

循環器病の究明と制圧を目指す、 心筋・血管の基礎研究

国立循環器病研究センター(以下、当センター)には様々な分野の精鋭が集い、日々研究を行っています。その中でも心筋や血管分野では、当センターの研究チームが世界中の同じ分野の研究者を牽引する役割を果たしています。今回は当センターの心筋・血管の基礎研究について取り上げます。

循環器病の究明・制圧のための基礎研究 —心筋・血管の研究で世界を牽引

医療の発達により、以前は手を施すのが難しかった病気でも多くは治療できるようになり、病後の生活の質(QOL)も向上しました。しかし、厚生労働省の調べでは、国民の死因に対する心疾患と脳血管疾患を合計した循環器病の割合は25%を超え、死亡率1位のがんとあまり差はありません(「平成24年 人口動態統計月報年計(概数)の概況」より)。また、平成23年時点では国民医療費における循環器病の割合は約20%で13%のがんをしのぎ、65歳以上に限るとその割合は約30%にのぼります。(「平成25年 我が国の保健統計(業務・加工統計)」より)さらに、要介護理由のトップは脳卒中(約21%)であり、心疾患も含めると介護理由の約25%が循環器病に由来することになります。(「平成22年 国民生活基礎調査の概要」より)

つまり、循環器病の患者が減少することで国民医療費の削減や国民の生活の質(QOL)を向上させることにつながるので、循環器病のより効果的な治療法開発のための基礎研究が非常に重要となります。

当センター研究所では循環器病の制圧と究明に向けて様々な研究が行われており、画期的な研究成果が多数発表されています。

また、病院と研究所が併設されていることで基礎研究の成果をスムーズに臨床で応用し、臨床現場の問題点をいち早く把握してその解消のための研究を進める強みを持ち合わせています。

心筋・血管分野においても世界の研究者をリードし影響を与えるような研究成果が出ています。心筋の再生研究では発生初期段階で心筋を増加させる分子を発見し、これを通常は分化しない成熟した心臓にも応用できるかどうか、さらに研究を続けています。

また、巨大な顕微鏡のようなはたらきをもつ大型放射光施設を利用して心疾患モデルマウスの非常に微細な心血管の動きを観察することに世界で初めて成功しました。心疾患の病態で未解明の部分が今後明らかになり、臨床に応用できると期待されています。

一方、現在臨床で使用されているデバイスも臨床のニーズを十分に満たしているとはいえません。人工血管を例にとると大血管は色々な種類が出回っているものの微細な血管は殆どありませんでしたが、ダチョウの頸動脈を使用した小口径の長い人工血管作成に成功し、実用化に向けて研究を進めています。

さらに、病気にならないことに重点を置いた「予防医療」の研究も進んでいます。動脈硬化の原因物質の一つを当センターが世界で初めて突き止めました。国民の健康に資することができるよう、今後は健康診断や医薬品などへの応用を目指します。

