメインが存在します。ところが他の DnaJ 相同体を見てみると、J ドメインはすべての相同体が持っていますが、C ドメインがないものや、G/F ドメインと C ドメインの両方がない相同体もあります。ちなみに Hsp40 は J ドメインと G/F ドメインはありますが C ドメインはありませんでした。

3つのグループは以下の通りです。

Type I : J、G/F、C の 3つのドメインを持つもの。

Type II : J と G/F の 2つのドメインを持つもの。

Type III : J ドメインのみを持つもの。

多くの DnaJ 相同体が見つかってきたのはいいのですが、その名前が研究者によってまちまちで、同じ遺伝子を別名で呼んだり、別の遺伝子に同じ名前が使われるなど、混乱していました。

1990 年代の終わりにには哺乳類で十数個の DnaJ 相同体が報告されていましたが、筆者はそれらの統一した名前が必要であると考えました。そこで哺乳類で新たに 10 個の DnaJ 相同体の cDNA の塩基配列を決定するとともに、統一的な命名法を提案しました [20]。遺伝子とかタンパク質の名前にはローマ数字 (I や II、III など) は使えないので、先に分類された Type I には A、Type II には B、Type III には C のアルファベットを使うことにしました。それぞれのグループでは報告された順番に算用数字をつけるのです。ちなみに、私の見つけた HSP40 の遺伝子は DNAJB1、タンパク質は DjB1 です。なおこの命名法はのちにハリー・カンピング (Harrie Kampinga) らによって改定され、筆者の提案がおおむね引き継がれて、遺伝子もタンパク質も同じアルファベットで表し、遺伝子はイタリックで表記することになりました [21]。筆者の見出した HSP40 の遺伝子は *DNAJB1*、タンパク質は DNAJB1 です。ただ、論文ではこれまで使われてきた名称 (HSP70 や HSP40 など) が通称として今も使われています。また、HSP40 はファミリーネームとしても使われるようになり、これは固有名詞が一般名詞になったことを意味しています。

HSP40 の機能解析

筆者のグループで HSP40 を同定し、抗体を作製し、cDNA もクローニングしました。そのあとは HSP40 タンパク質の機能解析です。ところが筆者自身の力量もあり、思うように研究を進めることができませんでした。そこで、HSP40 の抗体や cDNA を提供することで他の研究グル

ープと共同研究を進めることにしたのです。その最初がウルリッヒ・ハートル（Ulrich Hartl）氏との共同研究です。

ウルリッヒ・ハートル（Ulrich Hartl）氏との共同研究

ハートル氏は1990年代初めころ、大腸菌の系でリボソームから新しく合成されてきたポリペプチドの折りたたみには、DnaK、DnaJ、GrpE、GroEL/ESなどのHSPsが必要であることを報告していました。ハートル氏と私はそれまでに国際会議などで何回かお会いする機会がありました。1993年春にアメリカダラスで開催された放射線関係の学会でお会いしたときには、彼は真核生物でのタンパク質折りたたみの研究をしたいので、HSP40抗体を分与してくれないかと共同研究を申し込まれたのです。



1993年 Dallas, Texas にて。

余談になりますが、1993年秋にハートル氏が来日する機会があったので、ついでに愛知県がんセンターにも来ていただき講演してもらいました。その際時間的にも余裕があったので、紅葉で有名な豊田市足助町の香嵐溪に案内したことも懐かしい思い出です。



1993年秋、愛知県足助町の香嵐溪にて。

さて、ハートルらの研究は以下の通りです。そのときはまだHSP40のcDNAはクローニングされていなかったもので、精製されたHSP40タンパク質を得ることができませんでした。そこで、ハートルらは私の抗HSP40抗体を用いて、無細胞系タンパク質合成システムからHSP40タンパク質を除去するとモデルタンパク質（このときにはホタルのルシフェラーゼ）がうまく折りたたまれないことを示したのです。もちろんタンパク質折りたたみには、HSP40の他にHSP70やTric（大腸菌のGroEL/ESに対応）が必要であることを示しています。この研究成果は1994年5月、アメリカニューヨーク州にあるCSHLで開催された国際会議で発表され、論文としては94年7月のNatureに掲載されたのです[22]。この共同研究のおかげで、HSP40が一躍この研究分野の檜舞台に躍り出たような状況でした。

