

信州大学大学院医学系研究科
臓器発生制御医学講座

新藤隆行

血管新生のメカニズムを活用し、新しい治療法の開発をめざす

血管新生因子として注目を集めるアドレノメデュリン。これを標的に新しい治療法の開発が期待されている。信州大学大学院医学系研究科臓器発生制御医学講座教授の新藤隆行は、ノックアウトマウスを作り出すことによってアドレノメデュリンの機能を詳しく解明。さらに、アドレノメデュリンのはたらきを調節する分子に注目した研究を進め、血管新生を標的とした新たな治療法の開発を進めている。

●取材・写真：斉藤勝司

1991年、東京大学医学部医学科卒業。同年、虎ノ門病院内科勤務。1994年、東京大学大学院医学系研究科博士課程入学。1998年、東京大学大学院医学系研究科終了。医学博士号取得。2000年、医薬品医療機器総合機構研究員、2002年、東京大学大学院医学系研究科循環器内科助手を経て、2004年より現職。疾患の研究に発生工学を応用して疾患のメカニズムを解明し、これを元に新しい治療法の開発をめざしている。

15年で2000報の論文発表：血管新生因子として大注目

近年、血管を新しく作るメカニズムの解明に注目が集まっている。糖尿病の末期症状の「閉塞性動脈硬化症」では、血流が滞ることから足先などに潰瘍ができて、最終的には壊死をおこしてしまうため、血流を再生することを目的に血管を新生させる治療法の開発が考えられている。

一方、増殖するためにがん細胞自らが血管新生因子を分泌して、がん組織への栄養供給路となる血管を新生することが知られている。これを利用して、血管新生を阻害する薬剤を用い

るといふ新しい化学療法が、一部のがんに限られるが実用化されている*1。

このような血管新生制御の考えにもとづいた新しい治療法の開発では、これまでVEGF（血管内皮細胞増殖因子）、HGF（肝細胞増殖因子）、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）などの血管新生因子と、その受容体が研究対象となっていたが、ここに新たな因子が加わってきた。それが“アドレノメデュリン”だ。そして、アドレノメデュリンの血管新生作用を明らかにし、医療技術への活用をねらって研究を続けているのが、信州大学大学院医学系研究科臓器発生制御医学講座教授の新藤隆行である。

アドレノメデュリンは、1993年に宮崎医科大学や国立循環器病センターの研究者らによって副腎髓質由来の褐色細胞腫から分離されたペプチドで、副腎（Adrenal Grand）に高濃度で存在していることから命名され

た。その後、循環器系の細胞、とくに血管内皮細胞では副腎の20倍もの濃度で存在していることが明らかになり、循環器病の解明のために盛んに研究が進められた。その結果、他の領域での研究も含めて、発見からこれまでの15年ほどの間に、アドレノメデュリンに関する論文は2000件以上も発表されている。

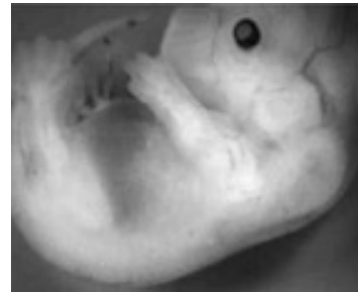
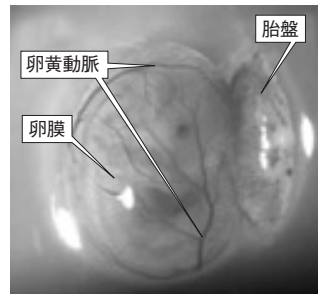
新藤はアドレノメデュリンが発見された直後の1994年から、その研究を開始。アドレノメデュリン遺伝子の種々の遺伝子改変マウスを作ることと、そのはたらきの解明に取り組んだ。

2001年には、アドレノメデュリンのノックアウトマウスの作出に成功したと発表。胎児のうちに死んでしまうことも明らかにした。このノックアウトマウスは、胎生12日目以前には、外見上大きな異常は確認できないものの、胎生13日目になると卵膜

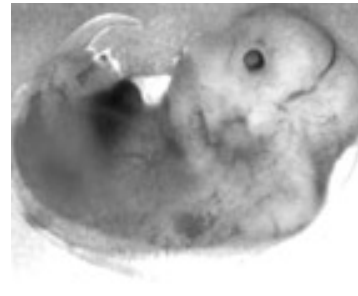
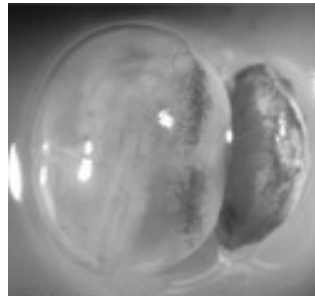
図1

