

脈管研究の新しい潮流 - ゲノム時代を迎えて

矢崎 義雄



はじめに

従来の心血管病学は、目の前にある患者の症状や症候を正確に捉え、その病態を生理学的に、あるいは病理組織学的に解析することによって病因を明らかにし、新しい治療法や診断法を開発することにあつた。

しかし、20世紀後半に爆発的に進歩した分子生物学に基づいた生命科学の新しい進展により、疾患の病態生理を組織や細胞レベルから一歩進んで分子レベルから解明するところとなった。そして20世紀最後の飛躍的な遺伝子解析技術の開発により、疾患の病態の検討が、蛋白の分子レベルから一挙に遺伝子レベルで行われるようになり、全く新しい展開がもたらされた。その結果、はじめは臨床と関係がなかった生命科学における基礎的な研究の成果、特に遺伝子解析による情報が臨床に導入され、これが大きなブレイクスルーとなって画期的な診断法や治療法が開発され、新しい臨床研究の流れが生まれてきた。さらに、多くのデータのなかから特別な関連を有するものを抽出して新しい治療法を開発するデータマイニングの手法や、数多くの遺伝子の発現調節をシステムとして捉えて病態を解明しようとするコンピュータを駆使した研究も、臨床研究の新しい大きな流れになっている(Fig. 1)。

このような俯瞰的な視点から脈管研究の新しい潮流について述べたいと思う。

ヒトゲノム解析の意義

21世紀はヒトゲノム解読で幕をあげ、いよいよゲノム時代の到来となった。これにはDNAを増量することにより少量の試料からの遺伝子解析を可能にしたポリ

メラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction: PCR)の普及や、DNA配列の自動読み取り装置の機能の安定性や効率性に格段の進歩が遂げられたことにより、当初の計画より少なくとも10年早く、30億個に及ぶDNAから構成されているヒトゲノムが解読されることとなった。その結果、当初10万個と想定されていた遺伝子の数が、実際には2万数千個足らずで、2万個のショウジョウバエと遺伝子数では変わらないことが示され、生物の進化を論ずるうえできわめてインパクトの大きな情報になった。数十万個に及ぶ多様な機能蛋白の産生は、遺伝子発現の際に生じるスプライシングの機序で行われていることも示された。さらには、個人間でも99.9%の塩基配列が一致しており、ごくわずかな相違が人種ばかりでなく、個人個人の遺伝子特徴を規定していることも明らかとなり、今後の研究のすすめ方ばかりでなく、疾患と遺伝子要因を解明するうえできわめて大きな示唆を与えることとなった。

すなわち、個人の遺伝的特徴を規定している遺伝子の要因は数万個に及ぶと考えられている一方で、DNAの個人間の相違は0.2%以下であることから、遺伝子の相違はわずかに一塩基の変異や欠落、挿入といった変化が大部分を占めているといえる。このような遺伝子の変化は、古典的な遺伝病の病因になっている遺伝子変異と異なって、広く存在している遺伝子変化であり、遺伝子の多型といえる(Fig. 2)。一塩基に基づくこのような遺伝子多型は一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)といわれ、個人個人の疾患への感受性を規定するものとして最近特に注目されている。

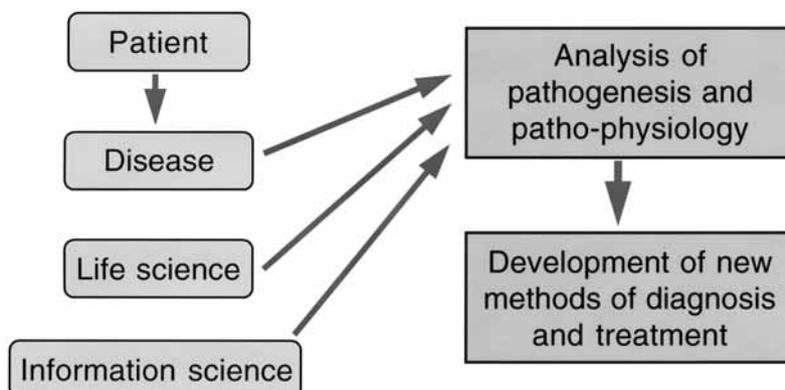


Figure 1 Lineage of clinical research.

