

の評価を行う。

心筋虚血時においては、解糖による ATP 産生量は少ないが、細胞膜機能の維持に重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、心筋梗塞をきたすような高度虚血においては、脂肪酸の β 酸化と解糖系はともに障害され、ATP 産生が停止し、細胞内 ATP の枯渇、水素イオンや乳酸の蓄積によりカルシウムハンドリング異常や細胞内 pH 異常により心筋細胞は壊死する。心筋虚血時には、まず心筋代謝異常が生じ、続いて拡張障害、収縮障害、電気生理学的障害、そして胸痛、心筋壊死が出現する（虚血カスケード）。

このように心筋の収縮のみならず生存にとっても、好氣的条件下、つまり十分な酸素の供給が不可欠であるが、その酸素の供給の仕組みについて以下に述べる。

2. 冠循環調節機構

■冠循環の解剖

心筋に血液を供給する冠循環は、左右の冠動脈が心外膜側を走行しながら、直径 1mm 以下の小動脈となってほぼ直角に心筋層内に入り心筋内で分岐し小冠動脈となる。心筋内小冠動脈（直径 100 ~ 30 μ m）は筋性動脈であり、心外膜側の冠動脈と同様、内膜・中膜・外膜よりなる 3 層構造を示すが、内腔が小さいにもかかわらず血管壁は厚い。これは冠循環における高いずり応力（shear stress）に対する適応現象と考えられる。Laplace の法則より、肉厚であればあるほど内腔にかかる応力は小さくなるのが力学的に知られている。

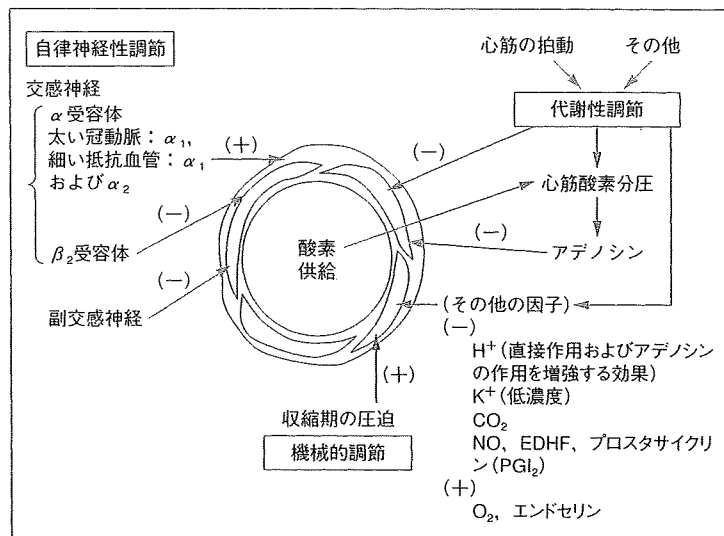
一方、心筋内小冠動脈では、内弾性板の幅は狭くなり末梢ではその連続性がなくなる。小冠動脈はさらに分岐してその太さを減じ、細冠動脈、毛細血管前細動脈（precapillary sphincter）に移行する。毛細血管前細動脈は直径 30 μ m 以下の細動脈であるが、不規則な数珠状を呈する内弾性板の外周に 1 層の平滑筋細胞からなる中膜が認められ、外膜はほとんど認められない。内皮細胞は短く厚い形態を呈し、血管内腔に突出する。中膜は

連続した 1 層の平滑筋細胞から構成され、その内外層は基底膜およびわずかな弾性線維と細胞間基質で覆われる。この部位では内皮細胞と平滑筋細胞は不連続な内弾性板を貫くように多数の細胞間橋を形成する。特記すべきことは内膜側の内皮細胞は敷石状に血管内腔と血管組織の間を分別することであり、冠血管系は他の血管系と異なり、この内皮細胞間結合が特に強いことである。このことは、内皮細胞の循環維持における重要性を示唆する。

一方、平滑筋層の外側は、線維細胞、線維芽細胞、神経組織が混在する膠原線維層で覆われる。終末細動脈（直径 20 ~ 10 μ m）では中膜は不連続となり、平滑筋細胞は島状に散在するようになり、さらに内皮細胞と基底膜とからなる直径 8 ~ 10 μ m の毛細血管（capillary）へと移行し終末血管床を形成する。毛細血管レベルになると血管壁は 1 ~ 3 個の内皮細胞で構成され、しばしば周皮細胞（pericyte）を伴う。このレベルでは、赤血球および白血球はその形態を変形させながら通過する。

正常な心臓には 1mm² 当たり 2,000 本以上の毛細血管が存在しており、そのうち約 7 割が機能している。1 本の心筋線維に対し、おおよそ 1 本の毛細血管が存在し、動脈血液中の酸素濃度が低下するような状態では、普段機能していない毛細血管も機能するようになり虚血に対応する。毛細血管から移行した直後の小静脈は内皮細胞のみから構成されるが、太さを増すに従い中膜の平滑筋層が認められるようになる。血管壁の構造は小動脈と基本的に同一であるが、静脈では平滑筋が貧弱かつ不規則に配列し、膠原線維などの支持組織が豊富である。小静脈は弾力性に富むため、心筋内血液のプーリングがその機能と考えられているが、毛細血管で少しでも好中球が活性化されると、この部分で活性化好中球が血管内皮細胞に粘着し微小循環障害（no-reflow 現象）の原因となる。その後、毛細血管後細静脈を経て、直径数 100 μ m 前後の細静脈から、大部分は冠静脈洞を経て右房に還流する。

[図2] 冠血流に影響を及ぼす因子
(+)：冠血管収縮，(-)：弛緩作用



冠循環の特徴と調節機構

冠循環の特徴は第1に、心臓は収縮・拡張を繰り返すため、エネルギー消費の最も大きな臓器であり、大量の血液供給を必要とする（安静時約1 ml/g/min）。さらに血液中からの酸素の引き抜き率も約75%（他の臓器は約25%）と高いことが知られている。しかし、他臓器への分配血液量の低下を防ぐために、必要最小限に抑えられている（心拍出量の約5%）ため、冠血流供給が制限されると心筋は容易に虚血に陥る。

第2に、心臓では収縮期に心内膜側に高い圧力がかかるため、その部分の心筋酸素消費が大きいにもかかわらず、冠微小循環は収縮期に圧迫され、十分な組織灌流が得られない。つまり、冠微小循環では心周期のうち拡張期の限られた時間にしか血液が流ることができない。このような状況下において冠動脈狭窄などで冠血流量が低下すると、心内膜側・心外膜側血流比は1.1～1.4より容易に0.7くらいまで低下し、心内膜側より虚血が生ずる。このため虚血性心疾患などにより冠血流量が低下すると、心内膜側より容易に虚血が生じる（wavefront 現象）。また、大動脈拡張期圧が低下するような状態（低血圧や大動脈弁閉鎖不全）などでは、冠灌流圧が低下し、冠血流量が減少する。

第3に、冠循環は脳循環とともに多少の灌流圧

の変動にかかわらず冠血流量を維持する自己調節能（autoregulation）を有する点で、他臓器とは異なった循環調節機構を有する。心臓カテーテル検査時の pressure wire 法による冠灌流圧の測定と PET による心筋血流量の同時評価によると、冠灌流圧が45 mmHg から125 mmHg の間で変化しても、autoregulation により、冠血流量は変化しない²⁾。安静時では、冠動脈の狭窄度が80%以上に進行すると冠血流量が低下しはじめる。冠微小血管トーンスは、主に平滑筋自体の特性にて制御されているが、神経・体液性因子の影響も受ける（図2）。健常心筋では、冠血流量は心筋酸素消費量と正相関してただちに变化する。

冠循環は種々の特性を有しているが、その性質は冠血管抵抗をつかさどる直径150 μm 未満の細動脈や心筋細胞と酸素やグルコースなどの物質を直接交換する直径数 μm の毛細血管に依存している。

冠血管トーンスの制御

冠血管トーンスは、神経性調節および体液・代謝性調節により制御されている。

a. 冠血管トーンスの神経性調節

冠動脈は全身の動脈の中で最も豊富に神経が分布し、precapillary レベルまで神経支配を受けて

おり、冠血流量の調節やスバズムに関連している。冠動脈は、交感神経系と副交感神経系の両者から豊富な支配を受けており、副交感神経は太い血管の外膜のみに分布し、運動性および知覚性の神経線維を含む。交感神経は無髄運動神経線維を有し、細動脈レベルに至るまで分布し、中膜平滑筋細胞に入り込む。

近位部の冠血管では α 交感神経刺激による血管収縮作用が優位である。太い冠動脈では α_1 受容体を介して血管が収縮し、抵抗血管では α_1 および α_2 受容体の双方を介して血管が収縮する。さらに遠位部の血管では、 α 作用が消失していく。 α_2 受容体刺激はそれに加えて内皮由来のNO産生を惹起するが、両者の総和としては血管収縮作用が現れる。一方、 β 受容体は血管拡張性に作用し、より細い冠動脈は β_2 受容体が支配し、近位の太い血管は β_1 受容体が支配しており、心筋の中間層に局在する³⁾。ノルアドレナリンによる β 受容体刺激は陽性変時作用（心拍数増加）や陽性変力作用（収縮力増強）による心筋代謝亢進を介した血管拡張とは無関係に冠血管を拡張させる⁴⁾。 α 交感神経受容体刺激による冠血管収縮作用の約70%は、太い冠動脈の収縮によるが、残りの30%は冠抵抗血管に起因することが示されており、冠抵抗血管は β 交感神経のみならず、 α 交感神経活性による制御も受けており、互いが拮抗して冠血流量を調節している。副交感神経刺激ではアセチルコリンの放出により内皮由来一酸化窒素 nitric oxide (NO) 産生を介して冠血管は拡張するが、中膜平滑筋の収縮作用も併せ持つ。冠血管内皮機能が正常な場合、総和として冠血管拡張性に作用するが、動脈硬化などにより内皮機能が障害されている場合は冠血管収縮性に作用する。この作用は、冠攣縮性狭心症発症に深く関連している。

古典的な神経伝達物質であるノルアドレナリンやアセチルコリンが神経終末の小胞の中に含有されていることはよく知られているが、最近、大型の小胞内にニューロペプチドYがノルアドレナリンとともに貯蔵されており、交感神経刺激が強くなるにつれてニューロペプチドYの相対的分

