



エンドセリンの発見

—— 後藤勝年先生に聞く

ゲスト：後藤勝年先生(JSTイノベーションサテライト茨城館長)

ホスト：佐地 勉先生(東邦大学医療センター大森病院小児科教授)

1988年3月、今からちょうど20年前の「Nature」に、エンドセリンという画期的な血管作動物質が発見されたという日本発の論文が掲載されました。その後、製薬企業が競ってエンドセリン受容体拮抗薬を開発しましたが、臨床応用されるにいたったものはボセンタンのみでした。しかし、この薬は肺高血圧症の患者に光明をもたらし、さらに現在、膠原病や悪性黒色腫にも効果があるといわれ、新たな脚光を浴びています。

今回の「Meet the History」は、このエンドセリンを発見した、当時の筑波大学研究室のリーダーでいらしゃった後藤勝年先生をゲストに迎え、本誌編集委員の佐地勉先生をホストに、発見にいたる経緯やその後の展開について、さまざまなエピソードを交えながら、お話しいただきました。



社会人から薬学部へ

佐地 本日は「エンドセリンの発見」というテーマで、筑波大学名誉教授の後藤勝年先生においでいただきました。私は個人的には、エンドセリンは1900年代における歴史的な大発見ではないかと思います。

発見当時のお話を伺う前に、先生が薬学を目指すにいたった動機について、お聞きしたいと思います。先生は、たしか名古屋のお生まれでしたね。

後藤 はい、名古屋の近くです。実は、私が薬学に進んだ動機はきわめて不純なのです。私は高校を卒業したとき、家庭の事情で、大学に行かずにある会社に就職しました。当時、高校卒でかなり給料の高い会社に入ったのですが、工場の現場に配属されたものですから、仕事はかなりきつかったのです。それで、途中で真剣に考えました、私の一生はこんなことでもいいのか、と。

とにかく自分の人生を考えるために大学に行こう

と思ひまして、仕事をしながら大学を探しました。私は理系人間でしたので、入試に文系の科目が少ないところを探してみますと薬学がありました。名古屋地区では、薬学といえば名古屋市立大学と岐阜県立薬科大学があり、両方受かったのですが、勤めていた会社には内緒でした。

佐地 会社にお勤めしながら受けたのですか。

後藤 はい。働きながら、入学資金をためていたので、授業料の安い名古屋市立大学を選びました(笑)。

佐地 大学生活はいかがでしたか。

後藤 入学したものの全然おもしろくなくて、1年、2年の教養課程はほとんど何もしないで遊んでばかりいました。アルバイトと、あとは柔道部員と親しかったので、道場へ行って柔道の練習をするとか、そんなことばかりやっていました。

最後に4年生になってから、卒論のために薬理の研究室に入りました。そのときの薬理の先生が東京大学から来たばかりの新進気鋭の方でした。

佐地 卒業後すぐに東京大学の薬理学教室に入っていますが、その先生の影響があったのですか。

後藤 そうです。3, 4年になってもまだ自分の将来を決めかねていて、就職を考えていたところ、まだ上に大学院があることを聞いて、「それなら行けるころまでとことん行こう」と、大学院に進む決心をしました。

当時、名古屋市立大学は修士課程しかなく、博士課程までなかったのです。博士課程がある薬学は、大阪大学か京都大学まで行かなければなりません。そうしましたら、その東京大学から来た先生が、「そんなところまで行くのなら東大を受けなさい」というので、東京大学の大学院に行ったのです。

たまたま私の受験した年から、東京大学の大学院が全員同じ条件の入学試験制度になったのです。

佐地 東大の安田講堂事件のころですね。

後藤 そうです(笑)。私が入って2年後に安田講堂事件が起きました。

佐地 先生は籠城されてはいませんか。

後藤 私は、幸か不幸か大学に入る前に働いていたでしょう。そのときに私が勤めていた会社は非常に強力な連中のいる労働組合がありまして、私は彼らにずいぶんかわいがられたのです。ですから、学生運動で学生のいう話を聞いていても、その筋金入りの組合にいた彼らの話と比べると、とても幼く思ってしまったのです。結局、私は大学に入ってから学生運動を一切しませんでしたね。

そして、安田砦のとき私は東北大学医学部に行っていました。そこに鈴木泰三先生という平滑筋の電気生理学を専門にしている先生がおられまして、その先生の応用生理学教室に半年間、修行に行っていたのです。ちょうどそのときに安田砦の事件が起きましたから、私は東北大学でテレビを見ていました(笑)。いろいろな面で巻き込まれなくてすみました。

筑波大学へ—平滑筋の研究

佐地 その後、1977年に筑波大学に行かれたのですか。

後藤 そうです。当時、榊原任先生や堀原一先生たちが中心になって筑波大学の医学部(医学専門学群)を1973年に作ったのです。そのとき、薬理の助教授として呼ばれたものですから面接を受けに行ったのですが、私はその時すでにアメリカに行く約束をしてしまっていました。ですから、アメリカから帰ってきて1977年に筑波大学に行きました。

佐地 それでは、もし先生がアメリカに長くいらっしやったら、日本はエンドセリンの後塵を拝する結果になっていましたね。

後藤 当時はそういう研究をやっていなかったですよ(笑)。ずっと平滑筋の薬物感受性変化に関する研究をしていましたから。

佐地 血管も含めてですか。

後藤 当時、血管はとても手に負えませんでした。血管平滑筋細胞に微小電極を挿入しても、まったく反応しません。ですから、実験をやってもおもしろくありませんでした。電気生理学的には、後になってパッチクランプが出てきてからおもしろくなってきました。やはり各種イオンチャネルの反応があるわけです。また、分子生物学が発達してきて、もう少し生化学的な、あるいは遺伝子的な研究ができるようになると、さらにおもしろくなってきたのです。