当センターの心筋・血管研究について

細胞生物学部

血管や心臓の形態形成・臓器形成の、分子イメージング(画像化)を用いた解析研究

心臓生理機能部

「あるがままの生体」の観察を基本とした、心臓・血管機能の神経・液性調節機構の研究

生体医工学部

人工血管や人工弁、人工心筋ブロックなど新しい工学技術の研究

血管生理学部

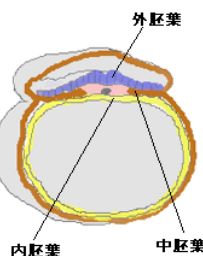
動脈硬化の原因物質及び受容体を発見し、それを応用した予防医療の研究

心臓発生過程のイメージング(画像化)による 病態や心筋再生能の研究<細胞生物学部> ゼブラフィッシュの解析から人体への応用可能性を探る

ゼブラフィッシュを用いた心臓・血管 発生分子メカニズムの可視化

心臓と血管は、発生期にいずれも中胚葉(注1)から生じます。また、中胚葉由来である血管内皮細胞から血球細胞が分化するので、循環の実態である心臓・血管・血球はともに中胚葉から発生することになります。ヒトを含む脊椎動物では、この循環システムは十分確立されているために、発生分子メカニズムを知ることによって心臓・血管の再生の促進作用を見出せると考え研究を行っています。当センター細胞生物学部では、ゼブラフィッシュを(注2)用いて生きたままの心臓・血管の形成過程を見ています。ゼブラフィッシュは小型魚類でありながら、肺がないこと、心房・心室が一つずつしかないことを除けば循環器系の発生が哺乳類と変わらず、遺伝子の転写調節機構も確立されています。したがって、循環器系の発生研究では非常に良いモデルといえます。ゼブラフィッシュを用いて循環器形成過程をイメージング(画像化)によって理解し、再生につなげるというのが我々の目標です。

(注1)動物の受精卵は細胞分裂を繰り返しながら成長しますが、その過程で分裂した細胞が内外に分かれ層を形成します。この層の上から順に、外胚葉・中胚葉・内胚葉といいます。外胚葉からは表皮や骨格など、中胚葉からは循環器系や筋肉など、内胚葉からは消化器系などが形成されます。



(注2)ゼブラフィッシュは体長5cm程度の魚で、循環器系の発生過程が哺乳類と同様で、卵が透明なため発生の様子を生きたまま顕微鏡で観察することができ、産卵の周期が約1週間と早く何度も観察できるため、発生過程の研究によく使われます。



発生・形態形成に関わる分子を特定、 心筋細胞数増加を目指す

分子イメージングの特徴は、①形態(発生における臓器の形成)を見られるとともに、②この形態形成に

かかわる分子がどこで機能しているか、或いはそれが必要であるのかを見ることができることです。②ができることで、形態形成に関わる特定の分子の発現抑制により形態学的異常が心臓や血管のどの部位に生じるのかを突き止めることができるので、先天性心疾患の原因解明にもつながります。

発生初期のゼブラフィッシュの分裂している細胞だけを蛍光蛋白質で標識することで、実際の生体内での細胞分裂の様子を顕微鏡で観察することが可能になります。ゼブラフィッシュの心臓から蛍光着色された分裂中の心筋細胞と着色されていない非分裂心筋細胞とを分取して、遺伝子情報を解析する次世代シーケンサーを用いてこれらを調べた結果、非分裂心筋細胞には発現せず分裂中の心筋細胞だけに特異的に発現する特定の分子が、心筋細胞の分裂を誘導する働きをもつことが明らかになりました。この分子は、ゼブラフィッシュだけではなくマウスなど他の哺乳類の心筋細胞にも発現していることがわかったために、現在この分子による心筋細胞の分裂誘導の可否を、成獣を用いた動物実験で検証しているところです。通常、成熟した心筋細胞はそれ以上増加することはない、病変・壊死した場合は残存心筋細胞のみで心機能を維持しなければならないために、心不全後の予後は悪く心臓に非常に大きな負担がかかっていましたが、もしこの実験が成功して成熟した心臓でも再生可能なことが明らかになれば、この問題が解決され病後のQOL向上につながります。この方法は、iPS細胞移植や心臓内の他の細胞の心筋への分化による心筋細胞数の増加を企図した研究とは根本的に発想が異なる、「既存の心筋細胞の増殖による心筋細胞数の増加」を狙った研究であり、心筋梗塞後の残存心筋の増加を目的とした新たな治療法の開発を目指したいと考えています。