Cold Spring Harbor Laboratory (CSHL) でのエピソード

上で述べた 1994 年 5 月の CSHL での国際会議には、私もポスター発表でしたが参加していました。そこに、1980 年代初め頃から二次元電気泳動法を駆使して哺乳類の HSPs を精力的に研究していたウィリアム・ウエルチ氏 (William Welch) も参加していました。筆者はウエルチ氏とも国際会議で何回か会ったことがあり顔見知りでした。1993 年にハートル氏に HSP40 抗体を送ってしばらくしてウエルチ氏からもこの抗体の分与の依頼がありました。しかしハートル氏との共同研究が進行中でもあり、分与を渋っていたのです。そういう中で CSHL の会議でウエルチ氏に会ったのです。私がポスター発表しているところに彼がきて、「なぜ抗体を分けてくれないのか」と言うので、私が「いまこの抗体を使ってハートル氏と共同研究しているのでもう少し待ってくれないか」と言ったら、突然「You are stopping science、You are stopping science」と大きな声で食ってかかってきたのです。これには私もびっくりしました。たしかに医学生物学の研究分野では、公表されたまたは論文に発表された研究材料 (抗体や cDNA、細胞など) は依頼があれば分与することが暗黙のしきたりになっています。それで研究が発展するからです。それにしても「You are stopping science」と言われたときには一瞬たじろいでしまいました。もちろんハートル氏との共同研究が Nature に掲載された後にウエルチ氏には HSP40 抗体を送りましたが、非常にいい抗体だと言ってくれました。科学の世界はなかなかきびしいものだなと思い知らされたエピソードです。

ハートル氏および南康文氏との共同研究

大腸菌の HSPs である DnaK や DnaJ、Grp E などのシャペロン機能については、先に述べたようにジョージオポラス氏やハートル氏らが精力的に研究を進めていました。しかし、哺乳類の HSPs のシャペロン機能については、当初は精製されたタンパク質が大量に手に入りにくいこともあり、あまり進んでいませんでした。筆者が HSP40 の cDNA をクローニングしたことにより、それを大腸菌で発現させることで精製された HSP40 が大量に得られるようになりました。そこで、ハートル氏の研究室に留学していた南康文氏 (現在前橋工科大学) が、試験管の中で HSP70 と HSP40 のシャペロン機能について、モデルタンパク質としてルシフェラーゼを用いて解析しました。



1994 年 CSHL にて、右端が南康文氏。

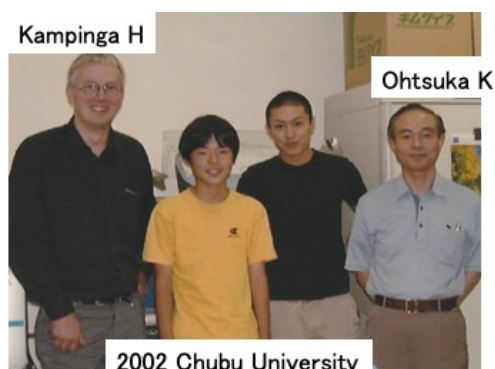
それによると、まず HSP70 と HSP40 は一緒に働いて変性タンパク質の凝集を防ぐことができることを示しました。しかし熱で変性したタンパク質の活性を回復させることはできません。ただ、ルシフェラーゼを熱で変性させるときに HSP70 と HSP40 を一緒に入れておき、その後でウサギ網状赤血球の溶解液 (さまざまな必要な因子が含まれている) を添加するとルシフェラーゼの酵素活性が回復してくることが示されました [23]。つまり哺乳類でのシャペロン系は少し複雑で、あらかじめ変性したタンパク質の回復には HSP70 と HSP40 以外の因子が必要のようです。

ハリー・カンピング (Harrie Kampinga) 氏との共同研究

カンピング氏は古くからの友人です。筆者がセントルイスのワシントン大学でラツロー氏と共同研究しているときに、彼はオランダのグローニンゲン大学から博士課程研究員として隣の研究室に留学してきており、それ以来の知り合いです。その当時彼は放射線や熱による細胞死の研究をしており、熱ショック応答や分子シャペロンの研究はやっていませんでした。永田先生の回想録にも出てくる 1990 年秋、イタリア、ナポリ近くのラベッロで開催された国際シンポジウムには私も参加していましたが、ラベッロに行く直前に筆者はオランダのグローニンゲン大学のカンピング氏の研究室を訪問し、筆者の HSP40 の研究を紹介しています。このとき筆者は彼の家に一泊させてもらいました。



1992 年 Tucson にて。



2002 年中部大学にて。

さて、カンピング氏が分子シャペロンの研究を始めたのは、1996 年頃、細胞内に導入したルシフェラーゼが熱ショックによって変性して失活し、熱ショック後に細胞を 37°C に置いておくとわずかながらルシフェラーゼ活性が回復してくる、という実験系を確立してからです。この実験系に HSP70 と HSP40 を一緒に発現させたときにどうなるかを検討したのです。結果は以下の通りです。ルシフェラーゼと一緒に HSP70 と HSP40 を遺伝子導入して高発現させておくと、加温 (42°C または 44°C) によるルシフェラーゼの失活が防護されます (図 5)。また、ルシフェラーゼと一緒に HSP70/HSP40 を高発現した細胞を少し強い加温 (43°C 30 分) で処理するとルシフェラーゼは完全に失活しますが、その後細胞を 37°C に置いておくと、失活したルシフェラーゼの活性が回復してきます。この場合、HSP40 単独では効果がなく、HSP70 単独でも少し効果がありますが、HSP70 と HSP40 の両方で最も高い回復効果が見られたのです (図 6) [24]。この実験では HSP70 と HSP40 がたしかにタンパク質変性を防護し、また変性したタンパク質の回復の促進に効果があることはわかりました。