平滑筋の研究は、最初は消化管でした。消化管は自動運動があったりして、電気生理学的におもしろかったのですが、時代を経て、消化管系から完全に循環器系(血管平滑筋)の研究に主力が移っていきました。

佐地 どのような研究だったのですか。

後藤 少し話が長くなりますが、たとえばネコの上頸神経節を切除しておくとか交感神経系の刺激が伝わらなくなり縮瞳が起こってしまいます。ところが、ネコを脅かすと、普通よりももっと瞳孔が開きます。つまり普段伝わっている刺激が消えてしまうと、レセプター側の交感神経伝達物質(ノルアドレナリン)に対する感受性が上がってくるわけです。ですから、ネコが興奮して副腎髄質から血中に放出される同じ

雄先生(現・千葉大学教授)、矢崎義雄先生(現・国立病院機構理事長)などのお名前があります。実に豪華なメンバーですね。

当時、この研究を始められたバックグラウンド、この物質に関する研究を始められたきっかけはどのようなことだったのでしょうか。

後藤 つくばは日本でも有数の養豚地帯で、大学の周りには屠殺場がたくさんあります。そこでブタの脊髄をもらってきて、木村定雄先生が脊髄の中から神経ペプチドを単離・精製する研究をされていて、私たちはそのお手伝いをしていました。

そうしましたら、あるとき非常に強い血管拡張作用を持って、一部心臓機能の促進作用もあるというペプチドが見つかりました。構造を調べたところ、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(calcitonin gene-related peptide; CGRP)だったのです。CGRPは非常に強い血管拡張作用を持っています。これは1984年か85年のことですが、その時点ではCGRPはまだ自然界から見つかっていなかったのです。サンディエゴのAmara先生らが1982年に「Nature」にカルシトニンの遺伝子解析結果を報告していました³⁾。実はその遺伝子の中に未知の、あるペプチドがコードされているということで、彼らがカルシトニン遺伝子関連ペプチドという名前をつけて、こういうものがあるということを予言していたのでした。たまたま私たちが見つけて、単離・精製、構造決定をしたら、それだったのです。

ですから、木村先生は少しがっかりしたと思うのですが、私たちとしては、今までになかった物質ですから、これはおもしろいから少し研究してみようということで、いろいろ調べてみますと、末梢の知覚神経に含まれているのです。サブスタンスPやCGRPが知覚神経末端に貯蔵されていて、知覚神経が異常興奮すると末梢から遊離され、周囲の血管を拡張させるため、発赤が起きたりするのです。これは新しい血管拡張作用ではないか、あるいは血流改善にも役立っているのではないかということで、研究を進め、少しずつデータを発表していましたが、学会でもけっ

こう注目されました。ささやかな花火を上げていたわけです。

そうしたころ、ちょうど柳沢正史先生がドクターコースに入ってきました。彼は眞崎知生先生(現・筑波大学および京都大学名誉教授)の下にいて、収縮蛋白の研究中で、平滑筋のミ

オシンの構造を決めるため、遺伝子クローニングの方法を習得しに岡崎市の基礎生物学研究所へ1年間派遣されていました。

柳沢先生は大学に帰ってからたった1年間でミオシンの全アミノ酸組成を決めてしまいました。当時、平滑筋ミオシンの構造というのは世界でも2番目に大きな蛋白だったのです。それで彼は、博士課程2年の終わりに、膨大な論文を書いています。それだけでも十分に博士論文に値するものです。

そして、博士課程2年の終わりのときに、柳沢先生は生理機能をもった私たちのCGRPのような活性物質の研究のほうがおもしろいと、私のところへ来たのです(写真4)。

佐地 CGRP研究を続けている中で、エンドセリンという物質に注目したのはなぜですか。

後藤 1985年と86年に2つの米国の生理学グループが別々に、血管内皮細胞(以下、内皮細胞)の培養液の中に強力な血管収縮物質があるという論文を出しました⁴⁾⁵⁾。

当時、私がおの1985年の論文を若い研究生に渡し、研究室の中で論文紹介をさせましたが、そのときはみんな冷たい反応でした。培養液には何が入っ



写真4 柳沢正史先生(JST提供)
現テキサス大学サウスウェスタン医学センター教授

ているかわかりませんし、ひょっとしたら血清蛋白が分解して活性物質ができていないかといった、そういう反応だったのです。

ところが、先ほど先生がおっしゃったように、1980年にFurchgott先生らが血管拡張物質である内皮細胞由来弛緩因子(endothelium derived relaxing factor ; EDRF)についての論文を出しましたよね。まだその時は、EDRFの本体がNOであるということがわかっていませんでした。わかったのは1987年です。ですから、当時はまだみんながEDRFの研究をしていたわけです。

この1985年の論文を書いた教室でも、たぶん培養液の中に弛緩物質がたまっているのではないかという想定で研究していたと思いますが、予想に反して収縮物質であったというわけです。

その論文が私の頭の中にずっと残っていて、それから1年ほどして柳沢先生がやってきたときに、彼は彼自身でいろいろ勉強して、まったく別のルートからその論文を探してきて、「こういうおもしろいものがあるのです」といつてきたので、「まさに私が考えていたものと同じだ。それじゃあ、やろう」ということになりました。それが1987年の春です。

佐地 では、研究を開始したのは、「Nature」の出るたった1年前だったのですか。

後藤 はい。2月ころ、柳沢先生が私のグループに入ってきて、始めたのが3月です。ところが、いろいろな幸運が重なって、この膨大な論文が全部できあがったのが11月でした。ですから、1年どころか、たった8、9カ月で全部やってしまったのです。

佐地 すごいですね。ふつうは2、3年はかかりますよね。

後藤 なぜそのようにうまくいったかという、1つは、先ほどいったように、私たちは神経ペプチドを単離・精製して、その構造決定まで持っていくというベルト・コンベアができていましたから、それに

