

血管

VOL28No.3/2005
JAPANESE JOURNAL OF
CIRCULATION RESEARCH

日本心脈管作動物質学会



- ・ 総 編 集 長 平 田 結喜緒 (東京医科歯科大学大学院分子内分泌内科学)
- ・ ベーシック編集長 岩 尾 洋 (大阪市立大学大学院医学研究科分子病態薬理学)
- ・ ゲノミクス編集長 辻 本 豪 三 (京都大学大学院薬学研究科ゲノム創薬科学)
- ・ クリニカル編集長 平 田 結喜緒 (東京医科歯科大学大学院分子内分泌内科学)
- ・ インフォマティクス編集長 田 中 利 男 (三重大学大学院医学系研究科薬理ゲノミクス)

編集委員 (ABC 順)

江橋節郎, 遠藤 実, 江里健輔, 藤田浩, 藤田敏郎, 福田 昇, 古川安之, 後藤文男,
 林 晃一, 林登志雄, 平田恭信, 平田結喜緒, 井口昭久, 飯野正光, 池田宇一, 今泉祐治,
 伊藤 宏, 伊藤猛雄, 岩尾洋, 河合忠一, 川島康生, 菊池晴彦, 栗山 熙, 草川 実,
 松原達昭, 松崎益徳, 三島好雄, 三浦総一郎, 宮内 卓, 毛利喜久男, 村松郁延, 永井良三,
 永田博司, 中川雅夫, 中木敏夫, 中尾一和, 成瀬光荣, 錦見俊雄, 大橋俊夫, 岡村富夫,
 大内尉義, 大柳光正, 阪口周吉, 佐々木富男, 柴田宣彦, 島田和幸, 末松 誠, 高橋和広,
 千葉茂俊, 高橋克仁, 武田和夫, 竹内和久, 田中利男, 谷口隆之, 外山淳治, 土屋雅春,
 月田承一郎, 辻本豪三, 山崎博男, 山崎峰夫, 柳沢輝行, 家森幸男, 横田充弘, 吉田洋二,
 吉田 豊, 吉村道博, 由井芳樹

	学 会 案 内	
--	----------------	--

第35回日本心脈管作動物質学会

会 長：松岡 博昭（獨協医科大学循環器内科）

会 期：平成18年2月18日（土）

会 場：栃木県総合文化センター

〒320-8530

栃木県宇都宮市本町1-8

TEL 028-643-1000（代表）

FAX 028-643-1012

<http://www.sobun-tochigi.jp/>

参 加 費：4,000円

演題締切日：平成17年11月11日（金）

専 門 医：日本循環器学会専門医 単位（自己申告，B区分）

■シンポジウム（特別会議室）9：00～11：00

「心脈管代謝領域における新規活性ペプチドの意義」

1. 基調講演：ペプチドーム解析と新規生理活性ペプチドの探索
（国立循環器病センター研究所：南野 直人）

2. サリューション（東京医科歯科大学：七里 眞義）

3. グレリン（国立循環器病センター研究所：永谷 憲歳）

4. レプチン（京都大学：海老原 健）

5. アディポネクチン（東京大学：山内 敏正）

6. アドレノメデュリン（獨協医科大学：錦見 俊雄）

■特別講演（特別会議室）11：00～12：00

寒川賢治（国立循環器病センター研究所）

『心血管作動性ペプチドの発見とその生理的意義』

■ランチョンセミナー（第1会議室）12：00～12：50

佐田政隆（東京大学先端臨床医学開発講座）

『動脈硬化の進展と破綻に関する最近の知見』

一般演題：13：10より

【日本心脈管作動物質学会研究奨励賞】

一般演題の中から選考により学会賞を数名（40才以下）に贈呈致しますので、どしどし応募下さい。

【演題申し込み要項】

e-mailのみにて受け付けます。Wordに演題名，名前（共同研究者を含む），施設名を書き，抄録を（本文800字以内）添付ファイルとして，お送り下さい。

学会賞を希望の方は，筆頭著者の生年月日と学会賞希望と末尾にお書き下さい。

送付先address：junnai@dokkyomed.ac.jp

第35回日本心脈管作動物質学会 事務局

〒321-0293 栃木県壬生町北小林880 獨協医科大学循環器内科

事務局長：錦見俊雄

TEL：0282-86-1111〔代表〕，FAX：0282-86-1596

【注意事項】

学会の演者は全て本会会員に限りますので，未加入の方は下記の入会申込書類請求先にご連絡下さい。必要書類をお送りします。

また今年度会費未納の方は年会費4,000円をお支払い下さい。

【入会申込書類請求先】

〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174

三重大学大学院医学系研究科薬理ゲノミクス分野内

日本心脈管作動物質学会事務局

TEL 059-232-1111（内線6343） FAX 059-232-1765

E-mail: jscr@doc.medic.mie-u.ac.jp

[illegible]

●東武宇都宮線 — 東武宇都宮駅 下車 徒歩で約10分(約700m)

●東北自動車道 鹿沼 I.C. から約9km 約30分

※周辺の有料駐車場をご利用ください。ただし、契約駐車場ではありませんので
駐車料金ががかかります。ご了承ください。

《日本心脈管作動物質学会の入会および会員の継続について》

1. 年会費：4,000円
2. 期 間：加入（会費納入）した年の12月31日まで。
3. 機関誌：「血管」を年4回送付します。本年度は1号が学会抄録号となります。
4. 総 会：年1回開催します。学会の演題申込者はすべて本会会員に限ります。
5. 入会手続き：本学会入会希望者は、所属機関（勤務先）の宛先、氏名、および入会申し込み希望の旨を記入した用紙をFax（059-232-1765）にて事務局までご送付ください。折り返し必要書類をお送りします。
6. 会員の継続手続き：継続用紙にご記入の上、Fax（059-232-1765）にて事務局まで御送信ください。さらに、下記郵便口座あてに年会費4,000円をお払い込みください。

郵便振替口座：00900-8-49012

加入者名：日本心脈管作動物質学会

7. 雑誌送付先などに変更が生じた場合はすみやかに事務局までお知らせください。

《「お知らせ」の掲載について》

本誌では、「血管」に関連した学会および学術集会（国内外、規模の大小は問いません。）の案内を、無料掲載いたします。ご希望の方は、締切日までに原稿を事務局へお送りください。（締切日等は事務局へご確認ください。）

〒514-8507 三重県津市江戸橋2丁目174番地

三重大学大学院医学系研究科薬理ゲノミクス分野

日本心脈管作動物質学会事務局

FAX 059-232-1765

TEL 059-232-1111（内線6343）

<http://www.jscr.medic.mie-u.ac.jp/>

jscr@doc.medic.mie-u.ac.jp

■総説

高血圧個別化診療に向けた臨床介入試験とゲノム解析の現況と展望

神出 計, 宮田 敏行, 河野 雄平……………79

心血管病とJAK / STATの制御因子SOCS

安川 秀雄, 杉 雄介, 森 隆宏, 今泉 勉……………87

■日本心脈管作動物質学会研究奨励賞受賞論文

レニン・アンジオテンシン系活性化による血管リモデリングと

その細胞内分子機構について

泉 康雄, 岩尾 洋……………95

心血管領域での再生医療の現状と展望

王 英正, 立石 健人, 野村 哲矢, 松原 弘明……………101

■ *Review*

Clinical intervention trial and genetic research to establish the in
dividualized medicine for hypertension

Kei Kamide, Toshiyuki Miyata, Yuhei Kawano.....79

Cardiovascular diseases and the negative regulator of Jak/STAT pathway
SOCS

Hideo Yasukawa, yusuke Sugi, Takahiro Mori, Tsutomu Imaizumi.87

■ *Young Investigator Research Awards*

Vascular remodeling by activation of rennin-angiotensin system and
its intracellular mechanism

Yasukatsu Izumi, Hiroshi Iwao.....95

Current advances in regenerative medicine cell therapy for
cardiovascular disease

Hidemasa Oh, Kento Tateishi, Tetsuya Nomura, Hiroaki Matsubara 101

ポストシーケンス時代の心脈管ゲノミクス

総説

高血圧個別化診療に向けた臨床介入試験とゲノム解析の現況と展望

¹神出 計, ²宮田 敏行, ¹河野 雄平国立循環器病センター ¹内科高血圧腎臓部門, ²研究所

緒言

高血圧症の9割以上は本態性高血圧 (EHT) であり, 我が国で3,000万人以上罹患者がいると考えられているように, EHTは最も頻度の高い生活習慣病である。さらに多くのEHT患者は家族歴を有し, 遺伝の血圧の変化に対する寄与率は30-50%あると推定されている¹⁾。したがって高血圧の原因遺伝子を同定することがもたらすインパクトは計り知れないものがあると考えられる。しかしながら多因子疾患であるEHTには原因遺伝子が複数個存在する可能性が示唆されており²⁾, 現在報告されているものの多くは高血圧関連遺伝子多型である。特に一塩基多型 (single nucleotide polymorphisms: SNPs) はタイピングの容易さから, 高速タイピングに適しており, 近年, 多数の検体を用いた解析に頻用されている。ポストゲノムの今, SNPsを解析することによって高血圧の発症を予測し, 治療薬の選択を行う個別化医療 (Individualized Medicine) の確立に期待がかけられている。我が国でも2000年より5年計画で開始された癌, 高血圧, 糖尿病, 痴呆, 喘息に対する個別化医療の確立とゲノム創薬を目標に掲げた遺伝子解析計画, ミレニアム・ゲノムプロジェクト (MGP) が2005年3月末に予定期間を終了した³⁾。現段階でゲノム情報を基にした個別化医療が確立された疾患はないが, MGPによりその基盤は整備され, 得られた膨大なゲノム情報はここ数年のうちに臨床の現場に応用されていくことは間違いないと考えられる。本総説は, 国立循環器病センターにおいて行われたMGPの一端である我々の部門での高血圧関連遺伝子に対するSNPs解析を紹介し, 最近の高血圧遺伝子解析研究の現況と高血圧の個別化医療の確立のための臨床

介入試験をテーマに概説する。

高血圧原因遺伝子

高血圧への遺伝素因の関与は多岐にわたる。EHTの病態の根幹を成すレニン・アンジオテンシン系 (RAS) や交感神経系 (SNS) の活性化, 食塩感受性やインスリン抵抗性の形成など, すべての機序に遺伝因子は関与すると考えられる³⁾ (図1)。これまで数多く行われて来た候補遺伝子アプローチによる高血圧原因遺伝子同定の試みは, アンジオテンシン変換酵素 (ACE) I/D多型に代表されるように⁴⁾, RASやSNSの受容体や酵素の遺伝子をターゲットにして, ケース・コントロールを用いた解析が主流となってきた。一方で, 欧米では大規模な高血圧の患者家系を用いた連鎖解析, ならびに高血圧の兄弟・姉妹を集めて解析する同胞対解析が数多く行われてきたが一定の結果が得られていない。しかしながら複数の報告をまとめると高血圧に関連を示した遺伝子座には報告の重なりが認められる⁵⁾。特に染色体2番短腕 (2p) は, 6つの異なった国や地域の集団から得られた解析で高血圧遺伝子座とされている。さらにこの染色体2pの領域

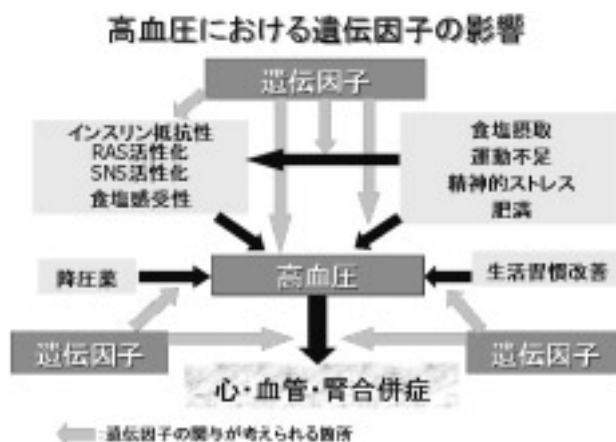


図1

* 1) 国立循環器病センター 内科高血圧腎臓部門

2) 国立循環器病センター 研究所

(〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1)

はイタリア、サルディニア地方の高血圧家系の連鎖解析で26.5–27.1cMと非常に狭い領域にピークがあることが報告され⁶⁾、また我々日本人に遺伝的バックグラウンドが似ているとされる中国からも同部位を含む2番に高血圧遺伝子座があると報告されている⁷⁾。したがってこの領域に存在する遺伝子が日本人EHTに関連する可能性が考えられる。我々はこの領域に注目し、高血圧原因遺伝子の同定を試みた⁸⁾。イタリア、サルディニアからの報告でピークを示したマイクロサテライトマーカー(D2S2278–D2S168)の近傍に存在し、高血圧との関連が示唆される遺伝子を候補に挙げ、それぞれの遺伝子のSNPsを、日本人を対象としたSNP情報の公開データベースであるJSNP (<http://snps.ims.u-tokyo.ac.jp/>)より両アレル頻度10%以上のSNPsを選別し(図2)、計14遺伝子、47SNPsに対して1,880人の地域住民のタイピングをTaqMan法にて行った。その結果、血圧値ならびに高血圧の頻度いずれにも有意な関与を認めた遺伝子はHPCAL1(Hippocalcin-like-1)とGREB1(Gene regulated by estrogen in breast cancer)に存在する計3つのSNPsであった⁸⁾。これらの遺伝子が血圧調節に関与する機序は现阶段では不明であるが、日本人高血圧感受性遺伝子と考えている。

候補遺伝子アプローチにおいては、腎臓での水・電解質代謝に関わる遺伝子がEHTの重要なターゲットと考えられる。事実、メンデル型遺伝を示す稀な遺伝性高血圧疾患であるLiddle症候群では上皮型ナトリウム・チャンネル遺伝子が原因と考えられ、この遺伝子のLiddle症候群原因変異以外のより頻度の多い多型がEHTに関連

することも報告されている⁹⁾。最近、Liftonのグループは高血圧、高カリウム血症、代謝性アシドーシスを呈する常染色体優性遺伝疾患のGordon症候群の原因遺伝子が、腎臓の遠位尿細管に発現し電解質調節に関与する*WNK1*、*WNK4* 遺伝子であることを報告した¹⁰⁾。我々はこれらの遺伝子多型とEHTとの関連を検討した¹¹⁾。両遺伝子にダイレクト・シーケンスを行うことにより*WNK1*に35 SNPs、*WNK4*に21 SNPsを見出した。この中から頻度、LDを考慮し*WNK1* 7 SNPs、*WNK4* 2 SNPsを一般住民1,818名に対してタイピングを施行した。結果は男性のみで*WNK4* C14717T(イントロン14)のCC型(n=670)保有者の平均収縮期血圧131.3mmHgに比し、Tアレル型(n=165)では134.4mmHgと有意に高く(p=0.042)、また高血圧患者もTアレル保有者で有意に高頻度に認めた(OR; 1.62, 95% CI; 1.12–2.33, p=0.010)。この結果より*WNK4*は高血圧原因遺伝子の一つと考えられる。さらに我々はGordon症候群の原因多型が存在する*WNK4* 遺伝子のエクソン7と17につき956名の高血圧患者でシーケンスを行い、3つの新規なミスセンスSNPs(Met546Val, Pro556Thr, Pro1173Thr)を見出した¹²⁾。これらは頻度が0.1%程度と少なかったが、1,875名の一般住民にこれらの多型は存在しなかったことから高血圧発症に関与している可能性があり、機能の解析が重要と考えている。このような低頻度のSNPsの集積がEHTの発生に関わっている可能性も否定できず、我々は積極的にミスセンス変異に関する情報を集積している¹³⁾。さらに候補遺伝子アプローチのターゲットとして、種々の血圧調節に関わるホルモンや血管作動性物質

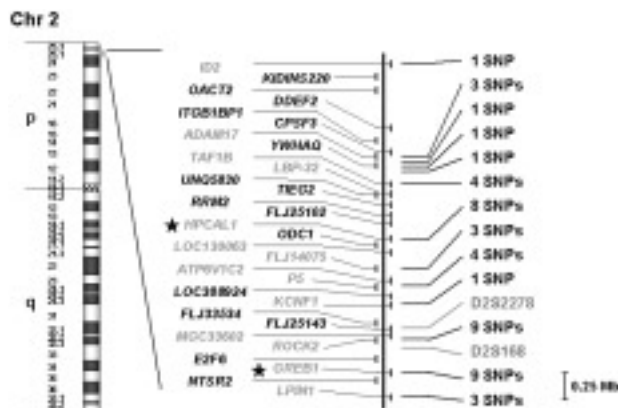


図2. 選択されたSNPsと有意差を示した遺伝子

イタリア、サルディニアの家系解析で最も強いピークを示したD2S2278–D2S168近傍から高血圧関連の遺伝子を選別し、遺伝子型を検討した。ピンクがタイピングした遺伝子。この中で星印のHPCAL1 1 SNP (JST126186–A/C 女性)とGREB1の2 SNPs (JST116268–C/T, JST149390–A/Gいずれも男性)が高血圧の頻度、血圧値両方で有意な関連を示した。

表1. 高血圧患者ならびに一般市民におけるRGS2遺伝子ミスセンス多型、フレームシフト変換を有する人のまとめ

Mutations	高血圧 患者集団 (n=953)	一般住民	
		高血圧 (n=771)	正常血圧 (n=1,102)
Gln2Leu	2	0	0
Gln2Arg	1	2	1
Met5Val	1	0	0
Arg44His	2	4	1
Gln78His	1	0	2
1925–1926insT	1	1	0
計	8	7	4

高血圧を有する人に明らかにRGS2遺伝子ミスセンス多型、フレームシフト変換は多く認められた。

の共通の細胞内情報伝達経路に存在するリン酸化蛋白や酵素などが挙げられる。そこでG蛋白結合受容体(GPCR)に結合するホルモンやペプチドにはアンジオテンシンIIやエンドセリン1など代表的な昇圧ペプチドが多いため、GPCRの情報伝達系構成因子や調節因子に注目した。Regulators of G protein signaling (RGS) 蛋白は、G蛋白がGDP型からGTP型となり活性化したものを不活性化型-GDP型に加水分解により戻す働きをする蛋白であり、Heximerらはこの蛋白に注目し、その遺伝子(rgs2)のノックアウトマウスを作製し、血圧調節の異常を検討したところ¹⁴⁾、このマウスはホモ接合対(rgs2-/-)のみならずヘテロ接合対(rgs2+/-)でもホモと同等の血圧上昇を示した。この結果より、RGS2遺伝子はヒトにも存在するため、RGS2遺伝子の調節異常がヒトEHTの原因である可能性があり、その遺伝子多型と高血圧の関連性を調べた¹⁵⁾。953人の高血圧患者のrgs2をプロモーターから全コーディング領域をダイレクト・シーケンスしたところ5つのミスセンス変異(Gln2Leu, Gln2Arg, Met5Val, Arg44His, Gln78His)ならびに1つのフレームシフト変換(1925-1926 insT)をおこすSNPがおのおのの変異で1-2人見つかった。1,873人の一般住民にもこれらの変異は認められ、まとめると表1のように、高血圧患者で明らかにこれらの機能変化に関わると考えられるSNPsが多く認められた¹⁵⁾。またイントロン1(1026T>C)と3(1891-1892 delTC)の両アレル頻度が約60%/40%と頻度の高いSNPsも女性の高血圧に関与したことから、RGS2遺伝子は高血圧原因遺伝子であると考えられ現在機能解析を進めている。これらの高血圧原因遺伝子多型の同定はこれまで断面調査で調べられて来た。今後は機能解析による裏付けに加えて、疫学的な前向き観察研究にて、多くの人を高血圧のない時期から調査することにより、高血圧原因遺伝子多型を有する人がそれを保有しない人と比較して血圧上昇を来しやすいか、高血圧に罹患した場合、その程度がどうかといった検討をすることにより再評価されていく必要があると考えている。

高血圧性臓器障害関連遺伝子

我々は高血圧性臓器障害の進行に関与する遺伝子多型を明らかにするために、高血圧患者ならびに検診受診中の一般住民を対象に動脈硬化、心肥大、腎障害の感受性遺伝子の検索を進めている。なぜなら高血圧患者の予後を左右するのは心血管腎の合併症であり、遺伝子情報を用いた個別化診療の実現には遺伝子多型から合併症の進展が予測できれば、より厳格な降圧を行ったり、それぞれの臓器障害に有効とされる薬剤を早期から服薬させる

ことにより発症を予防することが可能となると考えられるからである。

我々は高血圧性動脈硬化の表現形として頸動脈エコーによって得られる内中膜厚(Intima-Media Thickening: IMT)を用い、動脈硬化促進に関わる遺伝子多型を検索してきた。これまでに高血圧患者約800人における頸動脈硬化の進行にリポカリントタイプ-プロスタグランジンD合成酵素(L-PDGS)遺伝子3'非翻訳領域に存在する4111 A>Cが関与することを報告した¹⁶⁾。さらに、多くの臨床・基礎研究により動脈硬化との因果関係が指摘されていた肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor: HGF)¹⁷⁾やIL-6(interleukin-6)¹⁸⁾、Clusterin¹⁹⁾の遺伝子多型がやはり、頸動脈硬化に関与することを高血圧患者ならびに一般住民対象の解析で報告している。IL-6遺伝子のプロモーター領域-636 G>Cにおいては表2に示すように、女性のみではあるがGG群で最もIMT肥厚を認め、なおかつこの群で収縮期血圧がCアレル(CC+GC)群に比し有意に高かった(表2)。この結果より、IL-6遺伝子プロモーター領域の多型は動脈硬化形成に関与し、動脈硬化を介し収縮期血圧上昇を引き起こす可能性が示唆される¹⁸⁾。これまでに我々は高血圧性心肥大に関与する遺伝子多型として1型インスリン様成長因子受容体(IGF-1R)遺伝子、高血圧性腎障害にはACE、ミネラルコルチコイド受容体(MLR)、スーパーオキシドジスムターゼ3(SOD3)、エンドセリン変換酵素1(ECE1)、ナトリウム利尿ペプチド受容体1(NPR1)遺伝子、また動脈硬化には前述の4遺伝子以外にマトリックス・メタロプロテアーゼ2(MMP2)遺伝子²⁰⁾の多型が関連することを見出している。既報の高血圧臓器障害関連遺伝子多型と合わせてこれらの多型を調べることで高血圧患者の臓器障害進展を予測するツールになり得ると考えており、個別化医療への応用の

表2. IL-6 遺伝子SNPと血圧値、総頸動脈内中膜肥厚との関連(交絡因子補正後)