アドレノメデュリン遺伝子のノックアウトマウスにできる異常な血管

野生型



ノックアウトマウス(AM-/-)



上を走る卵黄動脈の発達に異常が見られ、わずかに細い血管だけが作られた。その後も臍帯動脈の血流不全、胎盤の発育不良が認められ、全身に顕著な出血性変化が出現。明らかに正常な血管の構築ができないことが確かめられた(図1)。新藤がこう説明する。

「アドレノメデュリンは、いまでこそ血管新生因子と広く認識されていますが、私がノックアウトマウスの作出を発表した当時は、血管新生

作用をもつとの報告はなされていませんでした。ですから、ノックアウトマウスの胎児で観察されたことをもって、アドレノメデュリンが血管新生にかかわる重要な物質であると考え、その検討を始めました」

大腿動脈を切断したマウスの血流を回復

つぎに新藤がおこなったことは、実際にマウスの大腿動脈を切断した後、アドレノメデュリンを投与して、その影響を調べるといったものだった。

大腿動脈を切断すれば、当然、足指への血流は滞ってしまう。このマウスはいわば閉塞性動脈硬化症のモデルマウスになるわけで、もしアドレノメデュリンに期待通りの血管新生作用があれば、血流を回復させられるはずだ。新藤はアドレノメデュリンの投与群に加え、非投与群と、血管新生因子として以前から知られていたVEGFを投与する群を用意し、その比較をおこなった。

図2を見ていただきたい。これは術後の血流の回復を、レーザードップラー式血流画像化技術^{*2}を用いて画像化したものである。術後12日経っても非投与群(コントロール)では、血流の回復が確認できないが、投与群(AM)では、VEGF投与群と同様に血流が回復していることが見てとれる。また、28日の時点で、非投与群の足指では高頻度に壊死が確認されたものの、投与群、VEGF群では壊死は見られなかった。この結果から、アドレノメデュリンが大人のマウスでも血管新生を促せるといえる。新藤がこう続ける。

「発生段階の血管に樹脂を流し込み、これが固まったところを電子顕微鏡で撮影しました。すると、血管内部はアドレノメデュリンがある場合は滑らかでしたが、ノックアウトマウスではでこぼこの穴ができていました(図3)。これは、本来ならば血管内皮に規則正しく並んでいる細胞がはがれて血管内部に浮き上がっていることを

アドレノメデュリン遺伝子のノックアウトマウスでは、胎生13日に卵黄動脈の発達に不良が認められ、細い血管しかできなかった(左下)。13日から14日で全身に出血が確認され(右下)、14日を越えて生存した胎仔はなかった。このことからアドレノメデュリンが発生時の血管新生に重要なはたらきを担っていることが明らかになった。[Shindo et al: Circulation 104 (2001) 1964-1971より改変]

*1 がんの血管新生阻害剤 VEGFのヒト化モノクローナル抗体のアバスタチン(一般名:ベバシズマブ)が、大腸がんを対象に実用化されている。

*2 レーザードップラー レーザー光が運動するものに衝突した際、ドップラー効果によるレーザー光の周波数が変化することを利用した画像技術で、血液中では赤血球などの移動をとらえることで、血流を画像化する。

示しています。アドレノメデュリンは単に血管を作るだけではなく、その構造を安定させるのにも重要なはたらきを担っていることが明らかになりました」

新藤の研究によると、アドレノメデュリンのノックアウトマウスでも、平滑筋細胞や血管内皮細胞など、血管の材料となる細胞はちゃんと作られているという。しかし、これらの細胞を用いて血管ができたとしても、構造の強固なものではなく、血管内皮細胞がはがれてしまうようなものなのだ。アドレノメデュリンがあれば、構造の安定した強固な血管ができるため、血管新生療法には有力な候補物質だといえるだろう。

アドレノメデュリンの作用を調節するもう一つの主役

アドレノメデュリンのはたらきによって、大人のマウスでも血管新生が促されたのならば、前述の閉塞性動脈硬化症の治療に利用することができるはずだ。

しかし、アドレノメデュリンをそのまま投与することには問題があるという。新藤がこう説明する。

「まず、アドレノメデュリンは血中の半減期が非常に短いんです。これでは治療効果は持続させられず、慢性疾患の治療に用いることはむずかしい。また、現在のペプチドの合成コストが高額であることが産業化への大きな障壁となっています。ならば、受容体にはたらきかけて、アドレノメデュリンの機能を制御すればいいと考えられるかもしれませんが、これもむ

ずかしいんです」

現在、アドレノメデュリンの受容体と考えられているCRLR（カルシトニン受容体様受容体）は細胞膜に存在しているのだが、7回貫通する膜タンパク質であるため、構造解析をおこなうのはむずかしい。これではCRLRに結合して、影響をおよぼす分子の探索は不可能といってよく、アドレノメデュリンの機能を制御することによる新しい治療法の開発は望めない。

