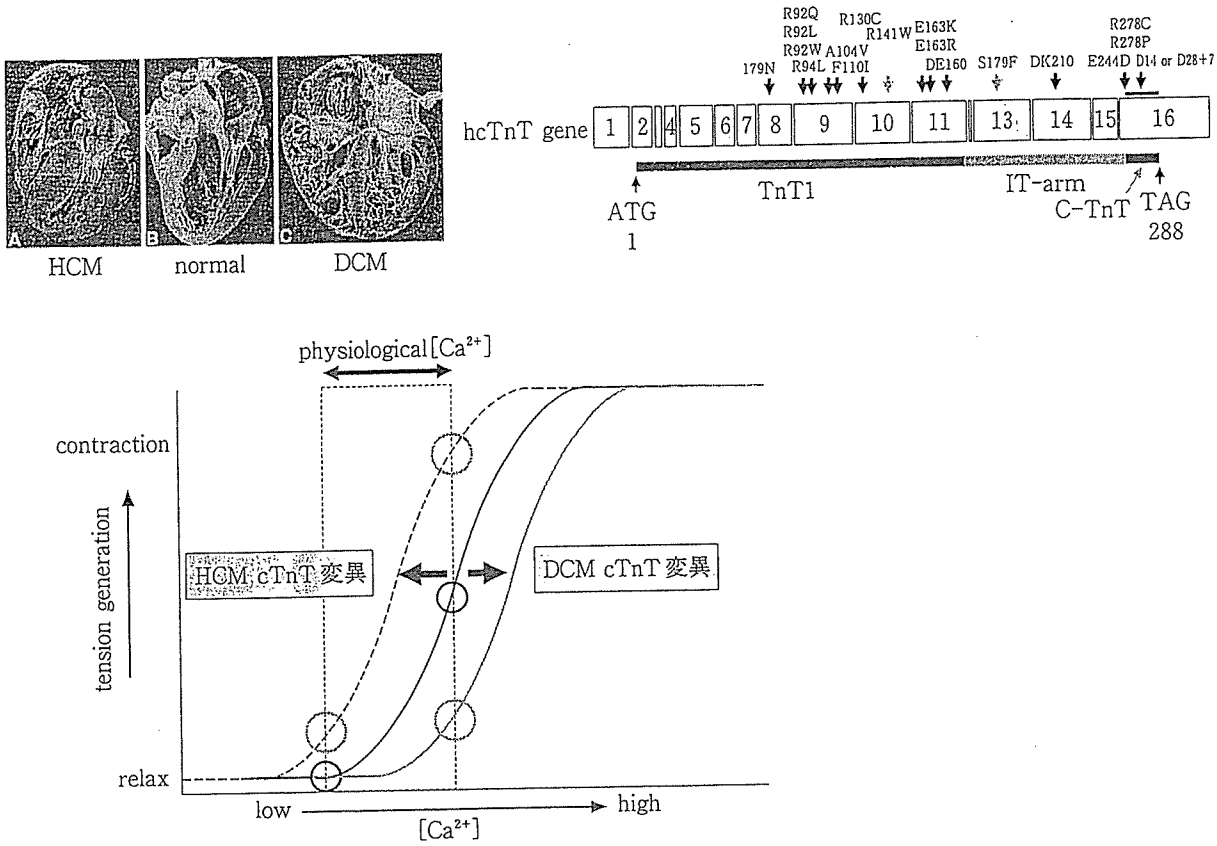

図4 心筋症におけるトロポニンの遺伝子変異と筋カルシウム感受性
心筋症の遺伝子変異はTnT1, C-TnTに多く, 筋カルシウム感受性を修飾する.

ルシウムセンシタイザーはphoshodiesteraseの阻害作用も併せてもっており, 細胞内cyclic-AMPの増加によって筋小胞体からのカルシウムイオン放出が増加し, ついにはカルシウムoverloadとなる可能性や[7], 構造が類似した他の蛋白と相互作用があるなど, 薬剤としての標的特異性が低いことが原因として考えられる. 拡張型心筋症例では, 少なくとも一部の症例でカルシウム感受性の低下と収縮不全の関連が示唆されている. これらの事実はTnCやTnTを特異的に制御する化合物の設計により, 新たな強心剤の開発の可能性を示している.

