

## 米国心臓協会 (AHA) 学会賞を受賞して

下 川 宏 明

東北大学大学院医学系研究科循環器病態学分野



2006年度の米国心臓協会 (American Heart Association, AHA) の学会賞 (動脈硬化部門, Jeffrey M. Hoeg Award) を受賞した。AHA は循環器領域においては世界最大の学会であり、循環器病学・循環器診療を世界的にリードしている学会である。今回の受賞は、これまでの私の研究が評価されたものと

感謝すると同時に、米国を中心とした海外からの今後の私の研究活動に対する激励でもあると有り難く受け止めている。

受賞対象となったのは、私が長年取り組んできた (1) 動脈硬化/冠 (動脈) 攣縮の分子機構の解明と (2) 血管内皮由来弛緩因子に関する研究であり、以下に概説する。

### 1. 動脈硬化/冠攣縮の分子機構の解明

日本人に冠攣縮の頻度が高いことは広く知られているが、その原因はいまだ不明である。私が研究室に入って与えられたテーマが冠攣縮動物モデルの作製であった。冠攣縮が冠動脈硬化病変に好発するところから、自ずとこの2つの病態の分子機構の解明に取り組むことになり、以来25年以上にわたり研究を行ってきた。実験動物としてヒトに類似した動脈硬化病変ができることが知られていたブタを選び、冠動脈のバルーン傷害と高コレステロール食負荷により実験的冠動脈硬化病変を作成し、同部の収縮反応について検討した。収縮刺激としてヒスタミンやセロトニンを用いたところ、ヒトに酷似した冠攣縮を再現性よく誘発することに初めて成功し、組織学的検索により冠攣縮部位と実験的冠動脈硬化病変がよく一致することを認め<sup>1)</sup>。この観察事実は、今では冠動脈内超音波検査を用いてヒトでも認められることが広く知られている。

その後、冠攣縮の原因が冠動脈平滑筋の過収縮か血管内皮の機能不全かの論争が起こった。これは、血管

内皮が一酸化窒素 (NO) をはじめとする内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factors, EDRF) を産生・遊離していることが明らかにされてから起こった論争である。この問題に取り組むため、冠攣縮性狭心症で突然死した患者の冠動脈外膜側に認められる炎症性変化の意義を明らかにする目的で、炎症性サイトカインをブタ冠動脈外膜側から慢性的に作用させたところ、冠動脈硬化病変が惹起され、同部にセロトニン刺激により冠攣縮が再現性よく誘発された<sup>2)</sup>。この第2のモデルでは血管内皮機能は温存されており、血管平滑筋の過収縮のみで冠攣縮が生じていることを確認した。この一連の基礎研究および同時期に行ったいくつかの臨床研究により、冠攣縮の主因は血管平滑筋の過収縮であることを示すことができた。

次に、血管平滑筋の過収縮の分子機構について検討を進めていった。血管平滑筋の収縮は、最終的にはミオシン軽鎖がリン酸化されアクチンとの間で相互作用を生じて惹起されるが、ミオシン軽鎖のリン酸化反応はミオシン軽鎖キナーゼにより促進的に、ミオシン脱リン酸化酵素により抑制的に制御されている。我々は、一連の *in vivo* および *in vitro* の研究により、血管平滑筋の Ca 感受性機構における分子スイッチである Rho-kinase の活性化によりミオシン脱リン酸化酵素が抑制されており、これが冠攣縮の中心的な分子機構であることを、最初に動物モデルで、次いでヒトにおいて初めて明らかにした (図1)<sup>3,4)</sup>。

この発見に続いて、動脈硬化の分子機構全般にも Rho-kinase が関与している可能性を着想した。その根拠は、Rho-kinase は下流に多くの標的分子を従えており、細胞の遊走・増殖・肥大や酸化ストレスの促進などを惹起する可能性があるからである。この仮説を、変異型 Rho-kinase の遺伝子導入や我々が見出した選択的 Rho-kinase 阻害薬を用いて検討したところ、種々の動脈硬化動物モデルで我々の仮説を確認することができた (図1)<sup>5)</sup>。さらに Rho-kinase の長期抑制はいったん生じた動脈硬化病変の退縮を惹起するという興味ある知見も得られた<sup>6)</sup>。また、内皮における Rho-kinase の活性化は内皮型 NO 合成酵素 (eNOS)