SNP	男性			女性		
	遺伝子型		p	遺伝子型		p
-636G>C	GG GC+CC			GG GC+CC		
	DBP, mmHg	80.5±1.1 81.0±0.3	0.656	80.4±1.1 78.8±0.3	0.160	
	SBP, mmHg	127.9±1.8 129.3±0.5	0.461	133.3±2.0 128.4±0.5	0.017	
	GG+GC CC			GG+GC CC		
	DBP, mmHg	81.1±0.5 80.9±0.4	0.656	78.6±0.4 79.1±0.4	0.383	
	SBP, mmHg	129.7±0.8 128.8±0.7	0.363	128.7±0.8 128.8±0.7	0.935	
-636G>C	GG GC CC			GG GC CC		
	mean IMT, mm	0.91±0.01 0.91±0.01 0.90±0.00	0.288	0.89±0.01 0.86±0.00 0.85±0.00	0.005	
	Max-IMT, mm	1.70±0.08 1.78±0.04 1.70±0.03	0.357	1.47±0.06 1.36±0.02 1.33±0.02	0.025	

値は平均±標準偏差。年齢、BMI、高脂血症、糖尿病、喫煙、飲酒、降圧薬服用の有無にて補正。

可能性を検討中である。実際に、これら合併症関連遺伝子多型を複数有する高血圧患者では高血圧性臓器障害の進行が予想されるため、約1,000名の高血圧患者の中において心肥大関連遺伝子IGF-1 R C-328T, A275124Cと、動脈硬化MMP2 A26223C, 腎障害5多型(ACE I/D, MLR C850G, SOD3 C-1708T, ECE1 T65251C, NPR1 G2979C)の3つを有する患者の心血管合併症の罹患率を検討したところ、少なくとも1/3に心筋梗塞や脳卒中、解離性大動脈瘤などのメジャーな心血管合併症の発症が認められた(表3)。このような合併症関連遺伝子多型の重なりを調べることで、高血圧性臓器障害が特に進行しやすい患者の選別が可能となると考えている。今後は高血圧原因遺伝子のところで述べたように、このような断面研究で得られた遺伝子多型が真に高血圧性臓器障害に関わるかを、多型を有する患者を前向きに経過観察し検証する研究が必要である。このような前向き試験でも断面研究と同様の結果が得られれば、これらの遺伝子多型は高血圧合併症関連遺伝子として、遺伝子診断により合併症の進展しやすい患者が予測可能となり、個別化医療への応用が期待できる。

Pharmacogenomicsによる薬剤感受性遺伝子多型の同定

これまでの成果：薬剤反応性の個人差には人種差のような集団として影響を及ぼす因子と各個人の遺伝素因がもたらす因子により20-95%は規定され、これに年齢や薬物代謝に関わる臓器の機能、併用薬剤や治療、病気の程度など非遺伝因子が加わると考えられている。冒頭に述べたように高血圧は最も頻度の多い生活習慣病で降圧薬服用者は高血圧治療患者の半数以上を占める。したがって遺伝的に規定されている降圧薬に対する感受性を

薬剤選択の際に考慮できれば、効率の良い降圧薬治療を実現することが可能となる。こういった観点から近年、降圧薬感受性遺伝子多型を明らかにする試みがなされて来た。しかしながらほとんどの研究がRASやSNSの酵素や受容体の1つから数個の多型の関与を調べた検討のみで結果は非常にコントロールが難しいであった。特にACE遺伝子I/D多型のACE阻害薬(ACEI)やアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)、 β 遮断薬の効果への関与はさまざまな人種で検討されているが、ACE遺伝子I/D多型に関してはポジティブ・ネガティブ両方とも多くの報告があり、ポジティブでもIアレル、Dアレルの両方に薬剤感受性を認める報告がなされており、多型研究の難しさを表している²¹⁾。我々も従来から多く見られたレトロスペクティブな検討ではあるが、多数の候補遺伝子を解析する方法でサイアザイド利尿薬(TZD)の降圧効果に関わるSNPsを調べたので紹介する。TZDは米国ガイドラインJNC7で最優先で使用するべき薬剤として推奨されているが、その効果には個人差が認められる。TZDの効果に関与する遺伝子変異は、現在までのところG蛋白・3サブユニット遺伝子(GNB3)のC825T多型²²⁾と・Adducin遺伝子(ADD1)のGly460Trp多型²³⁾の2つが知られている。これらの成績はすべて欧米からのもので、日本人である程度大規模なTZDの効果に関連する遺伝子変異・多型の報告はなされていなかった。我々は、76人の新規TZD服用患者の降圧効果から感受性遺伝子多型の同定を試みた²⁴⁾。平均血圧で5 mmHg以上の降圧を認めた群を反応群と定義し、遺伝子多型はGNB3 C825T, ADD1 Gly460Trp, RASやSNS関連遺伝子に加え、サイアザイド感受性Na-Cl共輸送体遺伝子(TSC), サイアザイド利尿薬感受性のGordon症候群の原因遺伝

表3. 高血圧合併症関連遺伝子多型の重なりを有する高血圧患者の心血管合併症の発生状況

Case	Age	心肥大		動脈硬化		腎障害	心血管合併症
		IGF1R C-328T	IGF1R A275124C	MMP2 A26223C		SNPs	
1	56	CC	AA	CC		ACE I/D DD	3/3 Stroke
2	67	CC	AA	CC		DD	AMI
3	77	CC	AA	CC		DD	AMI
4	76	CC	AA	CC		MLR C850G 1/2	Stroke
5	56	CC	AA	CC		CC	なし
6	86	CC	AA	CC		SOD3 C-1708T CT	労作性狭心症
7	58	CC	AA	CC		CT	なし
8	56	CC	AA	CC		ECE1 T65251C GG	Stroke
9	60	CC	AA	CC		GG	Stroke
10	71	CC	AA	CC		NPR1 G2979C GC	解離性大動脈瘤
11	69	CC	AA	CC		GC	なし
12	60	CC	AA	CC		GC	なし

高血圧合併症関連遺伝子多型を複数有する高血圧患者ではメジャーな心血管合併症が1/3以上の頻度で認められた。

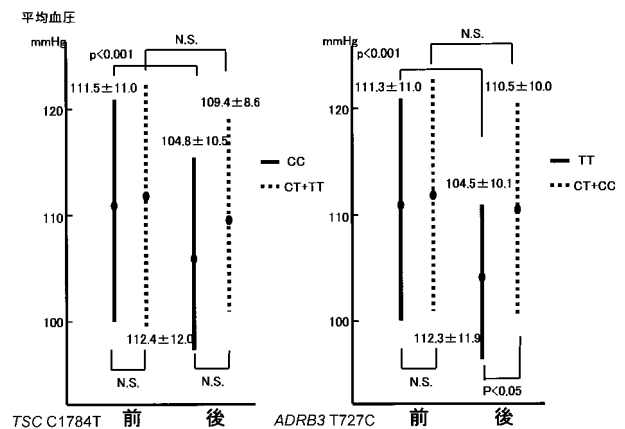


図3. サイアザイド利尿薬感受性遺伝子多型

TSC C1784TではCC型の患者でサイアザイド利尿薬投与により有意に降圧するが、Tアレル保有者では有意な降圧が得られていない。

ADRB3 T727CではTT保有者がサイアザイド利尿薬に感受性を持つ。

子である *WNK1*, *WNK4*, ミネラルコルチコイド受容体遺伝子 (MLR) などをダイレクト・シーケンスにより同定したSNPs, 合計17遺伝子, 48多型をタイピングした。その結果, TSC C1784TとADRB3 T727C (Trp64Arg) の2 SNPsが有意な関連性を示した (図3)。しかしながら前述したGNB3 C825T, ADD2 Gly460Trpでは有意な相関を認めなかった。

SILVHIA研究: スウェーデン・ウプサラ大学の研究グループはARB (Irbesartan) の降圧ならびに心肥大抑制効果に対する遺伝子多型の関与をSILVHIA (Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol) 研究として势力的に検討している²⁵⁾。この研究ではIrbesartanとatenololをそれぞれ50名程度の高血圧患者に12週間, 単剤投与するといったプロトコールで, それぞれの薬剤の降圧効果, 心肥大退縮作用を検討したものである。Irbesartanは軽・中等症高血圧患者の40-50%で有効な降圧効果を持つ薬とされているが, ACE遺伝子I/D多型のII型を示す患者の89%に拡張期血圧 (DBP) で10mmHg以上の降圧を認めた。一方, DD型では24%しかDBP>10mmHg以上の降圧を示した患者はいなかった²⁶⁾。同様にアルドステロン合成酵素 (aldosterone synthase) 遺伝子 C-344TもIrbesartanの降圧効果に有意な関連性を示していた²⁷⁾。他のRAS関連の遺伝子多型では降圧効果に有意性を認めたものはなかったが, angiotensinogen遺伝子T174M, M235Tならびにアンジオテンシンtype 1受容体 (AT1R) 遺伝子A1166C多型はIrbesartanの心肥大退縮作用に有意性を認めた²⁸⁾。またこの研究グループはマイクロアレイを用いた独自のタイピング法 (Microarray based DNA polymerase assisted

minisequencing single nucleotide primer extension assay with fluorescence detection)を開発し, SILVHIA研究においてIrbesartanの降圧効果²⁹⁾や心肥大退縮作用³⁰⁾に關与するSNPsをRASやSNS, 血管作動性物質, 脂質代謝などに関わる25遺伝子, 74SNPsで検討して複数の薬剤感受性遺伝子多型を同定している。今後, Pharmacogenomicsによる個別化医療の実現に向けてこのような迅速に多数の遺伝子多型をタイピングする方法の開発が望まれていただけに, このマイクロアレイを用いたタイピング方法は今後急速に発展していくことが予測される。

GEANE研究: 降圧薬には抗癌剤のような重篤な副作用はほとんど認められないため, Pharmacogenomicsは, 降圧薬の効果, つまり薬剤応答性の予測のために応用される必要がある。ここまで述べてきたように残念ながら各降圧薬でその効果にはっきりと関連性をもった遺伝子変異・多型の報告はまだ少なく³¹⁾, 今後のさらなる研究成果が待たれるところである。より関連性の強い薬剤応答性・感受性遺伝子の同定ためには, 多数例の無治療高血圧患者に前向きに降圧薬を投与し, 正確に降圧の程度を把握し, 数多くの薬物代謝酵素や薬理作用機序関連の遺伝子多型との相関を検討する必要がある。これまで我が国にこのような研究はなかったが, 現在, 国立循環器病センターでは全国の大学・医療センター計8施設とともに降圧薬感受性遺伝子多型同定のための多施設共同研究 (GEANE研究-Gene Evaluation for ANtiHypertensive drug Effect)を開始した。GEANE研究では, 無投薬の軽・中等症本態性高血圧患者にTZD, ARB, 長時間作用型ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬 (CCB) を3ヵ月ごとに少量から通常使用量に増量して内服してもらい観察期も含め合計10ヵ月間で投薬を終了するデザインで施行中である (図4)。降圧効果のみならず副作用や代謝性の異常も解析予定で複数のSNPsを検討し, 降圧薬として特に重要と考えられる3種類の薬剤の感受性遺伝子多型ならびに副作用関連遺伝子多型を検討する予定である。本研究は1) 同一患者に3種類の降圧薬をクロスオーバーに内服させるため, その個人の正確な薬剤反応性が評価できる。2) 多施設共同で行うことにより, 従来の研究より多くの対象者での解析が期待できる。3) 迅速遺伝子タイピング法を用いて複数の遺伝子多型の解析が可能である, といった特徴を有しているため, これにより同定された遺伝子多型を実際の臨床に応用し, 個別化医療を確立することを構想している。

個別化医療の実現に向けて

高血圧の個別化医療実現には適確な研究成果の集積と

インフォームド・コンセント (軽・中等症の未治療高血圧患者を対象とする)
↓ 血圧測定, 採血 (一般生化学-特に血清K, 脂質値, 尿酸値, 血糖値, 遺伝子採血)
↓ 観察期 (1ヶ月) 投薬順ランダム化 (以下1.TZD, 2.CCB, 3.ARBの場合)
第1薬投薬 (3ヶ月: 1回/月受診)
↓ サイアザイド系利尿薬 (インダパミド1mgより開始)
↓ Dose up (インダパミド2mgに増量)
↓ (インダパミド2mgを継続), 採血 (一般生化学)
第2薬投薬 (3ヶ月: 1回/月受診)
↓ Ca拮抗薬 (アムロジピン2.5mgより開始)
↓ Dose up (アムロジピン5mgに増量)
↓ (アムロジピン5mgを継続), 採血 (一般生化学)
第3薬投薬 (3ヶ月: 1回/月受診)
↓ アンジオテンシン受容体拮抗薬 (バルサルタン40mgより開始)
↓ Dose up (バルサルタン80mgに増量)
↓ (バルサルタン80mgを継続), 採血 (一般生化学)
終了

図4. GEANE研究投薬プロトコール

GEANE研究は国立循環器病センター高血圧腎臓内科・研究所, 国立病院機構九州医療センター高血圧内科, 大阪大学老年・腎臓内科, 金沢医科大学高齢医学, 日本大学第2内科, 九州大学臨床薬理学, 愛媛大学老年医学, 第2内科の共同研究である。

出てきた遺伝子多型を用いた迅速遺伝子診断システムの開発,このような遺伝子診断システムを導入した場合の有用性を確かめる前向き試験,遺伝子診断を考慮した新しい高血圧診療ガイドラインの制定などが必要と考えられ,道程は長い.しかしながら確実な研究成果の集積により必ずや実現できるであろう.無駄が少なく,より安全で,合併症を減少させることができるような高血圧診療を患者に提供することを最終目標に研究を進めることが重要である.

謝辞

本稿中の研究成果は,独立行政法人医薬品医療機器総合機構の「保健医療分野における基礎研究推進事業」より助成金を得たミレニアムゲノムプロジェクト(高血圧等循環器疾患における遺伝子解析,創薬推進事業:研究代表者-国立循環器病センター病院長:友池仁暢)ならびに厚生労働省循環器病研究委託費(16公-1)によるものである.またGEANE研究は平成17年度より厚生労働科学研究費(萌芽的先端医療技術推進研究事業)のサポートを受けている.本研究に協力をいただいた内科高血圧腎臓部門・循環器予防検診部のスタッフ,ミレニアム実験室の関係者ならびに運営部調査課の花井莊太郎先生に深謝いたします.

参考文献

- (1) Dominiczak AF, Negrin DC, Clark JS, et al. Genes and hypertension. *Hypertension* 2000 ; 35 : 164-72
- (2) Lalouel J-M. Large-scale search for genes predisposing to essential hypertension. *Am J Hypertens* 2003 ; 16 : 163-6.
- (3) Kamide K, Takiuchi S, Miyata T, et al. Single nucleotide polymorphisms analysis of hypertension relating to the effect of antihypertensive drugs-Millennium Genome Project at NCVC-Jpn Heart J 2004 ; 45 (suppl) : S69-S93.
- (4) Higaki J, Baba S, Katsuya T, et al. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increases risk of essential hypertension in Japanese men: The Suita Study. *Circulation* 2000 ; 101 : 2060-5.
- (5) Samani NJ. Genome scan for hypertension and blood pressure regulation. *Am J Hypertens* 2003 ; 16 : 167-71.
- (6) Angius A, Petretto E, Maestrale GB, et al. A new essential hypertension susceptibility locus on chromosome 2p24-p25, detected by genomewide search. *Am J Hum Genet* 2002 ; 71 : 893-905.
- (7) Zhu DL, Wang HY, Xiong MM, et al. Linkage of hypertension to chromosome 2q14-q23 in Chinese families. *J Hypertens* 2001 ; 19 : 55-61.
- (8) Kamide K, Kokubo Y, Yang J, et al. Hypertension Susceptibility Genes on Chromosome 2p24-p25 in a General Japanese Population in Japanese. *J Hypertens* 2005 ; 23 : 955-960.
- (9) Iwai N, Baba S, Mannami T, et al. Association of sodium channel γ -subunit promoter variant with blood pressure. *Hypertension* 2001 ; 38 : 86-9.
- (10) Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, et al. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science* 2001 ; 293 : 1107-12.
- (11) Kokubo Y, Kamide K, Inamoto N, et al. Identification of 108 SNPs in TSC, WNK1, and WNK4 and their association with hypertension in a Japanese general population. *J Hum Genet* 2004 ; 49 : 507-15.
- (12) Kamide K, Takiuchi S, Tanaka C, et al. Three novel missense mutations of WNK4, a kinase mutated in inherited hypertension, in Japanese hypertensives: Implication of clinical phenotypes. *Am J Hypertens* 2004 ; 17 : 446-9.
- (13) Kamide K, Tanaka C, Takiuchi S, et al. Six missense mutations of the epithelial sodium channel β - and γ -subunits in Japanese hypertensives. *Hypertens Res* 2004 ; 27 : 333-8.
- (14) Heximer SP, Knutsen RH, Sun XG, et al. Hypertension and prolonged vasoconstrictor signaling in RGS2-deficient mice. *J Clin Invest* 2003 ; 111 : 445-452.
- (15) Yang J, Kamide K, Kokubo Y, et al. Genetic variations of regulator of G-protein signaling 2 in hypertensive patients and in the general population. *J Hypertens* (in press)
- (16) Miwa Y, Takiuchi S, Kamide K, et al. Identification of gene polymorphism in lipocalin-type prostaglandin D synthase and its association with carotid atherosclerosis in Japanese hypertensive patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 ; 322 : 428-33.
- (17) Takiuchi S, Mannami T, Miyata T, et al. Identification of 21 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in human hepatocyte growth factor gene and its association with blood pressure and carotid arteriosclerosis in Japanese population. *Atherosclerosis* 2004 ; 173 : 301-5.
- (18) Tanaka C, Mannami T, Kamide K, et al. Single nucleotide polymorphisms in the interleukin-6 gene associated with blood pressure and atherosclerosis in Japanese general population. *Hypertens Res* 2005 ; 28 : 35-41.
- (19) Miwa Y, Takiuchi S, Kamide K, et al. Insertion/deletion polymorphism in clusterin gene influences serum lipid levels and carotid intima-media thickness in hypertensive Japanese females. *Biochem Biophys Res Commun* (in press)
- (20) Takiuchi S, Kamide K, Horio T, et al. Catalogue of matrix metalloproteinase gene polymorphisms and susceptibility to cardiovascular hypertrophy in Japanese hypertensive patients. *J Hypertens* 2004 ; 22 : S4 (supple. I)

- (21) Koopmans RP, Insel PA, Michel MC. Pharmacogenetics of hypertension treatment : a structured review. *Pharmacogenetics* 2003 ; 13 : 705 – 713.
- (22) Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein beta (3) – subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension* 2001 ; 37 (Part 2) : 739 – 43.
- (23) Glorioso N, Manunta P, Filigheddu F, et al. The role of alpha – adducin polymorphism in blood pressure and sodium handling regulation may not be excluded by a negative association study. *Hypertension* 1999 ; 34 : 649 – 54.
- (24) Matayoshi T, Kamide K, Takiuchi S, et al. Thiazide – sensitive Na⁺ – Cl – cotransporter gene, C1784T, and adrenergic receptor – beta 3 gene, T727C, may be gene polymorphisms susceptible to the antihypertensive effect of thiazide diuretics. *Hypertens Res* 2004 ; 27 : 821 – 33.
- (25) Kurland L.
The antihypertensive response to irbesartan treatment from a pharmacogenetic perspective. *Minerva Medica* 2003 ; 94 : 251 – 258.
- (26) Kurland L, Melhus H, Karlsson J, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type I antagonist treatment in hypertensive patients. *J Hypertens* 2001 ; 19 : 1783 – 1787.
- (27) Kurland L, Melhus H, Karlsson J, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) – 344C/T polymorphism is related to antihypertensive response : result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens* 2002 ; 15 : 389 – 393.
- (28) Kurland L, Melhus H, Karlsson J, et al. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment : result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2002 ; 20 : 657 – 663.
- (29) Liljedahl U, Karlsson J, Melhus H, et al. A microarray minisequencing system for pharmacogenetic profiling of antihypertensive drug response. *Pharmacogenetics* 2003 ; 13 : 7 – 17.
- (30) Liljedahl U, Kahan T, Malmqvist K, et al. Single nucleotide polymorphisms predict the change in left ventricular mass in response to antihypertensive treatment. *J Hypertens* 2004 ; 22 : 2321 – 2328.
- (31) Schelleman H, Sticker BHC, Boer AD, et al. Drug – gene interactions between genetic polymorphisms and antihypertensive therapy. *Drugs* 2004 ; 64 : 1801 – 1816.