一方, 肥大型心筋症(HCM)ではトロポニンの遺伝子変異によりカルシウム感受性が亢進することが発病に関連する可能性が示唆されている. 同患者の遺伝子解析によると, 約15%の患者にTnTの遺伝子変異が認められる. 大槻らによれば[5]トロポニンがアクチン/トロポミオシンと直接接触する部分(TnT1, C-TnT, TnI調節領域)に変異が多く認められ, コアドメインには変異は少ないという(図4). 変異TnTの交換導入を行った心筋スキンドファイバーを用いた研究で, カルシウムイオン濃度-張力関係の左方シフト, すなわちカルシウム感受性の亢進が認められた. この結果からTnTの変異により, カルシウム感受性が亢進し, 収縮増加と弛緩不全という肥大型心筋症に特有の症状が発症するという有力な仮説が生まれる. TnTの変異によるカルシウム感受性亢進のメカニズムを原子構造で解明すると, 肥大型心筋症に特異的に作用する薬剤の設計を期待できる. 原因となる遺伝子変異ごとに構造が異なる薬剤設計が求められる可能性もある. 言い換えれば, 心筋トロポニンの変異に基づく肥大型心筋症の治療法の開発はテーラーメード医療のモデルケースとなる可能性がある.

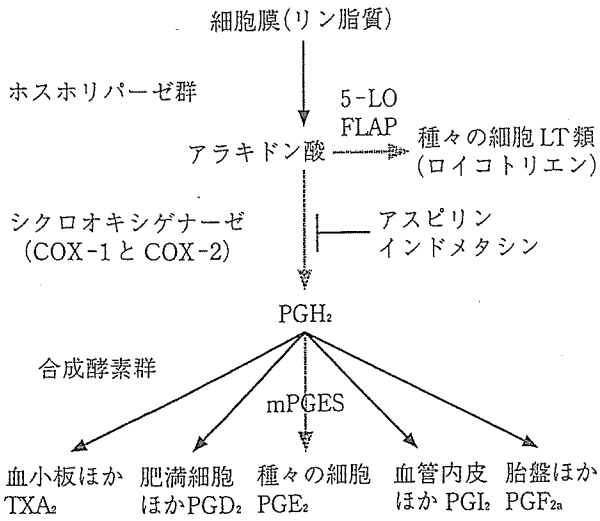

図5 プロスタグランジン産生系

3. 創薬の標的として注目されているプロスタグランジン合成酵素群の構造解析

シクロオキシゲナーゼ(COX)はプロスタグランジン(PG)を生合成する律速酵素として知られている(図5)2種類のアイソザイムが存在する．COX-1はconstitutive enzymeと呼ばれ，ほとんどの細胞で常時発現しており，生体の安定性を維持する役割を果たす．一方，COX-2はinducible enzymeとして，単球，線維芽細胞，滑膜細胞などの炎症にかかわる細胞で発現し，炎症性サイトカインなどによって誘導される．従来の非ステロイド系抗炎症剤は，COX-1とCOX-2の両方を阻害するために炎症巣のPGだけでなく，胃粘膜や腎でのPG(特にPGE_2)産生を抑制し胃や腎の副作用を合併する．そこで，炎症に深く関与していると考えられるCOX-2だけを選択的に阻害する薬剤の開発が進められてきた．このようにして開発されたCOX-2阻害薬は胃潰瘍を起こしにくい鎮痛剤として好んで投薬されていた．しかしながら，2004年末，米政府は，これらのCOX-2選択的阻害薬の3剤を心筋梗塞や脳梗塞の危険性を高める恐れがあるとして，心臓病患者への処方や多量の長期使用を避けるよう勧告した．COX-2の下流に位置するプロスタサイクリン合成酵素の作用も抑制するために，同酵素に由来する抗血栓性作用や血流増加作用が損なわれることが原因ではないかと考えられている[8]．図5に示したようにCOX-2の下流には多くの合成酵素があってそれぞれの作用を有する蛋白を合成している．個々の合成酵素を選択的に阻害する薬剤の開発が次世代の創薬の標的として注目される．PGE_2の産生にかかわるmPGESを阻害する薬物の開発は血管内血栓形成を伴わない理想的な抗炎症剤となる可能性がある．TXA_2産生を阻害する薬剤の開発は血管内血栓形成の予防，局所血流増加作用を通じて脳梗塞，心筋梗塞の予防薬や治療薬として期待できる．PGI_2は既に難病といわれた原発性肺高血圧症の治療に有効であることが知られている．PG関連薬剤の開発は構造に基づく創薬の最大の標的の一つになっており，ナノメディシンプロジェクトでも複数の関連酵素の構造解析に取り組んでいる．