泌量が増加することが明らかになった。ニューロペプチドYは冠動脈周囲に高濃度に存在し、強力かつ長時間にわたり血管を収縮させ、冠動脈疾患において心筋虚血に関与することが報告されている⁵⁾。

b. 冠血管トーンズの体液・代謝性調節

冠血流量は心筋酸素需要に応じて供給されているため、心筋の代謝を鋭敏に反映する物質が冠血管トーンズを規定すると考えられる。心筋組織でのpH、 PO_2 などは心筋の代謝を鋭敏に反映し、pH、 PO_2 が低下すれば冠血流量が増加し、一方 PCO_2 は上昇すれば冠血流量が増加する。Mehmelらによれば、心筋酸素消費量が一定の条件下で冠動脈血のpHを7.65から7.26に変化させると、冠血流量が約1.5倍増加する。心筋虚血時に産生される水素イオン(H^+)は直接冠血管を拡張させることで冠血流量を増加させる。さらに、 H^+ はアデノシンの冠血管拡張作用を増強させる働きも有する。また、カリウムイオン(K^+)は冠血管を拡張させるが、高濃度では逆に冠血管を収縮させる。

細胞外 K^+ が高濃度の状態では、細胞膜が脱分極して Ca^{2+} チャネルの開口率が増加するため、冠血管が収縮する。しかし K^+ はすぐに心筋細胞内に取り込まれ、冠血管平滑筋近傍での K^+ 濃度が低下するため、 K^+ が冠血流量の体液性調節に大きく関与しているとは考えにくい。これらの因子による代謝性血管拡張は30 μ m以下の細動脈で起こる⁶⁾。これに対し、ATPの代謝産物であるアデノシンは、冠血流量の制御に重要な役割を果たしている。アデノシンは心筋細胞のみならず冠血管平滑筋や血管内皮細胞でも産生される。

アデノシン産生には5'-nucleotidaseを介する経路とS-アデノシルホモシステイン S-adenosylhomocysteine (SAH) からSAHヒドロラーゼ SAH-hydrolase を介する経路が存在する(図3)。非虚血下ではSAHヒドロラーゼを介したアデノシン産生系が重要であるが、虚血下のアデノシン産生は増加するAMPにより5'-nucleotidaseが主体となる。5'-nucleotidaseは細胞内(cytoso-

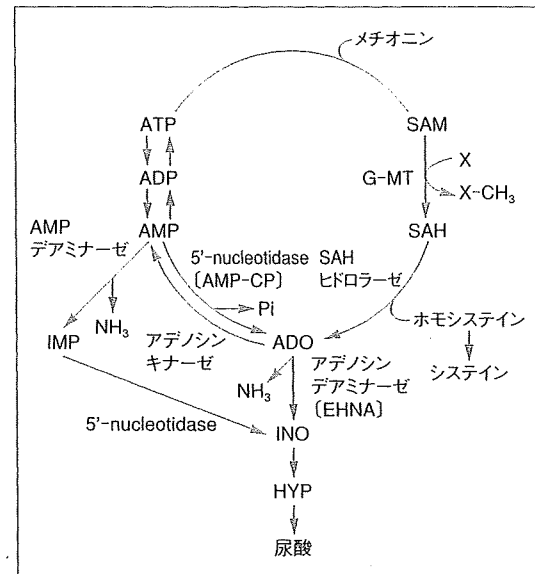
lic) および膜上 (ecto-) の両者に存在するが, ecto-5'-nucleotidase のほうが AMP に対する親和性が高いため, アデノシン産生に重要である. アデノシンはプリン受容体に作用する.

プリン受容体には, アデノシンに感受性のある P_1 受容体と ATP に感受性のある P_2 受容体がある. P_1 受容体はさらに心筋に存在する A_1 受容体と冠血管平滑筋に存在する A_2 受容体に分類される. A_1 受容体は, サイクリック AMP (cAMP) の合成を阻害し, 心筋収縮を抑制するのに対し, A_2 受容体は, cAMP の合成を促進し, 冠血管を拡張させるほか, アデノシンは容易に細胞膜を通過し, 細胞外に出てそれぞれの受容体に結合し, さまざまな心血管保護作用を惹起する (表 1).

アデノシンは主に直径 $50 \mu\text{m}$ 以下の最も小さな冠微小血管に作用して冠血管抵抗を低下させる. また, アデノシンは心筋酸素需要増大や心筋虚血の程度に応じて, 反応性に冠血流量を増加させるのに十分な量が遊出され, 冠血管に対して耐性が生じにくい. さらにアデノシンは血管内皮細胞から NO の分泌を促進し, また ATP 感受性 K^+ チャンネル (K_{ATP}) チャンネルを介して血管を拡張する作用を有する⁷⁾.

これらのことからアデノシンは冠血流量の体液・代謝性調節の主役の一つではないかと考えられている. さらに冠動脈酸素含有量低下によりアデノシンが遊出してくることや, pH 低下によりアデノシンの冠血管拡張作用が増強することから, O_2 や pH による冠血流調節もアデノシンを介している可能性がある. テオフィリンによってアデノシン受容体を遮断すると, 反応性充血は 40 ~ 100 % 抑制されることから, アデノシンが反応性充血に関与している⁸⁾ と報告されている一方で, アデノシン分解酵素やアデノシン受容体遮断薬にて心筋虚血後の反応性充血が十分に抑制されないことや, 運動時の冠血流量増加が抑制されないとする報告もあるため, さらなる検討が必要である.

一方, 心筋虚血や低酸素により細胞内 ATP レベルが低下するが, この ATP レベル低下に呼応して K_{ATP} チャンネルが開く⁹⁾. 通常の細胞内

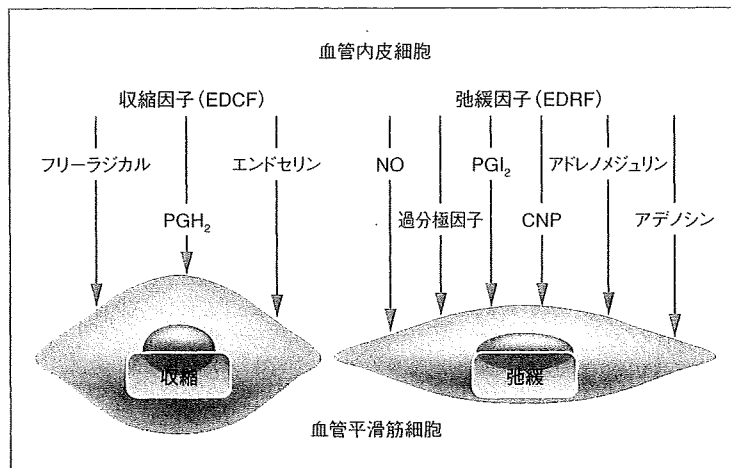


【図3】アデノシン代謝経路

【表1】アデノシンと NO の心血管作用

	アデノシン	NO
冠血管	弛緩	弛緩
心筋	β 刺激を抑制	陰性変力作用
交感神経	ノルエピネフリン↓	ノルエピネフリン↓
血小板	凝集抑制	凝集抑制
好中球	A_1 : 遊走促進 A_2 : O_2^- 産生抑制	O_2^- 産生抑制
レニン-アンジオテンシン系	レニン産生抑制	レニン産生抑制
サイトカイン系	産生抑制	(-)
血管平滑筋増殖	抑制	抑制
血管内皮増殖	促進	?

ATP レベルは 3 ~ 5mM であるが, K_{ATP} チャンネルは細胞内 ATP レベルが 0.2mM 以下になると開口する. しかし実際はアシドーシスや Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ による影響を受けるため, 虚血心筋においては軽度の ATP レベルの低下でも K_{ATP} チャンネルが開く. K_{ATP} チャンネルが開くと血管内皮内外での電気的・化学的勾配により Ca^{2+} 流入が増加し, 血管内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) が活性化されて NO 産生量を増加させることが知られている. 冠血流量を低下させると直径 $100 \mu\text{m}$ 以下の冠微小血管が拡張するが, その作用は K_{ATP}



【図4】内皮由来血管作動物質

チャンネル遮断薬であるグリベンクラミドにて抑制される。

NOは血流の存在する血管壁のshear stressにより内皮から恒常的に産生される。また、アセチルコリン、ヒスタミン、ブラジキニン、血小板(セロトニン、ADP)などが血管内皮細胞の受容体に結合することにより、 Ca^{2+} の流入をもたらし、血管内皮細胞に局在するeNOSを活性化して、アルギニンからNOを継続的に産生する。産生されたNOは組織のsuperoxideや赤血球のoxyhemoglobinによって代謝されるため半減期は非常に短く数秒かそれ以下で測定されるフリーラジカルであるため下流での活性はなく、産生される部位やその近傍で局所的に働く。

産生されたNOはただちに血管平滑筋に取り込まれ、可溶性グアニル酸シクラーゼの活性化によりサイクリックGMP(cGMP)が産生され、cGMP依存性蛋白質リン酸化酵素の活性化を介して血管平滑筋を弛緩させるなど、アデノシンと同様にさまざまな心血管保護作用を惹起する(表1)。血流依存性の血管拡張反応はNOによるものと考えられるが、これは比較的細い小動脈(100~150 μ m)を主に拡張させる。心筋代謝亢進に伴う冠血流増加は、NO合成酵素阻害薬であるL-NMMA投与により抑制されることが示されている¹⁰⁾。ところが一方では、NOはフリーラジカル

の一種として細胞障害性に作用しうるとともに、NOが O_2^- と作用するとONOO⁻が生成され、さらに強い細胞障害を招く可能性があり、心血管保護という観点からみると、全く異なるベクトルを有する内因性生理活性物質であるといえよう。しかし心血管系においては大量に O_2^- が産生される状況は少ないため、NOは一般的に善玉として働く。再灌流障害で産生される O_2^- でさえ、細菌感染や敗血症で大量の O_2^- が産生される時ONOO⁻が生成されるのと比較すると少量である。

これらアデノシン、 K_{ATP} チャンネル開口およびNOの三者が協調的に冠血流量調節に働いている¹¹⁾。その他、内皮由来過分極因子endothelium-derived hyperpolarizing factor(EDHF)は血管平滑筋の細胞膜の Ca^{2+} 活性化型 K^+ チャンネルを開口させることにより過分極を惹起することで血管を弛緩させる。