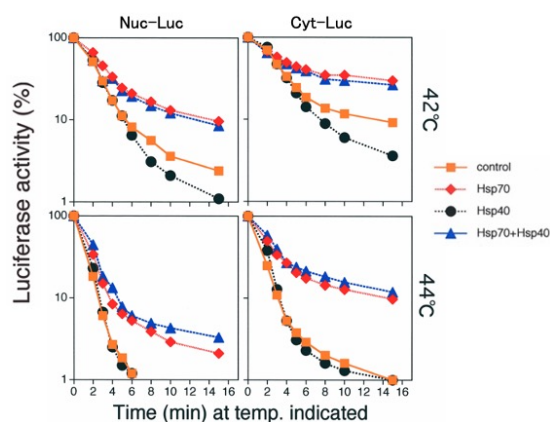


図 5. 細胞内ルシフェラーゼの熱による失活。
HSP70/HSP40 により失活が抑制される。

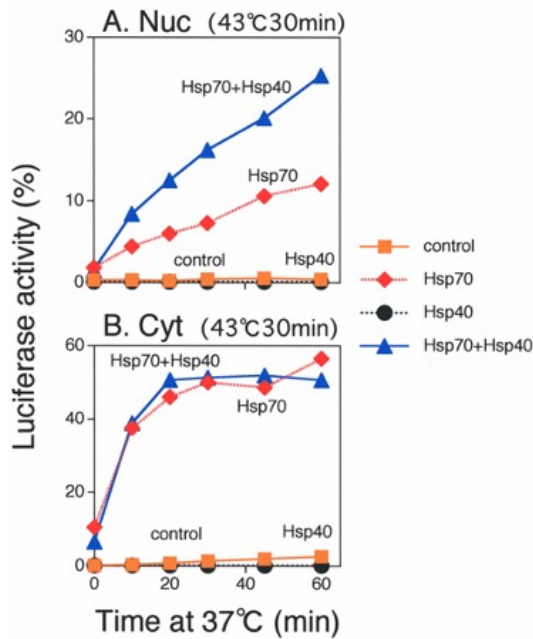


図6. 熱処理によって失活したルシフェラーゼの活性回復。HSP70/HSP40により活性回復が促進される。

2002年にカンピング氏が日本にきたときには、当時筆者は中部大学に赴任していたので、大学に招待し彼の研究を中心に分子シャペロンについて講演してもらいました。その後彼は、先にも述べたように、HSP40を含む多くのHSPファミリーの命名法を統一し [21]、またHSP40ファミリーメンバーの機能の解析などを精力的に行なっています。

祖父江元氏との共同研究（神経変性疾患への分子シャペロンの応用）

アルツハイマー病やハンチントン病などの神経変性疾患は、多くの場合神経細胞の中にある特定のタンパク質の凝集体が形成されるためにその神経細胞が死滅し、運動機能などが障害される病気です。これらの凝集体はタンパク質の折りたたみが異常になって形成されて病気が発症することから、タンパク質折りたたみ病（protein folding disease）と呼ばれることもあります。1990年代に分子シャペロンが変性タンパク質の凝集を防護できるという研究がいくつか報告されていました。そこで神経変性疾患における異常なタンパク質凝集体も分子シャペロンによって阻止できるのではないかと考えられるようになってきたのです。

そこで筆者は1998年当時、名古屋大学医学部神経内科教室で神経変性疾患の研究をしていた祖父江元氏に会い共同研究を申し込みました。研究対象は、球脊髄性筋萎縮症（spinal and bulbar muscular atrophy, SBMA）の原因タンパク質であるアンドロゲン受容体（androgen receptor, AR）です。このタンパク質のN末端付近にはグルタミン（アミノ酸1文字表記ではQ）が連続して10～30個ほど繋がった領域があります。ところが変異タンパク質はグルタミンが40個以上に伸長しています。そのためにタンパク質の構造が不安定になり神経細胞の中で凝集体が形成されることで細胞が死んで、病気が発症します。グルタミン（Q）が異常に伸長することで発症する病気という意味で、ポリグルタミン病（polyQ disease）とも呼ばれています。そこで、培養した神経細胞に97個のグルタミンが連続してつながった変異遺伝子（97Q-AR）を導入したところ、細胞質や核内に多くの凝集体が形成され、樹状突起の発達も悪くアポトーシスによる細胞死も増加しました。そこに97Q-AR同時にHSP70単独、またはHSP70+HSP40を導入すると凝集体の形成も抑制され、細胞形態も回復しアポトーシスも減少したのです [25]。同様の結果は、もう一つの神経変性疾患である家族性筋萎縮性側索硬化症（familial amyotrophic lateral sclerosis, FALS）の原因遺伝子の1つであるスーパーオキシドジスムターゼの変異体においても示されました [26]。