クリニカル

総説

心血管病とJAK/STAT経路の制御因子SOCS

安川 秀雄, 杉 雄介, 森 隆宏, 今泉 勉
久留米大学 循環器病研究所/医学部第三内科

はじめに

Suppressor of cytokine signaling (SOCS) ファミリー遺伝子群はサイトカインや成長因子によって発現が誘導され、細胞内のシグナル伝達を負に制御する。ファミリーのなかでSOCS 1とSOCS 3はJAKに会合することによりJAKのキナーゼ活性を抑制しJAK/STAT経路を遮断する。SOCS 1ノックアウトマウス (KO) は生後3週齢までに全身の激しい炎症で死亡する。Interferon γ (IFN γ)-KOとのかけあわせによりSOCS 1-KOの表現型がレスキューされることより、SOCS 1はIFN γ シグナルの負の調節因子であると考えられる。一方、SOCS 3-KOは胎盤の異常で胎生期に死亡する。Leukemia inhibitory factor (LIF) 受容体-KOとのかけあわせによりSOCS 3-KOの表現型がレスキューされることより、SOCS 3はLIF (gp130) シグナルの負の調節因子であると考えられる。このように、生体内においてもSOCS 1とSOCS 3がIFN γ やサイトカインのシグナル伝達の調節に不可欠であることが示されている。SOCSと成体や疾患との関連は不明のままであったが、この数年の間にSOCS 1とSOCS 3の組織特異的遺伝子改変マウスが作成され、病態との関連が次第に明らかになっている。本稿では、筆者らの心血管系の研究を中心に、JAK経路とその調節因子であるSOCS 1, SOCS 3の機能と最近筆者らが同定した新たなJAK経路の標的遺伝子であるsmall proline rich protein 1 A (SPRR 1 A) についても概説したい。

JAK経路

CT 1 (cardiotrophin 1) やLIFなどのgp130サイトカイン

ン, IFN, G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor), レプチン, エリスロポイエチンやトロンボポイエチンなどのサイトカインやホルモンが作用するためには、JAKキナーゼの活性化が不可欠である¹⁾⁻⁴⁾。すなわち、免疫系、造血系、内分泌代謝系、心血管系など生体の恒常性を維持するためにJAKは必須の分子である。サイトカインが受容体に会合すると受容体は重合し、JAKはリン酸化によって活性化される。活性化されたJAKは受容体のチロシン残基をリン酸化する。STATはSH 2ドメインを介して受容体のリン酸化チロシン残基に会合しJAKによってリン酸化される。リン酸化されたSTATは2量体化し核へ移行してさまざまな遺伝子の発現を誘導する。これまでに4つのJAK (JAK 1-3, TYK 2) と7つのSTAT (STAT 1-4, 5a, 5b, 6) ファミリー分子

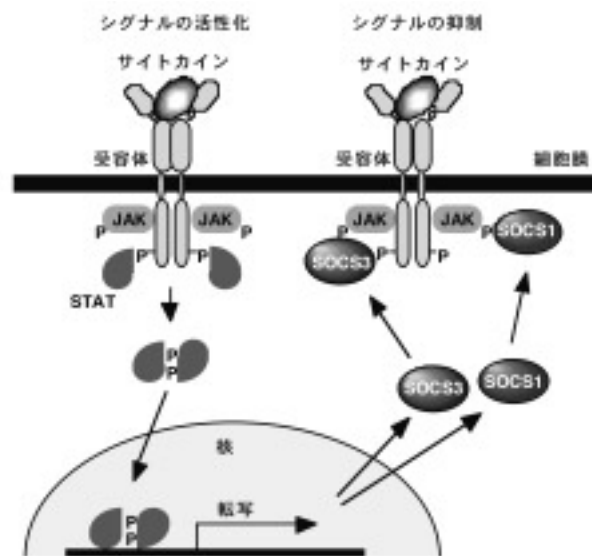


図1 SOCSによるJAK/STAT経路の負の制御

SOCS 1とSOCS 3はサイトカインによるJAK/STAT経路の活性化によって誘導され、SOCS 1は直接JAKに、SOCS 3は受容体を介してJAKに会合する。SOCS 1とSOCS 3はJAKのキナーゼ活性を抑制することによりJAK/STAT経路を負に制御する。

*久留米大学 循環器病研究所/医学部第三内科
(〒830-0011 久留米市旭町67)

が同定されている。

SOCSファミリー

サイトカインやホルモンが適切に作用するためには、JAK経路の活性化の強度や持続時間が厳重にコントロールされる必要がある。サイトカインシグナルの異常な活性化は癌化や炎症などの要因となり、一方で活性化が不十分であれば感染などに対する防御機構が機能不全となる。SOCSファミリー分子はサイトカインやホルモンによって発現が誘導され、受容体もしくはJAKに会合することによってサイトカインやホルモンの細胞内シグナルを特異的に負に制御する^{5)~8)}。SOCSは中央にSH2ドメインを、C末端にSOCS-boxを有し、これまでに8個の分子が同定されている。N末端に相同性はないが、SOCS1とSOCS3のSH2ドメインのN末側には、JAKのキナーゼの活性制御に必須であるキナーゼ阻害領域(KIR: kinase inhibitory region)が存在する。SOCS1はSH2ドメインを介してJAK2のkinase activation loopに存在するY1007に、またN末端のキナーゼ阻害領域(KIR)でJAKの活性中心に会合する。すなわち、SOCS1はSH2ドメインとKIRの2点でJAKに会合し、基質がJAKの活性中心に入り込む過程をブロックしていると考えられる。SOCS3はSH2ドメインを介してチロシン酸化された受容体と会合し、KIRを介してJAKに結合、JAKのキナーゼ活性を抑制していると考えられる⁹⁾。SOCS1はJAKを利用するあらゆるサイトカインの作用を抑制できるが、SOCS3はgp130などその親和性が高い受容体のシグナルのみを抑制できると考えられる^{10),11)}。

SOCSの生理機能~SOCSノックアウトマウスの表現型~

SOCS遺伝子のノックアウトマウスの解析により、SOCS1、SOCS2とSOCS3の興味深い生理機能が明らかにされた。興味深いことに、各々のSOCS分子が特異的に特定のサイトカインやホルモンのシグナルを制御していることも明らかになってきた。

1) SOCS1 KO

SOCS1-KOは正常に産まれてくるが体重の減少を認め生後3週齢までに全身の激しい炎症に伴う臓器障害で死亡する。胸腺と脾臓は萎縮し、肝臓では脂肪の蓄積および心臓など全身の臓器において単球や好中球などの炎症細胞浸潤を認める。これらの表現型はIFN γ のトランスジェニックマウスの表現型と類似している。実際に、IFN γ 抗体の投与やIFN γ -KOとのかけあわせによってSOCS1-KOの表現型はレスキューされる。SOCS1は生体内においてIFN γ シグナルの必須の制御因子である¹²⁾。

2) SOCS2 KO

SOCS2-KOは正常マウスと比べ体重増加が大きく約1.5倍の大きさとなりgigantismを呈する。各臓器の重量は増加しコラーゲンの蓄積が顕著に認められ、IGF-1の臓器での発現も高い。SOCS2-/-細胞では成長ホルモン刺激によるSTAT5の活性化の遷延が認められ、SOCS2が成長ホルモン受容体に会合することが示されている。これらの結果より、SOCS2は成長ホルモンのシグナルを負に制御していると考えられる¹³⁾。

3) SOCS3 KO

SOCS3は心臓、脳、血球系細胞を含めてさまざまな臓器で発現が認められ、広範なサイトカインで発現が亢進する。SOCS3-KOは胎児に異常は認めないが胎盤の形成不全によって胎生期に死亡する。LIF-KOとのかけあわせによりSOCS3-KOの胎盤異常や胎生致死が解消されることより、SOCS3は生体内においてLIF(gp130)の必須のネガティブフィードバック因子と考えられる^{14),15)}。

このように、SOCS-KOマウスの解析によってSOCS分子の生理機能が明らかにされたが、成体や疾患の病態におけるSOCS1とSOCS3の機能は不明のままであった。筆者らは組織特異的なSOCS1とSOCS3の遺伝子改変マウスを作成した。心筋特異的トランスジェニックマウス(SOCS1-TG, SOCS3-TG)と遺伝子座にloXp配列をもつSOCS1-floxマウスとSOCS3-floxを作成した。Creリコンビナーゼを各組織で発現するマウスとFloxマウスとの交配により、心筋、脳、血球細胞でSOCSを欠失するマウスを作成した。

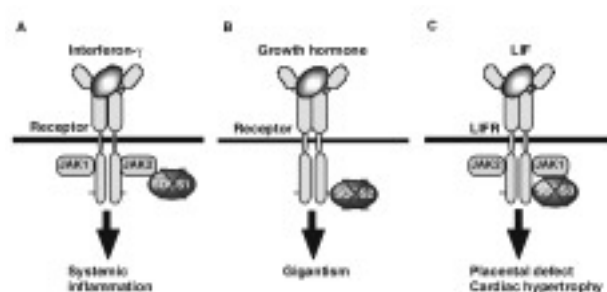


図2 SOCS分子の生理機能

- (A) SOCS1-KOマウスはIFN γ のシグナルが亢進するために全身の激しい炎症に伴う臓器障害で生後3週齢までに死亡する。
- (B) SOCS2-KOマウスは成長ホルモンのシグナルが亢進するためにgigantismとなる。
- (C) SOCS3-KOマウスはLIF(gp130)シグナルが亢進するために胎盤の形成不全によって胎生期に死亡する。

JAK/SOCS系と心血管病

1) SOCS 1とウイルス性心筋炎

ウイルス性心筋炎の急性期には浸潤増殖したウイルスにより直接心筋が傷害され、急性心不全や致死性不整脈を誘発し突然死の原因になる。ウイルス性心筋炎の病態において細胞性免疫反応が重要であることはよく理解されているが、感染心筋の細胞内シグナル伝達が果たす役割については不明な点が多い^{16),17)}。コクサッキーウイルス (CVB) を感染させたマウス心筋炎モデルの急性期の心臓では、JAK/STATが活性化されその制御因子であるSOCS 1とSOCS 3が誘導されていた。SOCS 1-TGにCVBを感染させたところ、感染後4日目までにほとんどのマウスが死亡した。SOCS 1-TGの心臓は広汎に壊死となっておりCVBの力価はコントロールの約100倍に増加していた。これらの結果は、ウイルス性心筋炎初期の病態の進行において心筋細胞内のJAK/STAT経路の活性化が感染防御機構に重要であり、一方でSOCS 1が心

筋炎の増悪因子となることを示している¹⁸⁾。Adeno-associated virusを用いてドミナントネガティブSOCS 1 (DN-SOCS 1) を心臓に遺伝子導入し¹⁹⁾、SOCS 1の発現抑制によってCVBによる心筋傷害が抑制できるかどうかを検討した。その結果、DN-SOCS 1発現部位ではCVBによる心筋傷害が著明に抑制されていた。このことはJAK/STAT経路の制御因子であるSOCS 1がウイルス性心筋炎の治療のターゲットとなり得ることを示している。

2) SOCS 3と心肥大

血行力学的圧負荷は心肥大や心不全の大きな要因である²⁰⁾。CT 1やLIFはファミリーに共通の受容体であるgp130を介してJAK/STATを活性化し、心筋肥大を誘導するとともに心筋の生存を促進する²¹⁾⁻²⁴⁾。心筋特異的gp130-KO (gp130-CKO) に圧負荷を加えるとマウスは急速に心不全を発症し死亡することより、圧負荷による心不全発症の予防にgp130/JAK経路が重要であると考えられる²⁵⁾。一方、gp130/JAKシグナルの負の制御因子であるSOCS 3が大動脈圧負荷によって、マウス心臓で圧負荷後の急性期と心肥大期において誘導される。また、アデノウイルスでSOCS 3を過剰発現させた心筋細胞では、CT 1やLIFによる抗アポトーシス作用や肥大誘導作用がほぼ完全にブロックされる²⁶⁾。高橋らはテトラプロイドレスキューによって産まれたSOCS 3-KOの表現型について報告している。この手法によって産まれたSOCS 3-KOは生後3週までに心肥大などの心臓の異常によって生後3週間以内に死亡する。SOCS 3-KOの心肥大は、SOCS 3が欠失しているためにCT 1やLIFのシグナルが恒常的に活性化されたためと考えられる²⁷⁾。このように、SOCS 3は生体においてgp130シグナルに必須の制御因子であり心筋肥大の制御にも重要と考えられる。しかしながら、筆者らが作成した心筋特異的SOCS 3-KOの心臓には明らかな異常は認められず、圧負荷によってもコントロールと明らかな差を認めなかった。今後、心肥大におけるSOCS 3の機能を明らかにするためにさらなる解析が必要である。

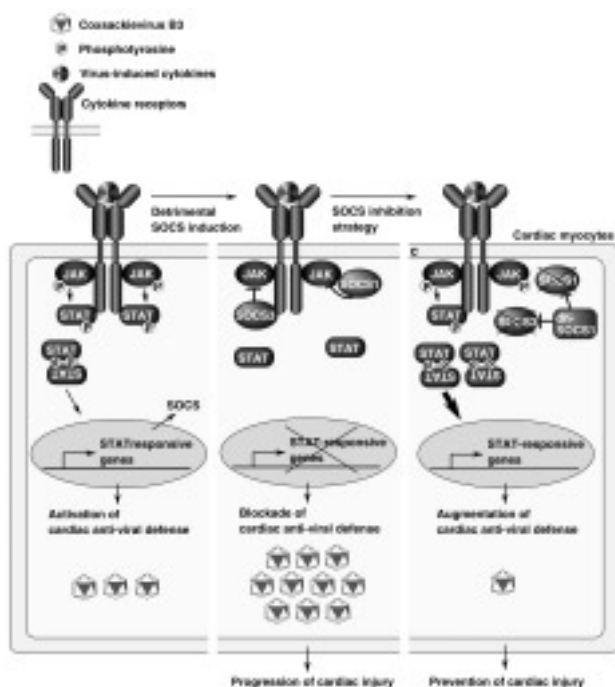


図3 SOCS 1とSOCS 3はウイルス性心筋炎の治療の標的である

- ウイルス性心筋炎の心臓ではサイトカインによってJAK-STAT経路が活性化され抗ウイルスの標的遺伝子が誘導される。
- JAK-STAT経路がウイルスに対する防御機構として機能する一方で、SOCSはJAK-STAT経路を抑制することによって心筋炎の増悪因子となる。
- ドミナントネガティブSOCS 1のようにSOCSを抑制することによってJAK-STAT経路の活性化を増強させウイルス性心筋炎を抑制できる。

3) SOCS 3と炎症

マクロファージ特異的SOCS 3欠損マウスは正常に産まれ、成体においても異常は認めなかった。そこでLPSを投与しエンドトキシンショックに対する反応性を調べた。全ての野生型マウスがLPS投与後24時間以内に死亡する一方で、SOCS 3欠損マウスの生存率は約80%であった。SOCS 3欠損マウスの血中TNF α レベルは野生型マウスの半分以下であった。培養マクロファージでは

IL-6やIL-10がSTAT3を活性化する。このときIL-10/STAT3経路はLPSのシグナルを抑制するのに対してIL-6/STAT3経路は抑制しない。なぜ同じSTAT3を活性化するのにIL-6（炎症促進）とIL-10（炎症抑制）は異なった生理作用を示すのかこれまで謎であった。IL-10存在下でのマクロファージによるLPSによるサイトカイン産生を比較したところ、SOCS3^{+/+}マクロファージとともにIL-10はサイトカイン産生を抑制した。したがってSOCS3はIL-10経路に対して影響はない。次にIL-6の効果を調べた。よく知られているように野生型マクロファージではIL-6はLPSシグナルを抑制しない。ところがSOCS3^{-/-}マクロファージではIL-6でもIL-10と同様にLPSシグナルを抑制した。このときSOCS3^{+/+}マクロファージではLPS存在下ではIL-10は強力にSTAT3を活性化するがIL-6はSTAT3を活性化できなかった。一方SOCS3^{-/-}マクロファージではIL-6もIL-10と同様にSTAT3の活性が遷延していた。すなわち、SOCS3はIL-10経路を抑制しないがIL-6経路を抑制する。そのためSOCS3^{+/+}マクロファージではIL-6はLPSシグナルを抑制できない。これらの結果は、SOCS3がない状態ではIL-6は炎症性サイトカインから抗炎症性サイトカインに変換されることを示している。マクロファージ内のSOCS3は抗炎症の新しい標的分子となり得ると考えられる²⁸⁾。

4) SOCS3とメタボリック症候群

メタボリック症候群は肥満にもとづく代謝系のバランス破綻の結果、高血圧、糖尿病、高脂血症などの生活習

慣病を重積発症する。このようなメタボリック症候群の病態は動脈硬化性疾患の発症と進展に直結する。肥満病因遺伝子として発見されたレプチンはインスリン刺激により脂肪細胞で産生され、強力な摂食抑制とエネルギー消費亢進による肥満抑制作用と、全身の交感神経活性亢進による昇圧作用を有する^{29)~31)}。ヒトの血中レプチン濃度と肥満（体脂肪）は正の相関を示すことが知られている³²⁾。このことは、肥満の病態にレプチン抵抗性が存在することを示している。レプチンは主に視床下部に存在するレプチン受容体-JAK-STAT3経路を介してシグナルを核へ伝える³³⁾。マウスにレプチンを投与すると視床下部の神経細胞においてJAK-STAT3の活性化とともに、JAK-STAT3経路のシグナル制御因子であるSOCS3の発現量が上昇する³⁵⁾。また、試験管内の解析から、SOCS3がレプチンシグナルのネガティブフィードバック調節因子であり、SOCS3がレプチン抵抗性に関与していることが示唆されている³⁴⁾、³⁵⁾。筆者らはSOCS3の個体レベルでの生理機能を明らかにするために、神経細胞特異的にSOCS3遺伝子を欠損するマウスを作製した。野生型マウスと比較して、SOCS3欠損マウスでは、レプチン投与後に視床下部STAT3のリン酸化および摂食抑制ニューロンであるPOMC（pro-opiomelanocortin）の発現誘導の増強が見られ、これにより著明な体重減少と摂食量の低下をきたした。さらに、SOCS3欠損マウスは高脂肪食による体重増加にも抵抗性であり、インスリン感受性が保たれていた。したがって、SOCS3は摂食にともなうレプチン抵抗性およびインスリン抵抗性を決める重要な因子であると考えられる³⁶⁾。

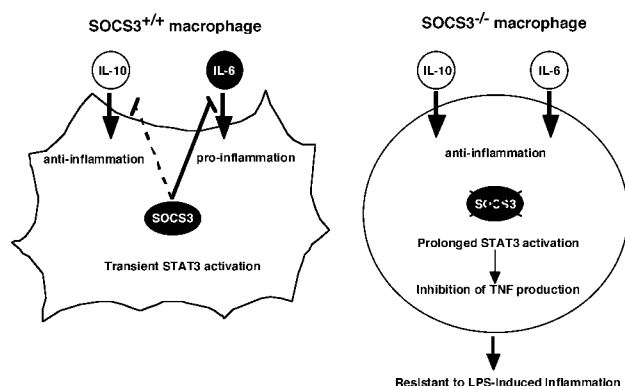


図4 マクロファージにおけるSOCS3と抗炎症の分子機構

炎症性サイトカインIL-6と抗炎症性サイトカインIL-10は共通のSTAT3を活性化する。SOCS3はIL-6-STAT3経路を抑制するがIL-10-STAT3経路は抑制しない。SOCS3^{-/-}マクロファージではIL-6-STAT3経路の活性化が遷延しLPSによるTNFなどのサイトカインの産生が抑制される。その結果、LPSによる炎症に抵抗性になると考えられる。

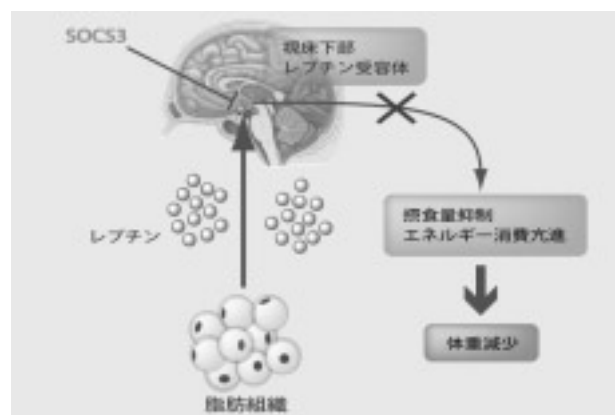


図5 視床下部におけるSOCS3とレプチン抵抗性の分子機構

レプチンはインスリン刺激により脂肪細胞で産生され、摂食を抑制しエネルギー消費を亢進させる。レプチンは主に視床下部に存在するレプチン受容体-JAK-STAT3経路を介してシグナルを核へ伝える。SOCS3はレプチン受容体-JAK-STAT3経路を抑制することによってレプチン抵抗性の原因となる。

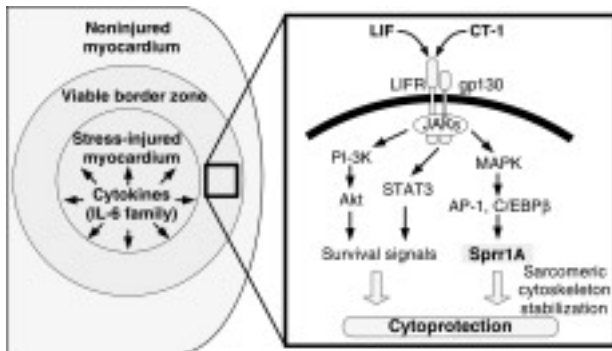


図6 虚血心筋におけるgp130-SPRR 1 A経路による心筋防御機構

急性心筋梗塞部位から放出されるgp130サイトカインは、梗塞部位との境界領域の心筋細胞に作用しgp130-SPRR 1 A経路を活性化し、MAPキナーゼ依存性に誘導されるSPRR 1 Aは虚血による心筋傷害に対して保護的に作用する。

5) JAK経路と心筋梗塞

ヒト急性心筋梗塞の血清においてCT1が増加していることが報告されている³⁷⁾。また、ラット急性心筋梗塞モデルにおいて梗塞巣周辺領域でJAK-STAT経路が活性化され、JAK阻害薬の投与によって梗塞巣が拡大することが示されている³⁸⁾。このようにgp130/JAK経路と心筋梗塞における心筋保護との重要な関連が示されている。G-CSFはLIFやCT 1と同様にJAK経路を活性化する。急性心筋梗塞モデルにG-CSFを投与することにより、梗塞巣が縮小しリモデリングが改善することが明らかにされている。最近、このG-CSFの効果は血管新生の促進のみならず、G-CSFがJAK経路を活性化することにより直接心筋の生存を促進することが重要であることが示されている³⁹⁾。このように、JAK経路を活性化するサイトカインが虚血心筋においても心筋の保護に重要であることが示されている。筆者らはJAK経路の標的遺伝子を同定するために、LIFで刺激した心筋細胞を用いたSAGE解析、および大動脈狭窄による圧負荷をかけたgp130-CKOの心臓を用いたジーンチップ解析を行い、圧負荷とgp130/JAK経路で特異的に誘導される新しい標的遺伝子small proline rich repeat protein 1 A (SPRR 1 A)を同定した。圧負荷心筋を用いてSPRR 1 Aタンパクの局在を調べたところ、SPRR 1 Aは散在性にfocalに生じる壊死心筋の周囲の残存心筋に発現していた。心筋梗塞モデルにおいても同様に、梗塞部位と非梗塞部位の境界域の残存心筋にSPRR 1 Aの発現を認めた。さらに、SPRR 1 Aの過剰発現は、in vitroでの心筋細胞のアポトーシスとex vivoでの心筋虚血再還流障害を有意に抑制した。サイトカインのシグナル伝達因子であるgp130/JAK、およびJAK経路の標的遺伝子であるSPRR 1 Aが急性心筋虚

血に対する心筋保護に重要であり、新たな治療標的となることが期待される⁴⁰⁾。

おわりに

心血管病や生活習慣病などの病態におけるJAK-STAT経路とその制御系SOCSの役割が次第に明らかになってきた。今後は、遺伝子改変マウスを用いたさらなる詳細な解析とヒトにおける検討が必要である。JAK-STAT経路のシグナル伝達分子やSOCSなどの制御系の分子が心血管病・生活習慣病の新たな創薬のターゲットとなることが期待される。