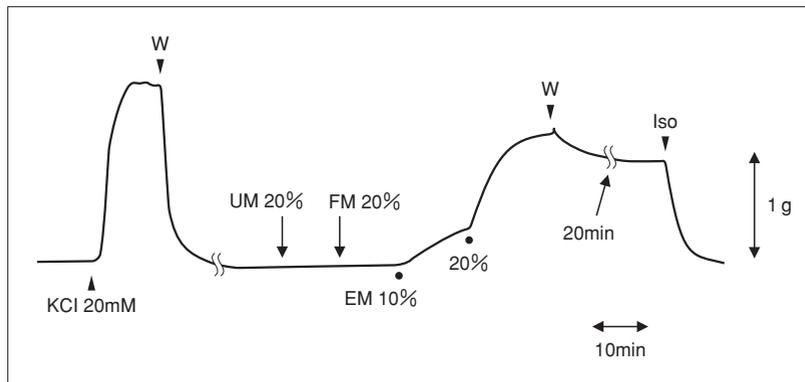


図1 内皮細胞培養液の血管収縮活性の測定

ブタ冠動脈のらせん状標本を、通気して37℃に保温した生理的溶液の入ったオーガンバスに懸垂し、収縮張力を測定したもの。細胞を培養していない培養液(UM)や線維芽細胞を培養した培養液(FM)を添加しても収縮しないが、内皮細胞を培養した培養液(EM)を添加すると収縮が生じた。

乗せればよかったということ。もう1つ非常にラッキーだったことは、偶然日本でもその時点で内皮細胞の培養法が確立されたということでした。

現在の産業技術総合研究所で、当時は工業技術院と呼ばれていましたが、そこに私の東京大学薬学部時代の同期である三井洋司先生がいました。彼は当時、今でもそうですが、内皮細胞の研究では日本の第一人者でした。彼がたくさん内皮細胞を飼っていたのです。

早速、彼のところへ行って内皮細胞の培養溶液をもらってきて、ブタ冠動脈の収縮実験をやってみたのです(図1)。

佐地 ブタですね。

後藤 ええ。養豚地帯ですから(笑)。そうしましたら、普通の培養液とか、何も培養していないとか、線維芽細胞(fibroblast)の培養液をオーガンバスに添加しても、まったく収縮しないのに、内皮細胞の培養液を少量加えた時のみ収縮するのです。これは、内皮細胞から血管収縮物質が培養液中に遊離され、蓄積していることを意味します。

その結果、「あの論文は本当だ」ということになって研究を始めようとしたのですが、培養液には、FCS(fetal calf serum)、つまりウシ胎児の血清が入っていますから、ペプチド類、蛋白類などの妨害物質が

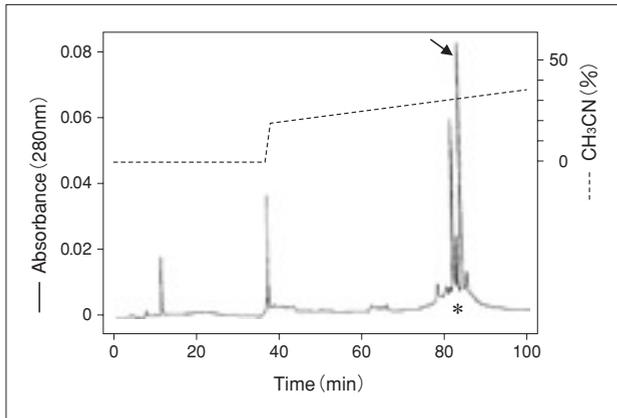


図2 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるペプチドの単離・精製

たくさんあるわけです。そういう中から微量な活性ペプチドを単離・精製するのは困難だろうと思い、無血清で培養してみたところ、驚くことに、1週間、2週間は内皮細胞が平気で生きているのです。しかも、同じようにこの活性物質をちゃんと遊離していました。

佐地 普通はFCSを入れないとだめになってしまいますね。

後藤 そうです。三井先生も、無血清で培養するなんてとんでもないといっていました。しかし、「よし、これならいける」ということになり、無血清で大量培養をすることになりました。そこで、10リットルくらい集めました。

佐地 培養液を替えるだけでも大変ですね。

後藤 そうです。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)のカラムに吸着させて、流出液としてのアセトニトリル(CH₃CN)の濃度を漸増することにより(点線)徐々に流出させるわけです(図2)。矢印のピークはX線吸収で、おそらくアミノ酸の芳香族環をモニターしているのだと思うのです。無血清でやってもこんなにたくさんあるのですから、血清存在下ではもっといろいろな物質が出てきます。

各分画の約50μLずつを5mLのオーガンパスに添加します。この場合は40から100分画目までの60分画ぐらいのものを一つひとつ丁寧にやっていくわけ

です。そうすると、この分画(図2の*印)に収縮活性が見出されます。実は、この前段階として活性を示した分画だけを回収して同様の操作を既に2回行っており、図2は最後の段階です。これは完全にシングルピークになっていて、この分画を回収して同じことを繰り返しても、もうこれ以上は分かれません。つまり、目的の物質(ペプチド)が単離・精製されたわけです。

次に自動アミノ酸シーケンサーにより、ペプチドのアミノ酸組成を調べることとなりますが、当時、自動アミノ酸シーケンサーは筑波大学にはありませんでした。

佐地 どこにあったのですか。

後藤 岡崎の生物学研究所にあったのです。それで、柳沢先生がそのシーケンサーを借用してアミノ酸組成を決めてきたわけです。最初は20個のアミノ酸からなるペプチドだということがわかりました。10リットルから単離・精製して取れるのが、おそらく数ナノグラムで、見えないくらいです。1個ずつアミノ酸を決め、最後までいって全部使い切りました。だんだん収量が悪くなってくるわけですね。「よし、20個だ」ということで、これを株式会社ペプチド研究所に合成してもらいました。

