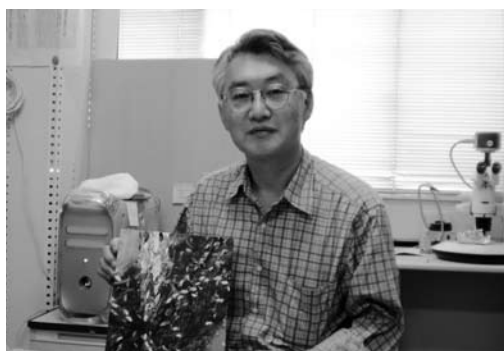




ペリオスチンが医療を変える

工藤 明 研究室～生命情報専攻



工藤 明 教授

ペリオスチンというタンパク質がある。99年に工藤先生が発見し、命名したものだ。ペリオスチンは歯の組織で発見され、当初は歯を含む骨組織の再生に働くと考えられていた。しかし、研究が進むにつれ実は他にも多様な機能をもっていることがわかってきた。最近では、ガン細胞の増殖抑制や心筋梗塞後の組織の修復にも関わっていることが確実になり、世界中で研究が行われている。医療への応用が期待され、多方面に広がりつつあるペリオスチン研究。工藤研究室ではこのうち、骨と心臓に焦点をあてて研究を行っている。



心臓でも働く骨のタンパク質ペリオスチン

ペリオスチンとの出会いは、工藤先生が製薬会社に勤めていたころに遡る。それまで勤めていた大学から民間企業に移った先生は、骨の分野に目を向け、骨に関わる遺伝子のスクリーニングを始めた。もともと先生の専門は免疫だったのだが、免疫の分野はそのころ既に、ヒトの臨床に主眼をおいた応用段階に入っていた。先生自身も、生物学者が行うことのできる、動物を使った基礎研究に関しては限界だと感じていたのだ。こうして骨の遺伝子を調べる中で、先生はある遺伝子に着目した。これこそが、後にペリオスチンと名づけられるタンパク質を作り出していたのである。

ペリオスチン (Periostin) の接頭辞 perio は、periosteum (骨膜) と Periodontal Ligament (歯根膜) に由来する。また、tin は骨のタンパク質によく使われている接尾辞である。ペリオスチンという名は「骨膜や歯根膜に特異的に発現する骨のタンパク質」というところから工藤先生が名づけたものだ。ものを噛むときは歯や骨に負担がかかるため、骨膜や歯根膜など骨組織には柔軟性と再生能力が必要になる。ペリオスチンは特に、壊れた骨組織の修復に関わるとされていた。

こうして骨のタンパク質として研究が始まったペリオスチンだったが、研究は思いのほか難航していた。硬組織である骨は他の軟組織に比べて、組織を観察するのに必要となる、薄くきれいな切片を作りにくいのだ。思うようなデータが取れず研究が停滞している間に、ペリオスチンと心臓の関連を示唆する論文が出された。ペリオスチンは、成体の心臓では発現していないが、胎児の心臓では発現が観られるというのだ。さらに、別の論文では成体でも心筋梗塞に近い病態モデルでペリオスチンが発現していることも明らかにされた。この流れに乗り、工藤研究室でも歯・骨と並行して心臓でのペリオスチンの働きを調べることになったのだ。

ところで、骨のタンパク質であるはずのペリオスチンが、なぜ心臓でも働くのだろうか。その理由の一つとして、先生は骨と心臓のある共通点を挙げる。力学的な負荷だ。心臓は血液を全身に送り出すポンプの働きをするので、骨と同様に負荷が大きくかかる。ペリオスチンが負荷への応答として誘導されていると考えれば、心臓での発現に説明がつくのだ。

最近には骨におけるペリオスチンの機能に関する研究も進み、興味深いことが分かってきた。ペリオスチンは骨でも心臓でも組織の再生に関わっているのだが、その作用の仕方が全く異なるのだ。心臓では、損傷部位にペリオスチンが発現し、新しい細胞を誘導することにより再生を行う(図1)。後に紹介する心筋梗塞の修復もこの機構だ。一方骨では、正常な骨の形成に必要なマイクロストラ