これらの祖父江氏と筆者との共同研究が先駆けとなり、その後世界の多くの研究者によって培

養細胞や実験動物を用いたさまざまな実験系で分子シャペロンによる神経変性疾患の発症遅延や症状軽減の効果が報告されるようになりました。

田淵圭章氏との共同研究（変異タンパク質の機能回復）

周知のように HSPs は分子シャペロンとして、タンパク質の折りたたみ、タンパク質変性の防護や変性タンパク質の再折りたたみなどに働いていますが、HSPs が作用する相手のタンパク質（クライアントと呼ぶこともある）は、あくまでも正常なアミノ酸配列を持ったタンパク質です。ところが、変異したタンパク質であっても HSPs の分子シャペロン機能によって正常な立体構造や活性を回復するという報告がいくつかありました。

そこで、田淵圭章氏（たぶちよしあき、富山大学）は温度感受性変異細胞を利用して HSP70/HSP40 の分子シャペロン機能を検討しました。温度感受性変異細胞というのは、アミノ酸が 1 個だけ変異しており、それが 33°C では野生型の活性を持っているのですが、39°C にするとその変異によって構造が少し変化して活性がなくなる、というタンパク質を持った細胞のことです。細胞を 33°C に戻すとそのタンパク質はまた野生型の活性が回復します。つまり 33°C での正常型と 39°C での変異型の間の変換は可逆的であり、いわば非常に弱い変異体と考えることができます。田淵氏は、温度感受性の SV40 large T 抗原を発現したマウス細胞を 39°C に移すと、変異 SV40 large T 抗原は分解されて p53-p21 細胞周期停止シグナルが活性化し、細胞の増殖は止まってしまう。ところがこの細胞に HSP70 と HSP40 を高発現すると、変異 SV40 large T 抗原の分解が抑制されて p53-p21 細胞周期停止シグナルは活性化しないので、細胞の増殖が回復するのです [27]。つまり、HSP70 と HSP40 の分子シャペロンのおかげで温度感受性の変異 SV40 large T 抗原は 39°C でも正常な機能を維持できるということです（図 7）。



右が田淵圭章 [たぶちよしあき] 氏。

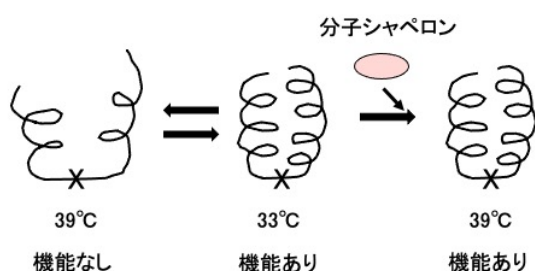


図 7. 軽微な変異であれば分子シャペロンによって機能回復が可能となる。

分子シャペロンの定義によると、相手の基質タンパク質の折りたたみなどを手助けするだけで、最終的な立体構造には影響を与えないことになっています。しかし、上で述べた結果は、明らかに分子シャペロンが過剰に存在すると、変異したタンパク質であっても正しく折りたたまれて正常に機能するようになることを示しています。ただ、タンパク質の変異でも大きく構造変化を引き起こしたり、リン酸化部位や活性部位のアミノ酸変異などの場合には、いくら分子シャペロンといえども機能回復は難しいと思われます。

分子シャペロン誘導剤ペオニフロリンの発見

筆者は 2001 年 4 月から中部大学応用生物学部に赴任することになりました。そこでは HSP40

の研究からは少し離れて、漢方薬の中から分子シャペロン誘導剤の探索を始めました。まもなく見つかったのがボタン科のシャクヤクの根の主成分であるペオニフロリンです [28]。この化合物をマウスに腹腔投与すると胃に HSP70 が誘導されてきます。そこで、マウスにあらかじめペオニフロリンを腹腔投与しておく、と、塩酸による胃の障害が軽減されることがわかりました [29]。また、神経変性疾患モデルマウス (SBMA) にペオニフロリンを腹腔投与すると症状が改善するとともに寿命も延長することも報告しています [30]。

以上が、筆者が多くの共同研究者とともにこれまで研究してきたことの紹介です。以下に最近のトピック、シャペローム、について紹介します。

シャペロームについて

分子シャペロン機能を持つ HSPs や、それらと相互作用して一緒に働くシャペロン補助因子 (cochaperone、コシャペロン)、およびタンパク質折りたたみに関与する酵素などを全てまとめてシャペローム (chaperome) と呼ぶことが提唱されています [31]。表 1 には 8 つの機能的ファミリーとそれぞれに属するメンバーの数が表示されています。総計 332 個で、シャペロン機能を持つのが 88 個、残りがコシャペロンで 244 個です。シャペロン機能を持つのが 88 個のうち ATP 依存性 (ATP のエネルギーを使ってシャペロン機能を営む) が 50 個、ATP 非依存性が 38 個です。表の一番上にある TPR というのは、tetra tricopeptide repeat ドメインを持つタンパク質のことで、HSP90 や HSP70 の C 末端にある EEVD 配列 (Glu-Glu-Val-Asp) と相互作用してそれらの分子シャペロン機能を調節します。この TPR ドメインを持つタンパク質 114 個と HSP40 ファミリー 49 個はすべてコシャペロンです。HSP40s のほとんどは HSP70 と相互作用するコシャペロンです。