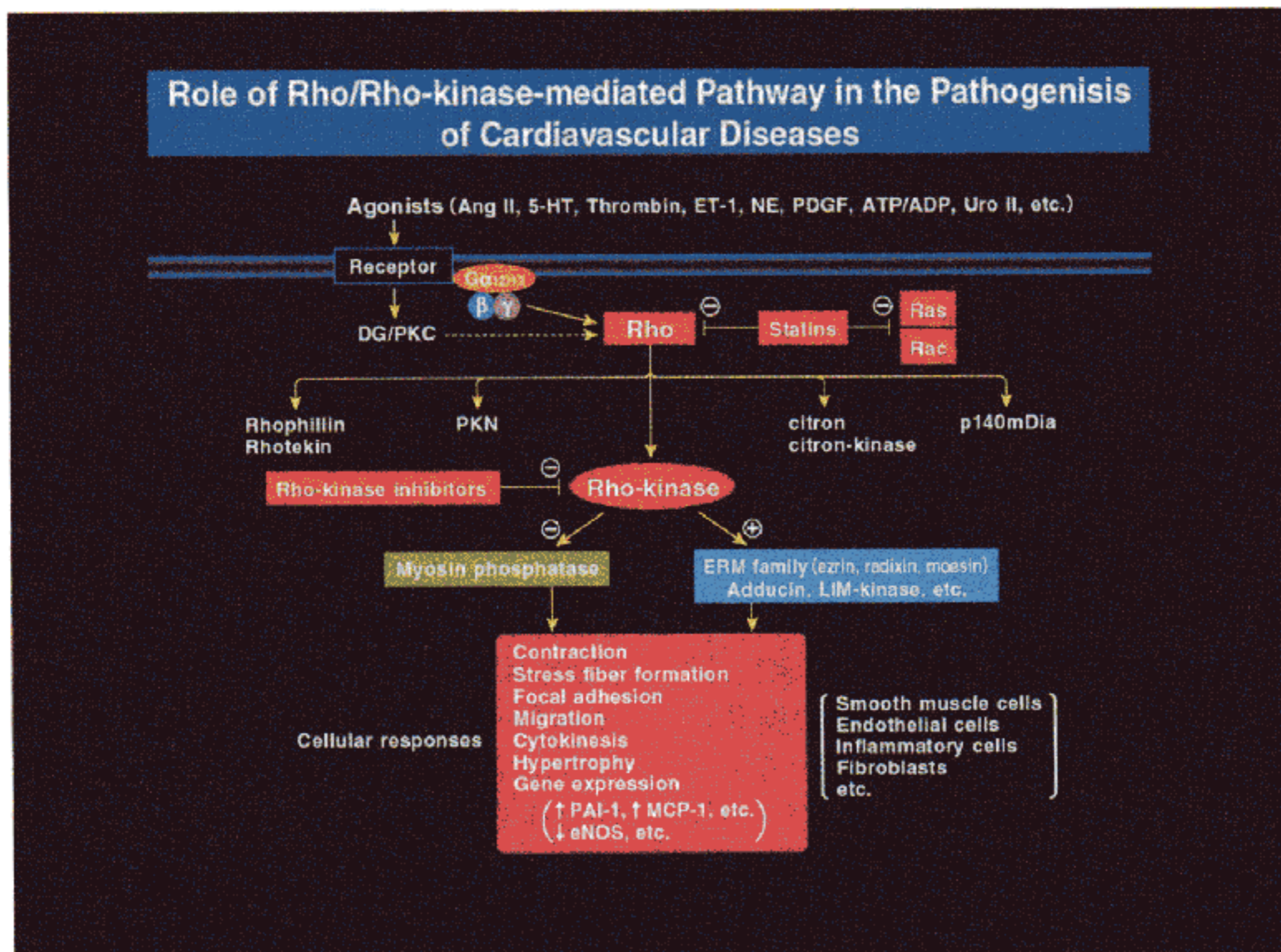


図1. 動脈硬化/冠攣縮の分子機構における Rho-kinase 経路の役割 (文献5より引用)