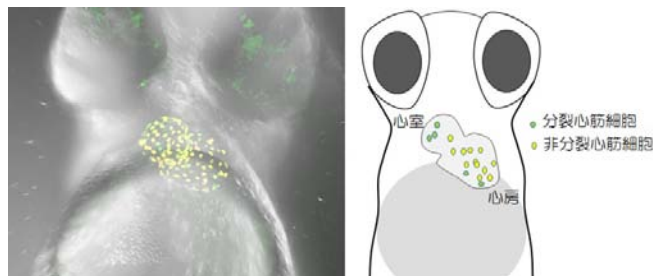


図 ゼブラフィッシュの生後2日目胚:分裂心筋が緑色となるよう
な工夫をしたトランスジェニックゼブラフィッシュの画像

最先端の放射光画像を用いた心血管病の研究

＜心臓生理機能部＞

心筋収縮タンパク質の分子間相互作用を生きた動物でナノレベル解析

小動物の心血管機能を麻酔下で高精度に解析できる放射光技術を開発

当センターの心臓生理機能部は、高輝度光科学研究センター・Spring-8(兵庫県佐用郡)と共同で、放射光X線画像を用いて、生きた循環器病モデル小動物の心血管機能を高精度で解析する技術を世界に先駆け開発し、循環器病の分子病態解明を新たな視点で進めています。開発した技術は、①心臓収縮の力の源となる心筋収縮タンパク質の分子間相互作用を解析できるX線回折法と②冠動脈を太い部分から細い部分(約30 μm 径)まで観察できる高解像度微小血管造影法で、人間の約7～8倍の高速で拍動するマウスの心臓も解析できます。

マウス、ラットなどの小動物は遺伝子操作技術が確立しており短期間での病態モデル作成が容易なので循環器病研究に必要不可欠ですが、高速に拍動する心臓の心筋収縮タンパク質の機能障害や微小冠動脈の異常収縮などの検出は困難でした。上記の技術によりこれらの検出が可能となり、生体内での遺伝子・タンパク質の機能検証や新しい治療法の評価など、橋渡し研究の強力なツールとなるものと期待されます。

心筋収縮タンパク質の機能異常を心筋局所でピンポイント検出

心臓収縮・拡張の基本機構は、心筋収縮タンパク質アクチン(A)とミオシン(M)の結合・解離であると考えられています。心筋細胞内でAとMは並行に重なり合って筋原線維(筋節単位の繰返し)をつくり(図1A1, A2)、その断面ではAとMが規則正しい六角格子構造を形成しています(図1B)。この構造内にはMだけが配列する(1,0)格子面とMとAが配列する(1,1)格子面があり、放射光X線の格子面への照射でX線が散乱・干渉することにより(1,0)反射と(1,1)反射を形成します(図1C)。心筋収縮はMの頭部がA側へ移動・結合することで発生し(図1A3)、放射光X線画像では(1,0)反射の輝度低下と(1,1)反射の輝度増加として現れます。実際の解析には輝度比(1,0/1,1)を用い、輝度比の低下幅はM頭部のAへの移動・結合数と比例します。弛緩時は逆に輝度比は増加します。

直径の小さい放射光X線マイクロビームの心室壁への局所照射でM頭部とAの結合・解離の異常をピンポイントで検出できます。自然発症高血圧ラットの肥大心臓の左心室前壁と後壁で約10心拍の輝度比変化を解析したところ、後壁では輝度比は心室圧の変化に連動しMとAが正常に周期的な結合・解離を繰り返していましたが、前壁では輝度比の変化が不規則で、結合・解離機能が異常でした。つまり、高血圧による心臓肥大では、前壁と後壁で心筋機能障害の進展が大きく異なることが分かりました。(図2)また、心筋に明らかな異常のない初期糖尿病ラットの心臓でも結合・解離の異常が検出されました。糖尿病