文 献

- 1) Ihle, J. N. Cytokine receptor signaling. *Nature* 377: 591-594, 1995.
- 2) Darnell, J. E., Jr. STATs and gene regulation. *Science* 277: 1630-1635, 1997.
- 3) Leonard, W. J., and O'Shea, J. J. Jak and STATs: biological implications. *Annu Rev Immunol* 16: 293-322, 1998.
- 4) O'Shea, J. J., Gadina, M., and Schreiber, R. D. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell* 109 Suppl: S121-131, 2002.
- 5) Starr, R., Willson, T. A., Viney, E. M., Murray, L. J., Rayner, J. R., Jenkins, B. J., Gonda, T. J., Alexander, W. S., Metcalf, D., Nicola, N. A., et al. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. *Nature* 387: 917-921, 1997.
- 6) Naka, T., Narazaki, M., Hirata, M., Matsumoto, T., Minamoto, S., Aono, A., Nishimoto, N., Kajita, T., Taga, T., Yoshizaki, K., et al. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature* 387: 924-929, 1997.
- 7) Endo, T. A., Masuhara, M., Yokouchi, M., Suzuki, R., Sakamoto, H., Mitsui, K., Matsumoto, A., Tanimura, S., Ohtsubo, M., Misawa, H., et al. A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature* 387: 921-924, 1997.
- 8) Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A: Negative regulation of the cytokine signaling pathways. *Annu Rev Immunol* 18: 143-164, 2000
- 9) Yasukawa H, Misawa H, Sakamoto H, Masuhara M, Wakioka T, Sasaki A, Ohtsuka S, Imaizumi T, Matsuda T, Ihle JN, and Yoshimura A: The JAK-binding protein JAB inhibits janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop. *EMBO J* 18: 1309-1320, 1999

- 10) Nicholson, S. E., De Souza, D., Fabri, L. J., Corbin, J., Willson, T. A., Zhang, J. G., Silva, A., Asimakis, M., Farley, A., Nash, A. D., et al. 2000. Suppressor of cytokine signaling-3 preferentially binds to the SHP-2-binding site on the shared cytokine receptor subunit gp130. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 : 6493-6498.
- 11) Sasaki A, H. Yasukawa, T. Shouda, T. Kitamura, I. Dikic, A. Yoshimura : CIS3/SOCS-3 suppresses erythropoietin (EPO) signaling by binding the EPO receptor and JAK2. *J Biol Chem* 275 : 29338-29347, 2000
- 12) Alexander, W. S., Starr, R., Fenner, J. E., Scott, C. L., Handman, E., Sprigg, N. S., Corbin, J. E., Cornish, A. L., Darwiche, R., Owczarek, C. M., et al. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon gamma signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell* 98:597-608, 1999.
- 13) Metcalf D, Greenhalgh CJ, Viney E, Willson TA, Starr R, Nicola NA, Hilton DJ, Alexander WS. Gigantism in mice lacking suppressor of cytokine signalling-2. *Nature* 405 : 1069-1073, 2000;
- 14) Roberts AW, Robb L, Rakar S, Hartley L, Cluse L, Nicola NA, Metcalf D, Hilton DJ, Placental defects and embryonic lethality in mice lacking suppressor of cytokine signaling 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9324-9329, 2001
- 15) Marine C, McKay C, Wang D, Topham DJ, Parganas E, Nakajima H, Penderville H, Yasukawa H, Sasaki S, Yoshimura A : Ihle JN ; SOCS-3 is essential in the regulation of fetal liver erythropoiesis. *Cell* 98 : 617-627, 1999
- 16) Rose, N. R. Viral damage or 'molecular mimicry' - placing the blame in myocarditis. *Nat Med* 6 : 631-632, 2000.
- 17) Liu, P., Martino, T., Opavsky, M. A., and Penninger, J. Viral myocarditis : balance between viral infection and immune response. *Can J Cardiol* 12 : 935-943, 1996.
- 18) Yasukawa H, Yajima T, Duplain H, Iwatate M, Kido M, Hoshijima M, Weitzman W, Nakamura T, Woodard S, Xiong D, Yoshimura A, Chien KR, Knowlton K : The suppressors of cytokine signaling-1 (SOCS1) is a novel therapeutic target for enterovirus-induced cardiac injury. *J Clin Invest* 111 : 469-478, 2003
- 19) Hanada T, Yoshida T, Kinjyo I, Minoguchi S, Yasukawa H, Kato S, Mimata H, Nomura Y, Seki Y, Kubo M, Yoshimura A : A mutant form of JAB/SOCS1 augments the cytokine-induced JAK/STAT pathway by accelerating degradation of wild-type JAB/CIS family proteins through SOCS box. *J Biol Chem* 276 : 40746-54, 2001
- 20) Chien, K. R. Stress pathways and heart failure. *Cell* 98 : 555-558, 1999.
- 21) Negoro, S., Oh, H., Tone, E., Kunisada, K., Fujio, Y., Walsh, K., Kishimoto, T., and Yamauchi-Takahara, K. Glycoprotein 130 regulates cardiac myocyte survival in doxorubicin-induced apoptosis through phosphatidylinositol 3-kinase/Akt phosphorylation and Bcl-xL/caspase-3 interaction. *Circulation* 103 : 555-561, 2001.
- 22) Wollert, K. C., Taga, T., Saito, M., Narazaki, M., Kishimoto, T., Glembofski, C. C., Vernallis, A. B., Heath, J. K., Pennica, D., Wood, W. I., and Chien, K. R. 1996. Cardiotrophin-1 activates a distinct form of cardiac muscle cell hypertrophy. Assembly of sarcomeric units in series VIA gp130/leukemia inhibitory factor receptor-dependent pathways. *J. Biol. Chem.* 271 : 9535-9545, 1996.
- 23) Sheng, Z., Knowlton, K., Chen, J., Hoshijima, M., Brown, J. H., and Chien, K. R. Cardiotrophin 1 (CT-1) inhibition of cardiac myocyte apoptosis via a mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. Divergence from downstream CT-1 signals for myocardial cell hypertrophy. *J. Biol. Chem.* 272 : 5783-5791, 1997.
- 24) Hamanaka I, Saito Y, Yasukawa H, Kishimoto I, Kuwahara K, Miyamoto Y, Harada M, Ogawa E, Kajiyama N, Takahashi N, Izumi T, Kawakami R, Masuda I, Yoshimura A, Nakao K : Induction of JAB/SOCS-1/SSI-1 and CIS3/SOCS-3/SSI-3 is involved in gp130 resistance in cardiovascular system in rat treated with cardiotrophin-1 in vivo. *Circ Res* 88 : 727-32, 2001
- 25) Hirota, H., Chen, J., Betz, U. A., Rajewsky, K., Gu, Y., Ross, J., Jr., Muller, W., and Chien, K. R. Loss of a gp130 cardiac muscle cell survival pathway is a critical event in the onset of heart failure during biomechanical stress. *Cell* 97 : 189-198, 1999.
- 26) Yasukawa H, Hoshijima m, Gu Y, Nakamura T, Pradervand S, Hanada T, Hanakawa Y, Yoshimura A, Ross, Jr J, Chien KR : Suppressor of cytokine signaling-3 is a biomechanical stress-inducible gene that suppresses gp130-mediated cardiac myocyte hypertrophy and survival pathways. *J Clin Invest* 108 : 1459-1467, 2001
- 27) Takahashi Y, Carpino N, Cross JC, Torres M, Parganas E, Ihle JN. SOCS3 : an essential regulator of LIF receptor signaling in trophoblast giant cell differentiation. *EMBO J* 22 : 372-84, 2003.
- 28) Yasukawa H, Ohishi M, Mori H, Murakami M, Chinen T, Aki D, Hanada T, Takeda K, Akira S, Hoshijima M, Hirano T, Chien KR, Yoshimura A : IL-6 induces an anti-

- inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages. *Nature Immunol* 4 : 551–556, 2003
- 29) Ahima RS and Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 62 : 413–437, 2000.
- 30) Friedman JM and Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395 : 763–770, 1998.
- 31) Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D Jr. Cerebrospinal fluid leptin levels : relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nature Med.* 5 : 589–593, 1996.
- 32) Considine RV et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334 : 292–295, 1996.
- 33) Bates SH et al. STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction *Nature* 421 : 856–859, 2003
- 34) Bjorbaek C, Elmquist JK, Frantz JD, Shoelson SE, Flier JS. Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol Cell* 1 : 619–625, 1998
- 35) Bjorbaek C et al. SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985. *J Biol Chem.* 275 : 40649–40657, 2000.
- 36) Mori H, Hanada R, Hanada T, Aki D, Mashima R, Nishinakamura H, Torisu T, Chien KR, Yasukawa H, Yoshimura A : Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. *Nature Med* 10 : 739–43, 2004
- 37) Talwar S, Squire IB, Downie PF, O'Brien RJ, Davies JE, Ng LL. Elevated circulating cardiotrophin-1 in heart failure : relationship with parameters of left ventricular systolic dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 99 : 83–88, 2000.
- 38) Negoro S, Kunisada K, Tone E, Funamoto M, Oh H, Kishimoto T, Yamauchi-Takahara K. Activation of JAK/STAT pathway transduces cytoprotective signal in rat acute myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 47, 797–805, 2000
- 39) Harada M, Qin Y, Takano H, Minamino T, Zou Y, Toko H, Ohtsuka M, Matsuura K, Sano M, Nishi J, Iwanaga K, Akazawa H, Kunieda T, Zhu W, Hasegawa H, Kunisada K, Nagai T, Nakaya H, Yamauchi-Takahara K, Komuro I. G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes. *Nature Med.* 11 : 305–11, 2005
- 40) Pradervand S, Yasukawa H, Muller OG, Kjekshus H, Nakamura T, St Amand TR, Yajima T, Matsumura K, Duplain H, Iwatate M, Woodard S, Pedrazzini T, Ross J, Firsov D, Rossier BC, Hoshijima M, Chien KR : Small proline-rich protein 1A is a gp130 pathway-and stress-inducible cardioprotective protein. *EMBO J* 23 : 4517–4525, 2004

ベーシック

日本心脈管作動物質学会研究奨励賞受賞論文

1

レニン・アンジオテンシン系活性化による血管リモデリングとその細胞内分子機構について

泉 康雄, 岩尾 洋

大阪市立大学大学院医学研究科分子病態薬理学

要約

レニン・アンジオテンシン系 (RA系) は高血圧だけでなく血管リモデリングにも関与している。RA系の亢進は主にAT1受容体を介して細胞内に伝えられる。細胞内におけるシグナル伝達系は、細胞応答 (細胞増殖, 細胞遊走, 細胞死, 増殖因子や細胞外基質の産生) において中心的な役割を演じている。MAPキナーゼファミリーは、様々なストレス刺激によって活性化されるが、MAPキナーゼ活性を特異的に阻害することにより、血管傷害後の内膜過形成は抑制された。さらにMAPキナーゼの上流に位置するASK1活性も血管リモデリングの促進に関与していることがわかった。MAPキナーゼカスケードの抑制は、血管リモデリングに対する治療標的となりうる。

はじめに

様々な病態でみられる血管の構造変化及びその過程を血管構造の再構築 (血管リモデリング) と総称する¹。様々な外的及び内的刺激により、それぞれに特異的な細胞受容体が活性化され、細胞内シグナル伝達系を介して細胞応答を引き起こす。これまでの血管リモデリングに関する研究は、受容体に焦点を当てたものが多く報告されている。アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬やAT1受容体拮抗薬 (ARB) は降圧とは無関係に血管保護作用を有することがわかり、アンジオテンシンII (AngII) が血管リモデリングに重要な役割を演じていることが明らかとなった。しかし、さまざまな刺激によって共通に活性化を受ける細胞内情報伝達系からの血管リモデリングの機序の解明や治療法の開発は不十分である。本稿では、血管リモデリングにおけるRA系からのシグナ

ル伝達について、主にmitogen-activated protein kinase (MAPキナーゼ) ファミリーの役割について概説する。

I. 局所RA系

図1に示すように、AngIIは血管の収縮・増殖や腎臓でのナトリウム・体液貯留など様々な作用を有するが、血中のRA系が亢進していない病態においてもRA系阻害薬は降圧作用や臓器保護作用を発揮する。すなわち、血中RA系以外に局所の組織中にRA系が存在し、その局所でAngIIが産生されている。血管局所にもRA系が存在し、血管壁を形成する平滑筋細胞や内皮細胞も独自のRA系を有する。様々なストレス刺激が加わることで血管壁でのRA系が活性化され、AngIIが産生される。AngIIの受容体には、AT1およびAT2受容体が存在するが、平滑筋細胞や内皮細胞には主にAT1受容体が発現している。血管局所RA系の亢進は、AT1受容体を介して血管リモデリングを引き起こす。多くの動物実験モデルを用いた検討で、血中のRA系よりはむしろ局所RA系の亢進が種々の病態に関与していると考えられるようになっている。

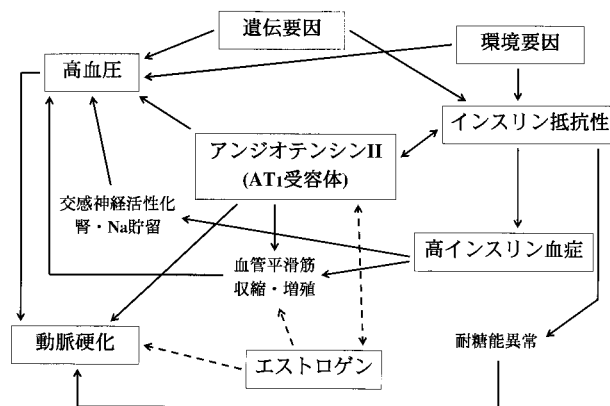


図1 アンジオテンシンII(AT1受容体)と他の因子との相互作用。実線は促進、破線は抑制を示す。

* 大阪市立大学大学院医学研究科分子病態薬理学
(〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町1-4-3)

II. Ang II の亢進と遺伝子発現

Ang II の役割については数多く報告されている²。血管平滑筋細胞においては、Ang II は細胞の増殖および遊走亢進作用を有し、また、様々な血管リモデリング促進因子の発現に関与している。例えば、platelet-derived growth factor (PDGF) や epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) などの増殖因子、コラーゲン、フィブロネクチンなどの細胞外基質、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) といった炎症関連遺伝子、さらには血栓形成に重要な plasminogen activator protein-1 (PAI-1) の発現を亢進する。

Ang II は、PDGF や EGF といった増殖因子の受容体も活性化する³。平滑筋細胞において、Ang II の亢進は、急性期には主に EGF の受容体を活性化し、慢性期には主に PDGF 受容体を活性化していることがわかった。高血圧ラットや血管傷害モデルラットにおいても PDGF β 受容体が活性化されており、RA 系阻害薬 (ACE 阻害薬や ARB) でこの活性化は抑制される⁴。このように、RA 系の活性化による血管リモデリング作用には、様々な血管リモデリング関連遺伝子の発現亢進や増殖因子受容体の活性化亢進も関与している。

III. MAPキナーゼファミリー

細胞は増殖因子、サイトカイン、ストレスなど常に曝されている様々な刺激に応答して、増殖・分化・細胞死などの運命をたどる。こうした刺激に対して速やかに活性化される細胞内シグナル伝達系として同定された MAPキナーゼ経路は、酵母から高等動植物に至るまで真

核生物に普遍的に存在しており、いずれの生物種においても複数の MAPキナーゼ経路が存在している。ほとんどの MAPキナーゼは、その TXT (Thr-Xxx-Tyr) というアミノ酸配列の Thr 残基と Tyr 残基が上流の MAPキナーゼキナーゼによりリン酸化されることによって活性化する。活性化した MAPキナーゼは、細胞質から核へ移行し、各々の MAPキナーゼに特異的な転写因子などをリン酸化することで種々の遺伝子の転写・発現を制御し、細胞応答を引き起こすと考えられている^{5,6}。

脊椎動物においては、MAPキナーゼファミリーのサブタイプとして、extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK 1/2), c-jun amino-terminal kinase (JNK) (別名 stress-activated protein kinase (SAPK)), p38MAPK (p38), および ERK 5 (別名 Big MAP kinase 1 (BMK 1)) の少なくとも 4 種類が知られている⁶⁻⁹。これらを活性化する MAPキナーゼキナーゼ、MAPキナーゼキナーゼキナーゼも多数同定されている (図 2)。ERK 1/2 は EGF, PDGF, 血清, インスリンなど多くの増殖刺激や血管作動物質により活性化され、細胞増殖に重要な役割を演じていると考えられてきた。JNK は、紫外線照射や熱ショック, interleukin-1 (IL-1) や tumor necrosis factor- α (TNF- α) などの炎症性サイトカイン刺激で活性化される。JNK 経路の役割としては細胞のアポトーシスや分化への関与が示唆されている。P38 は JNK 同様、炎症性サイトカインやストレス刺激で活性化され、細胞のアポトーシスや分化への関与が示唆されている。ERK 5 は高浸透圧や酸化ストレスなどの刺激で活性化するキナーゼとして報告されたが、EGF や血清刺激で活性化されることもわかってきた。ERK 5 経路は c-Jun の発現や培養細胞の G1 期から S 期への移行に関与しており、ERK 5 欠損マウスは心臓血管形成に異常が見られ胎生致死になることが報告されている¹⁰。

このように、MAPキナーゼは様々な分子や環境によって制御され、外的刺激に対して迅速かつ正確な応答を行っている。しかし、それぞれの MAPキナーゼ経路は完全に独立しているわけではなく、しばしば同一の刺激ですべてが活性化されることもある。

IV. Ang II による血管リモデリングと MAPキナーゼ活性

Ang II は血管に作用して様々な細胞内シグナル伝達系を活性化するが、血管リモデリングにおける意義についてはほとんどわかっていない。AT1 受容体が活性化されるとプロテインキナーゼ C が活性化され、また、前述の MAPキナーゼ経路や JAK-STAT 経路が活性化され、activator protein-1 (AP-1) などの転写因子の DNA 結合活性も亢進する。われわれは血管リモデリングの分

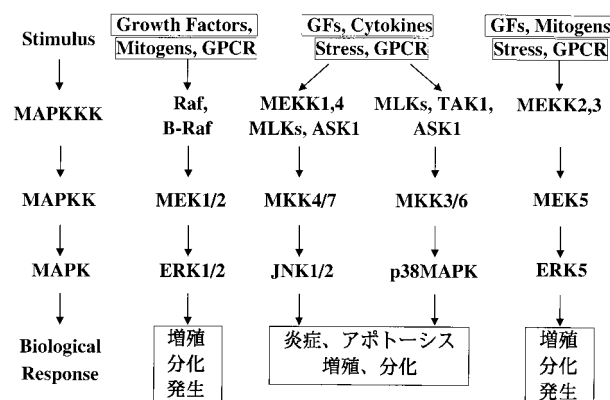


図 2 脊椎動物の MAPキナーゼカスケード。ERK 1/2, JNK, p38, ERK5 の 4 つのファミリーが存在し、それぞれ独立したカスケードを形成する。MAPKKK は複数の MAPKK を活性化するものもある。

子機序について、MAPキナーゼファミリーに注目し、特に *in vivo* のレベルで研究を行ってきた。ラット頸動脈に対してバルーン傷害を行うと、ERK 1/2、JNKおよびp38は傷害5分後をピークとした劇的な活性亢進が見られる¹¹。これらの活性化はACE阻害薬やARBで抑制されることから、RA系の活性化が関与している。また、ラットにAng IIを持続投与すると、血管でERK 1/2、JNKおよびp38が活性化していることもわかった。そこで、これらのシグナル分子が血管傷害後の壁肥厚に直接関与しているかどうかを検討するため、それぞれのドミナントネガティブ変異体遺伝子を作製し、頸動脈にそれぞれの遺伝子を導入してそれぞれのシグナル分子活性を抑制した。その結果、バルーン傷害による血管内膜肥厚は有意に抑制され、この抑制が平滑筋細胞の増殖および遊走に由来していることがわかった^{12,13}。 *in vivo* レベルでの研究により、培養細胞ではJNKやp38は細胞増殖よりはむしろアポトーシスを誘導するというこれまでの報告とは異なった結果が得られた。さらに、ERK 1/2、JNK、p38のドミナントネガティブ変異体遺伝子を同時に頸動脈に遺伝子導入すると、バルーン傷害による血管内膜肥厚はほぼ完全に抑制された(図3)。すなわち、ERK 1/2、JNK、p38はすべて血管内膜肥厚に関与している。ERK 5は内皮細胞のアポトーシスを抑制することで抗動脈硬化作用を有するといった報告があり、今後の研究成果が待たれるところである。

V. Ang IIによる血管リモデリングとASK 1活性

近年、MAPキナーゼの上流に位置するMAPキナーゼキナーゼキナーゼの一つとしてapoptosis signal-

regulating kinase 1 (ASK 1) が同定された¹⁴。ASK 1は分子量約160kDのセリン/スレオニンキナーゼで、哺乳類のみならず線虫やショウジョウバエにもASK 1に相当するものが存在する。ASK 1はTNFやIL-1などのサイトカイン刺激の他、高浸透圧や、蛋白合成阻害薬、さまざまなストレスなどにより活性化され、細胞応答において中心的な役割を演じている。ASK1を細胞に過剰発現させるとMKK 3/6-p38経路およびSEK 1-JNK経路を選択的に活性化してアポトーシスを惹起させ、不活性型ASK 1を過剰発現させるとアポトーシスを抑制した¹⁵。一方、未分化神経細胞においてはASK 1の活性化からp38を活性化する経路が分化や生存を誘導することも報告されている^{16, 17}。このように、ASK 1は細胞の分化、アポトーシス、生存といった様々な役割を演じていると考えられる。そこで我々は、RA系亢進による血管リモデリングにおけるASK 1の役割を *in vivo* のレベルで行った¹⁸。

ラット頸動脈に対してバルーン傷害を行うと、血管のASK 1は傷害5分をピークとする一過性の活性亢進がみられ(図4)、さらに、MAPキナーゼファミリーのJNKとp38が活性化されることがわかった。そこで、ASK 1のドミナントネガティブ変異体(DN-ASK 1)を作製し、 *in vivo* で遺伝子導入を行ってASK 1の活性を直接阻害した。その結果、血管傷害後の血管内膜肥厚は有意に抑制された(図5)。一方、野生型ASK 1を血管に遺伝子導入すると、バルーン傷害後の血管内膜肥厚は促進された。血管平滑筋細胞にDN-ASK 1を遺伝子導入すると、ASK 1の下流に存在するp38およびJNK活性は有意に抑制された。さらに、平滑筋細胞の増殖および遊走の亢進

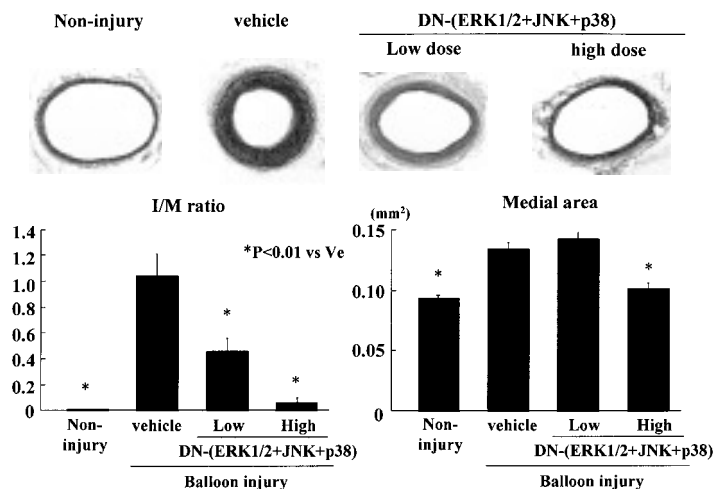


図3 ラット頸動脈バルーン傷害による血管内膜肥厚に対するドミナントネガティブ変異体遺伝子導入の効果。DN: dominant negative mutant

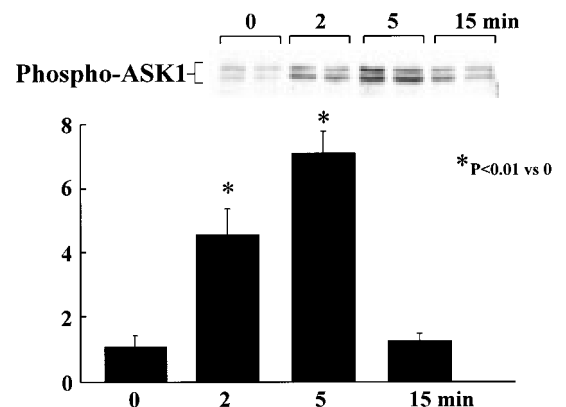


図4 ウェスタンブロット法によるラット頸動脈バルーン傷害によるASK 1の活性化: 傷害5分後をピークとした一過性の活性増加がみられる。

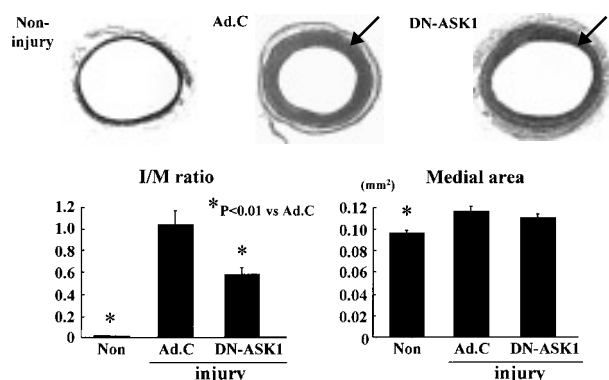


図5 ラット頸動脈バルーン傷害による血管内膜肥厚に対するASK1のドミナントネガティブ変異体遺伝子導入の効果. DN; dominant negative mutant. * $p<0.01$.