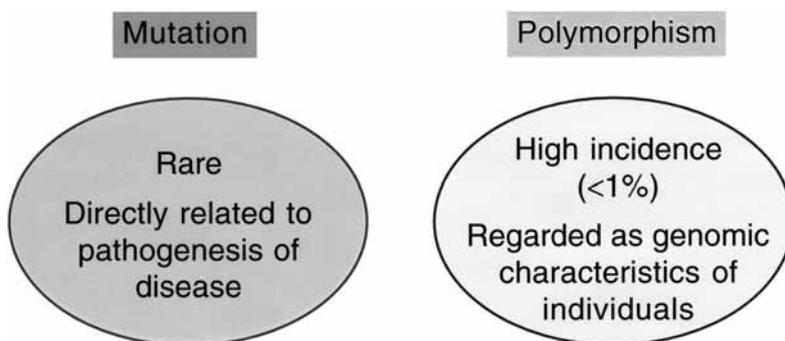


Figure 2 Genomic change: mutation and polymorphism.

疾患と関連する遺伝子とは

そもそも多くの疾患は、環境因子と遺伝的要因の組み合わせで発症する (Fig. 3)。例えば、筋ジストロフィー症などの神経・筋難病や先天性代謝障害、あるいは色覚異常などはひとつの遺伝子異常で発症し、これに環境因子が加わる余地はほとんどないといえる。一方、交通事故あるいは食中毒などは環境因子がほとんどその発症を規定している。しかし、多くの疾患は先に述べたように遺伝的要因と環境因子の組み合わせで発症するものであり、日常臨床では診る機会の多い疾患、糖尿病、高血圧症といった一般病 (コモンディゼーズ) がその典型であろう。環境因子であるライフスタイルがその発症に大きく関与するところから、生活習慣病といわれるゆえんである。同じ糖尿病や高血圧

症のなかでも、遺伝的要因が強く環境因子がほとんど関与しないものから、遺伝的要因がきわめて小さく、環境因子の関与があって初めて発症するものまで、個々の患者によりその内容は多様である。このような疾患における遺伝的要因はどのように理解されるか、そのメカニズムはヒトゲノムが解析されて初めて明らかになったといえる。すなわち、遺伝子多型という概念の導入により具体的な検討が可能となった。

このような遺伝子多型とは、直接疾患を発症させる遺伝子異常と異なり普遍的に広く存在するDNA配列の変化によるものであり、そのほとんどは先に述べたように一塩基の変異や欠落、挿入などであって、生成される蛋白分子の機能や量が少し変化することによって、個人的な遺伝的特徴を実際に規定するといえる。例えば、糖尿病であればその発症に関連する遺伝子は

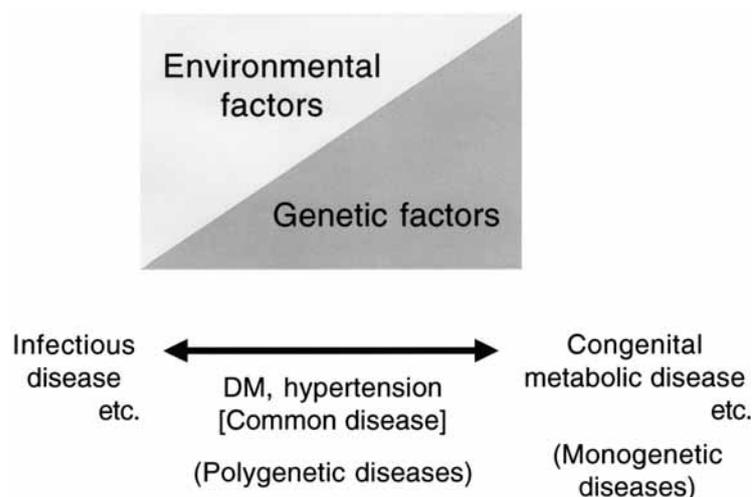


Figure 3 Role of genetic and environmental factors in the pathogenesis of diseases.