EDHFは導管血管よりも主に直径が100 μ m以下の抵抗血管においてより血管拡張作用が強く、産生刺激因子としてはアセチルコリン、ブラジキニン、サブスタンスP、shear stressなどNO産生刺激因子の多くと共通しており、NO産生が阻害されると代償性にその役割が大きくなる。EDHFは不明の点が多いが、アラキドン酸のcytochrome P450(CYP)依存性の代謝産物であるepoxide 11,12-epoxy-eicosatrienoic acid¹²⁾、

K⁺イオン¹³⁾, H₂O₂¹⁴⁾などがその本体の一つではないかと考えられている。

血管内皮の cyclooxygenase を介して産生されるプロスタサイクリン (PGI₂) は血管平滑筋細胞の cAMP を介して, C 型ナトリウム利尿ペプチドは cGMP を介してそれぞれ血管を弛緩させることでトーン調節に関与している。一方, 血管内皮細胞はエンドセリン endothelin (ET) を産生放出して, 血管平滑筋に作用し血管を収縮させる。ET には ET-1, ET-2, ET-3 の 3 種類のアイソフォームが存在する。そのうち内皮細胞が産生するのは, ET-1 のみである。ET-1 による血管収縮反応は緩徐であり, 作用時間も数分から数時間と長いのが特徴である。ET-1 の受容体には ET_A と ET_B の 2 種類のサブタイプが存在する。ET_A は血管平滑筋に存在し, 血管を収縮させ, ET_B は内皮細胞および平滑筋細胞に存在し, 内皮細胞を介して血管を拡張させるが, 平滑筋細胞を介して血管を収縮させる。このように冠血管内皮細胞は血流由来の諸因子のシグナルを感知するとともに, 種々の血管作動物質を放出して冠血管のトーン調節する能力を有する (図 4)。

文献

- 1) Egert, S et al : Effects of wortmannin on insulin- and ischemia-induced stimulation of GLUT4 translocation and FDG uptake in perfused rat hearts. *Cardiovasc Res* 1997 ; 35 : 283-293
- 2) Pijls, NHJ et al : *Coronary Pressure*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1997, 12-13
- 3) Amenta, F et al : Autoradiographic localization of beta-adrenergic receptors in human large coronary

- arteries. *Circ Res* 1991 ; 68 : 1591-1599
- 4) Miyashiro, JK et al : Feedforward control of coronary blood flow via coronary beta-receptor stimulation. *Circ Res* 1993 ; 73 : 252-263
- 5) Gullestad, L et al : Postexercise ischemia is associated with increased neuropeptide Y in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000 ; 102 : 987-993
- 6) Chilian, WM : Coronary microcirculation in health and disease. Summary of an NHLBI workshop. *Circulation* 1997 ; 95 : 522-528
- 7) Hein, TW et al : cAMP-independent dilation of coronary arterioles to adenosine : role of nitric oxide, G proteins, and K (ATP) channels. *Circ Res* 1999 ; 85 : 634-642
- 8) Wilson, RF et al : Effects of adenosine on human coronary arterial circulation. *Circulation* 1990 ; 82 : 1595-1606
- 9) Daut, J et al : Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science* 1990 ; 247 : 1341-1344
- 10) Meredith, IT et al : Posts ischemic vasodilation in human forearm is dependent on endothelium-derived nitric oxide. *Am J Physiol* 1996 ; 270 : H1435-H1440
- 11) Kuo, L et al : Adenosine potentiates flow-induced dilation of coronary arterioles by activating KATP channels in endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1995 ; 269 : H541-H549
- 12) Node, K et al : Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science* 1999 ; 285 : 1276-1279
- 13) Edwards, G et al : K⁺ is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries. *Nature* 1998 ; 396 : 269-272
- 14) Matoba, T et al : Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. *J Clin Invest* 2000 ; 106 : 1521-1530

(浅沼博司・北風政史)

心筋疾患

北風政史

外来診療でのコツとピットフォール

- 拡張型心筋症は、年齢に関係なく発症するが、20～60歳に多く、男女比は2.6:1と男性に多い。
- 拡張型心筋症に対するβ遮断薬治療については、導入時に心不全を増悪する危険性があるため、専門医の下で入院での導入が必要である。
- 肥大型心筋症は、心室頻拍などによる突然死の問題があるため、リスクの高い患者においては定期的な経過観察・加療が必要である。

心筋疾患は、図1に示すように分類されている。心筋炎に関しては、別項があるため、そちらを参照していただきたい。本項においては、拡張型心筋症と肥大型心筋症について概説する。

拡張型心筋症

考慮点、診断

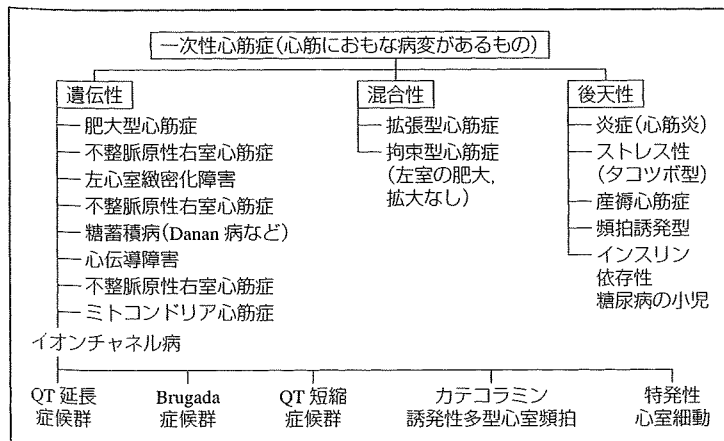


図1 AHA/ACCによる心筋疾患の新しい分類(2006)

拡張型心筋症(dilated cardiomyopathy; DCM)は、おもに左室、時に両心室のびまん性の収縮性低下と心室内腔の拡大を特徴とする疾患群である。慢性心不全の病態を呈し、進行性の場合が多く、予後不良な疾患群である。症状は、呼吸困難、全身倦怠感、浮腫などの心不全によるものが病状の進行とともに出現する。聴診上は、III音、IV音による奔馬調律を認め、病状の進行とともに、僧帽弁閉鎖不全による汎収縮期逆流雑音、肺うっ血による湿性ラ音が聴取されるようになる。血液検査では、脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)値が高値を示す。DCMの診断においては、心臓超音波検査が有用であり、左心室拡張末期径の拡大およびびまん性の壁運動低下が特徴的所見である。また、冠動脈造影による冠(動脈)疾患の有無および心内膜下心筋生検による心サルコイドーシス、心アミロイドーシスなどの特定心筋疾患の除外診断を行う。

重症度の評価

DCM患者の重症度評価には、心不全症状によるNYHA分類が用いられる。体重の増加と血中BNP濃度測定は、心不全の進展を判定するうえにおいて有用である。また心臓超音波検査所見において、左室拡大の程度、左室収縮能、弁逆流の程度などにより重症度を判断する。

治療

DCMの治療は、重症度に応じた様々な治療法がある。薬物療法としては、利尿薬、ACE(アンジオテンシン変換

IV

心血管疾患の診療ブラッシュアップ

酵素)阻害薬, β 遮断薬, 血管拡張薬などが施行される。特に β 遮断薬の有効性は, 多くの臨床試験から証明されているが, β 遮断薬の投与に関しては, ごく少量から開始し, 心不全の進展(心不全症状, 胸部X線での心拡大所見, 体重増加など)を確認しながら増量する必要がある。薬物療法抵抗性の場合, 両室ペーシング(CRT/CRT-D)による心臓再同期療法, 補助人工心臓(VAS), などを検討し, 最終的には心臓移植の適応を考慮する。

目標

DCMは5年生存率が50~70%の予後不良の疾患であり, 心不全の進展を注意深くチェックしながら, 日常生活の管理, 薬物療法のコントロールなどを行う。薬物療法で管理がむずかしくなった場合には, 両室ペーシングや外科療法などの適応を考え, さらに早めに心臓移植の適応も考慮する。

病診連携のコツ

DCMが疑われる場合には, 特定心筋疾患の除外診断や入院による β 遮断薬の導入などが望まれるため, 早期に専門医への紹介が必要となる。長期療養が必要となるので, 患者・家族との信頼関係を保つ。

肥大型心筋症

考慮点, 診断

肥大型心筋症(hypertrophic cardiomyopathy; HCM)は, 高血圧, 大動脈弁狭窄などの心肥大をきたす要因がなく, 左室もしくは右室心筋の不均一な心肥大をきたす疾患である。左室基部の肥大により左室流出路狭窄が生じる場合, 閉塞性肥大型心筋症(hypertrophic obstructive cardiomyopathy; HOCM)とよばれる。また, わが国に比較的多いとされる心尖部だけに肥大を認める場合, 心尖部肥大型心筋症とよばれる。常染色体優性遺伝をとる家族内発症症例が約半数に認められ, 心筋 β ミ

オシン重鎖などの心筋構造蛋白をコードする遺伝子の様々な変異によって生じる。

HCM患者は無症状であることが多く, 心電図異常で紹介されることも多い。症状としては, 呼吸困難, 易疲労感, 胸痛, 胸部圧迫感, 失神などを呈することがある。心臓超音波検査は, 心室中隔の非対称性肥大(ASH)が特徴的な所見であるが, 心肥大の部位は前壁, 側壁, 心尖部などの場合もある。鑑別診断などが必要な場合には, 心臓カテーテル検査, 心内膜下心筋生検, 核医学検査などを行う。

重症度の評価

重症度は, 心不全症状, 狭心症症状, 不整脈の出現程度などで総合的に判断する。肥大型心筋症のなかに, 時間の経過とともに心室壁の菲薄化が出現する場合があります。拡張相肥大型心筋症とよばれる。

治療

治療に関しては, 突然死の予防, 心不全治療, 不整脈治療が基本となり, β 遮断薬もしくはカルシウム拮抗薬投与が有効とされる。不整脈を有する場合には, ジソピラミドやIII群薬アミオダロンが用いられることが多い。閉塞型と非閉塞型でも治療が異なり, 閉塞型の場合は, 陰性変力作用を有する薬物が第一選択となる。また, 閉塞型の場合に, 薬物療法で症状を軽減できないときに, DDDペーシング, 経皮的中隔枝塞栓術, 心筋切除術などを検討する。

目標

HCM患者の予後は, DCM患者と比べると比較的良好である。死因としては突然死が多く, 若年者, 突然死を有する家族歴, 心室頻拍を認めた症例などにおいては, より慎重に管理が必要である。また, 拡張相に移行する症例があり, 定期的なフォローは必要である。

