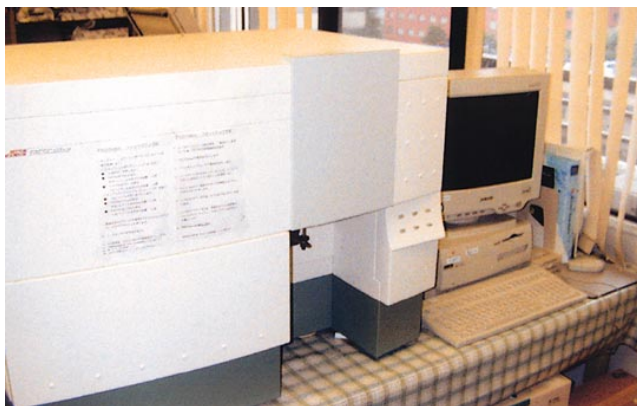


Molecular Elucidation of Significance of Cardiovascular Hormones
in Vascular Protection and Regeneration

成人病における心臓血管ホルモンの血管保護／
血管再生作用とその分子機構の解明

プロジェクトリーダー 中 尾 一 和

京都大学 大学院医学研究科 教授



1. 研究の目的

血管は全身の臓器にたゆまなく酸素、栄養素を供給し続け、生命の維持に關与する重要な器官である。現在、日本人の死因の3分の2は、脳血管傷害、虚血性心疾患など血管傷害にもとづく疾患により占められており、従って、血管病変の克服は現代医療の中で最も重要な課題であるといっても過言ではない。

1980年代になり、これまで血液の駆出、運搬のみを行うポンプあるいはパイプと考えていた心臓や血管が、自ら種々の心臓血管ホルモンを産生する内分泌臓器であることが解明され、更にそれら心臓血管ホルモンは心臓や血管の機能、構築の維持に關与していることが明らかにされ、その臨床応用が期待されている。

私たちは、これまで一貫して心臓血管ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド系（ANP、BNP、CNP）の研究を続けてきた。ナトリウム利尿ペプチドは強力な血管平滑筋細胞弛緩、増殖抑制作用、及び利尿、ナトリウム利尿作用を有する血管作動性ペプチドである。ANP、BNPはそれぞれ心房及び心室から分泌され、心臓ホルモンとして作用し、一方、CNPは血管内皮細胞から分泌され、血管局所ホルモンとして働くことを私たちは明らかにした。現在、血中ANP、BNP濃度測定は心機能や心負荷の程度を知る優れた生化学的パラメーターとなることが示され、またANPは心不全治療剤として用いられており、臨床応用が進展しつつある。

本研究は、高血圧症、糖尿病、高脂血症や肥満等の生活習慣病によりもたらされる血管傷害の結果生じる血管機能不全の回復、あるいは過剰な修復反応の抑制（血管保護）及び機能廃絶に陥った閉塞血管に対する血管新生（血管再生）を目指し、心臓血管ホルモン、特にナトリウム利尿ペプチド系に焦点を合わせ、その血管保護、再生作用とその分子機構の解明を行うものであり、血管病変に対する新しい治療予防戦略の開発が期待できる。

2. 研究の内容

この研究プロジェクトでは、心臓血管ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド系に焦点を絞り、主に、発生工学的手法を用いた遺伝子変異動物の開発、ウイルスベクターを用いた生体血管壁への遺伝子導入、及びES細胞を用いた発生細胞学的アプローチによる血管の再構成を中心に研究を推し進めている。

(1) 発生工学的手法によるナトリウム利尿ペプチド系遺伝子変異動物の開発：

BNP遺伝子ノックアウトマウスを開発を行い解析したところ、心臓で著明な線維化が認められ(図1)、ANPが主に血圧の維持に重要な意義を果たしているのに対し、BNPは心臓の線維化を抑制する生理作用を有することを明らかにした。私たちは現在、更にCNP遺伝子ノックアウトマウスの開発にも成功し(図2)、CNPの血管保護、再生における意義を検討中である。