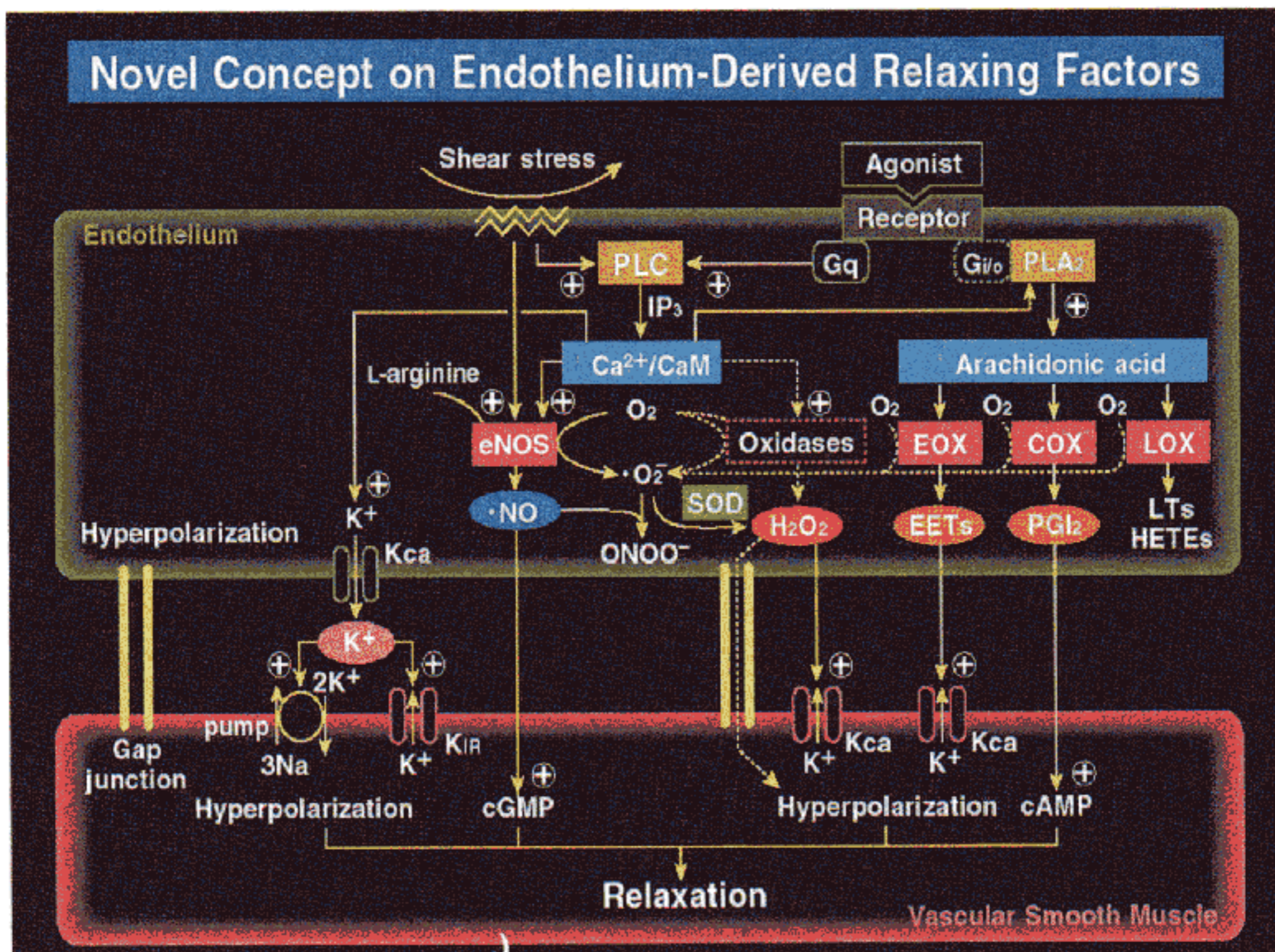


図2. 内皮由来弛緩因子 (EDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> および NO) に関する新しい概念 (文献10より引用)