病診連携のコツ

健康診断などにおいて, 上述した心電図異常などが認められ, HCMが疑われた場合には, 専門医に紹介することが望ましい。

バイオナノカプセル

1. 背景

生命科学の進歩に伴い、従来では考えられなかったタイプの医薬品が開発されている。具体的には、1980年代に花開いた遺伝子工学による遺伝子組換えタンパク質製剤(生物製剤)、1990年代に著しく進んだ分子細胞生物学の成果による抗がん剤や遺伝子治療薬、2000年代にすさまじい勢いで普及したRNA医薬に代表される核酸医薬などがある。これらの医薬品は、細胞レベル(*in vitro*)で著効を示すことから、今まで治療困難であった各種疾患を画期的に治療できるものとして大きな期待が寄せられている。しかしながら、これらは基本的に全身投与であるために、患部において十分な薬剤濃度が得られなかったり、患部以外で予期せぬ副作用が起きたりして、医療現場での普及が妨げられている。その好例として、登場から20年以上が経過しながらも医療現場に普及していない生物製剤が挙げられる。そこで、これらの画期的医薬品を生かすために、生体内の「必要な部位」へ「必要なとき」に「必要な量」の医薬品を送達するDDS(drug delivery system; 薬剤送達技術)の研究開発が国内外で活発に行われている。

2. DDS 技術の現状

現在のDDS開発の主流は、リン脂質を用いるリポソームとブロックコポリマーを用いる高分子ミセルである。これらの多くは直径100 nm前後のナノ粒子であり、腫瘍内血管内皮細胞の細胞間隙が30 nm以上で通常組織は100 nm未満であること:利用したEPR効果(enhanced permeation and retention)による受動的標的化(passive targeting)で腫瘍部位に集積する。実際、この原理に基づく抗がん

剤を包含したりポソームおよび高分子ミセルは、抗がん剤特有の副作用を抑えることができるので、現在日米欧で臨床試験もしくは上市されている。しかしながら、DDSの真骨頂であるさまざまな部位に送達させる積極的標的化(active targeting)を達成したものはきわめて少ない。また、リポソームと高分子ミセルの多くはエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれるので、包含されている医薬品が細胞内分解系に關与するエンドソームに送り込まれ、細胞内で有効に機能しない可能性が高い。そこで、「積極的標的化」および「細胞質内送達」が達成された新しいDDSの開発が待たれている。一方、最近では遺伝子治療薬および核酸医薬のDDSを限定的にGDS(gene delivery system; 遺伝子送達技術)と称している。現在のGDS開発は、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、アデノウイルスなどを用いるウイルスベクター系と、カチオン性リポソーム、カチオン性ポリマーなどを用いる非ウイルスベクター系の開発が主流である。前者は広範囲の細胞に高い感染性を示すが、積極的標的化を付与することは困難である。また、ウイルスゲノムが少なからず混入するので宿主ゲノムの攪乱が懸念され、ウイルス自身の高い免疫原性が宿主免疫系を刺激することが多い。一方、後者は抗原性の低い化学合成品であり宿主免疫系への影響は少ないが、感染性は細胞側の物質取り込み機構に依存するために低い。最近では細胞膜透過性を有する塩基性アミノ酸クラスターを付加する高感染性の非ウイルスベクター系が開発されているが、積極的標的化は達成されていない。そこで、「ウイルスゲノムフリー」、「積極的標的化」、「高感染性」が達成された新しいGDSの開発が待たれている。

以上のような状況からわれわれは、B型肝炎ウイルス(hepatitis B virus; HBV)表面抗原(HBV surface antigen; HBsAg)がHBVを生体内で肝臓特異的に送達させ肝細胞特異的に感染する作用を有すること、同抗原は出芽酵母でナノサイズのカプセルとし

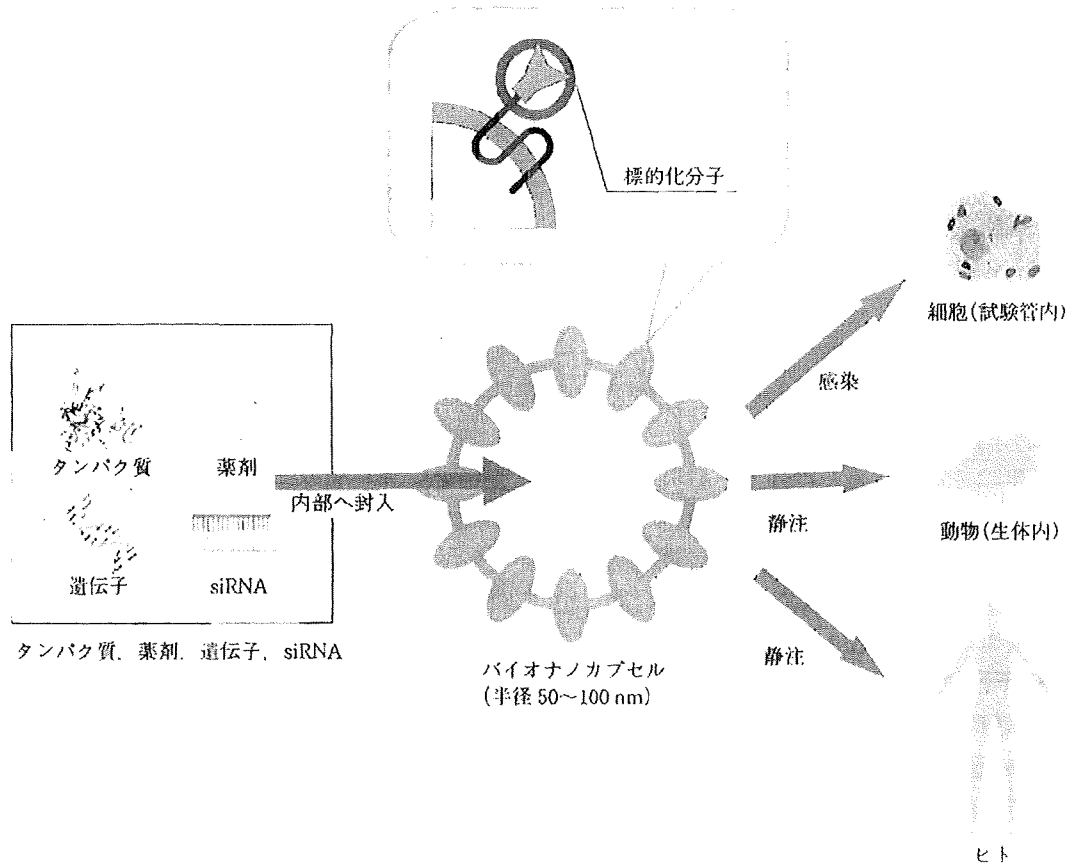


図1 バイオナノカプセル(BNC)のコンセプト図

BNCは平均直径70 nmの中空状ナノ粒子である。リポソームと同じ脂質二重膜にB型肝炎ウイルス表面抗原Lタンパク質(半径約40 nm)が多数膜局在している。BNC内部にタンパク質、遺伝子、薬剤、siRNAなどを導入し、静脈注射した後、BNC外周に局在している標的化分子(生体認識分子)の作用で生体内の目的臓器および目的細胞に到達し、導入物が効果を発揮する

て発現可能なこと¹⁾、同カプセルはすでにB型肝炎ワクチンとして臨床応用されていることから²⁾、同カプセル内部に薬剤や遺伝子を封入できるのであれば、上記要求を満たす「生体内ピンポイントDDSおよびGDSキャリア」として応用可能であると考えた(図1)。

3. バイオナノカプセルの概念

バイオナノカプセル(bio-nanocapsule ; BNC)はわれわれが考案した造語であり、広義では「生物工学的に作製したナノサイズのカプセル」を意味する。具体的には、(1)タンパク質のみから構成されるナノカプセル、(2)全重量の過半数がリン脂質で、膜タンパク質が十分な間隙を保ちながらリポソームに埋め込まれているナノカプセル、(3)全重量の10%

程度がリン脂質で、膜タンパク質が相互作用を司るようにリポソームに高密度に埋め込まれているナノカプセルに大別される。(1)のBNCとして、自己複製能力を有するウイルスカプシドタンパク質(例:HBVコア抗原粒子)が該当する。これらは一種のBNCと比べて物理的に強固である一方、リン脂質を構成要素とすることは容易でなく、物質封入に困難である。次に、(2)のBNCとして、強力な膜融合活性を示すセンダイウイルスのエンベロープタンパク質(例:膜融合タンパク質)が例として挙げられる。リン脂質含有量(重量比)は50%以上でリポソームと似た物性を示す。膜タンパク質(F.M.HN)が埋め込まれている。これは、自由にサイズを変化させて、さまざまな薬剤や遺伝子をBNC内部に取り込むことが可能であるが、物理的安定性は高くない。さらに、センダイウイルスは「高感染性」であるが広範な細胞感染能力を有する。そのため「積極的標的化」は困難で、「ウイルスキャリア」でもなく、生体内では強烈な免疫応答を惹起する

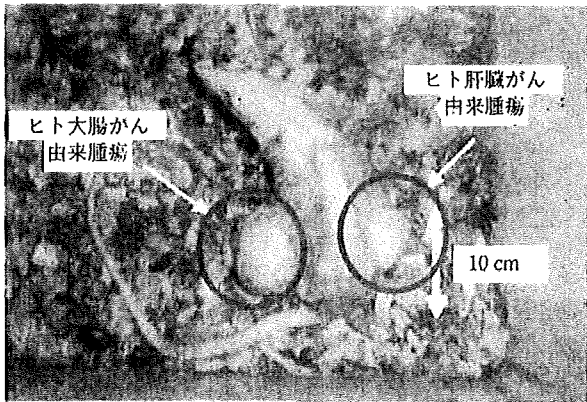


図2 担がんモデル動物(口絵②巻頭)
ヌードラットの右部背部皮下にヒト肝臓がん(NuE)由来組織、左部背部皮下にヒト大腸がん(WiDr)由来組織が移植してある

することから、新規キャリアとして不適格と考えられる。最後に、(3)のBNCとしては、HBV表面抗原Lタンパク質(N末端側から108アミノ酸残基のpre-S1領域、55アミノ酸残基のpre-S2領域、226アミノ酸残基の3回膜貫通ドメインを有するS領域)からなるLタンパク質粒子がある。このBNCは、タンパク質約80%、糖鎖約10%、リン脂質約10%という構成で、物理的安定性はきわめて高く、界面活性剤処理や熱処理にも安定である³⁾。さらに、リボソームと同様な性質も有しているため、封入する薬剤や遺伝子にあわせてサイズを変化させることもできる(20~1,000 nm、平均サイズは70 nm)。つまり、HBsAg L粒子は、物理的安定性が高く物質封入にも適して新規キャリアとして最適であると考えられる。そこで、本稿では「BNC=HBsAg L粒子(狭義のBNC)」として論ずる。