ところが、その合成ペプチドには活性がなかったのです。それで「おかしいな」と考えていたら、ペプチドケミストリーの専門家である木村定雄先生は、シーケンサーの反応はエドマン反応なのだという指摘されました。インドール骨格が分解してしまうわけです。ですから、トリプトファンがどこかにあるということで、トリプトファンをC末端部につけ加えました。実は別の抽出してきたものから、C末端部にトリプトファンがあるということも確かめて、もう一度、21個のものを合成してもらったら、天然のものとピタリと一致した活性を持っていたのです(図3)。

佐地 柳沢先生が、卒業後3年目にこの論文を書かれたことは、当時われわれも「えっ」と驚きました。15歳も20歳も年下なのだけれども、3年目でこんなす

ごいものを出したのかと。

後藤 彼は本当にすごい人です。分子生物学的研究は全部、彼がやりました。われわれは生理薬理学的研究を分担するわけです。おもしろいことに、21個のアミノ酸中に4個のシステインが存在し、2組のS-S結合を作ります。最初は1-7, 5-11の組合せのタスキ掛け(intersect)だと思っていましたら、そうではなく、外-外(1-11)と内-内(5-7)の同軸(coaxial)の組合せでした。

サソリの毒素などのいろいろなトキシンのS-S結合はタスキ掛けのものが多いためです。それで、「Nature」に投稿した時点では前者の構造で、その後すぐに後者の構造であるということがわかって、ゲラの段階で差し替えたのです。

佐地 投稿されてからまた実験をされたのですね。

後藤 株ペプチド研究所において、NMR像の解析などにより、判明したようです。話は戻りますがこの間に、柳沢先生はこれのアミノ酸に匹敵するオリゴDNAを使って遺伝子をクローニングするのです。当時、もうすでに内皮細胞のcDNAライブラリーを売り出していたので、それを買って、クローニングしたわけです。

佐地 そうやって見つけたものと作ったものの全てがピタッと合ったのですね。

後藤 そうです。それで、おそらくこういう生合成経路を取るのであろうと。当時、これはまだ完全に予想図だったのです。最初にこういう大きな前駆体蛋白が翻訳されてきて、それがプロセッシングエンザイムによってプロセッシングされて、中間体ができます。最後に、特殊な酵素、これはエンドセリン変換酵素(endothelin-converting enzyme)と名前をつけたのですが、これにより中間体が切断されて最終的な活性物質になります(図4)。この予想経路はピッタリ合っていました。

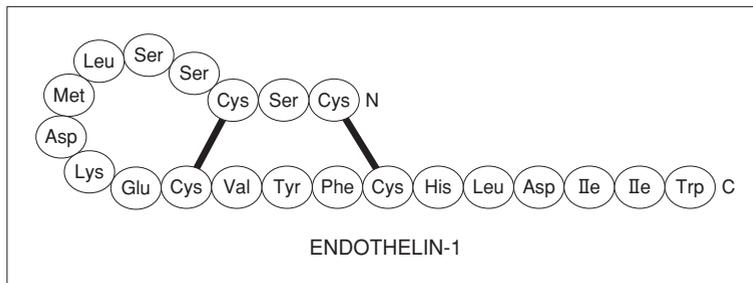


図3 エンドセリン-1のアミノ酸組成

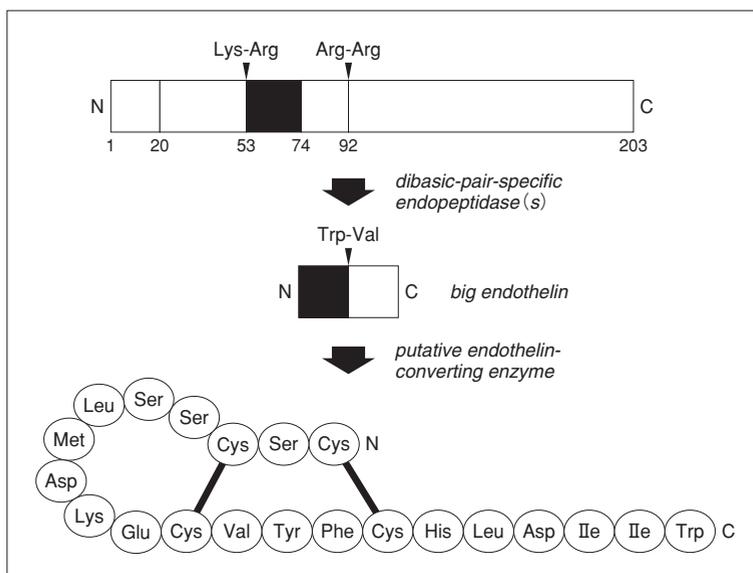


図4 エンドセリンの生合成経路

エンドセリンmRNAからまず203個のアミノ酸よりなる前駆体蛋白が翻訳され、次に細胞内プロセッシング酵素(endopeptidase)により塩基性アミノ酸対リジン・アルギニン(Lys-Arg)およびアルギニン・アルギニン(Arg-Arg)の隣接部位で切断され、39個のアミノ酸よりなる中間体(big endothelin)が産生される。続いて、エンドセリンに特異的な変換酵素(endothelin-converting enzyme)によりトリプトファンとヴァリンの間で切断され、21個のアミノ酸よりなる最終的な活性物質エンドセリンが産生される。

佐地 毎週実験をして新しい結果がどんどん出てきたのですね。

後藤 大騒ぎでした。

佐地 皆さんで興奮していらっしやったのでしょね。

後藤 柳沢先生と木村先生と私で、ほとんどすべてをやりながら、逐一、眞崎先生には報告していました。

.....
 「Nature」論文の反響

佐地 この「Nature」論文の反響はいかがでしたか。

後藤 当時のこの論文にまつわるエピソードを少しお話すると、3月31日に出版されたよね。実際にイギリスの人々が目にするのは4月1日です。

佐地 まさかエイプリルフールではないかと(笑)。

後藤 そうなのです。当時、William Harvey Research Instituteの所長をしておられたJohn R. Vane先生が、うちの若い連中がこのペーパーを持って、これはエイプリルフールの冗談かといって、びっくりして飛んで来たという話をしてくれました。