そこで、新藤が新たに標的として研究対象としてきたのが、今回のもう一つの主役、RAMP2である。新藤がこう続ける。

「実はアドレノメデュリンのノックアウトマウスを作製し、血管新生において重要なはたらきを担っていることを報告したのち、当時在籍していた東京大学での研究室の都合もあって、

*3 CGRP

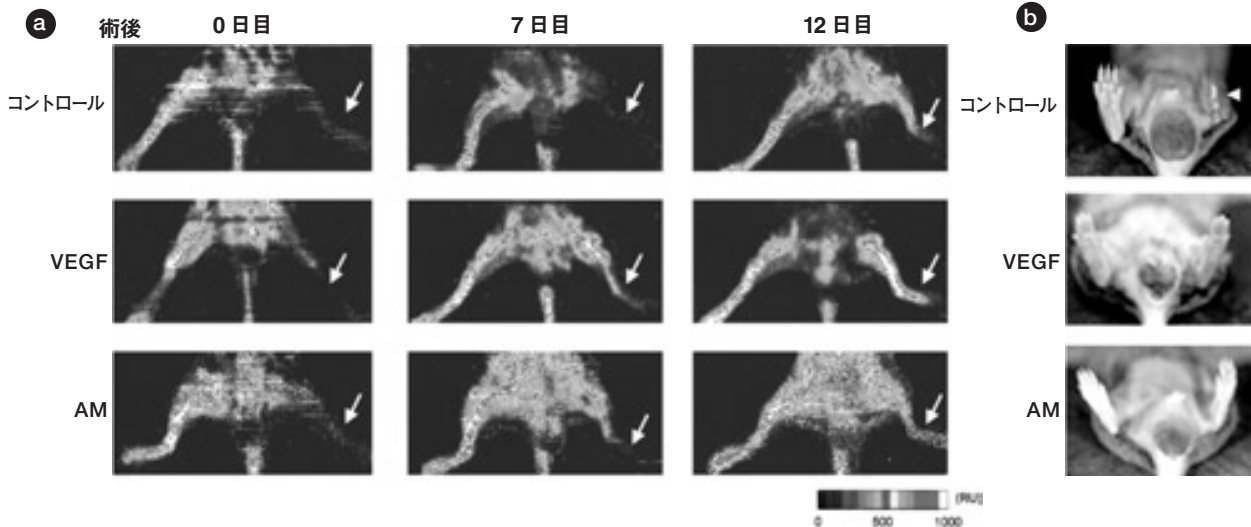
Calcitonin Gene-Related Peptide（カルシトニン遺伝子関連ペプチド）の略称。感覚神経から放出される分子で、血管を拡張し、血流をよくするはたらきをもっている

アドレノメデュリンの研究から離れていたんです。その間に急速にアドレノメデュリンの研究は進み、2004年に現在の信州大学に移ってきてからは、アドレノメデュリンだけを研究していてもなかなか特色ある研究はできないと考えていました。そこで、注目したのがRAMP2でした」

RAMP2は、哺乳類では3種類確認されている受容体の活性を調節するタンパク質RAMP（= receptor activity modifying protein）のうち2番目に確認された分子で、RAMP1はCGRP*3の受容体の調節因子としてはたらくことが確かめられていたが、RAMP2、RAMP3の機能は十分には明らかになっていなかった。