4. HBsAg L粒子を用いるBNC技術

HBsAg Lタンパク質を真核細胞で発現させると小胞体膜上にS領域の作用で膜タンパク質として蓄積し、小胞体膜を取り込みつつ自己凝集して、ルーメン側に出芽形式でウイルスゲノムフリーな直径70 nmの中空状ナノ粒子(図1)として放出される¹⁾。われわれは製造コストの観点から全可溶性タンパク質の40%以上がLタンパク質となる出芽酵母を用いている³⁾。BNC(L粒子)は高い熱安定性を有しているため、酵母菌体破砕液を70℃、30分間で熱処

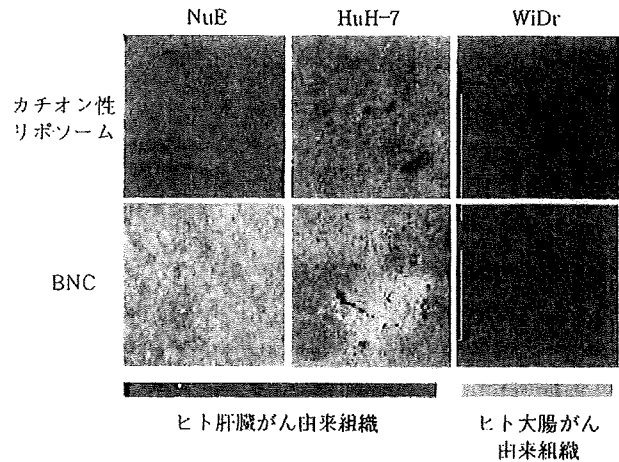


図3 担がんモデル動物における遺伝子発現(口絵③参照)

ヌードラットのXenograftモデル(図2と同じ)にBNCにGFP発現遺伝子を封入したものを尾静脈から注射し、4日後に樹脂包埋した後、蛍光を観察した

理することより迅速に高純度BNCが得られる(鄭ら、論文投稿中)。BNCの外周はHBV表層ときわめて類似しており、HBVを生体内で肝臓特異的に送達させ肝細胞特異的に感染させるpre-S1領域⁴⁾が提示されている。2003年、われわれはBNCにエレクトロポレーション処理を行うと瞬間的に脂質層に孔が開き、外部からの物質導入が行えることを見いだした⁵⁾。具体的には、蛍光色素カルセインおよび緑色蛍光タンパク質(green fluorescent protein; GFP)発現プラスミドをBNC内部に導入し、各種培養細胞に添加すると、ヒト肝臓由来細胞内部にウイルス並みの高効率で物質送達できることを見いだした。また、ヒト肝臓がんおよびヒト大腸がん由来組織を同時に背部皮下に有する担がんマウスモデル(Xenograft)(図2)の尾静脈に投与すると、ヒト肝臓がん由来組織にのみカルセインおよびGFP由来の蛍光が観察された(図3)。これらの結果は、遺伝子組換え型B型肝炎ワクチンの抗原として臨床応用されてきたHBsAg粒子が、DDSおよびGDS用の新規キャリアとして大きな可能性を秘めていることを示している。次に、BNC内部にヒト由来血液凝固第9因子遺伝子の発現ベクターを封入し、同マウスモデルに静脈内投与したところ、中等度血友病Bの治療可能なレベルの第9因子が長期間にわたり血液中に放出されていた⁶⁾。さらに、BNC内部に単純ヘルペスウイルス由来チミジンキナーゼ(HSV-tk)遺伝子の発現ベクターを封入し、同マウスモデ

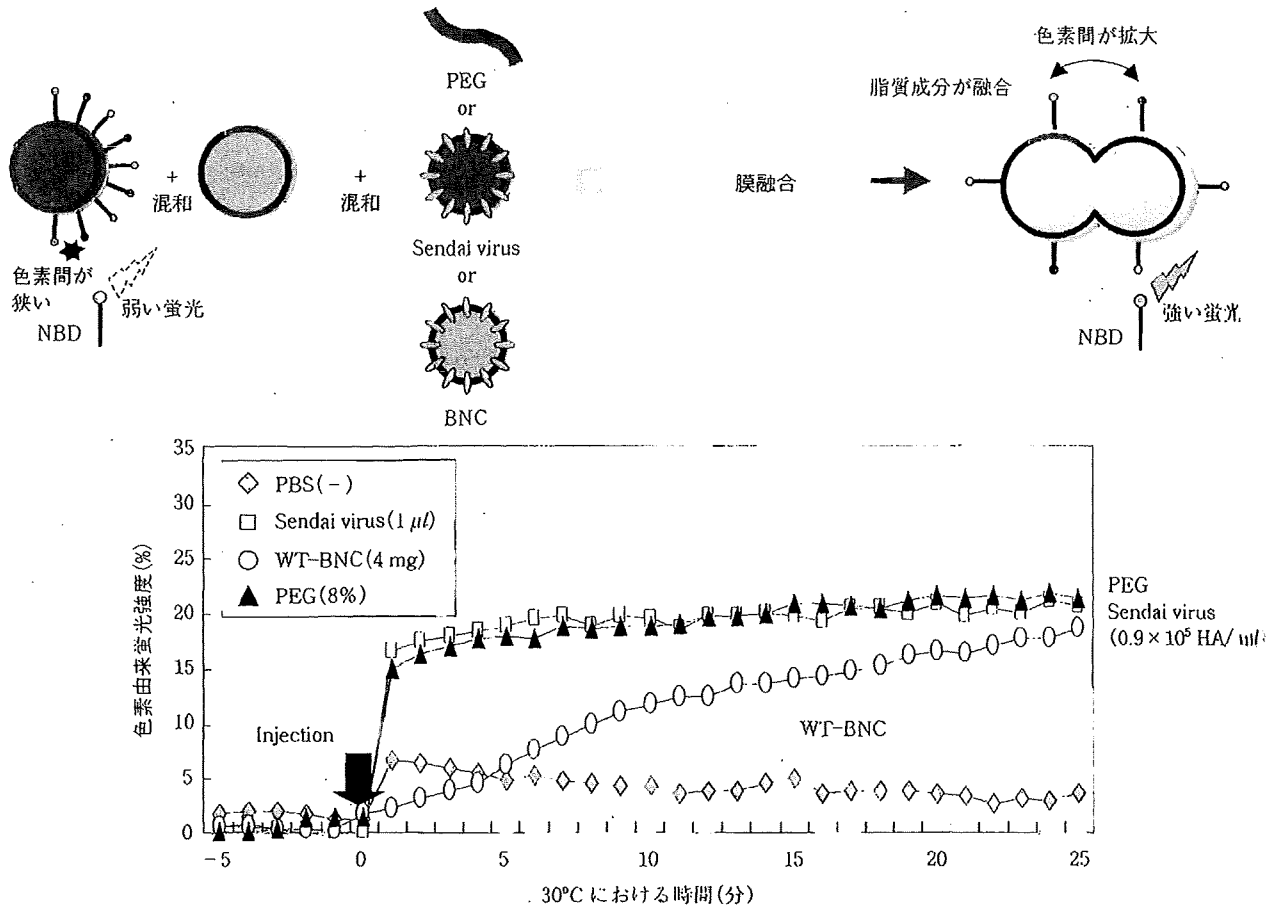


図4 lipid mixing assay による BNC の膜融合活性の同定

ルに静脈内投与した後、背部皮下の浸透圧ポンプから HSV-tk 阻害剤であるガンシクロビルを徐放させるとヒト肝臓がん由来組織のみが縮小した⁶⁾。以上の結果は、HBsAg 粒子は「ウイルスゲノムフリー」、「積極的標的化」、「高感染性」の特長を兼ね備える生体内で使用可能な新規キャリアであることが判明した。

5. BNC の内在性膜透過活性

リポソームや高分子ミセルは、エンドサイトーシスにより受動的に細胞に取り込まれて、エンドソームから低効率で細胞質に抜け出して(エンドソームエスケープ)、内包する薬剤や遺伝子を細胞質内に届ける。このプロセスは細胞内物質輸送の中でも比較的遅いので、次世代の DDS および GDS キャリアは直接細胞質に取り込まれるような機構を備える

ことが必要である。最近、非ウイルス性ベクターとして、リポソーム表層に細胞膜透過ペプチドを担持させて細胞質内への取り込みを著しく上昇させた報告がある⁷⁾。そこで、われわれは BNC の高感染性を担う機構を解明するために lipid mixing assay を行った。具体的には、2種類の蛍光色素でリポソームを標識して FRET 現象 (fluorescence resonance energy transfer) により 530 nm の蛍光を減弱させる条件下で、BNC を加えることによりリポソーム脂質層が攪乱されて FRET 現象が緩和されない (530 nm の蛍光が生じる) か検討した (図 4)。その結果、BNC はセンダイウイルスや PEG (ポリエチレングリコール) の陽性対照と同様な脂質膜融合活性を有することが判明した (松崎ら、投稿中)。これは、BNC は内在性細胞膜透過ペプチドを有することと、BNC の脂質層が細胞表層における細胞膜 (もしくはエンドソーム膜) と相互作用することを暗示している。つまり、BNC 内部の薬剤や遺伝子は細胞質内に直接送達されている可能性が高く

BNCはDDSおよびGDSの新規キャリアとして好適であると考えられた。

6. 改変型 BNC による再標的化技術

生体内における DDS および GDS の標的部位は肝臓だけではない。そこで、BNC のヒト肝臓特異性を担う pre-S1 領域(とくに N 末端側半分)をさまざまな生体認識分子と交換して、BNC の生体内での再標的化(retargeting)をいくつか検討している(図 5)。

①遺伝子改変により pre-S1 領域を生体認識分子と交換する方法：われわれは、pre-S1 領域を EGF (上皮成長因子)分子と置き換えた EGF 提示型 BNC を作製した。本 BNC は、ヒト肝臓由来細胞に対する親和性を失うと共に、EGF 受容体を大量に発現するヒト扁平上皮がん由来 A431 細胞に対して高い親和性を示した⁵⁾。しかしながら、BNC の改変により酵母での BNC 発現量が大きく変動し、また精製手順の変更が必要であることが多い。