の活性や発現の低下を惹起し、結果的に内皮機能不全にも深く関与することを明らかにした<sup>5)</sup>。この知見は、冠動脈硬化病変には、多かれ少なかれ、血管平滑筋の収縮反応の亢進と内皮機能不全とが併存する事実をよく説明できると思われる(冠攣縮の主体はあくまで前者であるが)。

さらに、一連の基礎的・臨床的研究により、Rho-kinaseの活性化が難治性疾患である肺高血圧症の成因にも深く関与していることを明らかにし、現在、長時間作用型の経口Rho-kinase阻害薬を用いた治験を開始すべく準備中である<sup>6)</sup>。選択的Rho-kinase阻害薬は循環器疾患を含む幅広い分野の疾患に適応が期待され、スタチンやレニン-アンジオテンシン系阻害薬に次ぐクラスの大型医薬品として期待されている。現在、世界中で約15の製薬企業がこのクラスの薬剤の開発に着手しており、そのいくつかに関与してきている<sup>7)</sup>。

## 2. 内皮由来弛緩因子に関する研究

血管内皮は、従来、血管壁と血液との単なる隔壁と考えられていたが、実は非常に重要な抗動脈硬化作用を有していることが明らかにされ、現在広く受け入れられている。その根拠となったのが、内皮由来弛緩因子(endothelium-derived relaxing factors, EDRFs)の発見である。広義のEDRFsには3種類あり、発見順に、プロスタサイクリン(PGI<sub>2</sub>, 1976年発見同定)、一酸化窒素(NO, 1980年発見, 1987年同定)、内皮由来過分極因子(endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF, 1988年発見)がある<sup>7)</sup>。PGI<sub>2</sub>とNOは、現在、一部で臨床応用もされている。また、PGI<sub>2</sub>とNOの発見・同定に対しては、それぞれ、1982年と1998年にノーベル賞が授与されている。

第3のEDRFであるEDHFは1998年にその存在が報告され、血管平滑筋を過分極させて弛緩を惹起するところから命名された経緯がある。我々や他のグループの研究により、内皮依存性弛緩反応におけるEDHFの役割は血管径が小さくなるほど大きくなることが知られている(逆にNOの役割は大血管ほど大きい)<sup>8,9)</sup>。しかし、EDHFに関する研究は、微小血管を扱わなければならない点や膜電位を測定する必要があるためになかなか進展せず、本体の同定が遅れたために、生体内での意義についても不明のまま残されていた。我々は、一連の基礎的・臨床的研究を行う中で、EDHFとNOは確かに違う物質ではあるが、産生経路や動脈硬化危険因子による影響、治療薬による改善などの点ではかなりの共通点があることに着目した。そ

の結果、「EDHFは内皮型NO合成酵素由来(eNOS)の非NO物質ではないか」と着想するに至った。この仮説を、eNOS欠損マウス等を用いて検討したところ、EDHFの本体が主として内皮のeNOSから生理的濃度( $\mu\text{M}$ オーダー)で産生される過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)であることを初めて明らかにした(図2)<sup>10)</sup>。

我々のEDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>説は、発表後、NOの場合と同じような経過を辿った。すなわち、酸化ストレスの一つと考えられていたH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>が血管内皮から産生され生理的にも重要な働きをしているという我々の学説に対して、当初は反対する意見も出た。しかし、研究が進むにつれ、NOの場合と全く同様に、血管内皮からある制御下に生理的濃度( $\mu\text{M}$ オーダー)で産生されるH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は善玉であり、炎症細胞などから病的濃度(mMオーダー)で産生されるH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は悪玉であることが明らかになった(図2)。現在では、我々のEDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>説は世界的にも広く受け入れられている(ただし、EDHFの本体は複数存在する可能性がある)。