クチャと呼ばれる構造を作ることにより再生に関わっている。しかし、これは奇異な現象だ。一般に、一つのタンパク質が作用する部位によって全く異なる機能を持つとは考えられないからだ。そのため、工藤先生は、現段階では異なるように見えるペリオスチンの二つの修復メカニズムが、結局は一つのシステムとして説明できるのではないかと将来の研究に期待を寄せている。

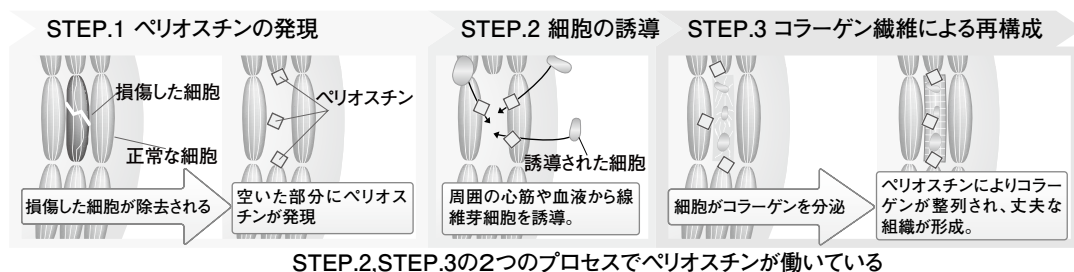


図1 心臓におけるペリオスチンの働き



心筋梗塞治療に光

2008年3月の毎日新聞では、心筋梗塞とペリオスチンの関連について、工藤研究室の研究が取り上げられている。心筋梗塞と狭心症を合わせた虚血性心疾患は、現在、悪性腫瘍、脳血管障害と並ぶ日本人の三大死因の一つだ。中でも心筋梗塞の発症数は多く、国内では年間約15万人が急性心筋梗塞を発症し、そのうち約30%が死亡していると推定されている。しかし、これまで心筋梗塞を起こした組織がどのように修復されるかについて、詳細な仕組みは明らかにされてこなかった。心筋梗塞後の修復メカニズムをペリオスチンの働きをもとに解明できれば、心筋梗塞の新たな治療に繋がる可能性がある。ここでは、工藤研究室で行われた心筋梗塞とペリオスチンの関連性を調べる実験について紹介していこう。

具体的な実験のプロセスを見ていく前に、遺伝子研究の基本的な流れに少し触れておく。遺伝子研究は大まかにみると、まずは着目する遺伝子の選択、次に遺伝子の発現場所の同定、そして遺伝子の機能の解明へと進んでいく。

まず一つ目の段階である遺伝子の選択についてだが、機能の予測がつかない多数の遺伝子の中で、研究のターゲットとなる遺伝子をどのように決め

るのだろうか。色々方法はあがあるが、その一つとしてサブトラクションがある。一つの個体は、全ての細胞内に同一のDNAを持つ。組織によって細胞の機能や形態に違いがあるのは、働く遺伝子が異なるからだ。例えば、骨の細胞で特異的に発現している遺伝子を探る際には、骨で発現している遺伝子から、骨以外の細胞で発現している遺伝子を引けばよい。これをサブトラクションという。先生はこの手法を使って骨に特異的に発現する遺伝子を集めていった。そのいくつかの遺伝子の中にペリオスチンを作る遺伝子があったのだ。

サブトラクションによって選ばれた遺伝子はどこで働いているのか。これを調べるのが二つ目の段階だ。「遺伝子が働く」とは、分子レベルで見れば、遺伝子の指定したタンパク質が作り出されることをいう。ここで、遺伝子と作られるタンパク質は一対一に対応している。ゆえに、そのタンパク質に特異的に結合する抗体を作り出し、抗原抗体反応が起こる場所を突き止めれば、着目した遺伝子が働いている組織を全て同定することができるのだ。なお、ペリオスチンの場合は、歯や骨、そして損傷を受けた心臓などで発現していることがわかっている。

働く組織が判明した後、三つ目の段階として、遺伝子の機能を調べていく。生体内では多種多様な生命現象が複雑に絡み合っている。そのため、遺伝子の機能を特定する段階は一連のプロセスの中で最も難しく、さまざまな手法を用いて、あらゆる側面から慎重に検討していくことが必要だ。この機能を調べていく際の有効な手法の一つが、ノックアウトマウスの作成である(図2)。調べたい遺伝子を欠損させたマウスを作り、正常なマウスと比べてどのような差異を持つかを調べることで、遺伝子の機能を明らかにしていくのだ。