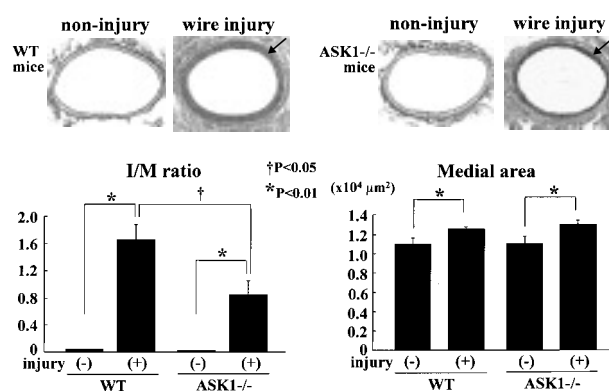


図6 ASK1遺伝子欠失 (ASK1^{-/-}) マウスと野生型 (WT) マウスの大腿動脈に対する血管傷害 (wire injury) 後の内膜肥厚. 矢印は内膜・中膜の境界を示す. † $p<0.05$, * $p<0.01$.

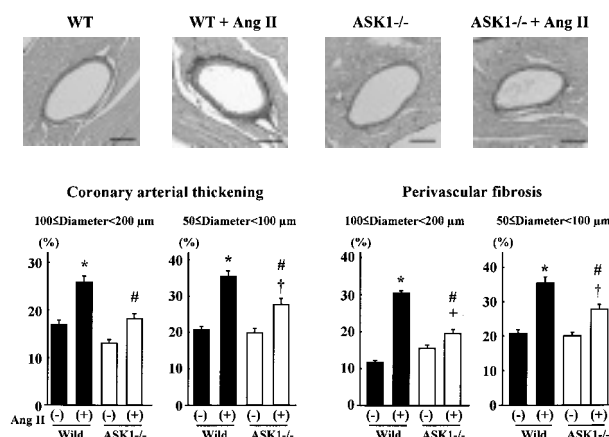


図7 ASK1遺伝子欠失 (ASK1^{-/-}) マウスと野生型 (WT) マウスでのAng II (200 ng/kg/min) 持続注入 (2週間) による心冠動脈の肥厚と血管周囲の線維化. * $p<0.01$ vs Ang II (-) WT mice; † $p<0.05$, ‡ $p<0.01$ vs Ang II (-) ASK1^{-/-} mice; # $p<0.01$ vs Ang II (+) WT mice.

もDN-ASK1により有意に抑制されていることがわかった。そこで、ASK1遺伝子欠損マウス (ASK1^{-/-}マウス, 東京大学一條秀憲教授より供与) を用いて血管リモデリングにおけるASK1の役割をさらに詳細に検討した。野生型マウスとASK1遺伝子欠損マウスそれぞれから単離した血管平滑筋細胞を血清で刺激すると、細胞の増殖および遊走は、野生型マウスと比べてASK1遺伝子欠損マウスで有意に減弱していた。さらに、*in vivo*で血管傷害後の内膜肥厚を比較したところ、ASK1^{-/-}マウスでは野生型マウスに比べて内膜肥厚が有意に抑制されていた (図6)。また、AngIIを持続投与することで誘導される冠動脈のリモデリングは、野生型マウスに比べてASK1^{-/-}マウスで有意に減弱していた (図7)¹⁹。以上より、ASK1は平滑筋細胞の増殖・遊走を介して血管傷害後の新生内膜肥厚を促進していることがわかった。RA系活性化による血管リモデリングの機序に、ASK1活性が重要な役割を演じている可能性があり、さらなる検討を行っている。

VI. PDGF受容体からのMAPキナーゼ活性

PDGFは血管平滑筋細胞の増殖や遊走を介して、動脈硬化において重要な役割を演じている²⁰。上述したように、AngIIはPDGFβ受容体を活性化する。そこで、PDGFによる血管平滑筋増殖におけるERK1/2, JNK, p38の役割を検討した¹³。PDGF-BB刺激により、ERK1/2, JNK, p38はすべて活性化されたが、ERKおよびJNKを介した増殖作用にはサイクリン依存性キナーゼ阻害因子であるp27が関与し、p38を介した増殖作用にはp21が関与していることもわかった。さらに、PAI-1の遺伝子発現にはERK1/2およびJNKが関与し、TGF-β1やMCP-1の遺伝子発現にはERK1/2とp38が関与していることもわかった。このように、それぞれのMAPキナーゼ間で異なった役割を担いながら、PDGF刺激による平滑筋細胞の増殖に関与していると考えられる。

おわりに

本稿では、RA系亢進による血管作用について概説した。AngIIは様々な細胞内シグナル分子を活性化し、その結果として、種々の遺伝子発現、増殖、遊走、アポトーシスを引き起こす。中でもMAPキナーゼファミリーは血管リモデリングに重要な役割を演じている。しかしながら、AngIIによって活性化されるシグナル分子の意義についてはまだ十分には解明されていない。今後、RA系からの血管リモデリングの分子機構のさらなる解明と、阻害薬やその導入法などの開発による治療応用が期待される。

文 献

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993; 362: 801–809.
2. Kim S, Iwao H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev*. 2000; 52: 11–34.
3. Kim S, Zhan Y, Izumi Y, Yasumoto H, Yano M, Iwao H. In vivo activation of rat aortic platelet-derived growth factor and epidermal growth factor receptors by angiotensin II and hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 2539–2545.
4. Kim S, Zhan Y, Izumi Y, Iwao H. Cardiovascular effects of combination of perindopril, candesartan, and amlodipine in hypertensive rats. *Hypertension*. 2000; 35: 769–774.
5. Nishida E, Gotoh Y. The MAP kinase cascade is essential for diverse signal transduction pathways. *Trends Biochem Sci*. 1993; 18: 128–131.
6. Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol Rev*. 2001; 81: 807–869.
7. Force T, Pombo CM, Avruch JA, Bonventre JV, Kyriakis JM. Stress-activated protein kinases in cardiovascular disease. *Circ Res*. 1996; 78: 947–953.
8. Lee JD, Ulevitch RJ, Han J. Primary structure of BMK1: a new mammalian map kinase. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 213: 715–724.
9. Zhou G, Bao ZQ, Dixon JE. Components of a new human protein kinase signal transduction pathway. *J Biol Chem*. 1995; 270: 12665–12669.
10. Regan CP, Li W, Boucher DM, Spatz S, Su MS, Kuida K. Erk5 null mice display multiple extraembryonic vascular and embryonic cardiovascular defects. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 9248–9253.
11. Kim S, Izumi Y, Yano M, Hamaguchi A, Miura K, Yamanaka S, Miyazaki H, Iwao H. Angiotensin blockade inhibits activation of mitogen-activated protein kinases in rat balloon-injured artery. *Circulation*. 1998; 97: 1731–1737.
12. Izumi Y, Kim S, Namba M, Yasumoto H, Miyazaki H, Hoshiga M, Kaneda Y, Morishita R, Zhan Y, Iwao H. Gene transfer of dominant-negative mutants of extracellular signal-regulated kinase and c-Jun NH2-terminal kinase prevents neointimal formation in balloon-injured rat artery. *Circ Res*. 2001; 88: 1120–1126.
13. Zhan Y, Kim S, Izumi Y, Izumiya Y, Nakao T, Miyazaki H, Iwao H. Role of JNK, p38, and ERK in platelet-derived growth factor-induced vascular proliferation, migration, and gene expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 795–801.
14. Ichijo H, Nishida E, Irie K, ten Dijke P, Saitoh M, Moriguchi T, Takagi M, Matsumoto K, Miyazono K, Gotoh Y. Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways. *Science*. 1997; 275: 90–94.
15. Matsuzawa A, Ichijo H. Molecular mechanisms of the decision between life and death: regulation of apoptosis by apoptosis signal-regulating kinase 1. *J Biochem*. 2001; 130: 1–8.
16. Sayama K, Hanakawa Y, Shirakata Y, Yamasaki K, Sawada Y, Sun L, Yamanishi K, Ichijo H, Hashimoto K. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) is an intracellular inducer of keratinocyte differentiation. *J Biol Chem*. 2001; 276: 999–1004.
17. Takeda K, Hatai T, Hamazaki TS, Nishitoh H, Saitoh M, Ichijo H. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) induces neuronal differentiation and survival of PC12 cells. *J Biol Chem*. 2000; 275: 9805–9813.
18. Izumi Y, Kim S, Yoshiyama M, Izumiya Y, Yoshida K, Matsuzawa A, Koyama H, Nishizawa Y, Ichijo H, Yoshikawa J, Iwao H. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in injured artery and its critical role in neointimal hyperplasia. *Circulation*. 2003; 108: 2812–2818.
19. Izumiya Y, Kim S, Izumi Y, Yoshida K, Yoshiyama M, Matsuzawa A, Ichijo H, Iwao H. Apoptosis signal-regulating kinase 1 plays a pivotal role in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and remodeling. *Circ Res*. 2003; 93: 874–883.
20. Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev*. 1999; 79: 1283–1316.

日本心脈管作動物質学会研究奨励賞受賞論文

2

心血管領域での再生医療の現状と展望

王 英正¹, 立石 健人^{1,2}, 野村 哲矢^{1,2}, 松原 弘明^{1,2}¹京都大学医学部医学部附属病院 探索医療センター 探索医療開発部, ²京都府立医科大学 循環病態制御学

要約

心不全は依然として中高齢者における入院及び死亡原因の上位を占め、現在までの心血管領域での医療技術では、まだ救命できない症例が多数存在している。ヒトを含めた多くの哺乳類の心臓は自己再生能力に乏しく、障害を受けた心筋細胞の構造的、機能的改善には細胞生物学的な限界があり、これらを克服するために、これまでの基盤研究は特定の遺伝子や蛋白を用いた心筋細胞修復が主流であった。近年、新たに幹細胞移植による治療法が急激に注目され、本稿では、基礎研究及び一部臨床試験などの結果から、近い将来には臨床応用実現の可能性が十分にある心血管領域での最新の細胞療法の現状と展望について述べる。

I. はじめに

心不全の病態生理は心臓を構成する個々の心筋細胞死から発展した心室全体のポンプ失調という終末像である。その進展過程は様々であり、主にカルシウム過剰負荷、心筋構造蛋白の破壊や心筋代謝エネルギーの異常応答からくる内因性の細胞機能障害と細胞間質での繊維化増殖、細胞死に置き換わる新たな心筋細胞の分化増殖の欠如によってもたらされる臓器全体のコンプライアンスの低下に起因される細胞外レベルでの機能障害に大きく分けられる。

過去十数年来での研究は、主として生理学的なアプローチから分子生物学的な手法にて特定の遺伝子による心臓ポンプに関する機能解析により深い重きを置いていた。このような研究上の移行期はときおり、心血管の発生という観点から病態解析することもしばしばあり、い

ずれも遺伝子を介した新たな心血管病に対する予防法や根治的な治療法を目指した研究であったことは疑う余地がない。しかしながら、現在に至っても、成人における心血管病は依然として先進国の中で上位の死因を占めており、まだまだ多くの究明すべき科学的、生物学的問題点が存在していることは否めない。

心筋細胞再生という現象は、イモリやゼブラフィッシュ等の下等動物で容易に観察され、このような自己再生能は心臓以外の臓器として尻尾、四肢または鰭を切除したときにも見られ、プラステマという未分化細胞の増殖からくる再生現象という形で捉えられている(図1)¹⁻⁵⁾。

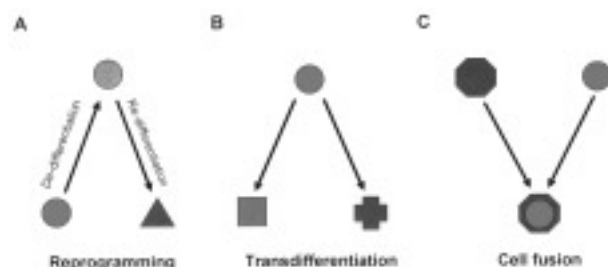


図1：細胞の新生または幹細胞による可塑性における従来から現在までの考え方の推移

- 両生類にみられる脱分化—再分化を介した細胞の再プログラミングによる新生機構で、哺乳類での報告はないものの、分化増殖という観点からは、いくつか共通した遺伝子によって制御されていることが明らかになった。
- 従来考えられていた多能性骨髄由来幹細胞の再生機序の一つであるが、きちんとした培養細胞系での証明はされていない。主に移植実験での生体内での細胞表現形態の変化に対して考察されてきた概念。単一細胞での移植検討がされていなく、永続的に細胞の起源が認識できるシステムを用いておらず、分化後の組織細胞の生物学的機能についての検討もされていない。非特異的免疫組織染色の結果と現在は考えられている。
- 現在認められている全ての幹細胞に共通した分化再生形態は、単一細胞から様々な細胞に能動的増殖分化する多能性幹細胞の他に、細胞融合を介した細胞新生形態がある。異性間移植後、染色体のタイピングによってはっきり裏付けられている。骨格筋組織の場合、全ての細胞再生は細胞融合を介し、多核化の機序の一つと考えられている。しかし、能動的分化と細胞融合を介した分化での新生細胞自身の機能的評価はまだ明らかでない。

* 1 京都大学医学部医学部附属病院 探索医療センター

2 京都府立医科大学 循環病態制御学
(〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54)

しかし、哺乳類ではかかる現象は全く報告されたことがなく、残存心筋細胞自身の自己増殖能の欠如と並び、長い間、壊死または変性した心筋細胞は救済することができないと考えられてきたため、機械的な心臓補助以外に末期の心不全に対する新たな治療法の開発はこれまで停滞していた。

これまでの研究は、細胞周期に注目した心血管再生の試み、アポトーシス抑制因子による心筋細胞の救済または血管増殖因子による新たな血管新生への挑戦などが挙げられるが、ここ数年来急速に注目を集めつつ有望視されているのが、幹細胞を用いた心血管細胞の再生医療である。なぜなら、一部の施設で行われてきた遺伝子治療の初期の臨床的試みを除いて、細胞移植療法は唯一、世界規模でかつ複数国において実際に臨床応用されてきた全く新しい治療戦略だからである。その衝撃的な初期治療効果は瞬く間に世界中の第一線の循環器医師の注目を集め、細胞移植による心血管再生医療は研究者を始め、他に治療法のない末期心不全患者さんにとっても、現在最も期待されている分野である。

Table 1 と 2 のように、世界規模で、様々な手法で骨髄より精製純化した幹細胞を用いた急性または慢性心不全に対する血管新生療法の臨床試験が報告されてきたが、二重盲検法による客観的な治療効果の評価はまだ少なく、

	n	days after MI	cell type	cell #	effects
Strauer et al. (ref.91)	10	8	BMCs	28x10 ⁶	contractility, perfusion ↑ EDV, hypokinesis ↓
TOPCARE-AMI (ref.92-94)	59	4.9	CPCs	16x10 ⁶	EF, viability ↑ coronary flow reserve ↑ ESV ↓
BOOST (ref.67)	30/30	4.8	BMCs	24x10 ⁶	EF ↑
Fernandez-Aviles et al. (ref.95)	20	13.5	BMCs	78x10 ⁶	EF ↑ ESV ↓

Table 1. 急性心筋梗塞症例に対する幹細胞を用いた細胞療法

BOOST trialのみが30対30のrandomized trialである。BMCsは骨髄由来幹細胞、CPCsは末梢血由来の幹細胞を示す。

	n	delivery	cell type	cell #	effects
Stamm et al. (ref.96)	6	extramycardial injection/CABG	CD133+ /BMCs	1.5x10 ⁶	contractility ↑ perfusion ↑
Tse et al. (ref.97)	8	intramycardial injection/NOGA	BMCs	N/A	wall motion ↑ wall thickening ↑
Fuchs et al. (ref.98)	10	intramycardial injection/NOGA	BMCs	78x10 ⁶	angina score ↓ stress-induced ischemia ↓
Perin et al. (ref.99, 100)	14	intramycardial injection/NOGA	BMCs	30x10 ⁶	EF ↑ ESV ↓

Table 2. 慢性心筋梗塞症例に対する幹細胞を用いた細胞療法

細胞生物学的な心機能改善機序および移植後長期の安全性確認も満足できるほどの検討はなされていないのが現状である。この総説では、まず基本的な心臓の自己修復能について種を越えて比較検証し、さらに、ここ数年間で発見された心筋および血管内皮細胞を再生しうるいくつかの体性幹細胞を紹介するとともに、今後どのような方向性を持った研究をすれば、近い将来、重度心不全患者さんにとって囑望されかつ安全な治療法になるかについて深く考察する。

II. 心血管細胞の老化と自己修復能

1) 細胞の老化

老化は動植物を問わず、誰にでもいつか訪れるストイックな過程で、固体固有の遺伝情報、生活環境に大きく左右されながら、それぞれの固体が寿命を持っているように個々の組織細胞にも老化による細胞の終末像がある⁶⁻⁷⁾。心臓を構成する心血管細胞も例外でなく、様々な心血管病の末期像がアポトーシスを中心とした細胞死の過程を経て完成されることは多くの施設からの報告で証明されており、病理病態的な心臓生理とともに、自然な心筋細胞の代謝回路として、心筋細胞の老化と自己心筋再生という組織修復能があることを推察することは容易なことである⁸⁻¹⁰⁾。しかしながら、実際にヒトを含めた哺乳類の心筋細胞を取り出して培養しても、心筋細胞自身の自己増殖から新規心筋細胞への分化様式はわずかにしか観察されることはなく、新生児心筋細胞のような幼若細胞でも、数日後には細胞分裂は休止する。長期に生存した細胞は自然な形で老化という段階を迎え、病的な細胞がアポトーシスに陥り、組織から排除されるのは異なり、老化した細胞は事実上死滅せずに生存しているが、機能的に低下している現象である。いずれの細胞形態の変化においても、心臓組織の恒常維持のために、新たな心筋細胞の補充は不可欠である。したがって、老化した心筋細胞の一部を正常心筋に置き換えるためには、心臓内または他の組織臓器から新たに心筋細胞に分化し得る心筋幹細胞の存在が想定され、その細胞数や機能によって、加齢による残存心予備能との関連があるように考えられる。

2) 老化の分子機序

壊死または老化に陥った心筋細胞が再生できないといわれているのはいくつかの原因が考えられる¹¹⁻¹⁴⁾。心筋幹細胞自身の増殖および分化能の低下、心筋幹細胞の障害心筋部位への遊走能の低下、心筋幹細胞自体の絶対数が増殖停止やアポトーシスを介して細胞死に至り低下するなどといった機序が挙げられる。老化した心筋組織自