表 1 シャペロンメンバーの数

機能的ファミリー	シャペロン	コシャペロン	計
TPR	0	114	114
HSP40	0	49	49
小胞体特異的	21	27	48
HSP90	5	41	46
HSP70	17	10	27
HSP60	14	1	15
ミトコンドリア特異的	12	2	14
小分子 HSP	10	0	10
PDF	9	0	9
総計	88	244	332

(引用文献 26 を参考にした)

なお、なお、TPR ドメインというのは、ゆるく保存された 34 個のアミノ酸から構成されるドメインで、それが 3~16 回の反復配列としてさまざまなタンパク質に存在します。たとえば HSP90 と HSP70 のコシャペロンである CHIP (C-terminal of HSP70-interacting protein) はその N 末端に 3 個の TPR ドメインを持ち、おなじくコシャペロンである HOP (HSP-organizing protein) は 9 個の TPR ドメインを持っています。

終わりに

だいぶ長くなりましたが、以上が筆者の HSP40 を中心にした研究の紹介です。ただ、HSP40 の構造解析やマウスでのノックアウトによる機能解析などは十分にできなかったのが心残りになっています。最初にも述べましたように、筆者は約 40 年間にわたってがんの温熱療法 (ハイパー

サーミ) と、HSPs や分子シャペロン研究の両方の分野に身を置いてきましたので、この間に学んできたことをまとめて記録に残そうと考えて、中部大学の生物機能開発研究所紀要や他の雑誌に、筆者の目から見たことを思いつくままに書き残してきました [32-43]。これらはウェブ上で公開されていますので、興味のある方はアクセスしていただければ幸いです。

筆者の研究人生は多くの指導者や共同研究者、また大学院生や卒業研究生に支えられて進めてくることができました。ここに改めて心から感謝申し上げます。

追記

筆者が中部大学に在籍中の 2015 年 12 月に、中部大学高等学術フォーラムにおいて、永田和宏先生に「大切な言葉の伝え方」と題して講演していただきました。これは筆者と工学部の川島信(かわしまこと)教授と共同で招待したものです。川島氏は、永田先生が 20 年余りにわたって主宰されてきた「塔」という短歌会の会員でもあります。この講演会ではサイエンスの話ではなく、永田先生のもう一つの専門である短歌の話をしていただきました。大学内の教職員だけでなく近隣の一般の短歌愛好家の方にも声をかけたところ、150 人ほどの参加者で非常に盛況な講演会でした。この講演会に合わせて学内の丸善書店で永田先生と奥様の河野裕子さんの短歌に関する著作を販売したところ数十冊ほど売れています。筆者の同僚の教授(副学長)の方はその著作を購入し、永田先生にサインを求めています。



(2015 年 12 月中部大学にて)



(講演会のパンフレット)

永田先生には非常に多忙の中、無理にお願いして中部大学までおいでいただき、心から感謝申し上げます。この講演会のパンフレットに筆者は永田先生のことを、「永田氏は科学者としても一流、歌人としても一流であり、一個人の中に両方の才能をあわせ持つ稀有な方である」と紹介させていただきました。

(2021 年 9 月 10 日脱稿、2022 年 3 月 2 日改訂)

引用文献

1. Ohtsuka K, Nakamura H, Sato C. Intracellular distribution of 73,000 and 72,000 dalton heat shock proteins in HeLa cells. Int J Hyperthermia 2: 267-275, 1986.
2. Ohtsuka K, Laszlo A. The relationship between hsp70 localization and heat resistance. Exptl Cell Res 202: 507-518, 1992.
3. Schlesinger MJ, Ashburner M, Tissieres A. Edts. 'HEAT SHOCK From Bacteria to Man' Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982.
4. O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J Biol Chem. 250:

- 4007-4021, 1975.
5. O'Farrell PZ, Goodman HM, O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of basic as well as acidic proteins. *Cell* 12: 1133-1141, 1977.
 6. Ohtsuka K, Masuda A, Nakai A, Nagata K. A novel 40-kDa protein induced by heat shock and other stresses in mammalian and avian cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 166: 642-647, 1990.
 7. Hattori H, Kaneda T, Lokeshwar B, Laszlo A, Ohtsuka, K. A stress-inducible 40-kDa protein (hsp40): Purification by modified two-dimensional gel electrophoresis and co-localization with hsc70(p73) in heat-shocked HeLa cells. *J Cell Sci.* 104: 629-638, 1993.
 8. 服部浩朋, 金田敏郎, 大塚健三: 調製用二次元電気泳動法-スラブ NEPHGE/SDS-PAGE-, 生化学, 64: 416-420, 1992. (in Japanese)
 9. Hattori H, Liu Y-C, Tohnai I, Ueda M, Kaneda T, Kobayashi T, Tanabe K. Ohtsuka K. Intracellular localization and partial amino acid sequence of a stress-inducible 40-kDa protein in HeLa cells. *Cell Struct Funct.* 17: 77-86, 1992.
 10. Ohtsuka K. Cloning of a cDNA for heat-shock protein hsp40, a human homologue of bacterial DnaJ. *Biochem Biophys Res Commun.* 197: 235-240, 1993.
 11. Raabe T, Manley JL. A human homologue of the *Escherichia coli* DnaJ heat-shock protein. *Nucleic Acids Res.* 19: 6645, 1991.
 12. Shi Y, Mosser DD, Morimoto RI. Molecular chaperones as HSF1-specific transcriptional repressors. *Genes Dev.* 12: 654-666, 1998.
 13. Hata M, Ohtsuka K. Characterization of HSE sequences in human hsp40 gene: Structural and promoter analysis. *Biochim Biophys Acta* 1397: 43-55, 1998.
 14. Yamane M, Sugito K, Hattori H, Hayashi Y, Tohnai I, Ueda M, Nishizawa K, Ohtsuka, K. Cotranslocation and colocalization of hsp40 (DnaJ) with hsp70 (DnaK) in mammalian cells. *Cell Struct Funct* 20: 157-166, 1995.
 15. Sugito K, Yamane M, Hattori H, Hayashi Y, Tohnai I, Ueda M, Tsuchida N, Ohtsuka K. Interaction between hsp70 and hsp40, eukaryotic homologues of DnaK and DnaJ, in human cells expressing mutant-type p53. *FEBS Lett* 358: 161-164, 1995.
 16. Kaneko R, Hattori H, Hayashi Y, Tohnai I, Ueda M, Ohtsuka K. Heat-shock protein 40, a novel predictor of thermotolerance in murine cells. *Radiat Res* 142: 91-97, 1995.
 17. 下村脩. 光る生物の話. p.55, 朝日新聞出版社, 2014.
 18. Life of Proteins No. 12, pp. 6-11, 2003. (in Japanese)
 19. Gething M-J. Edt. Guidebook to Molecular Chaperones and Protein-Folding Catalysts. Oxford University Press, 1997.
 20. Ohtsuka K, Hata M. Mammalian HSP40/DNAJ homologs: Cloning of novel cDNAs and a proposal for their classification and nomenclature. *Cell Stress & Chaperones* 5: 98-112, 2000.
 21. Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B, Hightower LE. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress & Chaperones* 14: 105-111, 2009.
 22. Frydman J, Nimmesgern E, Ohtsuka K, Hartl FU. Folding of nascent polypeptide chains in a high molecular mass assembly with molecular chaperones. *Nature* 370: 111-117, 1994.
 23. Minami Y, Hohfeld J, Ohtsuka K, Hartl, FU. Regulation of the heat-shock protein 70 reaction cycle by the mammalian DnaJ homolog, Hsp40. *J Biol Chem* 271: 19617-19624, 1996.
 24. Michels AA, Kanon B, Konings AWT, Ohtsuka K, Bensaude O, Kampinga HH. Hsp70 and Hsp40 chaperone activities in the cytoplasm and the nucleus of mammalian cells. *J Biol Chem* 272: 33283-33289, 1997.