ノックアウトマウスを作る前段階として、工藤先生率いるチームは、初めに心筋梗塞とペリオスチンの関連性について調べた。心筋梗塞とは、冠動脈が詰まって周囲の細胞に酸素や栄養が行き渡らなくなり、心筋が壊死してしまう疾患である。心筋梗塞の病態モデルを作るためには、動脈を人為的に詰まらせればよい。そこで、左心室の動脈を結紮^{けっさつ}することで、マウスを人為的に心筋梗塞にした(図3)。すると、結紮後3日目からペリオスチンが心筋層と梗塞層の境界に見られるようになり、7日目には梗塞層内での発現が急激に増加したのだ。これにより、心筋梗塞を起こした組織では確かにペリオスチンが合成されているということがわかった。

そこで、次のステップとしてペリオスチンノックアウトマウスを作成し、機能を調べる実験を

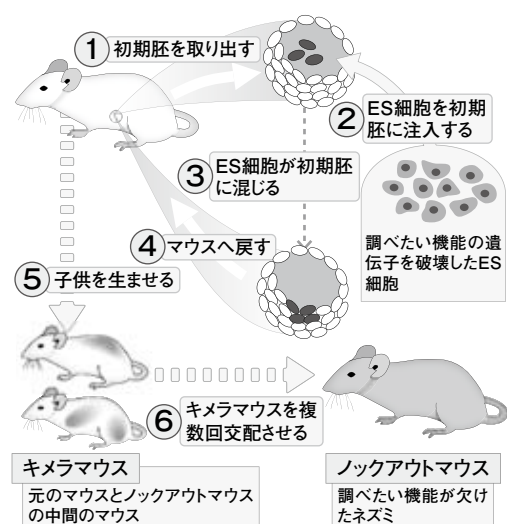


図2 ノックアウトマウスの作り方

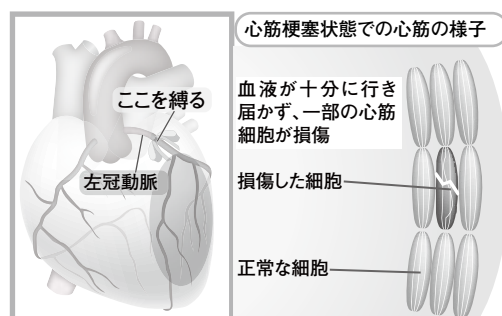


図3 心筋梗塞の病態モデル

行った。その結果、ノックアウトマウスでは心臓の機能や形態に異常は見られなかったが、人為的な急性心筋梗塞を起こした場合、修復能力が低く、高い確率で心臓破裂を起こすことがわかった。正常時には心臓の形態形成や心機能に影響はないものの、心筋梗塞が起こった場合に組織の修復能力が低下していたのだ。

しかし、この時点では、ペリオスチンが心筋梗塞の修復に働いていると結論付けることはまだできない。なぜなら、心筋梗塞を修復できなかったのがペリオスチンの遺伝子が欠損したことによるものであると厳密に示すためには、ノックアウトマウスを作る際に、ペリオスチン以外の遺伝子を破壊していないことを確かめる必要があるからである。ペリオスチンが損傷した心筋の修復に実際に関わっていることを確かめるため、工藤先生のチームは、心筋梗塞を起こさせたペリオスチンノックアウトマウスにペリオスチンの遺伝子を導入して機能を調べた。その結果、遺伝子を導入したマウスは、導入しなかったマウスに比べて心破裂を起こす頻度が減少していることがわかった。この段階で初めて、ペリオスチンが心筋修復に働いていることが示された。生物の機能は、こうした裏付けを何通りか慎重にとって初めて解明することができるのである。

マウスでの検証を重ねた後、先生はヒトについてもペリオスチンと心筋梗塞の関連を調べた。東京大学医学部病理学教室との連携により、心筋梗塞を起こした細胞だけでなく、正常細胞や癌細胞など、ヒトの病理組織を網羅的に調べ、ペリオスチンの発現を観た。その結果、心筋梗塞後の組織にペリオスチンが多く見られることがわかった。このようにして、心筋梗塞とペリオスチンの関連性が徐々に明らかにされてきたのである。