体が障害に影響を受けやすいのはこれらの因子が複雑に絡み合って生じた結果と考えられる。

一方、幹細胞そのものの定義は無限の自己増幅能を持ち、組織を構成する個々の細胞を順次新しい細胞に置き換えることによって、臓器や固体としての寿命の延長につながっている。上記以外の幹細胞の特徴として、多能性でかつ単一細胞から増幅可能であることが、障害または老化した細胞を正常の状態に修復するのに重要な機能である。また、幹細胞は幼若化する源とも考えられ、幹細胞自身は不死化であることも老化する通常の細胞と大きく異なる点である¹⁵⁻¹⁶⁾。しかしながら、体組織幹細胞はこの限りでなく、骨髓幹細胞をはじめ、心臓内心筋幹細胞も不死化された無限に増幅する細胞ではないことが最近の諸研究より明らかとなった。重度の心不全患者さんの心臓組織からp16INK 4aが検出され、非代償性ポンプ失調に伴う心筋組織細胞の老化が認められる¹⁸⁾。焦点をさらに心筋幹細胞に当てたときの検討では、老化したラット心では心筋幹細胞自身にもアポトーシスとともにp16INK 4aの発現上昇を伴う老化現象が観察されている。骨髓幹細胞においても同様に、細胞周期に入る幹細胞の増加が報告されていることから、組織幹細胞の未分化増殖は、必ずしもいわゆる幹細胞の定義そのものに当てはまるものでないことが明らかとなった¹⁹⁻²⁰⁾。また、心筋細胞のアポトーシスは幼若期よりも老化した心臓で多く観察され、ストレスに対応するための心筋細胞肥大やわずかな細胞分裂は老化した心臓組織においては、心筋細胞自身の分裂能の低下や心筋幹細胞の増殖障害が生じていることから、細胞肥大を中心とした代償機構が主として観察される。いずれにしても、これらの組織制御は心室機能や減少した心筋細胞数を補うのに十分でなく、集約的には、心室腔の拡大、wall stressの増加といった形で、非代償期の心不全に入ることになる。

このような新たな概念を含めると、心臓組織の老化は一元的な既存心筋の細胞分裂の停止ばかりでなく、より微小な環境下で存在している心筋幹細胞の未分化増殖による外的なストレスに対応する修復能の限界とも解釈することができる。言い換えれば、加齢による心筋細胞の終末分化像は不可逆性の細胞周期におけるp53/p21/p19/p16を絡めたG0/G1の停止とも表現できる。近年での研究では、これらの複雑に絡み合った細胞周期での心筋細胞分裂制御機構を幼若化する可能性のある遺伝子として、テロメアが注目され、細胞分裂ごとのテロメアの短小化が老化を規定する重要因子として報告された²¹⁻²³⁾。

a) p53を介する細胞の老化

p53の恒常的過剰発現マウスは早期の老化という表現

型を示すことから、p53の蛋白量およびDNAの結合様式の変化、さらにp53自身のリン酸化の状況によって細胞の老化の程度が規定されと考えられる²⁴⁻²⁵⁾。心臓内においてはp53の発現は心不全や再灌流障害時に増加することが報告されており、また、低酸素刺激やアデノウイルスによるp53の遺伝子導入は心筋細胞アポトーシスを誘導することから、p53を介した細胞の老化と死との関連が明らかである²⁶⁻²⁷⁾。近年の研究ではp53の発現調節にAktとのクロストークによる負のフィードバック機構が関与していることがあきらかとなり、アポトーシス誘導因子はp53を介してAktの活性を低下させ、逆に血清刺激によるAktの活性化はp53の発現を抑制する。これらの情報伝達にAktを基点としたMdm 2のリン酸化があり、p53の転写部位はMdm 2との結合により阻害される。また、Aktの蛋白フォスファターゼはAktの活性を抑制し、Mdm 2によるp53の活性化抑制を阻害することからも、p53を介した細胞死や老化は心筋細胞でも重要であり、最近ではテロメアの短小化もこの情報伝達系に関与していることが明らかとなった²⁸⁻²⁹⁾。

b) Aktによる心筋細胞老化の抑制

心筋細胞の老化はp53の増加を伴うアポトーシスやAktの活性調節するIGF-1とその受容体の発現低下によるテロメアの短小化が最近樹立された新しい概念である³⁰⁻³¹⁾。老化した心筋細胞は細胞死を抑制する情報伝達系が幼若心筋よりも低下しており、ストレスに対する細胞障害や死に陥りやすい状況である。このような背景において、Akt過剰発現マウスでは、G2からM期への細胞周期の再調節を介した細胞寿命の延長をはじめ、細胞死の抑制による既存細胞の生存改善といった効果が報告されている³²⁾。心臓においてはAktの活性化によって、過剰な収縮能を伴う心肥大が認められ、核移行型のAkt過剰発現マウスでは、心筋細胞の肥大を伴うことなく、心筋障害に対する代償機構が働き心室のリモデリングを抑制する³³⁾。心臓内の心筋幹細胞の未分化増殖を介した心筋細胞修復および保護効果も最近になり明らかとなり³⁴⁾、機序として、Aktによるテロメラーゼの活性化から、心筋細胞の細胞周期への再導入の結果生じた細胞分裂、新たな見解としては心筋幹細胞の増殖および分化の促進が考えられる³⁵⁾。

c) テロメアの伸張を介する細胞増殖の制御

心筋細胞分裂の停止にはテロメアの短小化が重要な役割を担っている。テロメラーゼは細胞の転写酵素であり、細胞内のテロメア長を維持することで老化や細胞分裂の終止を防いでいる。このため、細胞でのテロメア長はま

さに細胞増殖の停止時期を制御しているタイマーのようなもので、毎回の細胞分裂ごとにテロメア長は短くなっていき、最終的には細胞は増殖能を失った老化状態を経過して細胞死に至る³⁶⁾。p53の恒常的過剰発現マウスやテロメア欠損マウスの表現型をみると、早期の老化と心臓ではそれに伴う心室腔拡大した不全心を示している³⁷⁻³⁸⁾。また、ラットやマウスでの検討より、生後より観察される心臓でのテロメアの短小化は心筋細胞の老化の他にもクロマチンの複製にも相関していることが明らかとなった。最近での新たな解釈として、心筋幹細胞自身にもテロメラーゼ活性が高く認められ、心筋実質の他にも、幹細胞を介した心筋細胞の生存や増殖にテロメア生物学の知見が共通して存在し、心臓の病態制御を司っていると考えられる。内在性心筋幹細胞の存在は、心不全組織からテロメラーゼ陽性細胞が検出されたことから裏付けられている³⁹⁻⁴⁰⁾。心筋特異的テロメラーゼ逆転写酵素の過剰発現マウスは加齢による心臓内のテロメアの短小化を防ぎ、生後まもなく休止する心筋細胞の分裂と増殖を延長させることが報告された。幼若期の心筋細胞は過形成を経て、完全な成熟期には機能障害を伴わない肥大型の心筋細胞を呈する²¹⁾。この肥大したテロメラーゼ陽性心筋細胞は虚血再灌流後のアポトーシスが有意に減少し、結果的にはストレスに強い心臓となる。このことはテロメア欠損マウスの拡張型心筋症様に低下した心機能とよく合致する³⁷⁾。以上のことから、テロメラーゼの活性化は正常心筋細胞だけでなく、心筋幹細胞の分化増殖に極めて重要な役割を果たし、血行動態的にも正常な心機能や心筋構造を維持するのに必須であり、極度にテロメアを欠如した心臓は早期の老化と機能不全をもたらすと考えられた (図2)。

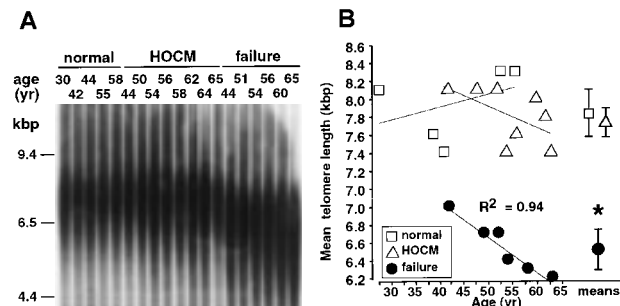


図2：心臓内のテロメア消耗化

(A) テロメア特異的プローブを用いたサザンブロット。(B) テロメア長は加齢度を反映するばかりでなく、心予備能をも示唆する。*、 $P = 0.0001$ 。

Ⅲ. 歴史的な心筋再生の試み

1) 心筋細胞移植による心筋再生

歴史的にみると、1993年頃からAT-1心房腫瘍細胞を使った細胞移植が心筋再生の最初の系統的研究と思われる。移植用に採取したドナー細胞種は実験系によって様々であり、また、クリオによる凍結障害や遺伝子操作による心不全マウスへの移植のみならず、より臨床な病態的に近いという形で、虚血再灌流モデルが盛んに用いられている。さらに、ドナー細胞のより効率的なホスト心筋細胞での生着を促すことは、結果的により多くの心筋細胞再生が期待されるため、これまでに様々な細胞保護機能をもった遺伝子との併用療法も試みられてきた⁴¹⁻⁴⁴⁾。

これらの報告をさらに詳細に検討すると、心筋細胞の再生と同時に、血管新生を同時にねらった成長因子の併用も用いられ、移植後の機能改善は新生された血管の程度と相関することから、これらの報告は実質的な心筋細胞再生による移植療法の有効性を示しているのではなく、むしろ、心筋保護または血管新生の重要性を示唆するものとなった⁴⁵⁾。しかし、現実的には移植のため、ヒトの胎児や新生児心筋細胞を採取することは倫理的に不可能で、増殖能を持たない成人心筋細胞単独の移植はその効果が期待できないことから、他の組織由来の細胞による代替も同時に考えられるようになった。

2) 骨格筋芽細胞移植による心筋細胞再生

心筋細胞移植にとって代わった移植細胞のソースとして骨格筋芽細胞が最も注目を浴び、盛んに研究が行われてきた。同種間での自家及び他家移植とともに、異種間での移植検討もされており、非常に臨床応用の期待が高い研究である。骨格筋芽細胞移植も心筋細胞移植による実験系統と同じく、不死化した細胞株を用いた研究を筆頭に、経年的に胎児から成人由来の細胞を使う推移になっている⁴⁶⁻⁴⁹⁾。注目すべきは約半数の報告で移植後の心機能改善が報告されているものの、明らかなドナー細胞の心筋細胞への分化及び生着したホストとの間の細胞結合が立証されていないことである。このような研究経緯にもかかわらず血管新生を含めた検討でも、移植後の心機能改善の機序がはっきりとしないまま、2003年にフランスのグループにより移植臨床試験が行われ発表された。この報告では、ヒトへの骨格筋芽細胞移植後に除細動埋め込みを必要とする致死性不整脈作用が認められた⁵⁰⁾。しかし、いくつかの他のグループによる動物実験では必ずしもそれは必発するものでなく、現在でもその心機能を改善させる機序とともに、その原因を突き止める研究が行われている。

また、本質的な心筋細胞への分化以外に、現在盛んに問われているのは、新生した心筋細胞と障害を受けたホスト心筋間での細胞の結合がスムーズで、不整脈を惹起するような素因を持たないことである。生着した新規細胞への栄養供給という観点からも血管新生の有無は重要な問題である。このような極めて重大な疑問を心臓への細胞移植療法という領域に持ちかけてきたのはいうまでもなく、初期の骨格筋芽細胞を用いた細胞移植実験で、良好な治療成績を残したものの、臨床試験に入ると重篤な致死性不整脈が移植後観察されたことに起因する。その後の詳細な動物実験での再検討によって、骨格筋芽細胞は実質的な心筋細胞になることはなく、電気生理学的な検討によっても細胞間の結合に欠如していることが明らかになった⁵¹⁾。

この骨格筋芽細胞移植法は本質的な心筋細胞移植とは異なり、より低侵襲でドナー細胞を採取できかつ自家移植も実現できる細胞ソースであることから、臨床応用には賛否両論あるもののその必要性和実現性を残している。

3) 様々な幹細胞移植による心筋細胞再生

上記の2つの細胞移植はそれぞれ既に成熟した心筋細胞または骨格筋細胞にしか分化しえない細胞を用いたアプローチであり、移植後の細胞数も分裂能に限りがある細胞種であることから、大量の筋細胞を再生できる期待はできない。そこで、研究対象となるドナー細胞も固定な細胞運命をもったものより、増殖能が高く、いろいろな細胞に分化できる多能性幹細胞に時代的な興味に移り変わった。幹細胞は大きく2つのカテゴリーに分かれ、胚性幹細胞は倫理的な問題点を持っている反面、その増幅性や分化能は極めて高い。一方、成人体幹細胞は自家移植可能な点、免疫抑制剤の使用必要がなく、単一分化性といった分化対象となる組織も限定されているものもあり、安全面では胚性幹細胞のそれよりは高く評価できる。

初期の幹細胞の研究は多能性の胚性幹細胞の心臓移植に始まり、その後、臨床応用を意識して、徐々に様々な成人体幹細胞を用いたものへと変化した⁵²⁻⁵⁵⁾。しかし、骨髓由来の幹細胞を始め、脳や肝臓由来の幹細胞といった予期せぬ細胞種までが心筋細胞を形成できると報告されており、幹細胞の分化形態そのものに抜本的な概念の見直しが考えられた。つまり、従来では不可逆的に一方のみの幹細胞の分化経路が考えられてきたが、運命が決定していると思われていた組織固有の幹細胞でも、実際のところ、少しながら幹細胞の分化性質を失いながら、可逆的に他の組織に分化していく可能性があると考えられるようになった。もう一つの解釈では、内皮細胞と心

筋細胞の共培養実験では、それぞれが心筋細胞に分化し得る事実から、前駆や幹細胞のみならず、成熟した細胞でも培養環境によって他の細胞系に形質変換しうることが大きな注目を浴びた⁵⁶⁾。しかし、これには細胞間融合という機構が最も重要な因子であることがのちほど明らかとなった^{40, 57)}。

4) サイトカインによる骨髓由来幹細胞の動員療法

哺乳類では、骨髓由来の造血系幹細胞を梗塞周辺部に直接注入または骨髓移植することによって心筋細胞が再生し、それに伴う心機能改善が初期の実験結果として報告された⁵⁸⁾。これらの知見は一見革命的な発想に見えたが、造血作用が主たるこの幹細胞群で、骨髓からかけ離れた心臓内の心筋細胞を高率に再生するばかりでなく、ポンプ機能まで有意に改善したことは当初から疑問がもたれ、最近の詳細な検討な検討では、サイトカイン投与による新たな心血管再生の現象はごくわずかで、サイトカインによる直接的な心血管保護効果による梗塞サイズの縮小が主な機序であることが明らかとなった。注目すべきことはサイトカイン自身による骨髓由来の幹細胞はもとより、心臓内の心筋幹細胞の自己増殖促進作用も認められなかったことである⁵⁹⁾。

このような中、世界では競って臨床試験を試みる傾向にあり、最近の報告では、骨髓由来の心血管幹細胞を動員させる目的で、骨髓幹細胞の冠動脈注入とG-CSFの併用療法が10症例に対して行われた。ほとんどの症例に良好な心機能改善が認められたものの、一部のG-CSF投与群にステント内の重篤な急性冠閉塞が確認され、試験の中止と警告が喚起された⁶⁰⁾。また、同時期に間葉系幹細胞の犬冠動脈内注入した報告でも、細胞移植時の心虚血を疑わせる心電図上のST上昇や移植されたホスト心筋での炎症性細胞の浸潤と線維化が認められ、ヒトへの細胞移植単独療法での危険性への警告も強く示唆されている⁶¹⁾。

5) 骨髓由来の造血幹細胞は血液細胞のみに分化し心筋細胞を再生しない

骨髓由来の造血幹細胞は細胞の採集が簡便で、臨床的にも骨髓移植という形でよく用いられている安全性の確認された方法である。そのため、骨髓由来の造血幹細胞による心筋細胞再生の報告は、多くの臨床家の間で幹細胞による重症心不全症例に対する細胞移植療法の時代の到来を思わせた⁵⁵⁾。

しかしながら、詳細な細胞レベルでの検討により、従来のGFPで標識したドナー細胞の局在のみの観察法から、最近の技術的進歩に基づき、心筋への分化形態を継時的

にモニターできる遺伝子工学的な手法を用いた慎重な検討ができるようになった。この方法を用いて解析すると、心臓に移植された造血系幹細胞は、可逆性の幹細胞の分化形態が起こることはなく、顆粒球やリンパ球といった血球成分にしか分化せず、長期的な観察でもこれらの細胞は虚血時の炎症反応による一時的な集積として認められるのみで、長期的には組織に生着し心筋細胞に分化しないことが明らかとなった。それとともに、組織非特異的幹細胞の分化は、細胞間融合を介した異なる組織間での幹細胞の形質変換に過ぎないことがわかってきた。この衝撃的な事実は血管を除くほとんど実質組織にあてはまり、骨髓由来の造血幹細胞は本質的には組織由来の血液細胞のみに分化し、全く異なった組織である心筋細胞にはなりえないという結論に至った⁶²⁻⁶³⁾。

IV. 心筋幹細胞

1) 心外膜に存在する心筋幹細胞

鳥類や原生動物まで遡ると、心臓内心筋幹細胞の起源や局在に関して古くから研究されてきた。これらの系統動物では心外膜細胞が心臓の最も外側をまず形成し、心外膜から間葉系への細胞のトランスフォーメーションが起こり、心外膜由来細胞が心内膜下側へ遊走し、心内膜系細胞を形成することがわかっている⁶⁴⁾。うずらから雛への移植実験で、明確な胎性心臓の発生段階でのキメラ形成が確認された。具体的には、この心外膜由来細胞は分裂能が高く、間質系線維芽細胞、冠動脈系内皮平滑筋細胞、血液島や心筋細胞を含め、多彩な細胞に分化できるため心筋幹細胞と定義付けられている。さらに、この一連の細胞形成は基本的なheart tubeのループ形成後に開始され、心内膜細胞の心外膜側からの解離とそれに引き続き、細胞基底膜の形成と房室結合や流出路でのcushion形成など心臓の発生上でも重要な役割を果たすことが確認されている。

心外膜由来の心筋幹細胞は未分化の状態ではWT 1 とRALDH 2 を強く発現しており、生体内での遊走と分化とともにRALDH 2 の発現は低下しWT 1 は増加する⁶⁵⁾。これはマウス心臓の発生に重要な役割をもつretinoidを用いた検討でも明らかにされ、retinoic acidは心外膜に存在するRALDH 2 によって生成され、心外膜由来の心筋細胞の分化制御を担っている。さらなる詳細な検討では、BMPやTGF- β は心外膜由来細胞のトランスフォーメーションに深く関与し、その後の分化誘導や制御にはVEGF、FGF、PDGFやTGF- β が重要で、特に、VEGFは血管芽細胞、FGFは血液芽細胞にそれぞれ作用し、内皮及び血液細胞への分化促進に寄与していることが明らかになった。

これらの事実を踏まえて考えると、マウス心臓発生の分子生物学的機序は遺伝子欠損マウスの作成と解析によって近年様々なことが明らかになったが、そのうちでも心室低形成による胎児致死という表現型は心外膜由来心筋幹細胞の機能不全による可能性が高いことが容易に想像される。WT 1 を初め、Ist-1, RXR α , gp130, FOG-2, エリスロポエチン受容体の遺伝子欠損マウスはいずれも心室低形成によるthin myocardium syndromeが観察され、鳥類だけでなく哺乳類においても、心外膜由来細胞は心臓の発生や心筋幹細胞としての役割が極めて重要であることが示唆された⁶⁶⁾。

2) ヒトでの幹細胞による心筋細胞再生の論争

急性心筋梗塞への骨髓由来幹細胞移植の臨床試験はrandomized-trialまで終了しており、サイトカインによる幹細胞動員療法に認められた冠動脈ステント内の重篤な急性狭窄はなく、有効性及び安全性まで報告されているが、詳細な個々の細胞レベルまでの検討で、幹細胞の実質的な心筋細胞への分化という現象に関しては、現在も統一した見解はなく論争の激しいところである⁶⁷⁾。これを検討するための具体的な方法として、retrospective studyでY染色体を指標とした女性ドナーの心臓移植を受けた男性レシピエントの心臓を調べることによって可能となった。このシステムによって、レシピエント側で循環しているいかなる幹細胞による心筋再生も検出できる仕組みになっており、これまで4つの異なる施設から報告がされている。最初の2つの陽性所見の報告は3, 4報目の報告により、極めて少ない現象であると反論された。これらの論議は学会場での質疑応答でも過剰なまでに過熱し、現在までも本質的な事実はなぞに包まれている状況である⁶⁸⁾。極めて限られた条件下でのY染色体のみを頼りにしたこの類の研究に、改めてヒトでの心筋細胞再生の困難さや頻度の稀有さだけが浮き彫りとなった。

3) 成人体性幹細胞の組織修復に関する役割

一般的に、血液、皮膚、消化器系統の臓器、肺そして睾丸といった生殖細胞は永続的に再生する能力を持つ細胞であることがよく知られているが、その他の多くの哺乳類の臓器は通常状況下では組織細胞の代謝速度は遅く、心臓のような特定の臓器はほとんど自己再生できる能力はないと考えられている。一方、肝臓はそれに比べて極めて再生能に富んだ臓器であるといえる。組織の自己修復能を客観的に評価するには、これまで組織固有の幹細胞の存在に基づいて考えられることが大いにあったが、近年のめざましい組織病理学研究の進歩から、心臓や脳といった終末分化を呈した臓器にも、わずかながら増殖

や分化する細胞が存在していることが報告された^[69]。この画期的で新しい見解によって心臓や脳にも組織固有の幹細胞の存在が示唆され、これらの細胞を指標にすることによって、その臓器の再生能を推測できると考えられるようになった。しかしながら、現在でも、この前提では組織の自己修復能を考察するに当たって、分裂及び増殖している心臓や脳神経細胞は成熟した既存細胞自身の変化なのか、それとも内在性の組織固有幹細胞による新たな細胞の再生によって見える現象なのかは明らかでない。それぞれの臓器において、典型的な急性組織障害に応答するように骨髄、腸管上皮、皮膚上皮そして骨格筋内に存在する組織固有幹細胞による自己修復はよく観察されるが、もっと恒常的な生体維持のためのそれぞれの幹細胞の役割は全く不明である。さらに最も重要なことは、このような組織固有幹細胞がどのように組織修復を図るのかについての分子生物学的機序についてもほとんど明らかにされていない。つまり、組織の発生段階での分子生物学的制御は幹細胞の成熟組織への分化誘導形態と同じ経路または遺伝子によって解釈できるものかどうかも現在まで大きな疑問である。