25. Kobayashi Y, Kume A, Li M., et al. Chaperones Hsp70 and Hsp40 suppress aggregate formation and apoptosis in cultured neuronal cells expressing truncated androgen receptor protein with expanded polyglutamine tract. *J Biol Chem* 275: 8772-8778, 2000.
26. Takeuchi H, Kobayashi Y, Yoshihara T., et al. Hsp70 and Hsp40 improve neurite outgrowth and suppress intracytoplasmic aggregate formation in cultured neuronal cells expressing mutant SOD1. *Brain Res* 949: 11-22, 2002.
27. Tabuchi Y, Kuribayashi R, Takasaki I., et al. Overexpression of Hsp70 restores the structural stability and functional defects of temperature-sensitive mutant of large T-antigen at nonpermissive temperature. *Cell Stress & Chaperones* 11: 259-267, 2006.
28. Dai Y, Saito K, Ohmi Y, Fujie N, Ohtsuka K. Paeoniflorin, a novel heat shock protein-inducing compound. *Cell Stress & Chaperones* 9: 378-389, 2004.
29. Asai M, Kawashima D, Katagiri K, Takeuchi R, Tohnai G, Ohtsuka K. Protective effect of a molecular chaperone inducer, paeoniflorin, on the HCl- and ethanol-triggered gastric mucosal injury. *Life Sciences*, 88: 350-357, 2011.
30. Tohnai G, Adachi H, Katsuno M, Doi H, Matsumoto S, Kondo N, Miyazaki Y, Iida M, Nakatsuji H, Qiang Q, Ding Y, Watanabe H, Yamamoto M, Ohtsuka K, Sobue G. Paeoniflorin eliminates a mutant AR via NF-YA-dependent proteolysis in spinal and bulbar muscular atrophy. *Hum. Mol. Genet.* 23: 3552-3565, 2014.
31. Brehme M, Voisine C, Rolland T, Wachi S, Soper JH, Zhu Y, Orton K, Villella A, Garza D, Vidal M, Ge H, Morimoto RI. A chaperome subnetwork safeguards proteostasis in aging and neurodegenerative disease. *Cell Rep.* 2014; 9: 1135-50.
32. Ohtsuka K, Kawashima D, Asai M. Dual functions of heat shock proteins: Molecular chaperones inside of cells and danger signals outside of cells. *Thermal Medicine* 23: 11-22, 2007. (Review)
33. 大塚健三：がんにおける HSF1 および分子シャペロンの役割-がんと神経変性疾患、どちらをとるか- 中部大学生物機能開発研究所紀要 13: 22-40, 2012.
34. 大塚健三：マスター転写制御因子としての HSF1-がん、老化寿命との関わり- 中部大学生物機能開発研究所紀要 14: 19-34, 2013.
35. 大塚健三：老化・寿命研究最前線-GDF11 と NMN は不老長寿の妙薬になりうるか？- 中部大学生物機能開発研究所紀要 15：20-34, 2014.
36. 大塚健三：ストレスのない世界はない-細胞ストレス生物学入門-その 1 がん温熱療法の基礎 中部大学生物機能開発研究所紀要 16：34-44, 2015.
37. 大塚健三：ストレスのない世界はない-細胞ストレス生物学入門-その 2 温熱の細胞致死効果 中部大学生物機能開発研究所紀要 17：42-60, 2016.
38. 大塚健三：ストレスのない世界はない-細胞ストレス生物学入門-その 3 熱ショックタンパク質物語、中部大学生物機能開発研究所紀要 18：37-61, 2017.
39. 大塚健三：生存因子である HSF1 および HSPs を標的としたがん治療の試み、*Thermal Medicine*、33：1-18, 2017.
40. 大塚健三：ストレスのない世界はない-細胞ストレス生物学入門-その 4 分子シャペロン登場 中部大学生物機能開発研究所紀要 19：53-81, 2018.
41. 大塚健三：ストレスのない世界はない-細胞ストレス生物学入門-その 5 分子シャペロンと老化の関係、中部大学生物機能開発研究所紀要 20: 61-72, 2019.
42. 大塚健三：LIFE SPAN-ヒトはどこまで寿命が伸びるのか？ 中部大学生物機能開発研究所紀要 21: 31-49, 2020.
43. 大塚健三：エピシャペロームとがん、放射線生物研究、55：1-12, 2020.

学会幹事・評議員

学会幹事

青江 知彦	帝京大学ちば総合医療センターペインセンター
足立 弘明	産業医科大学医学部神経内科学講座
跡見 順子	東京農工大学工学府材料健康科学
石垣 診佑	名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学寄附講座
一條 秀憲	東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室
今泉 和則	広島大学大学院医系科学研究科分子細胞情報学
今本 尚子	理化学研究所開拓研究本部今本細胞核機能研究室
岩脇 隆夫	金沢医科大学総合医学研究所生命科学研究領域細胞医学研究分野
鵜殿 平一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻腫瘍制御学講座免疫学分野
漆谷 真	滋賀医科大学内科学講座、脳神経内科
江口 傑徳	岡山大学大学院医歯薬総合研究科歯科薬理学分野
親泊 政一	徳島大学先端酵素学研究所生体機能学分野
甲斐 広文	熊本大学大学院医学薬学研究部先端生命医療科学部門分子機能薬学講座
木村 洋子	静岡大学大学院農学研究科応用生物化学専攻
久保田 広志	秋田大学大学院理工学研究科・工学資源学部生命化学科基礎生命化学講座
小林 聡	同志社大学大学院生命医科学研究科医生命システム専攻
高橋 良輔	京都大学附属病院神経内科
武川 睦寛	東京大学医科学研究所分子シグナル制御分野
田村 保明	札幌医科大学医学部病理学第一講座
徳永 文稔	大阪公立大学大学院医学研究科医化学
鳥越 俊彦	札幌医科大学医学部病理学第一講座
内木 宏延	福井大学医学部分子病理学
中井 彰	山口大学大学院医学系研究科医化学分野
永井 義隆	近畿大学医学部脳神経内科
西頭 英起	宮崎大学医学部機能生化学
長谷川 隆文	東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座神経内科学分野
原 勲	和歌山県立医科大学医学部泌尿器科学教室
藤木 幸夫	九州大学生体防御医学研究所オルガネラホメオスタシス研究室
堀 修	金沢大学医薬保健研究域医学系神経分子標の学講座
松岡 雅人	東京女子医科大学衛生学公衆衛生学講座（環境・産業医学分野）
森 和俊	京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学教室・ゲノム情報分野
養王田 正文	東京農工大学大学院工学府生命機能科学部門
横田 伸一	札幌医科大学医学部微生物学講座