では、輝度比の周期的変化が上方へシフト(M頭部のAへの結合数の減少)しており、これは左心室壁の外側より内側の筋層で顕著であることが分かりました(図3)。

図1

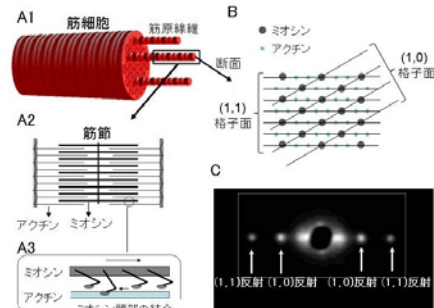


図2

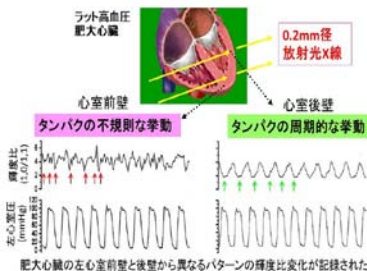
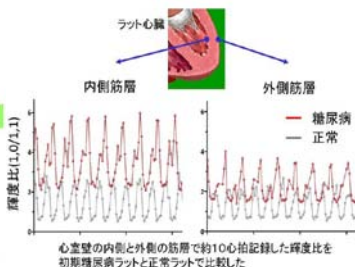
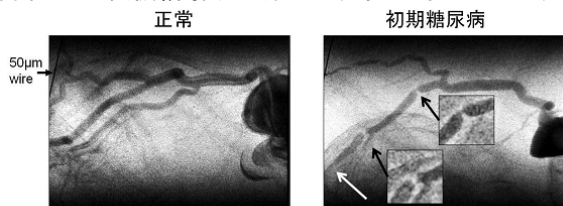


図3



冠動脈の血管ネットワーク上で障害部位を高精度で検出

ヨード性造影剤のX線吸収が特異的に高まる波長のX線のみ放射光から取り出しパルスX線(露光時間1～2 ms)にして小動物心臓に照射することで、臨床の血管造影より解像度の優れたブレのない鮮明な微小冠動脈造影を実現しています。初期糖尿病ラットの血管内皮拡張機能を薬で抑制すると、血管分岐部にのみ強い血管収縮が検出されました。この局所的な異常収縮は、本造影法でしか検出できず、糖尿病性冠動脈障害の進展機構解明に繋がる発見と考えられます。



糖尿病ラットでのみ冠動脈の血管分岐部に限して強い血管収縮が認められた(黒矢印)

将来展望

開発した2つの放射光技術を組み合わせれば、心筋梗塞、心筋症などによる心不全の分子病態やiPS細胞やペプチドを使った心筋・血管再生治療に関する研究を心筋と冠循環の両面から進めることができ、循環器病研究の新たな扉を開く可能性があります。

実用的なサイズの再生型人工血管の研究 ＜生体医工学部＞

食用ダチョウの頸動脈を用いた小口径人工血管の開発

苦戦が続いた小口径人工血管の研究

小口径人工血管の開発はバイオマテリアル研究者の長年の夢でした。実は、ポリエステル繊維で作製されている大口径人工血管では、血小板や血栓がたくさん付着して形成される“偽内膜(ぎないまく)”が重要な役目を果たしていますので、抗血栓性(血液が固まらない性質)の血管ではありません。一方、中口径人工血管は、抗血栓性に優れたテフロン素材で作製されていますが、それでも内径4mm以上しか通常使用は出来ません。それよりも細い小口径人工血管は、心臓や足の血管の再建のために切望され、「超」抗血栓性材料が精力的に研究されました。ラットのおなかの動脈などを使用した小口径人工血管の良い結果が報告されましたが、臨床利用可能なサイズでの実証は進みませんでした。

十分な長さをもつ小口径人工血管が 開存、実用化を目指す

臨床利用を意識したサイズ(内径2mm・長さ30cm)に目標を定めて研究を進め、最近、食用ダチョウの頸動脈を素材とした小口径人工血管の開存に成功しました。「そんなもの患者さんに使えるの？」と思うかもしれませんが、例えば、毎年国内で18000件くらい使用されている人工心臓弁の半分は、ウシやブタの組織で作製されているのです。ダチョウの血管に10000気圧という超高压をかけてダチョウの細胞を全て殺して、取り去ります。できた血管は、血液を固まらせる働きの高いコラーゲンがむき出しになっていますから、そのまま移植すると、あっという間に血栓で詰まってしまいます。そこで、血中を循環パトロールしている血管内膜を修復する細胞を捕捉するペプチド分子(小さなタンパク質)を内腔面に並べました(図1)。この血