少なくとも数十個以上は存在すると考えられており、そのひとつひとつの遺伝子に糖尿病になりやすくなる糖尿病型とそうでない正常型が存在する。この遺伝子の多型は広く存在するので、誰でも糖尿病型の遺伝子は保有しているといえる。そして糖尿病型の遺伝子多型の組み合わせを数多く有するほど糖尿病を発症しやすくなる。すなわち、罹病感受性が高まることになる。そして、ある程度以上、糖尿病型の遺伝子多型の組み合わせを有していれば、摂取カロリーを厳しく制限していても糖尿病を発症してしまう。一方、組み合わせの数が少なければカロリーを多く摂取しても糖尿病は発症しにくくなる。このような疾患と関連する遺伝子多型を数多く見出せば、その疾患の的確な予防や早期診断、早期治療が可能となり、創薬にも有用な情報になることから注目され、全世界で国を挙げて遺伝子多型の疫学的な研究がすすめられている。

心血管疾患と遺伝子異常、遺伝子多型

心血管疾患において、病因遺伝子の最初で最大の発見は、1990年のハーバード大学Seidmanらによる肥大型心筋症の遺伝子変異であろう。心筋の収縮蛋白ミオシンをコードする遺伝子のDNAに点突然変異が出現し、ひとつのアミノ酸の置換が生じたものである。絶えず収縮と弛緩を繰り返して血液を駆出している心筋の収縮機能の中核に存在するミオシンであることから、わ

ずかな変異で蛋白の分子機能の低下が少しでも生じると直接疾患として発症してしまうと理解された。もし、筋ジストロフィー症でみられるような大きな遺伝子欠損であれば、恐らく胎児期に致死性となり出生してこない可能性が高いと考えられる。その後、マルファン症候群、あるいはQT延長症候群といった家族性、遺伝性の疾患ばかりでなく、孤発性の症例においても遺伝子異常が明らかになっている。ゲノムの解読により、このような心血管疾患の病因遺伝子の解明は今後さらに加速されるものと期待される。

一方、一般に広く存在する遺伝子多型では先に述べた糖尿病以外にも、心血管疾患と関連の深い高血圧、高脂血症、動脈硬化など広く一般に存在する病態が遺伝子多型の組み合わせにより発症するものと考えられている。例えば高血圧症では、血圧の上昇あるいは低下をきたす多様な遺伝子多型が存在し、血圧の上昇をきたす遺伝子多型を多く有するものほど、高血圧をきたしやすくなる。

それでは何故血圧を上昇させるような遺伝子多型が広く存在するのか、次のような仮説が考えられている(俚約説)。生物が海より陸上に進出した際に、体内ナトリウムイオンを保持するのに有利な遺伝子多型を進化の過程で獲得したとされている。ところが文明の開化によりヒトは食塩を毎日摂ることが可能となり、このようなナトリウムイオンを保持するために機能する

遺伝子がかえって過剰に摂取されたナトリウムの排泄を抑え、高血圧の発症を促進する結果となった。同様のことが先に述べた糖尿病に関する遺伝子多型でも考えられている。すなわち、かつて人類は飢えと戦い、進化の過程でできるだけ体内にカロリーを保持する遺伝子多型を獲得してきた。しかし文明社会を迎え、飢えより解放されるとともにカロリー摂取が過剰となり、このような遺伝子多型はカロリー消費を抑制する方向に働くために、糖尿病の発症要因になってしまったといえる。したがって遺伝子多型の多くは進化の過程で獲得したものであることから、きわめて広い範囲に存在し、正常者であっても当然疾患と関連する遺伝子多型を保有していることになる。むしろ、高血圧や糖尿病と関連する遺伝子多型を多く有する者がかつては正常者であったのであろう。

心血管疾患と関連する遺伝子多型としては糖尿病のほか、動脈硬化の危険因子となる高脂血症や肥満、代謝症候群などについての遺伝子多型が精力的に検討されている。

ゲノム情報に基づいた疾患の予防と治療

疾患の病因遺伝子ばかりでなく、疾患と関連する遺伝子多型が解明されれば、先に述べた個人のゲノム情報に基づく個別化医療(テーラーメイド医療)が心血管疾患にも行われる時代になるものと思われる。例えば、食塩感受性を亢進させる遺伝子多型を有すれば食塩摂取の制限を推進することにより高血圧の発症を制御するばかりでなく、進展を防止することも可能となり、早期診断に加えて効率的な治療と的確な予防医学も実現することになる。糖尿病や高脂血症などの心血管疾患のリスクとなる疾患への対応においても、病態に適切に反映する診断と治療、そして予防医学も実践されるものと期待される。