佐地 彼らは内皮細胞で血管拡張物質をたくさん見つけてきたのに、内皮細胞から血管収縮物質が出てきたのですからね。

後藤 そうです。彼らはプロスタサイクリンですからね。

佐地 本当にエイプリルフールとしか反応のしようがないですね。

後藤 Vane先生は、実はこの論文が出て1週間後につくばに来られました。日本人も含めて、世界中でだれよりも早くつくばに来られたのです。

佐地 これが、その時の第2回つくば賞の写真ですか(写真5)。

後藤 そうです。懐かしいですね。Vane先生も同時につくば賞(特別賞)を受賞されました。

佐地 エンドセリンの発見は大変画期的なものでしたので、ノーベル賞のお声がかかるのではないかと考えていました。

後藤 むしろ90年代のほうがそういう声が強かったですね。眞崎先生がよくノミネートされていました。今世紀に入ってからは少しトーンダウンしています。ところが、最近、臨床的にすごい期待があるという



写真5 第2回つくば賞の写真

左から3人目が後藤先生、右から4人目がVane先生

ことで、今また注目されているのです。捲土重来といったところでしょうかね。

佐地 NOもそうですが、発見されてから10年、15年たつて、もう一回見直されて追試がされて、確かな事実がまた出てきて、それが臨床応用されて初めてもう一回注目されるのですね。

後藤 そういことです。ですから、90年代の終わりごろから2000年代の最初のころまでは、ほとんど忘れられていたと思うのです。特に日本ではそうでした。

佐地 日本の製薬企業が必死になってエンドセリン受容体拮抗薬を開発していましたね。

後藤 ええ、そのとおりです。ペプチドの単離・精製、構造決定、遺伝子解析、生合成経路の予測、そして薬理作用が含まれた、私たちの「Nature」に掲載されたエンドセリンに関する世界最初の論文は、重要な事柄を網羅しており、仰天させるに十分だったと思います。

ポンとエンドセリンを単発静注しただけで、最初に血圧が急降下した後じわじわと上昇し、この上昇が1時間以上も持続します。こんな大変な物質が本当にわれわれの生体内にあるのか、という驚きがまずあったと思います。製薬企業では、エンドセリン

が高血圧等の疾患の原因物質と想定して、受容体拮抗薬を創薬に結びつけたのは当然でしょうね。

前述しましたように、当時この研究を始めるときには、2つのアメリカのグループが先行していましたので、先を越されるかもしれないと危惧していました。

佐地 どちらの大学ですか。

後藤 先述の文献4と5のグループのことを指しています。オハイオと、もう1つはシンシナティだったでしょうか。後から聞いてみましたら、その時点でもまだゲル濾過で分離したものを適用しているとか、そういう感じでした。実はその2人にも後日会って、いろいろ話を聞いたのですが、「やられた」と嘆き喚いていました。彼らはこれを「Science」に最初に投稿したそうですが、当時査読をしていた人から、分画だけで掲載しようなんてとんでもないといわれたとか、いろいろ話してくれました。

佐地 先生たちは、完ぺきに裏まで取って出したということですね。

後藤 そうです。

その後の研究の進展

佐地 この論文が出たとき、私は留学中で、自分でもブタの冠動脈の内皮細胞を採ってきて培養したり、ヘパリンやPDGFを加えて、平滑筋と比べてどちらが減るかというような研究をやっていたのです。当時、次から次に発表される論文で、最初、エンドセリンは血管収縮物質だと思っていたら、今度は血管拡張作用があると。エンドセリンにはほかのファミリーがあって、受容体もいくつかあるということがわかってきたのですが、その辺で私は「なんだ、この物質はわからないな」と迷いました。

受容体とほかのアミノ酸組成が異なるET-1, 2, 3のファミリーに関しては、研究の進展はどうだった

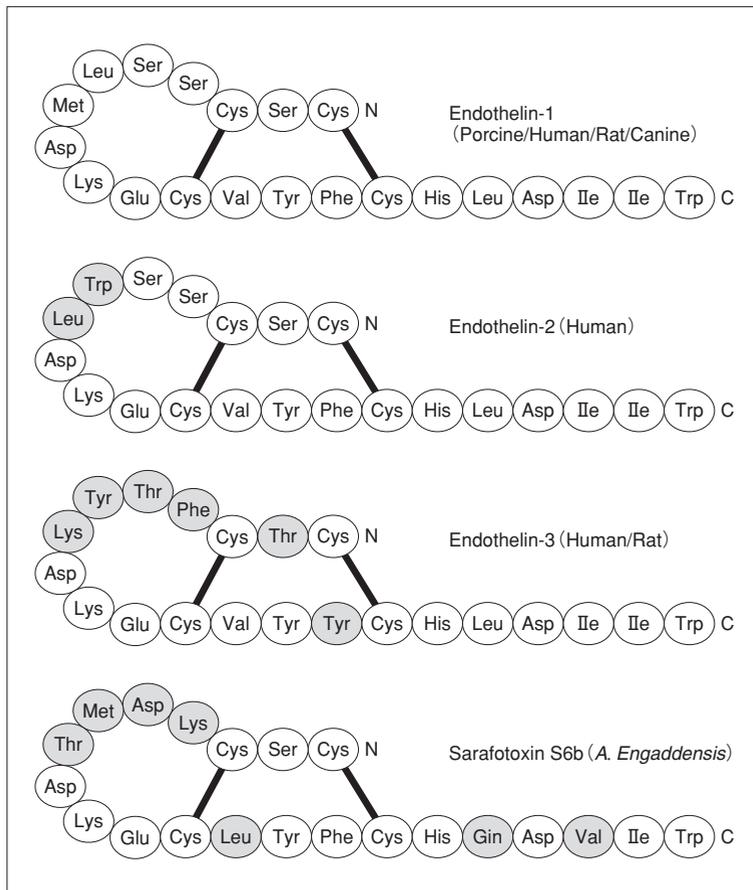


図5 3種類のエンドセリンファミリーペプチドとサラフォトキシシ
サラフォトキシシ(Sarafotoxin)はイスラエル産穴ヘビ(*Atractaspis engadensis*)の唾液腺から分泌されるペプチドで、やはり3種類のファミリーより成る。ちなみに、この蛇に咬まれると心筋梗塞様の症状を呈するという(おそらく冠動脈収縮による)。(文献8)