②抗体による再標的化法：当初、1 本鎖抗体を融合した BNC を①の手法により作製したところ、改変型 BNC は目的どおり機能したが、同 BNC の酵母による生産量がきわめて少なくなった。そこで、最適な再標的化用抗体を効率よく選抜する目的で、*Staphylococcus aureus* 由来 IgG 結合タンパク質 protein A の Fc 領域結合部位 ZZ ドメインと置き換えた ZZ 提示型 BNC を作製したところ、酵母内発現量はきわめて高く、種々の検討に供することができた。本 BNC は、protein A と同じ抗体親和性を示し、1 モルの BNC あたり最大 50 モルの IgG を提示した(飯嶋ら、投稿中)。その結果、蛍光標識した ZZ 提示型 BNC に抗 EGF 受容体抗体を加えたものを、EGF 受容体高発現性グリオーマを脳内移植されたマウスの脳室内に直接投与したところ、病変部位のみの可視化に成功した⁹⁾。次に、抗セレクチン E 抗体提示 BNC は、目の炎症性疾患であるブドウ膜炎モデルマウスにおいて、尾静脈からの投与であるにもかかわらず、薬剤や遺伝子を炎症部位に高頻度で導入することができた(大黒ら、投稿中)。

③ビオチン化 BNC による再標的化法：BNC 表層のリジン残基をビオチン化し、アビジンを介して

BNC または バイオナノカプセル

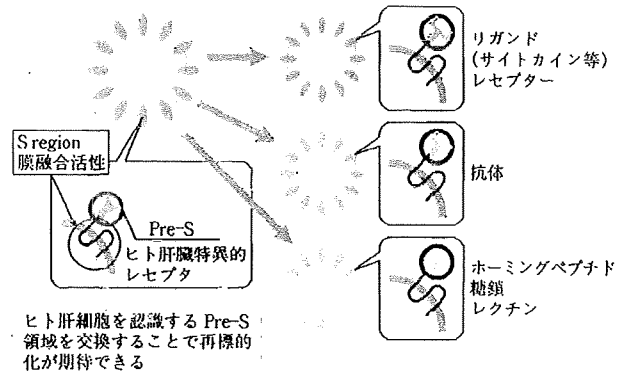


図 5 BNC の再標的化のストラテジー

さまざまなビオチン化生体認識分子を提示することが再標的化に有効であることを示した。具体的には、肝細胞に多く発現するアシアロ糖タンパク質受容体のリガンドがガラクトースであるので、ガラクトース提示型 BNC を作製し、あらゆる種類の肝細胞(ヒト以外でも)に物質送達できた。また、セレクチンの内在性リガンドであるシアリルルイス X 糖鎖を提示した BNC は生体内で炎症部位特異的に物質送達できた(黒田ら、投稿中)。さらに、5~20 アミノ酸残基の任意の配列を有するペプチド(homing peptide)が生体内において特定の臓器の血管内皮細胞を標的化できること⁹⁾が示されているので、BNC の再標的化に使用可能か検討している。最近では、転移性の高い悪性腫瘍に発現することが多い糖鎖構造(分岐 β 1-6GlcNAc)を認識するレクチン(LA-PHA)をビオチン化 BNC を介して提示させたところ、分岐 β 1-6GlcNAc を発現する培養細胞や同細胞を移植した Xenograft マウスにおいて、標的化(図 6)すると共に遺伝子送達にも成功した¹⁰⁾。

これらの結果は、HBsAg 粒子を用いる BNC 技術が、再標的化に対しても十分な柔軟性を有していることを示している。

7. 第 2 世代 BNC 技術

開発当初の BNC 技術⁵⁾では、エレクトロポレーション法により BNC 内部に物質導入を行っていた。しかし、この方法では、大きなサイズのプラスミドや直径数十 nm のマイクロビーズなどを BNC

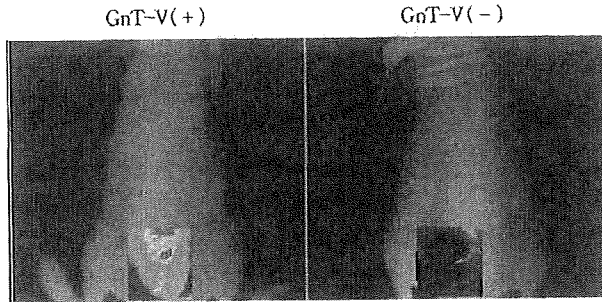


図6 L4-PHAレクチン提示型BNCの体内動態(口絵⑩参照)

近赤外蛍光で標識したL4-PHAレクチン提示型BNCを、分岐 β 1-6GlcNAcを著量発現するGnT-V(糖転移酵素)発現細胞(+), および分岐 β 1-6GlcNAcを少量しか発現しないGnT-V未発現細胞(-)を背部皮下に有するヌードマウス内における体内動態(投与後24時間経過)

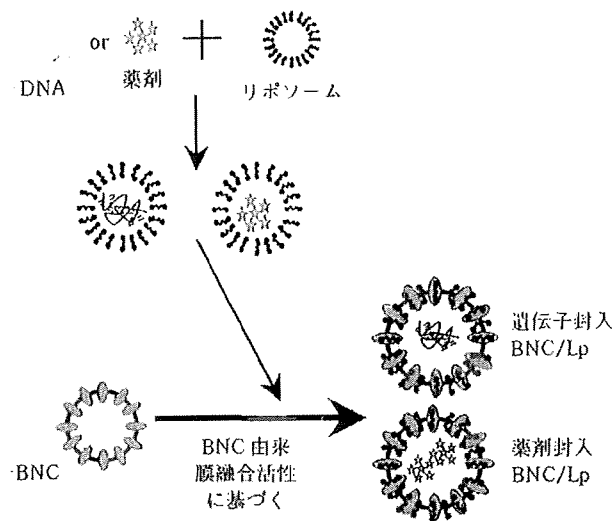


図7 BNC-リボソーム複合体の作製スキーム

内部に封入することはきわめて困難であった。また、BNCを医薬品のキャリアとして開発する場合、医薬品の製造工程に電ポレーションを行うことは不可能であった。そこで、BNCに内在性の膜透過活性が存在することから(上述のとおり)、まず通常リボソームに薬剤や遺伝子を包含した後、BNCと混合してBNC-リボソーム複合体を作らうにした(図7)。電子顕微鏡観察から、この複合体はリボソーム周辺にBNCが多数融合して直径150 nm未満の構造体を形成していた(図8)。本複合体を尾静脈から接種されたXenograftモデルでは、ヒト肝臓がん由来組織特異的に直径100 nm蛍光標識ポリスチレンビーズの送達および約35-kbpの巨大遺伝子の発現が観察された¹¹⁾。BNC-リボ

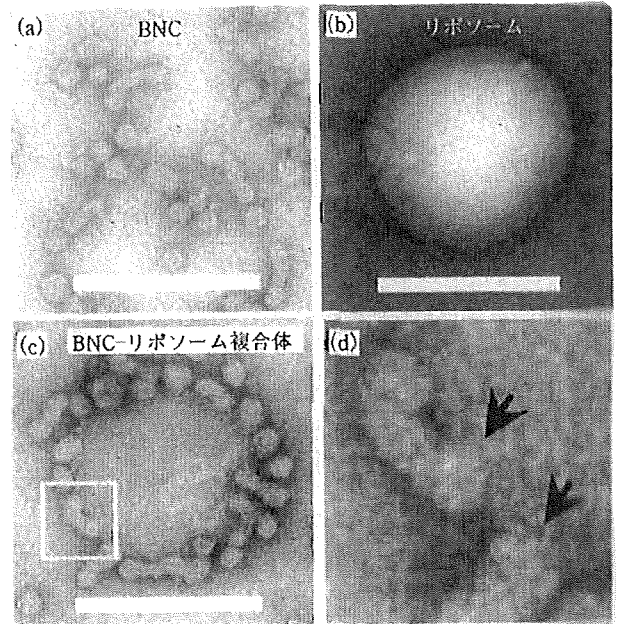


図8 BNC-リボソーム複合体の透過型電子顕微鏡観察 (a)BNC, (b)アニオン性リボソーム, (c)BNCとリボソームの複合体形成, (d)BNCとリボソームの複合体形成の拡大図。矢印部分はBNCとリボソームの界面を示す(完全な融合ではない)。Bar: 200 nm

ソーム複合体は、BNC単独と比較して、安定して幅広い種類の物質を包含でき大量生産に向いていることから、現在の主流となっている。われわれの期待としては、これまで培われてきたリボソーム技術はEPR効果による受動的標的化とエンドサイトーシスによる細胞内取り込みなので、今回BNCを融合させることにより、EPR効果に加えて積極的標的化能および膜融合活性が付与されて、生体内の目的臓器の標的細胞内に積極的に取り込まれるようになるべきだと考えている。

8. 免疫系に対するステルス化

BNCの開発当初において、The Lancet誌¹²⁾でそのポテンシャルの高さを評価しながらも、H1N1を母体とすることによる免疫原性について懸念されていた。とくに、欧米では成人のほとんどがB型肝炎ワクチンの接種を受けているのでBNCを投与した場合、免疫系により即座に排除される可能性がある。そこで、われわれはB型肝炎ワクチンの接種者の体内で、中和抗体があるにもかかわらずH1

いなしに増殖するHBV変異体(エスケープ変異体)の解析を行い、S領域中に共通して見いだされるアミノ酸変異をBNCに導入した。このBNC変異体は、マウスを用いた免疫原性試験では最少抗体誘導薬量をED₅₀で評価すると、変異前のもとと比較して免疫原性は10分の1以下になっていた(鄭ら、投稿中)。また、近赤外域蛍光で標識したBNCを、ヒト肝がん由来組織を有するXenograftモデルマウスの尾静脈に投与し、*in vivo*イメージング装置で体内動態を観察すると、変位前BNCの腫瘍内半減期は5時間であるが、変異体BNCは20時間であった。これは、ヒト体内で淘汰されたHBVエスケープ変異体がマウス体内においても有効であることを示している。現在、その原因を特定するために両BNCに対する細胞性免疫の応答を比較している。次に、HBV感染時の受動免疫のためのヒトグロブリン製剤(HBIG, 商品名ヘブスプリン)には大量のヒト由来HBV中和抗体が含まれているので、上記Xenograftモデルマウスの体内に最低感染防御レベル(10 mIU/ml)の50倍濃度のHBIGをあらかじめ静脈注射しておき、近赤外域蛍光標識した変異前および変異体BNCを尾静脈から投与し、*in vivo*イメージング装置で体内動態を観察したが、中和抗体の存在に関係なく両BNCは標的であるヒト肝がん由来組織に問題なく集積した。これは、HBV中和抗体がヒト体内に存在しても、かなりの高力価でないかぎりBNCによる標的化に影響はないものと考えられた(鄭ら、投稿中)。