その後、我々のEDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>説の更なる検証や生体内での意義について研究を進めている。この中で、eNOSから産生されたsuperoxideをCu, Zn-SODがdismutateしてEDHF産生酵素として働いていることや<sup>11)</sup>、生体にとって極めて重要な冠循環調節機序であるautoregulation(自動調節能)や代謝性冠拡張、虚血再灌流障害の軽減にもEDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>が深く関与していることを明らかにした<sup>12)</sup>。最近、3種類のNO合成酵素を完全に欠損させたマウスを作製することに成功した<sup>13)</sup>。このマウスではEDHF反応が完全に消失しており、興味あることに、ヒトに類似したメタボリック症候群の表現型を示す予備的結果を得ている。今後、NO合成酵素系とEDHF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>との関係を詳細に検討していきたい。

今回の受賞を励みとして、今後も、臨床的視点に立って、基礎的・臨床的研究を行っていきたい。また、そうした研究教育活動等を通して、本学から次世代のわが国の医学・医療を担う人材を育てていきたいと考えている。

## 謝 辞

一連の基礎的・臨床的研究に協力していただいた九州大学(特に竹下彰名誉教授)、東北大学はじめ多くの共同研究者の皆様に深謝申し上げます。研究の一部は、文部科学省科研費、厚生労働省科研費、医薬基盤研究所研究費、科学技術振興機構研究費(CREST)等による補助を受けました。

## 文 献

- 1) Shimokawa, H. et al. (1983) Coronary artery spasm induced in atherosclerotic miniature swine. *Science*, **221**, 560-562.
- 2) Shimokawa, H. et al. (1996) Chronic treatment with interleukin-1 $\beta$  induces coronary intimal lesions and vasospastic responses in pigs in vivo. The role of platelet-derived growth factor. *J. Clin. Invest.*, **97**, 769-776.
- 3) Kandabashi, T., Shimokawa, H. et al. (2000) Inhibition of myosin phosphatase by upregulated Rho-kinase plays a key role for coronary artery spasm in a porcine model with interleukin-1 $\beta$ . *Circulation*, **101**, 1319-1323.
- 4) Shimokawa, H. (2002) Rho-kinase as a novel therapeutic target in treatment of cardiovascular diseases. *J. Cardiovasc Pharmacol.*, **39**, 319-327. (Review)
- 5) Shimokawa, H., Takeshita, A. (2005) Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, **25**, 1767-1775. (Review)
- 6) Fukumoto, Y., Tawara, S., Shimokawa, H. (2007) Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension—Expectation for Rho-kinase inhibitors—. *Tohoku J. Exp. Med.*, **211**, 309-320. (Review)
- 7) Shimokawa, H., Rashid, M. (2007) Development of Rho-kinase inhibitors for cardiovascular medicine. *Trends Pharmacol Sci.*, **28**, 296-302. (Review)
- 8) Urakami-Harasawa, L., Shimokawa, H. et al. (1997) Importance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human arteries. *J. Clin. Invest.*, **100**, 2793-2799.
- 9) Shimokawa, H. (1999) Primary endothelial dysfunction: Atherosclerosis. *J. Mol. Cell Cardiol.*, **31**, 23-37. (Review)
- 10) Matoba, T., Shimokawa, H., et al. (2000) Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. *J. Clin. Invest.*, **106**, 1521-1530.
- 11) Morikawa, K., Shimokawa, H. et al. (2003) Pivotal role of Cu, Zn-SOD in endothelium-dependent hyperpolarization. *J. Clin. Invest.*, **112**, 1871-1879.
- 12) Shimokawa, H., Morikawa, K. (2005) Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans. *J. Mol. Cell Cardiol.*, **39**, 725-732. (Review)
- 13) Morishita, T., Tsutsui, M., Shimokawa, H. et al. (2005) Nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking all nitric oxide synthase isoforms. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 10616-10621.