

薬物トランスポーター研究の32年をふりかえって： 高齢者の個別化医療へ新展開

理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター 石川智久

今から約35年前、私がまだ大学生の頃読んだ或る生化学のテキストには、次のようなことが書かれていた。「生体内において、疎水性の異物はチトクロームP-450等のモノオキシゲナーゼによって酸化され、その後グルタチオン、グルクロン酸、あるいは硫酸抱合をうけ、より親水性の化合物に代謝される。そうしてできた代謝物は細胞外へ速やかに除去される。」まことに明解な記述であり、世界中の多くの研究者がそれを何の疑いもなく、受け入れていた様である。ところがよく考えると、どうやって細胞はその代謝物を認識して、しかも速やかに除去するのだろうか？という疑問が残り、それには何も答えられていないことに気付いたのである。私は1982年から5年間、ドイツ(当時の西ドイツ)デュッセルドルフ大学でラット心臓においてグルタチオン抱合体の輸送系を見つけて以来、その解答を見つけようとして研究を続けてきた、その結果、私自身も日本-ドイツ-日本-ドイツ-アメリカ-日本と「輸送」される運命となった。これが「波乱万丈の人生遍歴と孤独な挑戦」のはじまりであった。

1982年、北海道大学応用電気研究所(現在・電子科学研究所)生体物理部門で私は理学博士号を取得して、ドイツ学術交流会(DAAD)の奨学生として渡独した。まずハンブルグ近郊のリューネブルグにあるGoethe Institute で4ヶ月間みっちりドイツ語研修を受けた。その後10月からデュッセルドルフ大学Helmut Sies 教授の研究室で、ラット心臓の灌流システムを組み立てて、心臓における酸化的ストレス防御機構について研究を始めた。彼の研究室は肝臓の物質代謝を専門とするグループであり、そこで心臓の研究をすることは「亜流」であった。しかし、肝臓と心臓では酸化的ストレスに対する防御機構に大きな違いがあるはずで、その研究を是非したいという提案をSies 教授宛に書いて受理されたのである。事実、肝細胞のペルオキシゾーム中にはカタラーゼがあるが、心筋細胞にはそれが無い。心筋細胞ではグルタチオンペルオキシダーゼが極めて重要な役割をはたす。その酵素はセレンウム含有蛋白質であり、土壌にセレンウム含量の少ない地域では、住民に心筋症が引き起こされるという報告があった。摘出灌流ラット心臓を実験モデルとして、酸化的ストレスにおける心筋細胞内グルタチオン代謝について研究した。ラット心臓の灌流方法と電子回路の製作技術は、北海道大学応用電気研究所で修得していたので、すぐラット心臓の灌流システムを組み立てた。酸化的ストレスが心臓の拍動に及ぼす影響を調べるために、リアルタイムに心電図、左心室圧、酸素消費速度をモニターできるようにシステムを構築した。そうして心筋細胞がダメージを受けていないことを確認した上で、酸化的ストレスにおける細胞内グルタチオン代謝を調べた。

細胞内で過酸化物がグルタチオンペルオキシダーゼによって代謝されると、細胞内で酸化型グルタチオン(GSSG)レベルが上昇し、灌流液中にGSSG が放出されることが発見された。しかも細胞内GSSG レベルに対してGSSG放出速度をプロットすると、Michaelis-Menten 型の美しい飽和曲線が描かれたのである。さらに心筋細胞中でグルタチオン抱合体を酵素的に作らせると、グルタチオン抱合体の放出が観測され、GSSG 放出を拮抗的に阻害した。その事実から、グルタチオン抱合体およびGSSG の放出は単なる拡散ではなく、共通の輸送系によって膜輸送されるという大胆な仮説を

立てた。それは1983年1月(研究を始めて4ヶ月目)の頃である。この仮説を証明するために3年余りの間、摘出灌流ラット心臓の膜電位を変化させたり、細胞内エネルギー状態をシフトさせたりした。また時には列車に乗ってドイツ北部のBremen大学まで灌流装置とKrebs-Henseleit灌流液を担いで行き、灌流ラット心臓のin vivo ^{31}P -NMR スペクトルを測定した。細胞内のATPレベルをモニターしながら、グルタチオン抱合体の放出速度を測定するためである。しかし、超伝導マグネットの傍でラットを解剖することは危険との背中合わせだった。なぜならば、油断するとメスや解剖ハサミ、ピンセットが、強い磁場によって空中を飛んで超伝導マグネットにぶつかるからである。いずれにせよ、そのような危険な実験の結果、グルタチオン抱合体とGSSGの放出が細胞中のATPレベルに依存し、膜電位には影響されないという事実を突き止めた。これにより、ATPに依存型した新規の膜輸送体の存在を確信したのである。