以上 33 名（五十音順）

学会評議員

青江 知彦	帝京大学ちば総合医療センターペインセンター
秋吉 一成	京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻生体機能高分子分野
足立 弘明	産業医科大学医学部神経内科学講座
跡見 順子	東京農工大学工学府材料健康科学
石垣 診佑	名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学寄附講座
一條 秀憲	東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室

The Biomedical Society for Stress Response, Japan

伊藤 英晃	東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻
今泉 和則	広島大学大学院医系科学研究科分子細胞情報学
今本 尚子	理化学研究所開拓研究本部今本細胞核機能研究室
岩脇 隆夫	金沢医科大学総合医学研究所生命科学研究領域細胞医学研究分野
鵜殿 平一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻腫瘍制御学講座免疫学分野
漆谷 真	滋賀医科大学内科学講座、脳神経内科
江口 傑徳	岡山大学大学院医歯薬総合研究科歯科薬理学分野
及川 大輔	大阪公立大学大学院医学研究科医化学
大塚 健三	中部大学
親泊 政一	徳島大学先端酵素学研究所生体機能学分野
小山田 正人	藤女子大学人間生活学部食物栄養学科
甲斐 広文	熊本大学大学院医学薬学研究部先端生命医療科学部門分子機能薬学講座
勝野 雅央	名古屋大学大学院医学系研究科神経内科
金関 貴幸	札幌医科大学医学部病理学第一講座
木村 洋子	静岡大学大学院農学研究科応用生物化学専攻
久保田 広志	秋田大学大学院理工学研究科・工学資源学部生命化学科基礎生命化学講座
桑田 一夫	岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科
小亀 浩市	国立循環器病研究センター分子病態部
小瀬 真吾	理化学研究所開拓研究本部今本細胞核機能研究室
後藤 知己	熊本大学教育学部養護教諭養成課程
小林 聡	同志社大学大学院生命医科学研究科医生命システム専攻
小林 正伸	北海道医療大学看護福祉学部生命基礎科学講座
佐藤 昇志	札幌医科大学医学部
佐原 弘益	麻布大学獣医学部
塩田 正之	大阪公立大学大学院医学研究科分子制御生物学
柴田 亮行	東京女子医科大学
関山 敦生	大阪大学大学院薬学研究科先制心身医薬学寄附講座
祖父江 元	名古屋大学大学院医学系研究科脳神経病態制御
高橋 良輔	京都大学附属病院神経内科
武内 敏秀	近畿大学ライフサイエンス研究所
武川 睦寛	東京大学医科学研究所分子シグナル制御分野
田中 啓二	東京都医学総合研究所
田村 保明	札幌医科大学医学部病理学第一講座
田村 裕	千葉大学大学院医学研究院
千葉 進	医療法人溪仁会札幌西円山病院
徳永 文稔	大阪公立大学大学院医学研究科医化学
鳥越 俊彦	札幌医科大学医学部病理学第一講座
内木 宏延	福井大学医学部分子病理学
中井 彰	山口大学大学院医学系研究科医化学分野
永井 義隆	近畿大学医学部脳神経内科
永田 和宏	JT生命誌研究館
西田 憲生	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部ストレス制御医学分野
西頭 英起	宮崎大学医学部機能生化学
野村 馨	大月市立中央病院総合診療
長谷川 隆文	東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座神経内科学分野

The Biomedical Society for Stress Response, Japan

原 勲	和歌山県立医科大学医学部泌尿器科学教室
樋口 京一	長野保健医療大学地域保健医療研究センター
久留 一郎	鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学専攻遺伝子再生医療学講座再生医療学分野
藤木 幸夫	九州大学生体防御医学研究所オルガネラホメオスタシス研究室
古橋 真人	札幌医科大学循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座
堀 修	金沢大学医薬保健研究域医学系神経分子標的学講座
増井 憲太	東京女子医科大学医学部病理学第一講座
増本 純也	愛媛大学大学院医学系研究科ゲノム病理学分野
松岡 雅人	東京女子医科大学衛生学公衆衛生学講座（環境・産業医学分野）
森 和俊	京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学教室・ゲノム情報分野
山田 健人	慶應義塾大学医学部病理学教室
養王田 正文	東京農工大学大学院工学府生命機能科学部門
横田 伸一	札幌医科大学医学部微生物学講座
吉田 賢右	京都産業大学工学部生物工学科
和田 郁夫	福島県立医科大学医学部附属生体情報伝達研究所細胞科学研究部門

以上66名（五十音順）

～ 事務局からのご連絡 ～

入会手続き：

学会ホームページから手続きをお願い致します。

<http://bssr.jp/nyukai/>

年会費：

一般会員 5,000 円 学生会員 3,000 円 企業賛助会員 50,000 円

以下の郵便口座へお振込ください。

加入者名：臨床ストレス応答学会

口座番号：02730-3-64452

日本臨床ストレス応答学会事務局

〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目

札幌医科大学医学部病理学第一講座内 金関貴幸

TEL: 011-611-2111 (内線 26910) FAX: 011-643-2310

e-mail: BSSR@sapmed.ac.jp

ホームページ：<http://bssr.jp>