のでしょうか。

後藤 その後、すぐでした。1990年にエンドセリンA, B受容体のクローニングが「Nature」に2つ続けて載りました。B受容体は私たちの研究室の桜井武先生が行いました⁶⁾。もう1つのA受容体の論文は京都大学の中尾一和先生のグループで、荒井宏司先生という方でした⁷⁾。受容体は2つとも日本でクローニングされました。

ちょうど同じころ、ヒトのDNAの分析から3種類のエンドセリン・ファミリー(ET-1, 2, 3)が存在するというについても私たち筑波大学から発表しました(図5)⁸⁾。

があるということは、どのような研究の流れがあったのでしょうか。後藤 その当時、筑波グループは、眞崎先生が京都に、柳沢先生がアメリカへ行ってしまったのを機にバラバラになってしまいました。柳沢先生はアメリカへ行って徹底的に遺伝子改変動物の作製をやりました。彼の場合はレセプターも converting

enzymeも、全部ノックアウトマウスを作製していました。そして個体発生におけるエンドセリンの役割に関する実に見事なストーリーを作り上げたのです。それは立派な仕事だと思います。

一方、私たち筑波グループではもう少し泥くさいことをやろうと思っていました。ちょうど循環器内科の宮内卓先生(現・筑波大学教授)がいたものから、もう少し病気に直結したこと、病態生理的研究をやろうということで、なるべく人がやりたがらないことをやろうとしたのです。普通の本態性高血圧では、日本には多くの研究者がいるので、今さら研究しても仕方がないですから。

偶然、私が悲惨なモデルを知っていたのです。最初に少し申し上げたように、循環器系の仕事をするときにいろいろな勉強をしました。ちょうどそのとき肺高血圧モデルを勉強して知ったのです。自分で実際にモノクロタリンを投与して作ってみましたら、きわめて短期間に悲惨な症状を呈します。約3週間で立派な肺高血圧になります。

極端な症状を示すほど解析がしやすいですから、私は全身の血管と肺循環の血管が違うとか何とか、そういうことを全然知らないで、とにかく人がやらないことをやろうと始めたのです。

そして、宮内先生とこの肺高血圧に関する研究を始

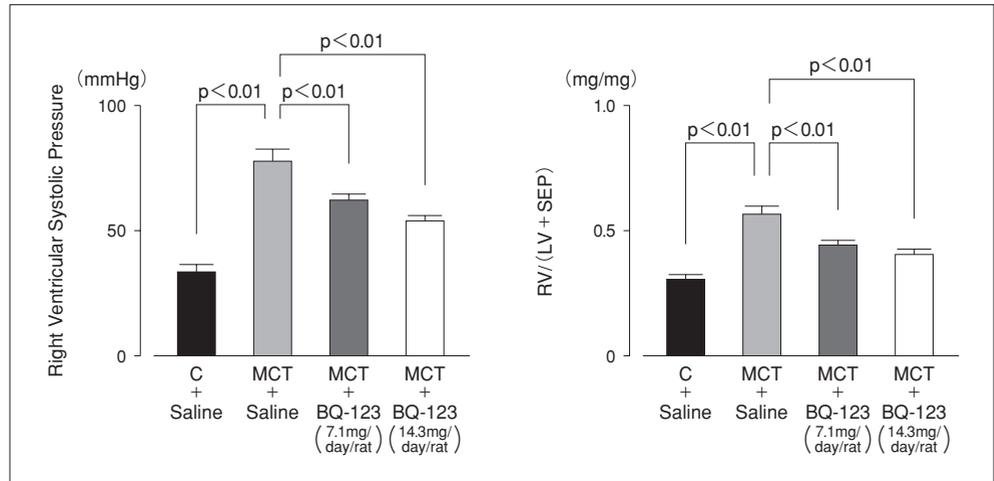


図6 エンドセリン受容体拮抗薬のモノクロタリン誘発ラット肺高血圧に対する効果(文献10)

めてみましたら、エンドセリンの研究とピッタリ合ったのです。血中濃度や組織濃度がどんどん上がっていくのと、心肥大ができることや右心室圧(肺動脈圧を反映)が上がるのが、ほとんどパラレルです。それで、「拮抗薬の効果を試してみよう」ということで、当時はまだエンドセリン拮抗薬はBQ-123しかありませんでしたので、万有製薬からBQ-123を大量にいただきました。

しかし、この薬はペプチドですから、餌に混ぜて経口投与するわけにはいきません。浸透圧ミニポンプを埋め込んで、浸透圧で徐々に放出させるという方法で持続的に投与していきました。そうしましたら、症状が見事に抑えられているのです¹⁰⁾(図6)。

佐地 これはぼくにとっては有名なというか、何回も見ている論文です。

後藤 そうですか。この論文には非常に大きな意味があるのです。というのは、第1にエンドセリンが臨床的疾患にきわめて密接に関与しているということ、世界で初めて実験的に示したデータなのです。第2に、慢性疾患をどうやってフォローしていくかということ新たに考案したことです。従来の薬理学的実験では、高血圧対策といっても、薬物を単発投与して「あっ、血圧が下がった」とか、そういう急性期の実験しかやらなかったわけです。疾患の経時