5年間にわたる西ドイツでの研究生活に終止符を打ち、1987年4月日本に単身で戻って来た。大阪大学医学部生化学教室の助手に、谷口直之教授が私を採用してくれたからである。ATPに依存したグルタチオン抱合体の膜輸送系を生化学的に解明するために、ラット心臓から形質膜ベシクルを調製して、放射ラベル化したグルタチオン抱合体の輸送を測定した。私が予想したとおり、グルタチオン抱合体の輸送はATPに依存型の1次能動輸送であった。しかし、当時はこの分野の理解度が低く、日本においては研究費取得には苦勞した。ロイコトリエン C_4 がGS-X pumpの内因的基質であることを発見して、自信を持って文部省の一般研究B(現在の基盤研究B)に応募したが、残念ながら不採択だった。高価なロイコトリエン等を助手の少ない給料から工面して購入して実験を継続したが、それにはやはり経済的限界があった。さらに逆単身赴任だったので、給料の半分はミュンヘンにいる妻にも送金しなければならなかった。その結果1989年、谷口教授に事情を説明して、2年半勤めた大阪大学医学部助手を退職した。そして再びドイツに戻り、ハイデルベルグのドイツ癌研究所に移った。それがKeppler教授との出会いであった。有難いことにドイツ癌研究所では、ロイコトリエン C_4 輸送の研究が評価されて、Max Planck研究所、EMBL、ハイデルベルグ大学との重点領域プロジェクト(研究統括:Felix Wieland教授)のプロジェクトリーダーを務める機会を得た。日本とは大きな違いであった。

ところで現在、ヨーロッパを初めとしてアメリカ、日本でも、薬物代謝の第3相“Phase III system”という用語が薬学のテキストに掲載され始め、学術誌にも使われている。実のところ、この用語と概念は1992年出版のTrends in Biochemical Sciences (TIBS) vol. 17, pp. 463–468の中で私が初めて提唱したものである。そして抱合体の膜輸送担系に対してGS-X pumpという名前をつけた。その総説はそれまでの自分の研究を見直して体系化したものであるが、多くの研究者にとっては「晴天の霹靂」だったようである。スイスのバーゼルで開催された肝臓学会には、偶然にもDr. Guengerich, Dr. Pickett, 私の3人が招待され、まさにPhase I, II, III研究者が揃った。以来Phase III systemの分子レベルでの解析がはじまり、GS-X pumpはABC(ATP-binding cassette) transporterファミリーの一員であることが判明した。その研究の発展はここ約20年間目覚ましいものがあり、医学・薬学・理学・農学にまたがった学際領域の重要な分野と位置付けられつつある。GS-X pumpは、地球上の動植物界の長い歴史を通して保持され、かつ進化してきた重要な細胞構成要素の一つである。そして、それは癌細胞の薬剤耐性や生理活性物質の輸送といった細胞の機能とも密接に結びついている。分

子生物学的アプローチによって、この輸送ポンプに関して構造-機能相関が次第に解明され、医薬開発研究でもその重要性が認識され始めたのである。

しかしながら皮肉にも、1989年の歴史的な東西ドイツ統一による影響で、旧東ドイツ人の失業者援助政策のため、外国人が永久職につくことが非常に困難になり、ドイツ癌研究所の契約も延長できなくなった。研究者といえども私は外国人労働者であって、国家政策の変化によって一寸先は無収入のルンペン同様の境遇に直面したのである。しかも1991年9月末で滞在許可が切れ、3ヶ月後には不法滞在者として国外追放されるかもしれないという憂き目にも遭った。夜寝ている間に、デパートの前の路上で自分が物乞いをしている悪夢を何度見たことか！ そのようなドン底状態で書いたのが、上述のTIBSの総説である。ゆえに、私の人生を賭けた作品といえる。