4) 心臓内の心筋幹細胞

今まで述べてきたような骨髄を中心とした循環している体性幹細胞による心筋細胞再生という概念から進歩して、最近の新しい見解では心筋細胞を修復する予備能をもった幹細胞は心臓内に存在することが複数の報告によって確認された^[40, 70-71]。背景には、不完全な検討ではあるが、約数年前より重症心不全を呈した症例または心臓移植を受けた患者さんの心臓標本の解析から、成熟した心筋細胞のごく一部に細胞分裂像を示している形態が観察された^[72]。これはその後の詳細な検証により、既存心筋細胞の分裂のほか、心臓内に存在する心筋幹細胞による新たな心筋細胞再生である可能性が示唆された。しかしながら、いずれの報告も病理組織染色による検討のみで、骨髄由来の造血系幹細胞の混入の可能性もあり、直接その標的幹細胞の分離を試みられなかった。2003年に異なる施設から相次いで細胞表面抗原を指標とした心臓内に存在する心筋幹細胞の単離に成功し報告された。これは今までの常識を覆す画期的な発見で、それぞれ異なった方法で分離に成功しているが、いくつかの共通した幹細胞の特徴を持っている。この新たに検出された心筋幹細胞は培養によって増殖可能なテロメラーゼ活性を持った細胞で、血液細胞のカテゴリーには入らず (lineage-) かつ間葉系幹細胞の特徴であるCD45-/CD34-と一致していた。また、細胞表面抗原とは異なる手法でも心臓内心筋幹細胞の存在は証明された。2003年

に2つの施設より造血系幹細胞の分離に鋭敏なHoechst33342を用いて心臓内にも幹細胞 (side population cells) の存在が確認された^[40, 73]。いずれの手法を用いて分離された心筋幹細胞でも、培養細胞系にて心筋細胞を始め、血管平滑筋細胞や内皮細胞に分化誘導できることが示された。これを裏付けるように動物を用いた虚血モデルへの移植実験でも、幹細胞は心臓への生着後成熟した心筋細胞へ分化し、梗塞後の生存率の改善が認められた (図3)。この動物での細胞移植検討により、細胞療法の安全性と有効性が立証されたことになった。

このような画期的な心筋幹細胞の発見に伴い、数々の疑問点が浮かび、次に明らかにすべきところも示唆している。一番重要な疑問として、心筋細胞に分化しうる骨髄由来の間葉系幹細胞を含め、心臓内に存在している心筋細胞は障害に対する完全な心筋修復には不十分であること、言い換えれば、これらの心筋幹細胞を障害部心筋に動員させる特異的因子、生着した心筋幹細胞を選択的に心筋細胞に分化させる誘導因子や壊死心筋を置き換えるのに十分は幹細胞増幅因子の究明は不可欠である。そしてこの3つの要素を全て明らかにしない限り、急性虚血や心不全症例に対して、心臓内心筋幹細胞による細胞療法を行うことは適切でないと考えられる。

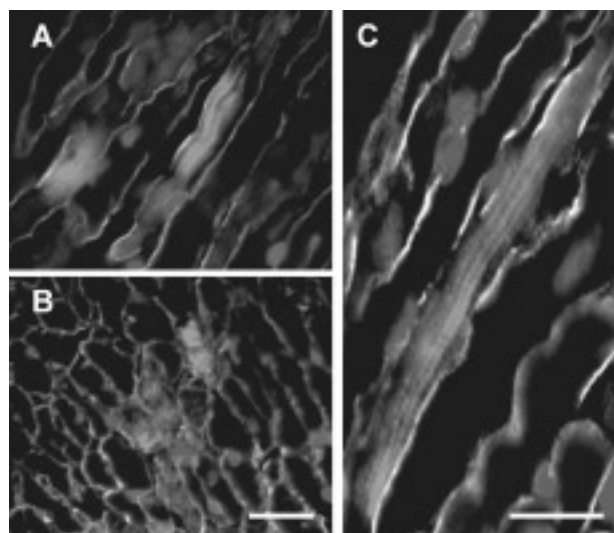


図3：心臓由来心筋幹細胞を虚血心マウスに経静脈的に移植すると心筋細胞に分化した。

(A) 幹細胞移植後2週間目の心筋細胞再生の検討。長軸断面での解析。(B) 短軸像での染色。(C) 拡大した長軸写真でははっきりと心筋striationが認められる。赤; LacZで標識されたドナー細胞、緑; laminin染色で描出された心筋細胞基底膜、青; DAPIにて核を表す。バーは10ミクロン。

5) 心筋幹細胞の局在

心筋幹細胞の局在部位はnicheともいい、心臓自身特有の機械的なストレスと様々な微小環境によってその同定は容易ではない。しかし、心筋幹細胞の局在を明らかにすることは心臓内での物理的な役割を含めて幹細胞の機能を理解するうえで極めて重要である。nicheは細胞内外を問わず、必ず組織の一部であり、無限に少なくとも一種類またはそれ以上の幹細胞を定着させ、自己増殖能を調整し、ごくわずかなlineageの調整によって様々なタイプの前駆細胞に変えることができる⁷⁴⁾。nicheは幹細胞が長期的に生存し増殖できるように良好な微小環境を整え、細胞周期が停止している幹細胞が未分化維持できるのもnicheという環境因子の関与が大きい⁷⁵⁾。心筋幹細胞に関するnicheの検討では、主にwall stressのかからない心房と心尖部に多く分布し、一部の心室組織からも検出されている。このような心臓内での特異的な分布は血行動態の維持に何かの影響を及ぼしているはずであるが、詳細に関してはいまだ不明である^{70, 76)}。

V. 心筋幹細胞を認識する表面抗原

幹細胞一般の定義は単一細胞から増殖できる自己増殖能を持ち、多能性の分化能があることである^{77, 78)}。分化段階が進むと幹細胞由来の未分化細胞はその分化対象組織が徐々に特異的になり、最終的には単一系の細胞にしか分化できないような前駆細胞になる。既にいくつか報告された心筋幹細胞はこの幹細胞樹のどの段階にあたるかについては現在のところ同定が困難であり、造血幹細胞のように、より詳細な分化能の特異性や幹細胞自体の増殖能について検討する必要がある。しかしながら、心臓内にも造血幹細胞のようなside population細胞が存在しており、機能的には類似している可能性が高い。近年、心筋幹細胞を認識する細胞表面抗原がいくつか報告され、時間のかかる単一細胞からの精製法ではなく、大量培養に持ち込みやすい点で脚光を浴びている。Sca-1, c-kit, MDR-1がそれらにあたり、造血幹細胞にも発現していることが共通している。しかしながら、同じ表面抗原で精製した細胞でも、その採取した組織部位によって幹細胞の分化能は大きく異なる。

1) Sca-1

Sca-1は造血幹細胞だけではなく心筋幹細胞にも強く発現しており、マウス、ラット、イヌの心臓内でその発現が確認されている^{40, 72)}。この表面抗原は幹細胞の他にも内皮細胞にその発現があり、特定の刺激因子に反応する増殖系の細胞をも含めた多彩な細胞群を認識する可能性が考えられる。骨髄由来のSca-1陽性幹細胞は骨髄芽球、

リンパ球、赤芽球に分化でき、骨格筋由来のSca-1陽性細胞は骨格筋細胞に分化する。一方、心臓由来のSca-1陽性細胞は心筋、内皮、平滑筋細胞の他に、脂肪細胞にも分化することが報告されている。

2) c-kit

造血幹細胞にも存在するc-kitは心臓内からも検出されており、lineage陰性c-kit陽性単一細胞からの増殖分化で、心筋、内皮そして血管平滑筋細胞に分化できることが報告されている^{69, 70, 72)}。また、虚血心への移植検討でも、梗塞中心部までc-kit陽性細胞が未分化のままで遊走し、生着後様々な細胞に分化することが報告されている。このタイプの心筋幹細胞はSca-1陽性細胞と同じく自己増殖能が高く、付着系の培養系では単一層を形成し、浮遊系の方法では脳幹細胞特有のspheroidを形成する⁷¹⁾。ヒト心臓内にもその存在が確認されていることから、大量培養方が確立すれば臨床应用到最も近い心筋幹細胞であるといえる。

3) MDR-1

もう一つの心筋幹細胞を認識する細胞表面抗原としてMDR-1が挙げられる。骨髄内のMDR-1陽性細胞は造血幹細胞を認識し、一方、骨格筋組織内のMDR-1陽性細胞は骨格筋細胞に分化するだけでなく、骨髄再構築能を持った幹細胞であることから、骨格筋組織内のMDR-1陽性細胞のルーツは骨髄由来と考えられている⁷⁹⁻⁸¹⁾。ヒト心臓内のMDR-1陽性細胞が心筋細胞を始め、内皮および血管平滑筋細胞に分化できることが報告されていることから、c-kitとともに臨床応用できる有用な心筋幹細胞と考えられる⁸³⁾。

上記の3種類の心筋幹細胞はそれぞれ相異なった細胞群と考えるより、相互に共通した細胞の性質を持っていると推察される。今後はそれぞれの表面抗原で認識された幹細胞群の増殖や分化を特異的に制御する成長因子の同定が急務である。

VI. 内在性心筋幹細胞の心筋分化誘導因子

幹細胞を含めて様々な細胞の遊走、増殖そして分化には膜貫通型のグリコプロテインであるインテグリンによる制御が深く関わっている。インテグリンはアルファおよびベータ鎖から構成され、細胞骨格を構築するサイトスケルトンと伝達された情報を感知するために存在している細胞外マトリックスと協調して細胞機能を維持する接着因子である^{83, 84)}。HGF (hepatocyte growth factor)は細胞膜を刺激してインテグリンの発現、機能や細胞膜での分布を制御し、HGFの受容体であるc-Metは心筋幹

細胞の細胞表面に存在し、インテグリン受容体の一つである $\alpha 6 / \beta 4$ とコンプレックスを形成し、フィブロネクチンの刺激を受ける。インテグリンの活性化によって心筋幹細胞は遊走し始め、FAK-PI3キナーゼ-Aktの情報経路によって、幹細胞の生存が促進されると報告されている^{85, 86}。このことはAktがテロメラーゼの活性を直接制御することにより、心筋細胞およびその幹細胞までその増殖と分化がコントロールされていることと類似している⁸⁷。

1) 成長因子による誘導

心筋幹細胞はc-MetとIGF-1 (insulin-like growth factor) 受容体を発現し、前者は未分化細胞の遊走、後者は細胞の増殖と分化にそれぞれ関与している。また、IGF/HGFともにAktの核内への移行を促進し、c-Metは細胞死の情報経路であるFasと結合し、アポトーシスを抑制する⁸⁸。このようなIGF/HGFによるAktを介した心筋幹細胞の遊走、生存、増殖および分化促進機構は心筋細胞のDNA合成能の亢進によっても明らかにされており、老化した心筋細胞や継代数の多い心筋幹細胞ではこれらの発現が低下していることから容易に裏付けられる。

2) 非成長因子による誘導

これまでのほとんどの研究はこのような増幅速度の遅い成体性幹細胞の代わりに、マウス胚性幹細胞やP19胚性癌細胞といったより短期間で心筋細胞に分化するシステムで検討されている。心筋細胞に分化すると心筋特異的なプロモーターである心房性ナトリウム利尿因子 (ANF) やアルファ心筋重鎖 (MHC) で制御されているリポーターアッセイや緑色蛍光蛋白の発現で心筋分化を検出し、880から100,000の薬物ライブラリーのスクリーニングを行うことで、最も再現性高く、かつ効率的に心筋分化に誘導する物質を同定できる。この新しい大量スクリーニングの技術的進歩によって、従来マウスの胚性幹細胞で心筋分化誘導剤として用いられてきたDMSOやretinoic acid、そしてヒト胚性幹細胞に使われてきたDNA脱メチル化剤 (5-azacytidine) のほかに、2つの新たな心筋細胞分化誘導因子が検出された。ジアミノピリミジン系薬剤のCardiogenol CはP19胚性癌細胞及びマウス胚性幹細胞にて高率に心筋細胞への分化を促進し、マウス胚性幹細胞でのスクリーニングではアスコルビン酸 (ビタミンC) が有意に効果を示した^[89, 90]。後者の薬物スクリーニングではビタミンEやアセチルシステインは同様の効果を認めなかったことから、アスコルビン酸は抗酸化作用とは別の心筋分化促進作用をもつ

ことが示唆された。

薬物ライブラリースクリーニングを用いることによって、心筋幹細胞の細胞としての運命や生死、障害部位への遊走や動員、そして細胞自身の増殖や分化能の決定に必要な生体内プログラムの解明は始まったばかりで、将来的には個人の心筋幹細胞の性質に見合った合成分子を患者さんへ併用投与することによって、細胞療法がより効果的に実現できる可能性がある。

VII. 最近の虚血心疾患への再生医療の動向

心血管再生の研究はめざましい進歩を遂げているものの、再生医療ほど未熟な基礎研究状況下で既に臨床試験が行われている分野はない。従来の薬物治療と違って自家細胞移植という特殊な医療技術もそれを加速させている傾向にある。本質的な見地からすると、再生に関わる基礎研究及び臨床試験は、生体内そして培養細胞系のいずれにおいても、個々の細胞レベルでの明白な心筋細胞の分化を確認しないと安全性という面で極めて危険である。また、これらを見せしめ、表面的な心機能改善を強調した様々な細胞移植の報告は、続発して発表される否定的な結果報告や、動物実験レベルにおいても明らかに観察される重篤な危険性によって、今日でも早まった臨床試験の推進に警告が喚起されているのが現状である。世界規模に見ても、心筋細胞再生を主旨とした再生医療は今のところ見当たらない。むしろ、血管新生を主体とした骨髄単核球自家移植は、サイトカインや成長因子との併用療法といった様々な形で既に多くの施設で進行中である。また、既に海外で行われた骨格筋芽細胞を主体とした筋シートの移植も考案され、さらに、自家骨髄間葉系幹細胞の心筋移植も臨床試験が予定されている。これらの独特な再生医療法はそれぞれに特徴をもった細胞を用い、重症心不全で著明に低下した心機能を改善させることや長期的な左室リモデリングの予防という効果が期待されている。

しかしながら、これらの臨床試験に用いられるドナー細胞の性質は基礎研究で要求されるいくつかの要素をいまだクリアしていないのが現状である。ヒトより採取したドナー幹細胞は1) 実質的な単一細胞から増殖した幹細胞かどうか。2) 基礎研究レベルにおいて遺伝子工学的なドナー細胞のマーキングにより、これらの細胞の実質的な心筋細胞分化を確認する。3) 移植後に細胞間融合を介さない能動的な心筋細胞分化の発生頻度の検証。4) 設計したプロトコールと同じ細胞移植法を行った場合の移植後の心機能改善を示す基礎データの必要性。5) 移植され生着したドナー細胞がホスト心筋と電気生理学的に協調した結合を示し、不整脈の危険性の有無を動物

レベルにて検証する。6) ドナー細胞の自己増幅因子や心筋細胞への分化促進因子の同定。7) 移植作業の全てのフェーズにおける安全性の確認と細胞の品質保証。

残念ながら、これらの条件を全て満たしている心筋細胞再生を目的とした臨床試験はまだ存在しない。それは血管新生すればある程度心機能改善が見込まれ、そして骨格筋芽細胞を除き、ほとんどの細胞移植療法は血管の再生が主体で、細胞間の電氣的結合や拍動性心筋細胞への分化は今まで詳しく検討されてこなかった傾向にある。そういった意味でも、これからの心筋細胞再生の判定及び臨床応用を目標とした研究はこれらの点を十分に検討する必要があると思われる。

VIII. おわりに

成熟した心筋細胞は完全に分裂を休止した終末分化型の細胞かどうかは現在議論の絶えない領域である。数少ないものの、ストレスや虚血刺激によって観察される心筋細胞のDNA合成亢進や心筋細胞核の晩期分裂像ははたして既存心筋の表す分裂心筋細胞の変化かそれとも内在性の心筋幹細胞の反応性増殖とそれに伴う心筋分化かといった疑問も現在の科学のレベルではまだ究明されていない。

このような混沌とした再生医学研究ラッシュの時代に、筆者らはいつも平常心をもって、世界に先駆けた標準的な細胞療法を確立すべく心筋細胞再生の研究を推進していくことを心掛けていきたい(図4)。

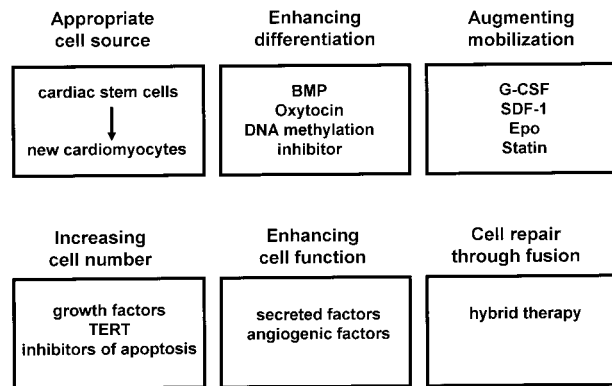


図4：心筋細胞再生を目指した現在の細胞療法の最新戦略

心筋幹細胞を主体に、これらをいかに動員し、増幅させ、最終目標である心血管細胞に分化させるかが重要なポイントである。

References

1. JO Oberpriller and JC Oberpriller, Cell Division in adult newt cardiac myocytes. In : JO Oberpriller, JC Oberpriller and A Mauro, Editors, The developmental and regeneration potential of cardiac muscle, Harwood, New York (1991), pp. 293-311.
2. HL Nye, JA Cameron, EA Chernoff and DL Stocum, Regeneration of the urodele limb : a review, Dev Dyn226 (2003), pp. 280-294.
3. PA Tsonis, Regeneration of the lens in amphibia. In : E Fini, Editor, Vertebrate eye development, Springer-Verlag, Heidelberg (2000).
4. LM Mullen, SV Bryant, MA Torok, B Blumberg and DM Gardiner, Nerve dependency of regeneration : the role of Distal-less and FGF signaling in amphibian limb regeneration, Development122 (1996), pp. 3487-3497.
5. CA D'Jamoos, G McMahon and PA Tsonis, Fibroblast growth factor receptors regulate the ability for hindlimb regeneration in *Xenopus laevis*, Wound Repair Regen 6 (1998), pp. 388-397.
6. Jazwinski SM, Kim S, Lai CY, Benguria A. 1998. Epigenetic stratification : the role of individual change in the biological aging process. Exp. Gerontol.33 : 571-80
7. Takahashi Y, Kuro-o M, Ishikawa F. 2000. Aging mechanisms. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97 : 12407-8
8. Kajstura J, Chen W, Sarangarajan R, Li P, Li B, et al. 1996. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.271 : H215-28
9. Itahana K, Dimiri G, Campisi J. 2001. Regulation of cellular senescence by p53. Eur. J. Biochem.268 : 2784-91
10. Swynghedauw B, Besse S, Assayag P, Carre F, Chevalier B, et al. 1995. Molecular and cellular biology of the senescent hypertrophied and failing heart. Am. J. Cardiol. 76 : 2 D-7 D
11. Guarente L, Kenyon C. 2000. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. Nature408 : 255-62
12. Vogel H, Lim D-S, Karsenty G, Finegold M, Hasty P. 1999. Deletion of Ku86 causes early onset of senescence in mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA96 : 10770-75
13. Ostler EL, Wallis CV, Sheerin AN, Faragher RGA. 2002. A model for the phenotypic presentation of Werner's syndrome. Exp. Gerontol.37 : 285-92
14. Kajstura J, Pertoldi B, Leri A, Beltrami CA, Deptala A, et al. 2000. Telomere shortening is an in vivo marker of myocyte replication and aging. Am. J. Pathol.156 : 81319
15. Anversa P, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B. 2002. Myocyte growth and cardiac repair. J. Mol. Cell. Cardiol. 34 : 91-105
16. Anversa P, Nadal-Ginard B. 2002. Myocyte renewal and ventricular remodelling. Nature415 : 240-43
17. Chimenti C, Kajstura J, Urbanek K, Colussi C, Maseri A, et al. 2003. Telomerase activity and myocyte regeneration

- are positive determinants of dilated cardiomyopathy in elderly patients. *Circulation* 106 : II - 383
18. Kim H, You S, Farris J, Kong BW, Christman SA, et al. 2002. Expression profiles of p53-, p16 (INK4a)-, and telomere-regulating genes in replicative senescent primary human, mouse, and chicken fibroblast cells. *Exp. Cell Res.* 272 : 199-208
19. Schwarze SR, Shi Y, Fu VX, Watson PA, Jarrard DF. 2001. Role of cyclin-dependent kinase inhibitors in the growth arrest at senescence in human prostate epithelial and uroepithelial cells. *Oncogene* 20 : 8184-92
20. Rubin H. 2002. The disparity between human cell senescence in vitro and lifelong replication in vivo. *Nat. Biotechnol.* 20 : 675-81
21. Oh H, Taffet GE, Youker KA, Entman ML, Overbeek PA, et al. 2001. Telomerase reverse transcriptase promotes cardiac muscle cell proliferation, hypertrophy, and survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 : 10308-13
22. Kajstura J, Pertoldi B, Leri A, Beltrami CA, DePalma A, et al. 2000. Telomere shortening is an in vivo marker of myocyte replication and aging. *Am. J. Pathol.* 156 : 813-19
23. Samper E, Flores JM, Blasco MA. 2001. Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in *Terc*^{-/-} mice with short telomeres. *EMBO Rep.* 2 : 800-7
24. Oren M, Damalas A, Gottlieb T, Michael D, Taplick J, et al. 2002. Regulation of p53 : intricate loops and delicate balances. *Ann. NY Acad. Sci.* 973 : 374-83
25. Haupt Y, Robles AI, Prives C, Rotter V. 2002. Deconstruction of p53 functions and regulation. *Oncogene* 21 : 8223-31
26. Song H, Conte JV Jr, Foster AH, McLaughlin JS, Wei C. 1999. Increased p53 protein expression in human failing myocardium. *J. Heart Lung Transplant.* 18 : 744-49
27. Long X, Bolyut MO, Hipolito ML, Lundberg MS, Zheng JS, et al. 1997. p53 and the hypoxia-induced apoptosis of cultured neonatal rat cardiac myocytes. *J. Clin. Invest.* 99 : 2635-43
28. Bachelder RE, Ribick MJ, Marchetti A, Falcioni R, Soddu S, et al. 1999. p53 inhibits $\alpha 6 \beta 4$ integrin survival signaling by promoting the caspase 3-dependent cleavage of Akt/PKB. *J. Cell Biol.* 147 : 1063-72
29. Leri A, Liu Y, Claudio PP, Kajstura J, Wang X, et al. 1999. Insulin-like growth factor-1 induces Mdm2 and down-regulates p53, attenuating the myocyte renin-angiotensin system and stretch-mediated apoptosis. *Am. J. Pathol.*
30. Diez C, Nestler M, Friedrich U, Vieth M, Stolte M, et al. 2001. Down-regulation of Akt/PKB in senescent cardiac fibroblasts impairs PDGF-induced cell proliferation. *Cardiovasc. Res.* 49 : 731-40
31. Ikeyama S, Kokkonen G, Shack S, Wang XT, Holbrook NJ. 2002. Loss in oxidative stress tolerance with aging linked to reduced extracellular signal-regulated kinase and Akt kinase activities. *FASEB J.* 16 : 114-16
32. Kandel ES, Skeen J, Majewski N, Di Cristofano A, Pandolfi PP, et al. 2002. Activation of Akt/protein kinase B overcomes a G(2)/M cell cycle checkpoint induced by DNA damage. *Mol. Cell. Biol.* 22 : 7831-41
33. Condorelli G, Drusco A, Stassi G, Bellacosa A, Roncarati R, et al. 2002. Akt induces enhanced myocardial contractility and cell size in vivo in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 12333-38
34. De Miguel MP, Cheng L, Holland EC, Federspiel MJ, Donovan PJ. 2002. Dissection of the c-Kit signaling pathway in mouse primordial germ cells by retroviral-mediated gene transfer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 10458-63
35. Kang SS, Kwon T, Kwon DY, Do SI. Akt protein kinase enhances human telomerase activity through phosphorylation of telomerase reverse transcriptase subunit. *J. Biol Chem.* 1999 May 7 ; 274 (19) : 13085-90.
36. Harley CB. 1991. Telomerase loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat. Res.* 256 : 271-82
37. Leri A, Franco S, Zacheo A, Barlucchi L, Chimenti S, Limana F, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Anversa P, Blasco MA. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation. *EMBO J.* 2003 Jan 2 ; 22 (1) : 131-9.
38. Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, Jones S, Ghebranious N, et al. 2002. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 415 : 45-53
39. Chimenti C, Kajstura J, Torella D, Urbanek K, Heleniak H, Colussi C, Di Meglio F, Nadal-Ginard B, Frustaci A, Leri A, Maseri A, Anversa P. Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure. *Circ Res.* 2003 Oct 3 ; 93 (7) : 604-13.
40. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, Nakamura T, Gaussin V, Mishina Y, Pocius J, Michael LH, Behringer RR, Garry DJ, Entman ML, Schneider MD. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003 Oct 14; 100 (21) : 12313-8.
41. G. Y. Koh, M. H. Soonpaa, M. G. Klug, H. P. Pride, B. J. Cooper, D. P. Zipes et al., Stable fetal cardiomyocyte grafts in the hearts of dystrophic mice and dogs. *J Clin Invest* 96 (1995), pp. 2034-2042.
42. M. H. Soonpaa, G. Y. Koh, M. G. Klug and L. J. Field, Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science* 264 (1994), pp. 98-101
43. A. L. Connold, R. Frischknecht, M. Dimitrakos and G. Vrbova, The survival of embryonic cardiomyocytes transplanted into damaged host rat myocardium. *J Muscle Res Cell Motil* 18 (1997), pp. 63-70.
44. H. Yokomuro, R. K. Li, D. A. Mickle, R. D. Weisel, S. Verma and T. M. Yau, Transplantation of cryopreserved cardiomyocytes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121 (2001), pp. 98-107.