(2) ウイルスベクターを用いた生体血管壁へのナトリウム利尿ペプチド系遺伝子導入：

アデノウイルスベクターを用いてCNP遺伝子を血管壁において過剰発現させたところ、ウサギ大腿動脈でのバルーンカテーテルによる血管損傷により生じる増殖性血管病変は著しく抑制され、脱分化した血管平滑筋細胞の再分化が誘導されるとともに、内皮細胞の修復再生が促進することを明らかにした(図3)。

更に私たちは、ナトリウム利尿ペプチドの細胞内セカンドメッセンジャーであるヒトcGMP依存性プロテインキナーゼ(Gキナーゼ)をクローニングし、その種々のミュータントの遺伝子導入実験を行うことで、ナトリウム利尿ペプチドの活性化により、心血管系に特異的に発現するホメオボックス遺伝子Gax(growth-arrest specific homeobox)発現が誘導されること、GaxがcGMPカスケードによる血管平滑筋細胞増殖抑制に関与していることを証明し、血管平滑筋細胞増殖抑制、分化誘導に関わる新しい経路として、ナトリウム利尿ペプチド/cGMP/Gキナーゼ/Gax経路の存在を明らかにした。現在、ナトリウム利尿ペプチドによる内皮再生の分子機構を検討中である。

(3) ES細胞からの血管前駆細胞の同定純化と新しい血管発生モデルの開発及びナトリウム利尿ペプチド系の血管発生分化での意義の検討：

マウスES細胞(Embryonic Stem Cells:胚幹細胞)は、多分化能を有し各種の細胞に分化誘導できることが知られている。私たちは、最近このマウスES細胞より、FACSを用いたセルソーティング法を用い、血管内皮細胞及び壁細胞(周皮細胞及び血管平滑筋細胞)の双方に分化し得る”血管前駆細胞”(Vascular Progenitor Cells;VPC)と呼び得る細胞の純化同定に成功した。更に、このVPCを用い、in vitro三次元ゲル内培養系において、壁細胞の裏打ちを伴った、完全な血管構造の再構成にも成功した(図4)。そこで、現在この新しい血管発生モデルを用いて、ナトリウム利尿ペプチド系の血管発生分化における意義について検討中である。

今後、これらの研究成果をもとに、ナトリウム利尿ペプチド/cGMP/Gキナーゼ/Gax系遺伝子導入、及びVPCの生体内移植による、血管保護再生を目指した新しい遺伝子細胞治療法(ジーンセラピー、セルセラピー)の開発を目指している。

3. 研究の体制

期 間：1998年7月～2003年3月

構 成：研究分担者2名、研究協力者12名が協力して研究を進めている。

実施場所：京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学講座(第二内科)

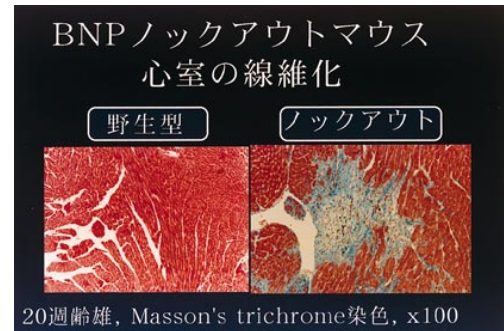


図1. BNPノックアウトマウスにおける心臓の線維化



図2. CNPノックアウトマウスの全身像

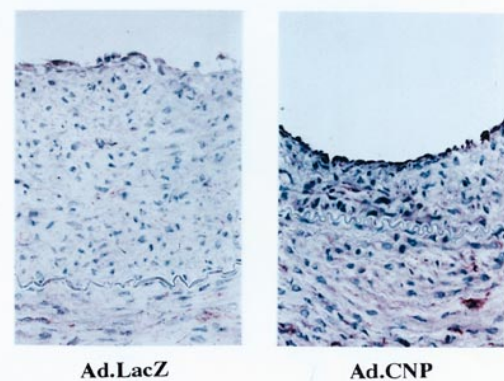


図3. CNP遺伝子組み換えアデノウイルス感染による血管増殖性病変の抑制効果



図4. マウスES細胞由来血管前駆細胞によるゲル内3次元培養での血管構造の再構成