生きたまま骨を観る

先に紹介してきたとおり、工藤研究室の研究の柱の一つはペリオスチンであった。そしてもう一つの柱は器官形成学である。器官形成学とは、生物が発生するときにどのように器官が作られていくかを研究する学問だ。工藤研究室ではその中でも特に骨の形成に焦点を当てており、骨形成のモデル生物としてメダカを用いている点が大きな特色だ。骨は生物の体の中で最も内奥にあるので、骨の形成を観察しようとするときと普通は解剖が必要になる。しかし、体の透き通っているメダカであれば、骨がどうやって形成されるのかをそのまま解剖しないで観察することができるのだ。

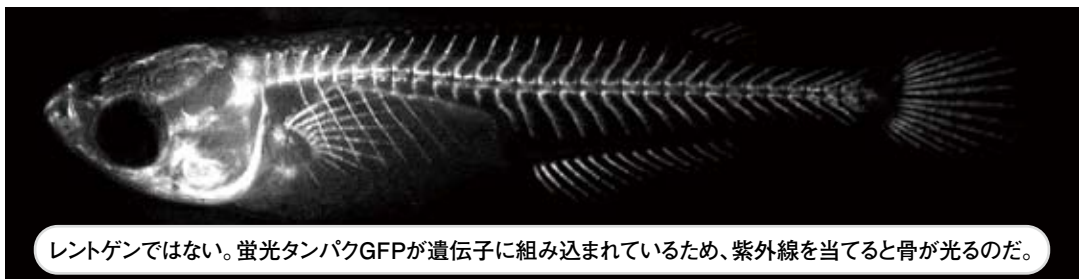
研究に使っているメダカには、骨の観察がしやすいように二つの工夫がなされている。一つは品種だ。用いているメダカはCabやQurtといい、他の品種よりも透明度が高い。もう一つが、骨に蛍光タンパクを組み込んでいる点だ。骨の遺伝子にクラゲと同じ蛍光物質を作る遺伝子を組み込むことで、骨が光るように操作をしている(写真1)。

骨形成の研究に関してみると、メダカが透き通っているということの利点は、単に観察しやすいことばかりではない。犠牲になる実験動物の数を減らすことができるのだ。例えば、胎児の骨形成の過程を調べることを考えてみよう。モデル生物としてマウスを使うならば、様々な発生段階にある個体を数体選んだ上で、胎児を取り出すために母体も殺さなくてはいけない。それに対して、メダカを用いれば受精卵から成体に至るまでの骨の変化を、一つの個体を用いて解剖することなく継続的に観察することができる。

これまで骨形成を例に話をしてきたが、心臓血

管系や血球細胞、内臓といった器官形成全般に対してもほぼ同じことが言える。さらに、器官形成だけに限らず一般的なモデル生物として見ても、メダカには様々な利点がある。モデル生物として最も一般的なのは、ヒトと同じ哺乳類であるマウスだ。しかし、メダカはマウスよりも小型で、飼育が容易であり、多産で、世代サイクルが短い。これらの条件は、なるべく多くのデータを取って誤差を減らし信憑性のある結果を導き出す上で、実験動物が満たすべき重要な条件である。また一方で、ショウジョウバエや線虫といった古典的なモデル生物と比較しても、セキツイ動物であるという点でメダカは有用だ。無セキツイ動物は骨を持たないため、骨形成に関する研究ができないのだ。メダカであれば、骨に限らず哺乳類とほぼ同等の器官や組織を備えており、ヒトにフィードバックできる研究がしやすいのである。

遺伝子レベルで見たとき、メダカとヒトはどれくらい共通しているだろうか。解読されたゲノムによると、メダカとヒトの共通遺伝子は全体の約七割といわれている。さらに、魚類と哺乳類は共通の祖先から分岐しているため、生存に関わる重要な遺伝子は両者に残されていると考えられる。このことより、ヒトと同じセキツイ動物であるメダカは、ヒトの骨形成で重要な遺伝子をほぼ全て持っていると考えられている。また、視覚・聴覚、心臓・血管系、内臓、消化器、血液細胞、顎、でもヒトの疾患モデルとなるような突然変異体が見られており、医学の分野での応用が期待されつつある。事実欧米では、メダカと近縁にあるゼブラフィッシュを用いた研究が盛んに行われている。