1991年11月、不法滞在者になる前に、アメリカのテキサス州ヒューストンにあるM.D. Anderson 癌センターからオファーが来て、小児癌研究部門の助教授として新天地に渡った。当時は私一人分の飛行機代しか払えず、半年間アメリカで単身稼いでドイツに引っ越し代を妻に送金しなければならなかった。研究者として、特にアメリカにおいては、如何に早くNIHのRO1 グラントをとって“Independent Researcher” (自立した研究者)になるかが重要な鍵であった。アメリカ国内に研究者のネットワークを持たない新参者にとって不利は明らかだった。そんな中であって、International Life Sciences Institute (米国ワシントンDC本部)のAchievement Awardと研究費約1000万円を取得できたことは、自分の研究が世界で認められた証となり自信にもなった。しかも、審査委員には4人のノーベル賞受賞者がいたのである。我が国ではあまり知られていないことであるが、日本人として私が唯一の受賞者である。M.D. Anderson 癌センターではGS-X pump をコードするABCC1 遺伝子の発現制御機構の研究を続け、p53 癌抑制遺伝子の変異と酸化ストレスがその遺伝子の活性化に寄与している事を発見した。さらに、野依良治教授(当時名古屋大学)との文部省国際共同研究プロジェクトにおいて、制癌プロスタグランジンの作用機構を解明した。制癌プロスタグランジンによって、p21遺伝子の発現が活性化されて、癌の細胞周期が停止することを発見して論文報告した。1994年にはNIHのRO1 グラントを取得して、胸を張って“Independent Researcher”だと言える基盤ができた。そしてGordon Research ConferenceのSession Chairにも選出された。National Interestのカテゴリーでグリーンカード(永住権)の申請も始まり、本当に全てが順調に滑り出したかのように見えた。

ところが、1995年の春、父親が肺癌であることを告げられてショックを受けた。余命は1年と言われた。私は悩んだあげく「研究はいつでもできるが、親は一生に一度しかない」と自分に言い聞かせて、自分の研究室を閉じた。NIHの研究費と実験機器、試薬全てを共同研究者のKuo教授に譲り、ポストドクとテクニシャンを移籍させ、11月末に私は日本に帰国した。そして、3週間後に父親は他界した。父親が息をひきとる時に傍らにいられたことが、私にとって最後の父親孝行であった。

日本に戻ったとしても大学にポジションのない私は、Nature やScience誌に載っている求人広告を必死になって探した。そしてファイザー製薬の日本研究所の主任研究員の求人広告を見つけて応募した。幸いにも1995年12月から約5年間、創薬の現場で鎮痛薬に関する研究と技術移転の仕事に従事する機会を得た。それは、これまでに経験したことのなかった世界であり、とても刺激的だった。

Cox2阻害剤、プロスタグランジン受容体阻害剤、ニューロキニン受容体阻害剤、ブラジキニン受容体阻害剤、オピオイド受容体アゴニスト、I-CAM 阻害剤、TNF阻害剤等の新薬探索研究を行った。主任研究員を経て室長になり、その後東京本社のPHA 研究技術開発担当部長に就任して、ゲノム創薬における新規技術の導入に従事した。一方、1995年から2000年までの5年間には、新規ABCトランスポーターが次々とクローニングされた。私は、その国際競走から取り残されてしまって、非常に悔しい思いをした。ABCトランスポーターの研究を継続するためには、会社の休暇をとって渡米しM.D. Anderson 癌センターのKuo教授の実験室で自ら実験して、年に1 報か2 報論文を発表するしか方法がなかった。

幸いにも2000年6 月、東京工業大学大学院生命理工学研究科の教授に就任することができた。しかし、まさに「ゼロからのスタート」だった。私には実験室1つ分のスペースが与えられただけで、実験台も無ければ、教授室もなかった。机と椅子を倉庫から拾ってきて工面した。実験に必要なものはプラスチックゴミ捨て場に行って、チップ立てなどを拾って来て洗って使った。このような状態が9 ヶ月間続いたが、とうとう堪忍袋の緒が切れて、もっと研究スペースをくれるように学長へ談判しに行った。その甲斐あってか、10ヶ月目にやっと、学生のロッカー室が改造されて私の教授室になった。研究室は、しかしながら、2階、4階、5階、10階、11階に散在した。