ゲノム情報に基づいた薬物療法

個人の遺伝子情報が医療に反映される可能性の最も早いのは薬物療法への応用である。薬物に的確に反応するか否か、特異的な副作用が出現する可能性、適正な薬物の用量を投与前に設定することが可能になることなどで、患者ごとに個別化医療の薬物療法を実践することが期待される。

(1) 応答型と非応答型の診断

個々の薬物において、反応性、有効性が個人により大きく変化することは、薬物療法の基本といえる。最近話題となった非小細胞肺癌の分子標的薬であるゲフィチニブ(イレッサ)は、大変有効な症例と全く効かない症例を認める。一方、間質性肺炎という重篤な副作用があることから、投与前に有効性が判定できればきわめて有用な情報となる。応答型の肺癌では、上皮成長因子(epidermal growth factor: EGF)受容体の遺伝子異常を認めるとする報告もあることから、イレッサの適応に関する遺伝子診断が間近に可能と思われる¹⁾。循環器領域では降圧薬に対する応答性の判定が期待されている。

(2) 特異的副作用発見の予見

ストレプトマイシンなどのアミノグリコシド類の抗生剤で難聴が発症したことはよく知られている。このような症例ではミトコンドリア遺伝子の1,555番目のDNAがアデニンよりグアニンに置換されており、アミノグリコシドがATP移送を阻害するとされている。したがって、遺伝子診断でアミノグリコシドの適用例を選択することも可能となった。今後は、Stevens-Johnson症例群なども遺伝子診断で回避できる可能性も期待される。

(3) 適正な用量の設定

同じ量の薬物を投与しても、症例により血中濃度の上昇と持続時間が著しく異なることもよく知られている。特に抗癌薬において個人差が大きく、イリノテカンでは数十倍にも及ぶとされている。これらの薬物代謝に関連したP450などの酵素を生成する遺伝子多型がこのような薬物の血中濃度の個人差を決定することから、その解析により適正な用量を設定することが初めて可能となる。

遺伝子解析の創薬への応用

遺伝子解析により、疾患の病態形成にいたるシグナル伝達の経路を分子レベルから明らかにすることで、病態に的確に反応するいわゆる分子標的薬の開発が可能となった。すでに、癌の領域においては、急性前骨髄球性白血病(acute promyelocytic leukemia: APL)では、17番染色体と15番染色体の転座による発症の知見から

レチノイン酸療法が開発されて、ほとんどの患者で寛解が得られるようになった。さらに慢性骨髄性白血病が9番と21番の染色体転座による発症であることから、活性化された癌遺伝子産物(BCR/ABL)を直接阻害するイマチニブが開発され、多くの症例に寛解が認められるようになった。先に述べた非小細胞肺癌におけるEGF受容体の活性を阻害するイレッサの開発などが挙げられる。さらに、受容体などの構造が三次元で提示されれば、コンピュータを用いて活性部位に直接結合して阻害する化合物を設計することも可能となり、莫大な時間と費用を用いてリード化合物から薬効を比較しながら選択するプロセスを省略できることも期待され、創薬開発に新しい展開をもたらすと思われる。

心血管疾患におけるゲノム解析の応用

心血管疾患の病態生理についての分子、遺伝子レベルからの解明は、その診療に画期的な展開をもたらすものと期待される。特に動脈硬化性病変による虚血性疾患と心不全への新しいアプローチが、遺伝子治療、再生医療への展望を可能にしている。

(1) 動脈硬化性病変による虚血性疾患への展望

動脈硬化性病変による下肢や心筋の虚血に対し、増殖因子の遺伝子や骨髄性あるいは末梢の幹細胞を幹部に注入して血管の新生や副側路の拡大を促す血管再生医療については、すでにわが国でも臨床試験が実施されてその有効性が認められ、実際の臨床にも導入されている。動脈閉塞性の下肢の壊疽や心筋梗塞に対する革新的な治療法になるものと期待されている^{2,3)}。