「RAMPが最初に発表されたのは1998年だったのですが、それまでアドレノメデュリンの受容体はよくわ

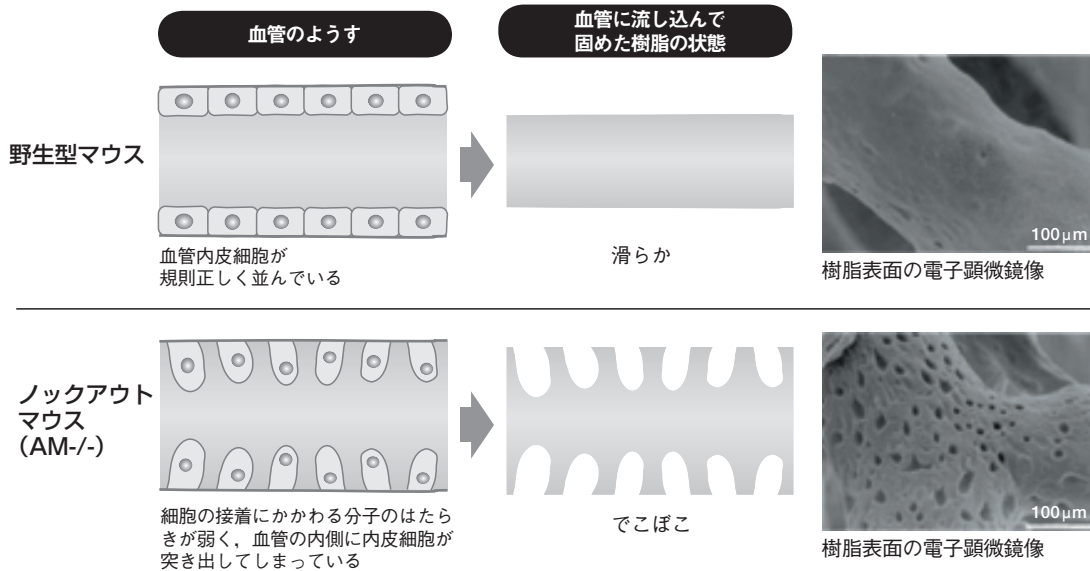
図2 レーザードップラー式血流画像化技術で確認された血流の回復



外科手術により大腿動脈を切断した後、アドレノメデュリンを投与した群(AM)、VEGFを投与した群(VEGF)、何も投与しなかった群(コントロール)をレーザードップラー式血流画像化技術で画像化し、血流の回復を調べた。コントロールではほとんど変化がないのに対して、AMとVEGFでは術後7日ごろから血流が回復し始め、12日には末梢の毛細血管まで血流が回復していることがわかる(a)。そのため、コントロールだけは術後28日には壊死をおこしてしまった(b)。[Shindo et al: Circ Res 95(2004) 415-423より改変]

*4 オーフアン受容体
受容体であることは明らかになっているもの、これに結合する分子(リガンド)が明らかになっていない受容体のこと。

図3 血管の構造を安定化させるアドレノメデュリンの作用



アドレノメデュリンのノックアウトマウスの発生過程の血管に樹脂を流し込み、固まったものを電子顕微鏡で撮影した。正常なマウスの胎仔血管(上)では、滑らかな内皮であることが確認できるが、アドレノメデュリンのノックアウトマウス胎仔の血管(下)では、血管内皮細胞がはがれかけているため、樹脂に穴が観察された。〔Shindo et al: Circulation 104 (2001) 1964-1971 より写真引用〕

かっていなかったんです。通常、ある物質とその受容体は1対1の関係になっていますが、アドレノメデュリンの場合、そうじゃなかったんです。RAMPの存在が明らかになって、それ以前には何をやっているのかわからなかったオーファン受容体*4のCRLRがアドレノメデュリンの受容体と考えられてきましたが、これ単独ではアドレノメデュリンに対する親和性が低く、RAMPが必要だったんですね」(新藤)

アドレノメデュリンの受容体はCRLRだが、RAMPがなくては、十分にその機能を発揮することができないというわけだ。ならば、アドレノメデュリンを制御するにはRAMPの分子群を制御すればいいのではないかと、新藤が考えるようになったのも当然である。

一方、新藤が作りだしたアドレノメデュリンのノックアウトマウスは、正常な血管が作られずに胎生中期に死ん

でしまうのだが、その胎児でRAMPの発現を調べたところ、血管内皮細胞でRAMP2が強く発現していることが明らかになったのである。

このことから新藤は、「3種類のRAMPのうち、血管を作ることにおいてはRAMP2がもっとも強いはたらきをもっていると考えました」と説明しており、それを確かめるためにRAMP2のノックアウトマウスを作りだした。すでに、アドレノメデュリンの遺伝子が正常であるにもかかわらず、RAMP2の遺伝子が破壊されていることによって、正常な血管ができなかったことを確認している。

「まだまだアドレノメデュリンやRAMP2をめぐる分子メカニズムは十分に明らかになっていない。RAMP2のノックアウトマウスができたことで、今後、これらの分子メカニズムを解明する研究はぐっと進むでしょう。そうすればアドレノメデュリンの作用を調節するRAMP2を

制御して、新たな治療法の開発も可能になるでしょう」(新藤)

そのため新藤は、理化学研究所と共同研究でRAMPの構造解析を進めている。近い将来には構造解析の結果を受けて、バイオインフォマティクスの応用から、RAMPに結合して、その機能を制御する分子の探索が進められることになるだろう。

薬によってRAMP2のはたらきを制御できるようになれば、アドレノメデュリンの血管新生作用を調節でき、閉塞性動脈硬化症の治療に利用できるだろうし、逆にアドレノメデュリンの血管新生作用を抑制して、血管新生阻害剤のようにがん細胞の増殖を抑える新しい化学療法を構築することも期待できる。

アドレノメデュリンを対象としていた新藤の研究は、その機能調節にかかわるRAMP2を対象とすることで、より多面的に広がりを見せようとしているのだ (文中敬称略)。