レントゲンではない。蛍光タンパクGFPが遺伝子に組み込まれているため、紫外線を当てると骨が光るのだ。

写真1 光るメダカ

しかし、メダカではモデル生物として不適切となる研究分野もある。その一つとして、中隔欠損の研究が挙げられる。ヒトの心臓は左右二つの心室と二つの心房から成り、左心室・左心房を動脈血が、右心室・右心房を静脈血が通ることで、酸素の多い血液と酸素の少ない血液が混ざらないような構造をしている。中隔欠損とは、左右の心室あるいは心房の間にある壁に欠損がある先天性の疾患だ。血液の逆流が起きて動脈血と静脈血が混ざってしまうために肺や心臓に大きく負担がかかる。ヒトの先天性心疾患のうち約27%を占める重大な疾患だ。ところが、メダカの心臓にはもと

もと心室も心房も一つずつしかない。そのため、メダカを用いて中隔欠損の研究をすることはできないのである。

現在、モデル生物に魚類を用いている国内の研究室は工藤研究室の他に数えるほどしかなく、それもほぼ基礎研究に限られている。「モデル生物の中でメダカが最も優れているとは言わない。それぞれの生物にそれぞれの利点があるのだから、行う実験によって最適なモデル生物を使えばいい。私が言いたいのは、国内の研究者たちにも、モデル生物の選択肢の一つとしてメダカを認識してほしいということなんだ」と先生は語る。



メダカ、きぼう託し、宇宙へ

2008年3月に、宇宙ステーションで建設が始まった「きぼう」をご存じの方も多いのではなかろうか。この「きぼう」に、工藤研究室のメダカが打ち上げられるかもしれない。実験が計画されているのは2010～12年の第2期で、ここではモデル生物を用いて、生殖に対する放射線の影響や血液循環、骨量の変化などを観る予定だ。メダカは北海道を除き日本各地に生息し、古くから観賞魚として親しまれてきたので、日本ではその生態研究に歴史がある。前述したようにモデル動物としても有用であることに加え、平成14年度のナショナルバイオリソースプロジェクトにおいてゲノムがすべて解読されているという強みもある。

工藤研究室のメダカに期待されているのは、光っている骨を観察し、骨量の変化を追うことだ。骨量の減るメカニズムについては、まだはっきりと解明されていない。重力刺激がないと骨量は減

少するが、それは骨を造る細胞が阻害されるからなのか、代謝によって骨を削る細胞が増えることに起因するのか、実はわかっていないのだ。

宇宙という力学的負荷の全くかからない無重力空間に持っていかれると、メダカにどのような変化が起こるのだろうか。さらに、前章で紹介したペリオスチン研究と関連して、ペリオスチンノックアウトメダカを作り、宇宙に打ち上げることも考えている。骨修復能力の低いこのメダカの場合では何が起こるのだろうか。高齢化が加速する日本において、骨粗鬆症やヘルニアといった骨量減少に関わる病気は、今後ますます問題になっていくことが予想される。工藤研究室の「光るメダカ」を観察することによって、重力刺激に対して骨細胞がどのように応答するのかが解明され、骨粗鬆症やヘルニアの治療への新たな展望が開けるかもしれない。

冒頭でも触れたように、ペリオスチンについての研究は現在、世界中で行われています。ペリオスチン研究の競争の激しさを実感したのは、8月の2回目の取材時に、出来上がったばかりの骨に関するペリオスチンの論文を見せていただいた時でした。1回目の取材を終え記事の執筆に入った7月には、骨の研究はそれほど進んでいないように思われたからです。本誌では、既に一般紙でも紹介された心臓におけるペリオスチンの作用機構のみを詳しく取り上げました。しかし、骨におけ

る作用機構も大部分が解明されてきており、工藤研究室の論文は現在、科学誌で選考されている途中です。

編集の都合上、取材と出稿の時期には半年ほどの時間差があります。この間にも研究は着々と進んでいるため、古い情報になってしまった部分も一部あることをご了承ください。

末筆ながら、ご多忙のなか度重なる取材とメールでの質問に常に熱心に応じてくださった工藤先生に、心より御礼申し上げます。（石橋 舞）