45. T. M. Yau, K. Fung, R. D. Weisel, T. Fujii, D. A. Mickle and R. K. Li, Enhanced myocardial angiogenesis by gene transfer with transplanted cells. *Circulation* 104 (2001), pp. 1218–222.
46. G. Y. Koh, M. G. Klug, M. H. Soonpaa and L. J. Field, Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast grafts in heart. *J Clin Invest* 92 (1993), pp. 1548–1554.
47. C. E. Murry, R. W. Wiseman, S. M. Schwartz and S. D. Hauschka, Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest* 98 (1996), pp. 2512–2523.
48. H. Reinecke, G. H. MacDonald, S. D. Hauschka and C. E. Murry, Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle. Implications for infarct repair. *J Cell Biol* 149 (2000), pp. 731–740.
49. D. A. Taylor, B. Z. Atkins, P. Hungspreugs, T. R. Jones, M. C. Reedy, K. A. Hutcheson et al., Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 4 (1998), pp. 929–933.
50. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, Bel A, Sarateanu S, Scorsin M, Schwartz K, Bruneval P, Benbunan M, Marolleau JP, Duboc D. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Apr 2; 41 (7): 1078–83.
51. Leobon B, Garcin I, Menasche P, Vilquin JT, Audinat E, Charpak S. Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Jun 24; 100 (13): 7808–11.
52. C. Toma, M. F. Pittenger, K. S. Cahill, B. J. Byrne and P. D. Kessler, Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 105 (2002), pp. 93–98.
53. D. L. Clarke, C. B. Johansson, J. Wilbertz, B. Veress, E. Nilsson, H. Karlstrom et al., Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288 (2000), pp. 1660–1663.
54. Y. Jiang, B. N. Jahagirdar, R. L. Reinhardt, R. E. Schwartz, C. D. Keene, X. R. Ortiz-Gonzalez et al., Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418 (2002), pp. 41–49.
55. D. Orlic, J. Kajstura, S. Chimenti, I. Jakoniuk, S. M. Anderson, B. Li et al., Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410 (2001), pp. 701–705.
56. G. Condorelli, U. Borello, L. De Angelis, M. Latronico, D. Sirabella, M. Coletta et al., Cardiomyocytes induce endothelial cells to trans-differentiate into cardiac muscle: implications for myocardium regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (2001), pp. 10733–10738.
57. Matsuura K, Wada H, Nagai T, Iijima Y, Minamino T, Sano M, Akazawa H, Molkenstein JD, Kasanuki H, Komuro I. Cardiomyocytes fuse with surrounding noncardiomyocytes and reenter the cell cycle. *J Cell Biol*. 2004 Oct 25; 167 (2): 51–63.
58. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001 Aug 28; 98 (18): 10344–9.
59. Harada M, Qin Y, Takano H, Minamino T, Zou Y, Toko H, Ohtsuka M, Matsuura K, Sano M, Nishi J, Iwanaga K, Akazawa H, Kunieda T, Zhu W, Hasegawa H, Kunisada K, Nagai T, Nakaya H, Yamauchi-Takahara K, Komuro I. G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes. *Nat Med*. 2005 Mar; 11 (3): 305–11.
60. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Han KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet*. 2004 Mar 6; 363 (9411): 751–6.
61. Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM et al. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet*. 363 (9411): 783–784, 2004.
62. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature*. 428 (6983): 668–673, 2004.
63. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*. 428 (6983): 664–668, 2004.
64. Perez-Pomares, J. M., et al., Contribution of the primitive epicardium to the subepicardial mesenchyme in hamster and chick embryos. *Dev Dyn*, 1997. 210 (2): p. 96–105.
65. Perez-Pomares, J. M., et al., Experimental studies on the spatiotemporal expression of WT1 and RALDH2 in the embryonic avian heart: a model for the regulation of myocardial and valvuloseptal development by epicardially derived cells (EPDCs). *Dev Biol*, 2002. 247 (2): p. 307–26.
66. Wessels, A. and J. M. Perez-Pomares, The epicardium and epicardially derived cells (EPDCs) as cardiac stem cells. *Anat Rec*, 2004. 276A (1): p. 43–57.
67. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*. 2004 Jul 10; 364 (9429): 141–8.
68. Anversa, P. and B. Nadal-Ginard, Cardiac chimerism: methods matter. *Circulation*, 2002. 106 (18): p. 129–31.
69. Beltrami, A. P., et al., Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2001. 344 (23): p. 1750–7.
70. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Adult cardiac

- stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003 Sep 19; 114 (6) : 763-76.
71. Messina E, De Angelis L, Frati G, Morrone S, Chimenti S, Fiordaliso F, Salio M, Battaglia M, Latronico MV, Coletta M, Vivarelli E, Frati L, Cossu G, Giacomello A. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res*. 2004 Oct 29; 95 (9) : 911-21.
72. Quaini, F., et al., Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*, 2002. 346 (1) : p. 5-15.
73. Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA, Megeney LA. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. *FEBS Lett*. 2002 Oct 23; 530 (1-3) : 239-43.
74. Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. 2001. Stem cells find their niche. *Nature* 414 : 98104
75. Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, Sun TT, Lavker RM. 2000. Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis. *Cell* 102 : 45161
76. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J, Gruber P, Chen Y, Woodard S, Lin LZ, Cai CL, Lu MM, Reth M, Platoshyn O, Yuan JX, Evans S, Chien KR. Postnatal isl1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature*. 2005 Feb 10; 433 (7026) : 647-53.
77. Fuchs E, Segre JA. 2000. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 100 : 14355
78. Weissman IL. 2000. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 100 : 157-68
79. Scharenberg CW, Harkey MA, Torok-Storb B. 2002. The ABCG2 transporter is an efficient Hoechst 33342 efflux pump and is preferentially expressed by immature human hematopoietic progenitors. *Blood* 99 : 507-12
80. Bunting KD, Zhou S, Lu T, Sorrentino BP. 2000. Enforced P-glycoprotein pump function in murine bone marrow cells results in expansion of side population stem cells in vitro and repopulating cells in vivo. *Blood* 96 : 902-909
81. McKinney-Freeman SL, Jackson KA, Camargo FD, Ferrari G, Mavilio F, Goodell MA. 2002. Muscle-derived hematopoietic stem cells are hematopoietic in origin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 1341-46
82. Urbanek K, Quaini F, Bussani R, Silvestri F, Jakoniuk I, et al. 2002. Cardiac stem cell growth and death differs in acute and chronic ischemic heart failure in humans. *Circulation* 106 : II-382
83. Eliceiri BP. 2001. Integrin and growth factor receptor crosstalk. *Circ. Res.* 89 : 1104-10
84. Giancotti FG, Ruoslahti E. 1999. Integrin signaling. *Science* 285 : 1028-32
85. Sieg DJ, Hauck CR, Ilic D, Klingbeil CK, Schaefer E, et al. 2000. FAK integrates growth-factor and integrin signals to promote cell migration. *Nat. Cell Biol.* 2 : 249-56
86. Trusolino L, Bertotti A, Comoglio PM. 2001. A signaling adapter function by alpha6beta4 integrin in the control of HGF-dependent invasive growth. *Cell* 107 : 64354
87. Jones RJ, Brunton VG, Frame MC. 2000. Adhesion-linked kinases in cancer; emphasis on src, focal adhesion kinase and PI 3-kinase. *Eur. J. Cancer* 36 : 1595606
88. Trusolino L, Cavassa S, Angelini P, Ando M, Bertotti A, et al. 2000. HGF/scatter factor selectively promotes cell invasion by increasing integrin avidity. *FASEB J.* 14:1629-40
89. Wu, X., et al., Small molecules that induce cardiomyogenesis in embryonic stem cells. *J Am Chem Soc*, 2004. 126 (6) : p. 1590-1.
90. Takahashi, T., et al., Ascorbic acid enhances differentiation of embryonic stem cells into cardiac myocytes. *Circulation*, 2003. 107 (14) : p. 1912-6.
91. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kosterling M, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Wernet P. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*. 2002 Oct 8; 106 (15) : 1913-8.
92. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, Abolmaali ND, Vogl TJ, Hofmann WK, Martin H, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Oct 19; 44 (8) : 1690-9.
93. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*. 2002 Dec 10; 106 (24) 3009-17.
94. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, Lehmann R, Honold J, Schmitt J, Vogl TJ, Martin H, Schachinger V, Dimmeler S, Zeiher AM. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation*. 2003 Nov 4; 108 (18) : 2212-8.
95. Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, Fernandez ME, Penarrubia MJ, de la Fuente L, Gomez-Bueno M, Cantalapiedra A, Fernandez J, Gutierrez O, Sanchez PL, Hernandez C, Sanz R, Garcia-Sancho J, Sanchez A. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res*. 2004 Oct 1; 95 (7) : 742-8.
96. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, Schumichen C, Nienaber CA, Freund M, Steinhoff G. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*. 2003 Jan 4; 361 (9351) : 45-6.
97. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*. 2003 Jan 4; 361 (9351) : 47-9.
98. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, Okubagzi P, Weisz G, Baffour R, Waksman R, Weissman NJ, Cerqueira M, Leon MB, Epstein SE. Catheter-based autologous bone marrow

- myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease : a feasibility study. J Am Coll Cardiol. 2003 May 21 ; 41 (10) 1721-4 .
99. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Carvalho AC, Dutra HS, Dohmann HJ, Silva GV, Belem L, Vivacqua R, Rangel FO, Esporcatte R, Geng YJ, Vaughn WK, Assad JA, Mesquita ET, Willerson JT. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. Circulation. 2003 May 13 ; 107 (18) : 2294-302.
100. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Silva GV, Mesquita CT, Belem L, Vaughn WK, Rangel FO, Assad JA, Carvalho AC, Branco RV, Rossi MI, Dohmann HJ, Willerson JT. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy. Circulation. 2004 Sep 14 ; 110 (11 Suppl 1) : II213-8 .

編集後記

今回の号は質の高い内容の論文が掲載されており、心脈管領域に関わる研究者や臨床医にとって読み応えのある内容である。2000年に全ゲノム配列の解明の終了をうけて、国内でも高血圧を含めたコモンディーズに対する個別化医療とゲノム創薬を目的とした国家的な遺伝子解析計画（ミレニアム・ゲノムプロジェクト）が開始され、5年目の2005年をもって終了した。ポストシーケンス時代の幕開けとして衆目を集めたが、果たして現時点で得られた膨大なゲノム情報がどれくらいテーラード医療として患者へ還元されたかは疑問が残る。医療ではコスト／ベネフィットが重視される現状で、膨大な公的研究資金を費やした研究成果は十分に社会に還元されねばならないという社会的責任を持つことになる。一方、心脈管領域の再生医療についても最近まで心筋細胞修復を目的とした特定遺伝子・蛋白の導入法の開発に精力的な研究が行われていたのが、最近では心筋細胞に分化能を持つとされる幹細胞移植の方に研究が向かおうとしている。これも再生医療研究のフィーバーで終わらないように地道で確実に患者へ還元できる臨床応用への展開を期待したい。（YH）

日本心脈管作動物質学会会則

第1章 総 則

- 第1条** 本会は日本心脈管作動物質学会 (Japanese Society for Circulation Research) と称する。
- 第2条** 本会の事務局は、三重県津市江戸橋2-174、三重大学医学部薬理学教室内に置く。

第2章 目的および事業

- 第3条** 本会は心脈管作動物質に関する研究の発展を図り、会員相互の連絡および関連機関との連絡を保ち、広く知識の交流を求めることを持つて目的とする。
- 第4条** 本会は前条の目的を達成するために次の事業を行う。
1. 学術講演会、学会等の開催
 2. 会誌および図書の発行
 3. 研究、調査および教育
 4. 関係学術団体との連絡および調整
 5. 心脈管作動物質に関する国際交流
 6. その他本会の目的達成に必要な事業

第3章 会 員

- 第5条** 本会会員は本会目的達成に協力するもので次の通りとする。
1. 正会員
 2. 賛助会員
 3. 名誉会員
- 第6条** 正会員の会費は年額4,000円とする。
- 第7条** 賛助会員は本会の目的に賛同し、かつ事業を維持するための会費年額100,000円（一口）以上を納める団体または個人とする。
- 第8条** 名誉会員は理事会で推薦し、評議員会の議決を経て総会で承認する。名誉会員は会費免除とする。
- 第9条** 本会に入会を希望するものは、所定の手続きを経て、会費を添えて本会事務局に申し込むものとする。原則として2年間会費を滞納したものは退会とみなす。

第4章 役員および評議員

- 第10条** 本会は次の役員を置く。
1. 会長 1名
 2. 理事 若干名（うち理事長1名）
 3. 会計監事 若干名

第11条 会長は理事会の推薦により、評議員会の議決を経て選ばれ、総会の承認を得るものとする。会長は総会を主宰する。

第12条 理事会は会長を補佐して会務を執行し、庶務、会計その他の業務を分担する。理事長は理事会の互選により選出され、本会の運営を統括する。

第13条 会計監事は理事より互選により選出し、会計監査を行う。

第14条 本会には、評議員をおく。評議員は正会員中より選出し、理事会の推薦を経て評議員会で議決し、総会の承認を得るものとする。理事長がこれを委嘱する。評議員は評議員会を組織し、本会に関する重要事項を審議する。

第15条 編集委員は機関誌“血管” (Japanese Journal of Circulation Research) を編集し、本会の学術活動に関する連絡を行う。なお、編集に関する事項は、事務局にて決定する。

第16条 役員の任期は会長は1年、理事長、理事、会計監事および編集委員は2年とする。ただし再任は妨げない。

第17条 役員は次の事項に該当するときはその資格を失う。

1. 定期評議員会時に満65歳を過ぎていた場合
2. 3年間連続で、役員会等を正当な理由なくして欠席した場合

第5章 会 議

第18条 理事会は少なくとも年1回理事長が招集し、議長は理事長がこれに当たる。

第19条 総会および評議員会は毎年1回これを開き、次の議事を行う。

1. 会務の報告
2. 会則の変更
3. その他必要と認める事項

第20条 臨時の総会、評議員会は理事会の議決があった時これを開く。

第6章 会 計

第21条 本会の事業年度は毎年1月1日より始まり、12月31日に終わる。

第22条 本会の会計は会費、各種補助金及び寄付金をもって充てる。

日本心脈管作動物質学会賛助会員

旭化成ファーマ株式会社

エーザイ株式会社

寿製薬株式会社

三共株式会社

第一製薬株式会社

武田薬品工業株式会社

田辺製薬株式会社

中外製薬株式会社

小野薬品工業株式会社

グラクソ・スミスクライン株式会社

日本新薬株式会社

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社

アステラス製薬株式会社

三菱ウェルファーマ株式会社

ノバルティス ファーマ株式会社

アクテリオンファーマシューティカルズジャパン株式会社

萬有製薬株式会社

大正富山医薬品株式会社

サノフィ・アベンティスグループ アベンティスファーマ株式会社

ファイザー株式会社

住友製薬株式会社

日本心脈管作動物質学会役員

会長

- 第1回研究会 横山育三
- 第2回研究会 藤原元始
- 第3回研究会 岳中典男
- 第4回研究会 毛利喜久男
- 第5回研究会 藤原元始
- 第6回研究会 岳中典男
- 第7回研究会 山本国太郎
- 第8回研究会 毛利喜久男
- 第9回研究会 土屋雅晴
- 第10回研究会 横山育三
- 第11回研究会 日高弘義
- 第12回研究会 三島好雄
- 第13回研究会 東健彦
- 第14回研究会 恒川謙吾
- 第15回研究会 戸田昇
- 第16回学会 塩野谷恵彦
- 第17回学会 野々村慎昭
- 第18回学会 河合忠一
- 第19回学会 平則夫
- 第20回学会 杉本恒明
- 第21回学会 安孫子保
- 第22回学会 外山淳治
- 第23回学会 千葉茂俊
- 第24回学会 中川雅夫
- 第25回学会 室田誠逸
- 第26回学会 猿田享男
- 第27回学会 矢崎義雄
- 第28回学会 田中利男
- 第29回学会 竹下彰
- 第30回学会 岩尾洋
- 第31回学会 平田結喜緒
- 第32回学会 萩原俊男
- 第33回学会 藤田敏郎
- 第34回学会 辻本豪三
- 第35回学会 松岡博昭

名誉会員

江橋節郎 三島好雄 毛利喜久男 恒川謙吾
山田和生 中川雅夫

第35回会長

松岡博昭

理事

田中利男（理事長） 岩尾洋 平田結喜緒

監事

飯島俊彦 菊池健次郎

評議員

〈基礎〉

浅野正久 朝山純 馬場明道 遠藤政夫
古川安之 萩原正敏 飯島俊彦 飯野正光
今泉祐治 石川智彦 伊藤猛雄 伊東祐之
岩尾洋 金出英夫 河南洋 加納英雄
川崎博己 増田弘毅 松尾理 松村靖夫
光山勝慶 三輪聡一 宮崎瑞夫 森田育男
元村成 村松郁延 中木敏夫 中山貢一
成宮周 西田育弘 西村有平 大橋俊夫
岡村富夫 大島章 佐々木泰治 洪谷正史
重信弘毅 曾我部正博 佐藤靖史 末松誠
鈴木光 高倉伸幸 多久和陽 玉置俊晃
田中利男 谷口隆之 辻本豪三 上田陽一

〈臨床〉

安東克之 藤田浩 藤田敏郎 檜垣實男
平田結喜緒 堀正二 市来俊弘 井口昭久
池田康夫 伊藤宏 伊藤貞嘉 伊藤隆之
菊池健次郎 岸幸夫 小林直彦 兄玉逸雄
河野雅和 上月正博 丸山征郎 丸山一男
丸山幸夫 松岡博昭 松崎益徳 三浦総一郎
永井良三 永田博司 中野越 中尾一和
成瀬達 錦見俊雄 小川久雄 萩原俊男
大内尉義 大柳光正 楽木宏実 斎藤康之
榊原嘉彦 佐々木富男 佐々木享人 笹栗俊之
島本和明 澤田昌平 渋谷正人 七里眞義
島田和幸 下門顕太郎 下川宏明 下澤達雄
白土邦男 鈴木善男 高橋克仁 武田和夫
友池仁暢 内田康美 山口巖 横山光宏
(ABC順)

事務局

〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174 三重大学大学院医学系研究科薬理ゲノミクス分野内
田中利男（小妻直子，池山理恵，無藤晃子）
FAX 059-232-1765, TEL 059-232-1111（内線6343）

日本心脈管作動物質学会誌

血管 第28巻 3 号

2005年 9 月 2 日発行

発行人 田中利男

三重大学大学院医学系研究科

薬理ゲノミクス分野

発行所 日本心脈管作動物質学会事務局

〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174

三重大学大学院医学系研究科

薬理ゲノミクス分野内

TEL 059-232-1111 (内線6343)

FAX 059-232-1765

<http://www.jscr.medic.mie-u.ac.jp>

印刷所 合資会社 黒川印刷

〒514-0008 三重県津市上浜町2-11

- ・ 総 編 集 長 平 田 結喜緒 (東京医科歯科大学大学院分子内分泌内科学)
- ・ ベーシック編集長 岩 尾 洋 (大阪市立大学大学院医学研究科分子病態薬理学)
- ・ ゲノミクス編集長 辻 本 豪 三 (京都大学大学院薬学研究科ゲノム創薬科学)
- ・ クリニカル編集長 平 田 結喜緒 (東京医科歯科大学大学院分子内分泌内科学)
- ・ インフォマティクス編集長 田 中 利 男 (三重大学大学院医学系研究科薬理ゲノミクス)