私の研究室には「やる気」のある学生が集まり、ABCトランスポーターの輸送機構に基づく創薬分子デザインの実現に向けた基盤研究をスタートすることができた。主要プロジェクトは「ヒトABCトランスポーターの遺伝子多型の機能解析」である。私の誇りは、博士課程に進んだ9人の大学院生の全員が日本学術振興会の特別研究員に選ばれたことである。そのうちの1人はスイスのコラファス賞を受賞した。私達は、薬物動態と毒性に関与する薬物トランスポーターに焦点を絞り、その機能に影響をおよぼす一塩基多型 (SNP, single nucleotide polymorphism) のバリデーションを行うための技術基盤を構築した。SNPを蛋白質の発現・分解または基質特異性の変化をもたらす「実体」としてとらえ、それを臨床で検証することを目標とした。そのため特に、薬物トランスポーターに焦点を絞り、それに関与するSNPの機能解析を行なった。薬物代謝酵素のSNPおよび遺伝子多型の種類とその蛋白質機能への影響についてはこれまでに多くの研究がなされており、膨大なデータが蓄積してきている。しかしながら、薬物トランスポーターに関する研究は約10年の遅れがあった。その理由は、トランスポーター機能を解析するための標準的な方法が開発されて来なかったことによる。トランスポーター機能に直接関与するSNPを同定することは極めて重要であり、SNP判別機器開発において臨床で判別すべきSNPを絞り込むのに必要不可欠であった。世界に先んじて我々は高速スクリーニングシステムと定量的構造活性相関 (QSAR) 解析方法を開発した。日米欧の共同作業により、創薬と診断に有用なSNPのバリデーション方法の国際標準化を実現させた。そして2008年10月にFDA Critical Path Workshopを開催し、白書をまとめるに至った (*Nature Review Drug Discovery*, 9, 215-236, 2010)。

さて現在、日本社会においては歴史的に類を見ない少子高齢化が進行している。東京や大阪などの大都市圏が若者を吸引する一方、地方においては高齢化がどんどん加速されている。わが国全体において高齢者人口の割合が増え続け、2025年には全人口の35%以上を65歳以上の高齢者が占める

ことになる。全人口に占める高齢者の割合が増える一方、疾患にかかる高齢者の人数も増える。年齢が50歳を越えると患者数が増加し、70～74歳でそのピークに達する。高齢者において多い疾患は、脳血管疾患、虚血性心疾患、癌、糖尿病、骨粗鬆症である。そのような時代にあつて体力的にも脆弱な高齢者が安心して安全な医療を受けられる体制が必要不可欠であり、高齢者医療の品質向上は焦眉の急である。

2020年の東京オリンピック・パラリンピックが決定した。そのため国家の膨大な資金と人材が東京にますます集中するであろう。しかしその反面、地方はますます貧しくなることが危惧される。老後を地方で過ごすためにも、個人の健康、そして社会全体の健康が不可欠な条件となってきた。高齢化⇒医療費増大の悪の循環を断ち切るためにも、バイオ医科学とICT（インフォメーション・コミュニケーション・テクノロジー）技術によって、薬の副作用の回避といった患者の体質に合った個別化医療の実現に加えて、未病の段階で疾病リスクを検知し、食事や運動などによって疾病の発症を未然に防ぐといった新しいヘルスケア・サービス産業を早急に育成することが焦眉の急である。そのために、地域社会として自律的・持続的活動が可能でありつつ、人間的絆が残っている人口10万人程度の規模の地方をモデルとして、電子データベース化と情報ネットワークに基づく個別化医療ヘルスケアの事業を開始・展開するのは合理的であり現実的であろう。

疾病は多くの遺伝子と環境因子の複雑な絡み合いにより出てくる現象であり、薬の効き方も患者一人ひとりで異なる。薬の副作用の程度は患者間で大きく異なり、重篤な副作用の場合には患者の生命が脅かされる。遺伝子情報、特に一塩基多型 (SNP) を基に患者個人に適した医療を提供する「個別化医療」は、医療品質の向上ばかりでなく、逼迫した医療財政の救済にも繋がるものとして、その早期の実現が期待されている。高齢者のための個別化医療を、故郷である愛媛県西条市で第1モデル地域として実現することに私は最後のエネルギーを燃やす覚悟である。それが私の人生最後のチャレンジであり、研究者としての社会貢献である。

最後に、私を支援してくださった方々に感謝するとともに、私の座右の銘をご紹介します。

諸行無常 一期一会
桃李无言 下自成蹊
上善如水 大器晚成

参考文献：

Toshihisa Ishikawa, Richard B. Kim RB, and Jörg König (Editors)
“*Pharmacogenomics of Human Drug Transporters: Clinical Impacts*”. Wiley, Hoboken (2013)
(US\$150.--) <http://as.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0470927941.html>

Toshihisa Ishikawa and Helen I. Zgurskaya (GRC Chairs)
Gordon Research Conference “Multi-Drug Efflux Systems” Barga, Italy (2015年4月26日-5月1日)
<http://www.grc.org/programs.aspx?id=13928>