4. ナノメディシンプロジェクトのそのほかの研究

本プロジェクトでは分子構造イメージングに関連して上記のほかに，細胞内イオン環境や，血管新生にかかわる蛋白など幾つかの蛋白構造についても研究を進めている(国立循環器病センター研究所)．国立精神神経センターではin-silicoスクリーニング法によるParkinson病の治療薬探索に蛋白構造情報を応用する研究を進めている．国立医薬品食品衛生研究所では原子間力顕微鏡を用いて蛋白表面の詳細な構造を解析することなどを通じて，医用材料作成に向けた応用研究に取り組んでいる．

一方，分子機能イメージングの領域では，国立循環器病センターの望月らが増殖因子(EGF)刺激に伴うRas分子の活性化をFRET法で可視化できることをNature誌に報告した[9]．ナノメディシンプロジェクト開始後も血管内皮の走化運動にかかわるRap1蛋白の可視化に関する研究などにFRET法による分子イメージングを展開している．国立精神神経センターの研究グループでは分子機能イメージング技術を応用してシナプス機能，プリオン蛋白質の機能の評価に

取り組み Proc Natl Acad Sci などの雑誌に研究成果を報告している[10].

おわりに

本ナノメディシンプロジェクトでは循環器治療の中核施設である国立循環器病センター内に構造生物学ラボを立ち上げ，分子特異的な治療薬の開発を目指している．ナノDDS技術や分子機能イメージング技術に関する研究を併せて推進することで，特異的分子治療薬の分子輸送技術開発と他の分子との相互作用の可視化技術を推進することが可能となる．これにより，分子診断・分子治療・分子評価を包含するテーラーメード医療の基盤形成に貢献したい．

謝辞　本原稿の執筆内容は本研究グループの成果を元にしております．国立循環器病センター研究所若林繁夫分子生理部長およびユーセフ・ベン・アマー同研究員，増田道隆循環器形態部室長，柴田洋之心臓生理部同室員，五十嵐智子同研究員，松原孝宜同研究員，大阪大学月原富武教授，理化学研究所宮野雅司主任研究員に感謝いたします．また，本原稿編集と英文作成に協力していただいた東本弘子女史，松尾千重女史に感謝します．

文献

1) Patick AK, et al: Activities of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) protease inhibitor nelfinavir mesylate in combination with reverse transcriptase and protease inhibitors against acute HIV-1 infection in vitro. Antimicrob Agents Chemother 41: 2159-2164, 1997.
2) Drucker BJ, et al: Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. Nat Med 2: 561-566, 1996.
3) Takeda S, et al: Structure of the core domain of human cardiac troponin in the Ca^{2+} saturated form. Nature 424: 35-41, 2003.
4) 前田雄一郎ほか：トロポニンの結晶構造とカルシウム調節のメカニズム．蛋白質 核酸 酵素 48: 500-512, 2003.
5) 大槻磐男：筋収縮カルシウム受容調節の分子機構と遺伝性機能障害．日薬理誌 118: 147-158, 2001.
6) Lee JA, et al: Effects of pimobendan, a novel inotropic agent on intracellular calcium and tension in isolated ferret ventricular muscle. Clin Sci 76: 609-618, 1989.
7) Nieminen MS, et al: Executive summary of the guidelines on the diagnosis and treatment of acute heart failure: The task force on acute heart failure of the European society of cardiology. Eur Heart J 26: 384-416, 2005.
8) Mukherjee D, et al: Risk of cardiovascular events associated with selective cox-2 inhibitors. JAMA 286: 954-959, 2001.
9) Mochizuki N, et al: Spatio-temporal images of growth-factor-induced activation of Ras and Rap1. Nature 411: 1065-1068, 2001.
10) Itami C, et al: Brain-derived neurotrophic factor-dependent unmasking of silent synapses in developing mouse barrel cortex. Proc Natl Acad Sci USA 100: 13069-13074, 2003.