変化を追ってきちっと解析していくということがなかったのです。

この論文では、経時的に症状を追い、そして、もし生体内で産生されたエンドセリンが関係ありそうなら、その作用を最初からずっと抑えてみたらどうなるかということをやってみたわけですが。そういう意味では、これが病態生理の最初の論文です。

宮内先生は、これで一躍世界的に有名になりました。日本循環器学会のYoung Investigator's Awardを取り、なおかつAmerican Heart Association(AHA)のYoung Investigator's Awardを受賞したのです。

佐地 32年間でAHAのYoung Investigator's Awardを取った日本人は、5人くらいしかいないですね。

後藤 そうです。そういうことがあって、その後われわれは心不全など、いろいろなことに対して執拗に病態生理をやってきたのです。いろいろなモデルを作って研究しました。このころ、この仕事に非常に興味を示したのがMartine先生でした。

佐地 私は何回かエンドセリンとボセンタンの会議でお会いしたのですが、朝食を食べながらとても熱心に実験の話をしていただきました。

生みの親と育ての親

佐地 Martine先生によって、ボセンタンが生まれたのですね。

後藤 日本ではエンドセリンの臨床応用については、どの企業もやる気が全然なかったのですが、Martine先生はずっとこれに注目していたのです。世界中のどの大手の製薬企業もほとんどみんな自分独自の拮抗薬を持っていましたが、様子見でした。

肺高血圧症は難病に指定されていて、これを対象とするとオーファン・ドラッグになりますから、大手の企業は積極的ではありません。ところが、Martine先生は果敢に市場調査をやってきました。

今まで何回か開催された国際会議で日本に招待した人々(第一線で患者を診ている人)の現場へ行って、彼女はとことん話し合ってきて、「これならいける」



写真7 アクテリオン創成期のメンバー(1997年12月)
真ん中がMartine Crozel先生

ということで、ロシュから独立してベンチャー会社を作ったのです。ロシュからパテントを買い上げて、肺高血圧治療薬に絞って始めたのです。

佐地 それがアクテリオン・ファーマ社ですね。

後藤 そうです。スイスのバーゼルにあります。最初は5人で始めましたが(写真7)、今ではバーゼルだけで社員が1,000人以上います。

佐地 それができ10年経つのですね。

後藤 10周年なのです。アクテリオンが10周年、エンドセリンが20周年です。Martine先生とも長い付き合いになります。

佐地 まさにエンドセリンの生みの親は先生で、エンドセリン受容体拮抗薬の生みの親がMartine先生ですね。

後藤 そうですね。

佐地 ボセンタンという薬はいま世界で4万人以上、日本でも1,800人近くの方に処方されて、多くの肺高血圧の患者さんたちがこのボセンタンによって心不全は軽くなるし、生存率は高くなるし、生存期間が長くなる。ものすごく恩恵を被っています。

エンドセリン受容体拮抗薬の新たな可能性

佐地 今後の臨床応用について、1つは、シタックスセンタンとか、アンブリセンタンとか、いくつかの新しい製剤が出されていますが、今後、新たなエ

ンドセリン受容体拮抗薬が出るのか、それともエンドセリンの変換酵素のほうに発展していくのか。先生のご意見はいかがでしょうか。

後藤 まだしばらくは受容体拮抗薬で行くと思います。先生もご存じのように、受容体拮抗薬が最近少し注目を集めているのは、肺高血圧だけではなく、膠原病に効くことがわかったからです。しかも、驚くことに、膠原病による肺高血圧だけではなく、指の潰瘍まで治します。

つまり、エンドセリンの一番重要な作用は、血管収縮も大事ですが、1つは線維芽細胞の活性化、それから細胞増殖という作用が非常に強いのです。ですから、膠原病のような疾患を治すのです。そして、もう1つはメラノーマ(悪性黒色腫)です。エンドセリンはメラノサイトの発生・増殖に必須な物質なのです。いま欧米ではメラノーマの臨床試験をやっています。

佐地 メラノーマに対してエンドセリン受容体拮抗薬ですか。それはすばらしいですね。

後藤 驚くようなことばかりなのです。しかし、考えてみると、これはもっともなことなのです。

佐地 細胞増殖という面ではそうですね。

後藤 柳沢先生のアメリカの仕事では、エンドセリンB受容体をノックアウトすると黒いマウスから白いマウスが生まれてくることがわかっています。

佐地 メラノサイトの成熟分化がなくなってしまうのですね。

後藤 それから、われわれが日焼けして皮膚が黒くなりますね。あれも一部エンドセリンが絡んでいるようです。おそらく、ケラチノサイトあたりが紫外線によって活性化されると、エンドセリンを遊離して、周りにあるメラノサイトを増殖させ活性化させてメラニンを作らせるのではないのでしょうか。最近では、エンドセリンを抑える効果を利用した化粧品も登場しています。

佐地 もう身近な存在なのですね。そのほかに、最近では呼吸器疾患の分野で、線維化と炎症の惹起ということで、肺気腫や間質性肺炎、肺線維症にも効

くのではないかといられていますね。

後藤 閉塞性肺疾患ですね。

佐地 ええ。閉塞性肺疾患や喘息などにもこのエンドセリンが関与しているということで、ボセンタンの効果がささやかれています。このように今後、心筋肥大、血管収縮、動脈硬化、高血圧以外でも、呼吸器系の喘息や肺気腫、肺炎と、どんどん肺・心臓という臓器を超えて広がっていく感じですね。

後藤 そんな感じがします。まもなく日本で、くも膜下出血後のspasm(脳血管攣縮)予防の臨床試験が始まるようです。非常に効果があるそうです。Spasmが起こってからでも効果があるそうで、驚いています。

佐地 そうですね。Spasmに関しては、トロンボキサン受容体拮抗薬のオザグレルという薬剤が承認されていますが、そうしますとトロンボキサンで誘発した血管収縮なども、もしかするとエンドセリンが関与している可能性もあるということですね。