9. 網内系に対するステルス化

直径100 nm前後の物質を静脈内に投与すると、一般的に肝臓、肺、脾臓などに存在する網内系(reticulo-endothelial system; RES)に迅速に取り込まれると考えられている。リポソームの場合も同じであり、RESによる認識から回避するためにポリエチレングリコール(PEG)のような生体親和性の高いポリマーでコートすることが常法である。しかしながら、PEG化リポソームの製剤化の検討が進むにつれ、薬剤の連続投与により抗PEG IgM抗体が出現し、全身性の副作用(ABC現象; accelerated blood clearance(ABC) phenomenon)がでることが指摘さ

れは始めている。そこで、非PEG型高分子の検討やヒト血清由来タンパク質によるコーティングが検討されている。当初、BNCの場合もリポソームと同様と考えられていたが、HBVはヒト体内でRESにトラップされることなく肝臓に感染することから、内在性ステルス化機構の可能性がある。現在、抗がん剤封入BNCを、決定的治療薬のない肝細胞がんを適応として医薬開発している。その中で、PEG化BNCと未修飾BNCの血液中の濃度変化を検討したが大差がなかった。まだ最終的な結論を出すには早いが、BNCにはHBVと同様なRESに対する内在性ステルス化機構があるのかもしれない。たとえば、pre-S2領域は血液中のヒト血清アルブミン重合体と高い親和性を有することが知られているので、BNCが血清アルブミンにより包含されてステルス効果を示しているのかもしれない。

10. おわりに

世界中の製薬会社はコストの関係から新薬開発ペースが鈍化しており、DDSを工夫して開発済薬剤の適用拡大を活発化させている。さらに、遺伝子治療分野において、現在使用されている遺伝子導入法は、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、リポソーム等が主流であるが、いずれの方法も生体内の細胞や組織に対する標的化能がなく、手術等により患部へ直接投与するしかない。理想的には、静脈注射など患者負担の少ない経路で(できれば繰り返し)患部にピンポイントに高効率で治療用遺伝子を導入できる必要がある。しかし、現行の方法では全く無理で、遺伝子治療の普及を妨げていた。以上の状況から、これからわれわれは次のように展開したいと考えている。

1) 抗がん剤封入BNC-リポソーム複合体の開発: 当初は肝細胞がんを対象とするが、再標的化および抗がん剤選抜を行い、さまざまながんに対する治療法を提案する。

2) 遺伝子補充療法用BNC-リポソーム複合体の開発: 遺伝子の多くは単一遺伝子の変異によって引き起こされることが多く、正常遺伝子を補充すると治療するものが多い。血友病の場合、患者肝臓に正常遺伝子(血液凝固因子をコード)を導入して正常タ

ンパク質を生産させる。このとき、従来のタンパク質療法では抗体産生により長期投与が難しかったが、本方法では抗体産生は起きないと期待されている。

3) RNA 医薬封入 BNC-リポソーム複合体の開発：RNA 医薬は世界中の製薬会社が躍起になって開発しているが、その投与方法についてはあまり研究されていない。よい RNAi があっても宝のもち腐れになっている。われわれは、現在うまくいっている DNA の生体内ピンポイント投与方法をベースに、使用するリポソームを適切に選抜すれば、RNA 医薬の生体内ピンポイント投与方法が完成できると考えている。

4) 生物製剤封入 BNC-リポソーム複合体の開発：さまざまな生物製剤(主としてサイトカイン系)が適切な投与方法がなかったために製薬業界では財産として残っている。そこで、タンパク質(生物製剤)を包含できるリポソームを選抜してピンポイントデリバリーに供する。また、最近の流れとして、サイトカイン等の細胞外因子ではなく、細胞内で作動する情報分子を細胞質内に導入する方が効果的なこともある(例：サイトカイン受容体下流のプロテインキナーゼ JAK の基質タンパク質 SOCS)。そこで、BNC とタンパク質を融合させた形で発現する技術も開発済みであるので生かしてゆきたい¹³⁾¹⁴⁾。

●謝辞

本研究は近藤昭彦先生(神戸大工)、妹尾昌治先生(岡山大工)、上田政和先生(慶應大医)、谷澤克行先生(大阪大産研)、(株)ピークルによる共同研究の成果であり、ここに謝意を表します。

【参考・引用文献】

- 1) S. Kuroda, S. Otaka, T. Miyazaki, M. Nakao and Y. Fujisawa : *J. Biol. Chem.*, **267**, 1953-1961(1992).
- 2) S. Kuroda, Y. Fujisawa, S. Iino, Y. Akahane and H. Suzuki : *Vaccine*, **9**, 163-169(1991).
- 3) T. Yamada, H. Iwabuki, T. Kanno, H. Tanaka, T. Kawai, H. Fukuda, A. Kondo, M. Seno, K. Tanizawa and S. Kuroda : *Vaccine*, **19**, 3154-3163(2001).
- 4) A.R. Neurath, S.B. Kent, N. Strick and K. Parker : *Cell*, **46**, 429-436(1986).
- 5) T. Yamada, Y. Iwasaki, H. Tada, H. Iwabuki, M.K. Chuah, T. VandenDriessche, H. Fukuda, A. Kondo, M. Ueda, M. Seno, K. Tanizawa and S. Kuroda : *Nature Biotechnol.*, **21**, 885-890(2003).
- 6) Y. Iwasaki, M. Ueda, T. Yamada, A. Kondo, M. Seno, K. Tanizawa, S. Kuroda, M. Sakamoto and M. Kitajima : *Cancer Gene Ther.*, **14**, 74-81(2007).
- 7) I.A. Khalil, K. Kogure, S. Futaki, S. Hama, H. Akita, M. Ueno, H. Kishida, M. Kudoh, Y. Mishina, K. Kataoka, M. Yamada and H. Harashima : *Gene Ther.*, **14**, 682-689(2007).
- 8) Y. Tsutsui, K. Tomizawa, M. Nagita, H. Michiue, T. Nishiki, I. Ohmori, M. Seno and H. Matsui : *J. Control Release*, **122**, 159-164(2007).
- 9) M. Kolonin, R. Pasqualini and W. Arap : *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **5**, 308-313(2001).
- 10) T. Kasuya, J. Jung, H. Kadoya, T. Matsuzaki, K. Tatematsu, T. Okajima, E. Miyoshi, K. Tanizawa and S. Kuroda : *Hum. Gene Ther.*, **6**, 1(2009).
- 11) J. Jung, T. Matsuzaki, K. Tatematsu, T. Okajima, K. Tanizawa and S. Kuroda : *J. Control Release*, **126**, 255-264(2008).
- 12) D. Lawrence : *The Lancet*, **362**, 48(2003).
- 13) D. Yu, C. Amano, T. Fukuda, T. Yamada, S. Kuroda, K. Tanizawa, A. Kondo, M. Ueda, H. Yamada, H. Tada and M. Seno : *FEBS J.*, **272**, 3651-3660(2005).
- 14) D. Yu, T. Fukuda, Tuoya, S. Kuroda, K. Tanizawa, A. Kondo, M. Ueda, T. Yamada, H. Tada and M. Seno : *IUBMB Life*, **58**, 1-6(2006).

<黒田 俊一>

4 心筋代謝から

はじめに

心臓は、心筋線維の長さの変化に伴い、容積を増減させ血液を拍出する臓器である。心筋線維の長さの変化は、格子構造をとっているアクチンとミオシンを主としたフィラメントがATPの化学エネルギーを用いて滑り込むことによって起こる。このアクチンとミオシンの相互作用は、細胞の興奮、収縮に伴う細胞内カルシウムの濃度変化によって制御されるが、この際もATPがエネルギー源として使われる。心臓は、絶え間なく規則正しい収縮を繰り返しており、その仕事を維持するために持続的にエネルギーを消費する。そのため、心筋のエネルギーの枯渇は心不全発症・進展において重要な役割を担っている。この項では、不全心筋の病態とエネルギー代謝やカルシウム代謝の変化との関連について述べる。

1 正常心筋のエネルギー代謝

心臓は、他の臓器と比較してもかなり多くのエネルギーを必要としており、1日に、その重量の20～30倍である6kgのATPを代謝し、約100,000回拍動し10トンもの血液を拍出する臓器である。心臓のエネルギー代謝は複雑である。その代謝機構は3つのコンパートメントからなる(図1-14)；①冠動脈から供給される脂肪酸、ブドウ糖などの基質の利用，②ミトコンドリアでの電子伝達系，酸化リン酸化によるATPの産生，③ATPの輸送と消費。詳細は成書に譲る