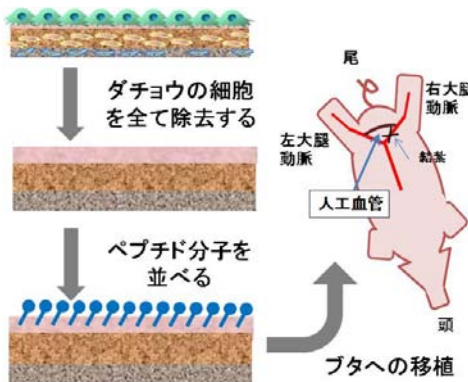


図1 食用ダチョウの頸動脈から、ダチョウの細胞を除去(脱細胞化)して、血管内膜が再生するように内腔面を処理する。

管を使って、ブタの左足動脈から右足動脈をバイパスして評価しています。

作製した血管は白くて、固さや手触り、また、移植時の縫い易さなどは、生体内の血管と全く変わりません(図2)。移植後の血管造影の写真が図3で、30cmと長い血管を評価するために、片足からぐると曲がって反対の足につながれています。



図2 内径2mm、長さ30cmの再生型人工血管。

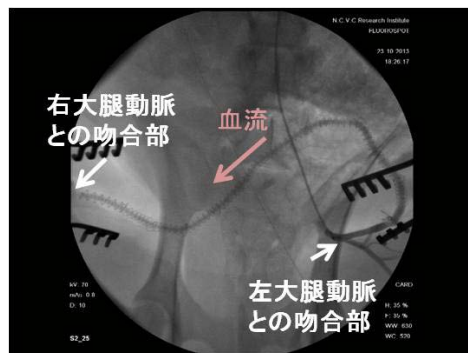


図3 人工血管を用いてブタ左大腿動脈から右大腿動脈へのバイパス術例。臨床で要求されるサイズの人工血管の安定的開存は世界初。

結果は、驚くほど切れ味の良いものでした。コラーゲンむき出しの血管はあっという間に詰まったのに対して、ペプチド分子を並べた血管では、初期の血栓形成が大きく抑制され、1時間ほどで血中の目的細胞を捕捉、1日後には内膜様組織が完成し、1月後に評価したところ通常血管と区別がつかない内膜が新生していました。

この血管は、タンパク質で出来ていますから時間とともに分解されます。患者さん自身の組織と置き換わればもう心配はありません。最大の難敵であった血栓形成抑制を達成できたことをとても喜んでいますが、あと、ひといき。患者さんの組織と置き換わる血管に仕上げたいと、開発チーム一丸となって頑張っています。

循環器病につながる動脈硬化に対する 予防医療の研究<血管生理学部> 万病の原因となる動脈硬化の予防法を探る

動脈硬化について

「ヒトは血管とともに老いる」といわれ、血管の老化現象そのものともいえる動脈硬化の進行は、血管の障害にとどまらず臓器の機能障害までも引き起こすことから非常に重要です。動脈硬化は高齢者の病気というイメージが強いかもしれませんが決してそうではなく、若いうちから徐々に進行し、40代では8割の人の冠動脈に動脈硬化巣が見つかるという報告もあります。

動脈硬化の原因物質：変性LDLとその受容体「LOX-1」

動脈硬化はいわゆる悪玉コレステロールと呼ばれるLDLコレステロールが酸化などで違う性質になった変性LDLが血管内皮細胞に作用することによって始まると考えられています。変性LDLはそれ自体が血管内皮細胞に影響を及ぼすわけではなく、特定の受容体と結合してはじめて血管機能を障害するのですが、その受容体が、当センター血管生理学部が見つけたLOX-1という分子です(図1)。動物実験の結果から、動脈硬化が進行されるような状況では体の中でLOX-1は増加し、LOX-1をブロックすると血管内皮細胞の機能が健康に保たれ、動脈硬化が抑制されることがわかってきました。さらにLOX-1は心筋梗塞や血管再狭窄の悪化、脳梗塞といった循環器病だけではなく、敗血症や関節炎といった循環器病以外の炎症性疾患とも関連していることが、モデル動物を用いた実験によりわかってきました。これらは変性LDLとLOX-1との関係だけからは説明できないことで、この研究から新しい事実が明らかになってきています。