血管損傷後の内膜肥厚による内腔狭窄の病変は、経皮経管的冠動脈形成術(percutaneous transluminal coronary angioplasty: PTCA)後の冠動脈再狭窄として広く認められている。その病変の主体は血管平滑筋の増殖であるが、その病態形成のプロセスもマクロファージや免疫担当細胞が関与して、種々のサイトカインを分泌し、血管平滑筋の増殖を促していることが明らかになっている。そこで、このような炎症反応ともいえるプロセスの中核的な役割を担う分子の産生を調整している転写因子を阻害することにより、血管障害後の血管平滑筋細胞の増殖を抑制して内膜肥厚による狭窄を防止するという新しい概念に基づいた治療法が開発が現在進行中であり、実験的にはその有効性がすでに確

認されている⁴⁾。

重症心不全に対する新しい治療法として、心筋内の血管を新生して血流改善による効果を得る方法とともに、心筋細胞の再生医療が試みられている。心筋細胞は神経細胞と同様にほとんど細胞分裂による増殖をきたさないため、心筋細胞数が著しく減少してしまった重症心不全に対しては、心筋細胞を移植するか、残存している線維芽細胞などを心筋細胞に形質変換させる以外に治療法はないといえる。骨格筋細胞に関しては、MyoDという転写因子を線維芽細胞に導入することにより、筋芽細胞に形質変換させることに成功している。しかし、心筋細胞には、その分化に重要な役割を担っているホメオボックス遺伝子を導入しても、筋芽細胞に分化させることにはまだ成功していない。しかし心筋細胞の分化の過程に関与する転写因子の組み合わせを導入することにより、心筋固有の遺伝子の発現を著しく促進できることも明らかであり、心筋細胞への分化の可能性も高まっている。

ES細胞(embryonic stem cell: 胚性幹細胞)の分化による心筋の産生も試みられており、その実現は最も近いと思われる。しかし、他人の細胞を用いることから臓器移植と同様に拒絶反応を回避できないばかりでなく、胎児性由来の細胞であることから奇型腫などの発癌の危険性がきわめて高く、臨床応用には倫理面ばかりでなくこのような視点からの課題も解決しなければならない。最近拒絶反応を回避する目的でヒトのクローン胚性幹細胞の作成が報告され、ヒトへのクローン技術の応用ということで倫理的課題とともに注目されている⁴⁾。

おわりに

この度の西丸記念講演として、ゲノム時代を迎えた脈管研究の新しい潮流について概説した。最近のゲノムを中心とした分子生物学、生命科学の進歩は著しく、新しい研究の流れを長期的に予測することは困難であり、今後思わぬ展開をみることであろうし、そう期待したいところである。

演者としてご指名いただいた安田慶秀北海道大学教授(第45回日本脈管学会総会会長)および座長の労をおとりいただいた三島好雄東京医科歯科大学名誉教授に深甚の感謝を申し上げます次第である。

文 献

- 1)Lynch TJ, Bell DW, Sordella R et al: Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2004, **350**: 2129–2139.
- 2)Morishita R, Aoki M, Hashiya N et al: Safety evaluation of clinical gene therapy using hepatocyte growth factor to treat peripheral arterial disease. *Hypertension*, 2004, **44**: 203–209.
- 3)Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T et al: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trial. *Lancet*, 2002, **360**: 427–435.
- 4)Hwang WS, Ryu YJ, Park JH et al: Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science*, 2004, **303**: 1669–1674.

The Nishimaru Memorial Lecture: Recent Progress in Cardiovascular Research

Yoshio Yazaki

National Hospital Organization, Tokyo, Japan

Key words: translational research, molecular mechanism of atherosclerosis, gene therapy

The fact that cardiovascular disease continues to require medical attention worldwide suggests conducting research into the pathophysiology of cardiovascular disease, with an emphasis on system development for translational research and clinical trials. Recently, cardiovascular research has made remarkable progress, which was fueled by applying science and technology of molecular biology.

In the next decade, we predict that gene therapy will play a substantial part in clinical practice; it will help prevent restenosis after coronary angioplasty and/or generate new vessels in ischemic areas.

Endothelial interactions with other vascular components such as macrophages and smooth muscle cells, and serum factors such as lipids are critical to the pathogenesis of cardiovascular disease, especially atherosclerosis. The transcription factors which regulate gene expression in vascular cells, especially smooth muscle cells, will be a therapeutic target for interventions against vascular processes such as atherosclerosis.

The lecture discusses the latest progress in prevention and treatment of cardiovascular disease with a genetic approach combined. (J Jpn Coll Angiol, 2005, **45**: 215–220)