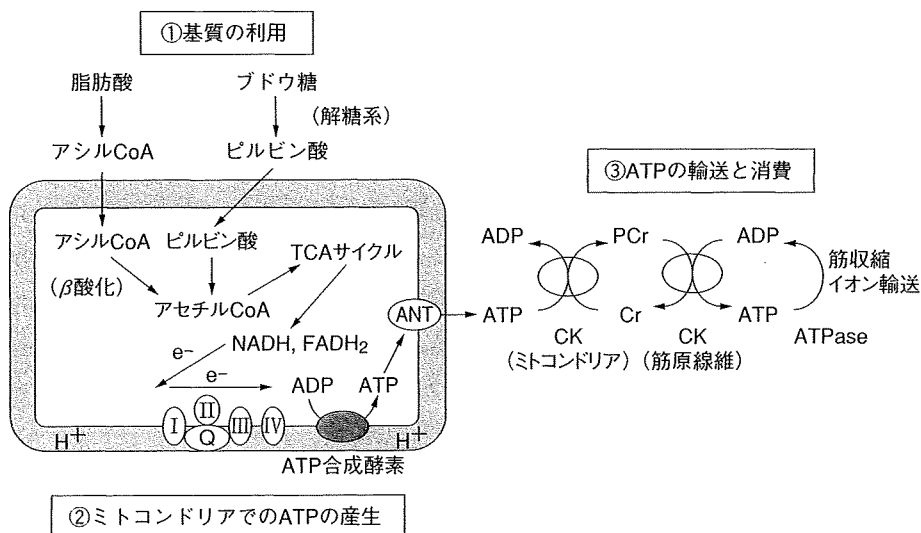


図1-14 正常心筋におけるエネルギー代謝

ANT: adenine nucleotide translocase, PCr: クレアチンリン酸, Cr: クレアチン

が、おのおのについて簡単に述べる。

a) 基質の利用

心臓が必要とするエネルギーの基質は冠動脈を通じ供給され、遊離脂肪酸、ブドウ糖、乳酸の3者でほとんどが占められる。通常は、脂肪酸が主たる基質であるが、冠血流に含まれる基質の濃度によって基質の利用率も変化する。心筋細胞に取り込まれた脂肪酸、ブドウ糖は β 酸化、酸化により分解され、アセチル CoA が生成され、その95%がミトコンドリアにおける酸化的リン酸化に用いられる。

b) ミトコンドリアでの電子伝達系、酸化的リン酸化による ATP の産生

ミトコンドリアにおいて、脂肪酸、糖の分解により生成されたアセチル CoA が TCA サイクルに入り、NADH、FADH₂ が生成される。NADH、FADH₂ は酸化され、順次、電子の伝達が行われる。その課程で生成されたプロトンが膜外に能動輸送され、膜の内外にプロトン濃度勾配が形成される。そのプロトン濃度勾配を利用し ATP 合成酵素によって ATP が合成される。

c) ATP の輸送と消費

ミトコンドリアで生成された ATP は、まずミトコンドリア内にあるクレアチンキナーゼの触媒によりクレアチンリン酸に変換される。変換されたクレアチンリン酸は低分子であり、ミトコンドリアから筋原線維に拡散する。クレアチンリン酸は、筋原線維中のクレアチンキナーゼの触媒により ADP を ATP に再変換し、ATP はミオシン、膜にある ATPase により分解され利用される。同時にクレアチンリン酸は、クレアチンキナーゼによりクレアチンになる。このクレアチンが再びミトコンドリアに拡散し再利用される。すなわち、クレアチンリン酸とクレアチンのシャトルによりミトコンドリアで産生された ATP が筋原線維に輸送される。

2 不全心筋におけるエネルギー代謝障害

心不全の病態とエネルギーの枯渇の関連を示した基礎ならびに臨床研究は多い。心不全では、心筋のエネルギー代謝を構成する3つのコンパートメントのすべてで障害が生じている。

a) 基質の利用

心不全では、基質の取り込み、酸化による分解が減少することで基質の利用が減少し、また、基質の利用率も変化するとされてきた。しかし、近年、基礎ならびに臨床研究が進むにつれ心不全における基質利用の変化はもっと複雑なものであることが明らかになってきた。特に、不全心筋における脂肪酸代謝や糖代謝に関与する酵素の活性や発現量の増減が観察されてきた。たとえば、脂肪酸利用は初期の心不全ではほぼ不変であり、進行した心不全においては減少する¹⁾。また、ブドウ糖利用は初期の心不全では上昇、進行した心不全ではインスリン抵抗性のため低下するといわれている²⁾。心不全の進行と並行して脂肪酸代謝の酵素の発現減少が報告されている。近年、それらの酵素の発現を上昇させるメカニズムに核内受容体として peroxisome proliferator-activated receptor family が関与することが示され、今後、治療への応用が期待されている。

b) ミトコンドリアでの電子伝達系，酸化リン酸化による ATP の産生

心臓においてミトコンドリアは，細胞体積の 33 % 占めており，基質はそこで代謝され，酸化リン酸化により ATP が産生されている。しかし，不全心において，ミトコンドリアの構造異常，ならびに代償的と思われる増加が認められる³⁾。動物モデル，ヒト不全心において，電子伝達系の複合体の酵素活性や ATP 合成酵素の低下が認められており，ATP 産生が低下していることが報告されている⁴⁾。

c) ATP の輸送と消費

先ほどの項で，ミトコンドリアの機能障害が ATP 産生の低下につながることを述べたが，不全心筋では輸送障害も生じている。心不全早期から総クレアチン量の低下が認められる⁵⁾。クレアチンは心臓では合成されておらず，心不全では，クレアチンの輸送障害が生じることが推測されている。さらに，筋原線維クレアチンキナーゼ活性の低下が加わり，その結果，筋原線維への ATP 輸送は著しく障害される⁶⁾。

ATP レベルは，心不全が進行すると正常心筋の 30 ~ 40 % まで低下するが，心不全初期の段階では，たとえば収縮に関するミオシン ATPase が必要とする ATP 量は十分に保たれている。前述のように，心不全の早期から総クレアチン量の低下，筋原線維クレアチンキナーゼが障害されるが，ミトコンドリアクレアチンキナーゼは比較的保たれているため，総クレアチン量の低下はクレアチンリン酸の低下につながる。また，骨格筋と比し心筋ではクレアチンリン酸から ATP 合成に平衡が傾いており (クレアチンリン酸 + ADP + H⁺ ⇌ クレアチン + ATP)，ATP の低下よりもクレアチンリン酸の低下が心不全に対する鋭敏なマーカーである。ヒト心不全におけるエネルギー代謝の研究の多くは磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) を用いている。MRS で測定できるクレアチンリン酸/ATP 比が拡張型心筋症の長期生命予後の予測因子との報告も認められる (図 1-15)⁷⁾。

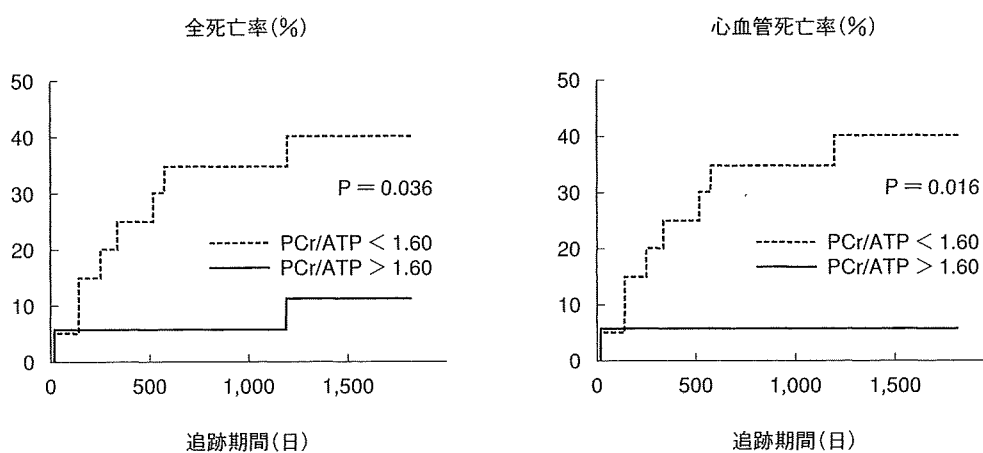


図 1-15 拡張型心筋症患者における PCr/ATP 比と予後の関係 (文献 7 より改変)

PCr: クレアチンリン酸

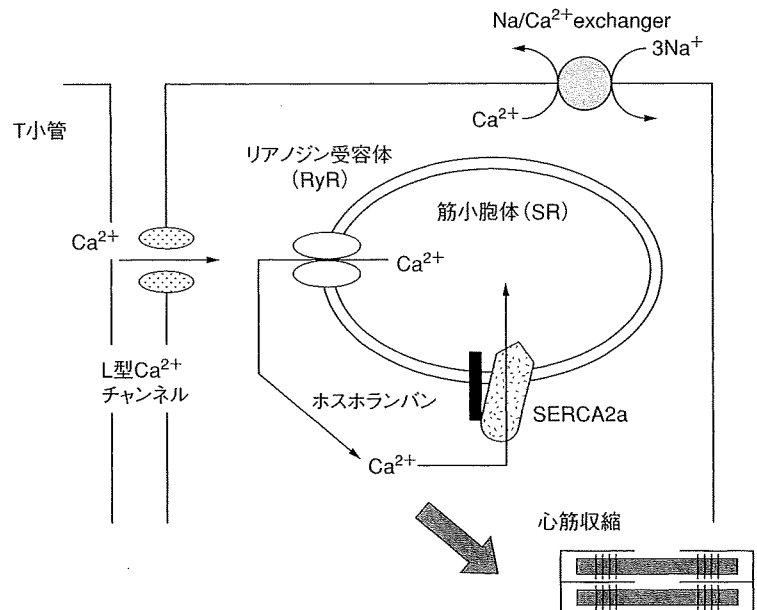


図1-16 正常心筋におけるカルシウム代謝

SERCA2a：心筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase

3 正常心筋におけるカルシウム代謝

心筋細胞のポンプ機能の維持には、細胞内 Ca^{2+} 濃度が重要である。心筋において絶え間なく繰り返される収縮、弛緩は、カルシウムの収縮蛋白への結合量や結合、解離する速度によって制御される。この Ca^{2+} は、主に細胞内の貯蔵器官である筋小胞体から放出される。

心筋における Ca^{2+} 輸送は、図1-16に示すように様々な蛋白により制御されている。脱分極刺激が伝わると、T小管に存在するL型 Ca^{2+} チャンネルが開き、細胞質内に少量の Ca^{2+} が流入する。この流入した Ca^{2+} により、筋小胞体膜上に存在するリアノジン受容体を介し、筋小胞体から大量の Ca^{2+} が細胞質内に放出され筋収縮が起こる (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} -release)⁸⁾。心筋の弛緩は、細胞質内 Ca^{2+} の筋小胞体への再取り込みや $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchanger による細胞外への放出によりもたらされる。筋小胞体への再取り込みは、心筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase (SERCA2a) によって制御される。ホスホランパンはこのポンプの制御蛋白で、SERCA2aの Ca^{2+} 輸送を抑制している。しかし、カテコールアミン刺激でホスホランパンのリン酸化が起こると、この抑制がはずれ、SERCA2aの Ca^{2+} くみ上げ能が著しく亢進する。

4 不全心筋におけるカルシウム代謝障害

心不全では、上記のカルシウム代謝に関係している各蛋白質の量的変化、リン酸化・脱リン酸化の異常により質的变化が生じ、心機能低下につながるといわれている。この項ではリアノジン受容体、SERCA2a、ホスホランパンに着目して述べる。