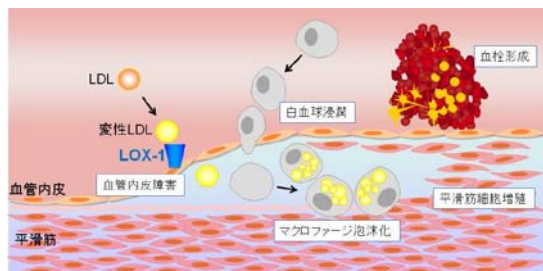


図1 動脈硬化の成り立ち

一方、LOX-1に結合する変性LDL側の研究も行い、動物実験では血液中の総コレステロール値に変化を与えずにのみ変性LDLのみを人工的に低下させると動脈硬化を抑制できるという結果が得られました。さらにヒトの変性LDL活性を独自の方法で測定し、当センター予防検診部が実施している都市部住民の大規模コホート研究である「吹田研究」にて追跡調査を行った

ところ、変性LDL活性の高い人では、コレステロール、高血圧、糖尿病などの影響を除外しても、冠動脈疾患や脳梗塞のリスクが2~3倍上昇することがわかりました(図2)。つまり、コレステロール、血圧、血糖値を測るだけでは気がつかない冠動脈疾患や脳梗塞のリスクを変性LDL活性の値を調べることで評価できると証明できたのです。現在は、どうしたらこのリスクを下げることができるのか、そして、さらに強力に心筋梗塞や脳梗塞を予防するための薬ができないか、研究・開発を進めています。

再生医学よりも重要な「予防医学」 病気を防ぐことの意義

最近、再生医学の研究が非常に盛んですが、どんなに再生医学が発達しても、病気にならない方がよいのは言うまでもありません。そのためには、将来病気になるリスクをきちんと評価すること、冠動脈疾患や脳梗塞のような大事に至る前の、動脈硬化の段階で進行を抑える事が重要です。特に脳梗塞は、リハビリや介護を要する重い後遺症が残しやすいため、本人はもちろん、家族や社会の立場からも、予防が最も望まれる疾患です。

動脈硬化やコレステロール代謝研究の歴史は長いのですが、盲点は意外にあるものです。私たちの研究室では、これまで想定されていなかったような切り口で研究を行い、半ば迷信と思われていたようなことや複雑すぎて解明不能と思われていた病態が、すっきりと理解できる瞬間を最近も経験しています。これらの成果を1日も早く社会にフィードバックできるよう、今後も努力していきます。

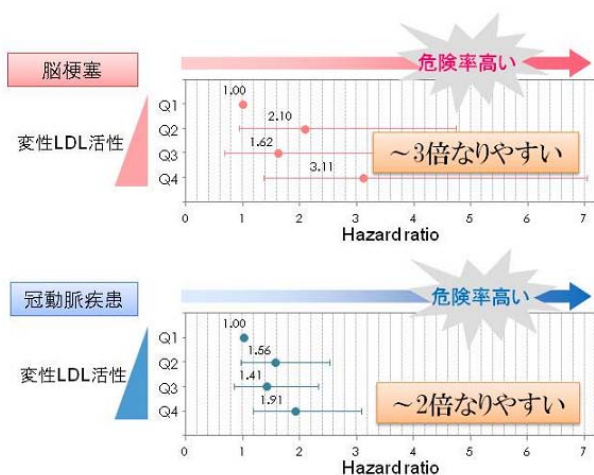


図2 新しい変性LDL活性測定法による脳梗塞、冠動脈疾患のリスク評価(年齢、性、BMI、喫煙歴、飲酒歴、高血圧、糖尿病、non-HDLコレステロール、脂質低下剤使用歴で調整後)