後藤 関与しているかもしれません。

佐地 それはすばらしいことですね。

臨床現場の声を開発者に

佐地 長いストーリーがあつという間に過ぎてしまいましたが、振り返ってみると、そのときは夢中になっているから、先生は短いとお感じになるかもしれませんね。

後藤 とても、おもしろかったですね。次から次へとやることなすこと当たるものですからね。

佐地 偶然にそういった先生が筑波大学の研究室に集まったことから始まったわけですね。

後藤 そういうことです。

佐地 それが第一ですね。それから、Martine先生は、先生がおっしゃったように、現場に出てきていただいたということ。

後藤 日本の大学の先生はそんなことはほとんどやりません。製薬企業の人あまりやらないでしょう。

佐地 そうですね。私はオーファン・ドラッグを使う

生理学的研究にいたる話をすると、多くの方々の感想に、「すごい執念ですね」という言葉があります。執念を持ってやったわけではなく、ただおもしろいからのめりこんでいるところがありますが、あまりキョロキョロしないでやったのは確かです。ある程度態度を決めたら、しっかりそれをやっていくことが大事だと思います。

それから、本当は何が大事か、どのように攻めていかないといけないか、そういうことをしっかり考えないで、ただ惰性でやっているのはだめですね。そのためには、やはりきちっとした勉強をする必要があります。

実は今、アクテリオンアカデミアで若手の臨床の先生を対象に研究費を募集しています。応募された書類の内容を見ていると、目のつけどころは悪くないのだけれども、いかにも勉強不足だということがわかります。臨床の先生はお忙しいから大変だとは思いますが、せっかくよいところに目をつけたのですから、背景をしっかり勉強していただいて、まっすぐに進むことが大切だと思います。

研究に必要な3つのファクター

佐地 先生が現在おられるJSTイノベーションサテライト茨城(写真8)では、どのような仕事をやられていて、今後どのようなことを目指していらっしゃるのですか。

後藤 これは、産官学連携の推進を後押しする仕事です。特に大学などの研究成果を、できたら将来実用化したいと思っています。将来の日本は、新しい産業を興さないと先がありません。今、国を挙げてそういうことをやろうとしています。われわれは、大学から出された研究成果を審査して、いいものには助成金を出すことをしています。

大学の先生は、確かに基礎研究は一生懸命にやるのですが、それが社会にどう役立つか、役立たせるためにはどうしたらいいか、そういうことをほとんどお考えにならないのです。せっかく実用化すると



写真8 つくば研究支援センターの3階にあるJSTイノベーションサテライト茨城

いう目的のあるお金を取ったにもかかわらず、いまだに科研費と同じ考え方でやっている人もいらっしゃいます。

そういう人に助成した場合には、研究者に来ていただいて、あるいはこちらからコーディネーターが出かけて行って、もっと実用化するためにこういうことをやってくださいとか、いろいろ話し合っています。

佐地 JSTというのは何の略ですか。

後藤 科学技術振興機構(Japan Science and Technology Agency)です。

サテライトはつくば市をはじめ全国16カ所がありますが、本部は東京の市ヶ谷にあります。旧本部は川口市にありましたが、実質的な本部は市ヶ谷に移っています。

われわれはサテライトを作って、できるだけ地域イノベーションの振興、地域の大学の先生と、特に地域の中小企業、あるいは新しいベンチャーの支援をしていくことを目指しています。

つくばの場合、大学だけではなく、旧国立研究所があるでしょう。つくば市にはだいたい研究者が1万5,000~6,000人います。ドクターは5,000~6,000人です。ところが、その人たちは相変わらずひたむきに自分の研究だけをやっているのです。ですから、



つくばにあれだけ国費を投じたのに、つくばから何も出てきません。そこを変えていきたいと思います。

佐地 いい研究には3つのファクターが必要であるといえます。まずよき指導者、それからよきフィールドです。フィールドというのは、私たち臨床だと患者さんが偶然その病院に集まってきたという偶然がありますが、研究をやられている方はいい研究室が必要である。設備もそうですが、いい雰囲気がある。最後は、お金がないとできない。この3つがそろるといい研究ができると前に教わったのです。

後藤 まったくそのとおりです。

佐地 つくばでも、よい研究者と施設、それに先生のJSTが加わって、ぜひこれからよい研究成果を出して行ってほしいですね。

本日はどうもありがとうございました。

後藤 どうもいろいろありがとうございました。

文 献

- 1) Goto K : Electrophysiological analysis of colchicine-induced supersensitivity in the rat vas deferens. *J Physiol* 1980 ; **308** : 456-477
- 2) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al : A potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial

cells. *Nature* 1988 ; **332** : 411-415

- 3) Amara SG, Jonas J, Rosenfeld MG, et al : Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature* 1982 ; **298** : 240-244
- 4) Hickey KA, Rubanyi GM, Paul RJ, Highsmith RF : Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1985 ; **248** : C550-C556
- 5) Gillespie KA, Owasoyo JD, McMurthy IF, O'Brien RF : Sustained coronary vasoconstriction provoked by a peptidergic substance released from endothelial cells in culture. *J Pharmacol Exp Ther* 1986 ; **236** : 339-343
- 6) Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, et al : Cloning of cDNA encoding a non-isopeptide selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990 ; **348** : 732-735
- 7) Arai H, Hori S, Aramori I, et al : Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 1990 ; **348** : 730-732
- 8) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, et al : The human endothelin family : Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; **86** : 2863-2867
- 9) Clozel M, Brew V, Burri K, et al : Pathophysiological role of endothelin revealed by the first orally active endothelin receptor antagonist. *Nature* 1993 ; **365** : 759-761
- 10) Miyauchi T, Yorikane R, Sakai S, et al : Contribution of endogenous endothelin-1 to the progression of cardiopulmonary alterations in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circ Res* 1993 ; **73** : 887-897