

## 第16回遺伝医学研究会

日時 1998年6月12日(金) 18:00~20:00

会場 第2臨床講堂

開会挨拶

(小児科) 大澤真木子

講演 1

座長(薬理学) 村木 篁

移植臓器として開発された HDAF トランスジェニックピッグのこれからの展望

(第三外科) 石田英樹

講演 2

座長(薬理学) 村木 篁

有機アニオントランスポーターの分子細胞生物学

(杏林大学医学部薬理学) 遠藤 仁

閉会挨拶

(解剖学・発生生物学) 相川英三

### 移植臓器として開発された HDAF トランスジェニックピッグのこれからの展望

(第三外科)

石田英樹

臓器移植が末期臓器不全患者に対する有効な治療法として確立してから久しいが、その成功に伴い、慢性的なドナー不足は世界共通の深刻な問題となり、解決されていない。本邦においても、昨年秋より脳死法案が可決され実施されているものの、半年以上経過し、いまだ心臓および肝臓の提供はできていない。このような厳しい状況において、人間以外の臓器を人間に移植する、いわゆる異種移植が世界的に再び注目を浴び始めている。

世界で最初の異種移植は、1906年に Jaboulay らの行った異所性腎臓移植であり、その後も数々の先人たちによって試みられたが結果は悲惨であり、最近ではピッツバーグの T.E. Starzl らがヒヒの肝臓を HIV 患者に移植したのが記憶に新しい。このときの生存期間はわずか70日であった。

異種移植の難しさはあまりにも複雑な免疫反応にあり、とくに血流再開後数分でおこる超急性拒絶反応の克服こそが異種移植の克服といわれてきた。人間は生来、異種の抗原に対する抗体を保持しており(これは自然抗体あるいは既存抗体と呼ばれている)、血管吻合後、数分で起こる強烈な超急性拒絶反応はこの抗原抗体反応に補体反応が活性化されておこる。イギリス、ケンブリッジの David White らは、*in vitro* の実験によってこの補体活性経路抑制による超急性拒絶反応の克服に目を向けた。ヒト補体制御因子である CD46(MCP)、CD55(DAF)をマウスの線維芽細胞にトラン

スフェクトした後、ヒトの血清、補体などと反応させ、この細胞に補体活性化による細胞障害が抑制されていることを示した。

ブタは食用であること、ペットでないこと、臓器の構造が比較的人間に近いこと、妊娠期間が短く子供をたくさん生むこと、清潔であることなどから、ドナーとしての最有力候補の動物に選ばれた。6.5kbの DAF minigene が2432個の有核細胞にマイクロインジェクションされた。インジェクションされた後の有核細胞は、85頭の仮親に戻され、311頭の子豚が生まれた。サザンブロットによりうち46頭(14.8%)の子豚に DAF の発現を認めた。DAF の発現量は各々の豚によって異なり、また臓器別においてもさまざまであった。挿入した DAF 遺伝子の量と、生まれた DAF をもつ子豚の数、性差との間に明らかな関係はなかった。また DAF を発現した豚は正常な発育を認め、DAF 発現からの影響とみられるような発育障害などはいっさい観察されなかった。彼等は免疫染色法により、DAF の発現量に独自のスコアをつけ、高得点のブタより順次ブタからカニクイザルへの腎臓移植、心臓移植を行い、好成績を報告した。このようにして超急性拒絶反応は克服された。

トランスジェニックピッグの臓器が臨床応用されるのも時間の問題と思われたが、新たな問題が生まれた。第1に、ブタに存在するレトロウイルスの問題である。このウイルスが移植臓器とともに人間に侵入した場合、第2の HIV をひきおこす可能性も否定できないため、イギリスの国内感染症学者からも慎重論がでてるのは事実である。第2には、超急性拒絶反応のあと

におこる DXR (delayed xenogeneic rejection) の存在である。血管内皮細胞の活性化がこの反応の主体であるが、USA の Bach らは、血管内皮細胞に anti-apoptotic gene である A20, bcl-2, bcl-X<sub>L</sub> を過剰発現させることによって、DXR の抑制に力を入れている。

現在、独自のトランスジェニックピッグをもっている施設は、USA, UK, Canada などの複数施設にのぼるが、各施設ともその財政的に困難な面からも、企業の援助が不可欠であり、互いのピッグをめぐる競争関係になっているのも気になるところである。一刻も早く臓器不全の患者のための優れたトランスジェニックピッグの出現が待ち望まれる。

#### 有機アニオントランスポーターの分子細胞生物学

(杏林大学医学部 薬理学) 遠藤 仁

有機イオンとは炭素骨格を持ち生理的 pH で荷電している物質の総称であり、膨大な物質がこの範疇に含まれる。有機イオンはさらに、有機アニオン (有機酸とほぼ同義) および有機カチオン (有機塩基とほぼ同義) に分類される。特に有機アニオンには生体内物質、薬物、環境物質、およびその代謝物などの多くが含まれ、それらの多くは生体にとって有害なものである。腎臓の近位尿管細胞および肝細胞は有機アニオンの経細胞輸送を行っており、これら有機アニオンの体外排泄に重要な役割を果たしている<sup>1)</sup>。

排泄臓器である腎に存在する有機アニオントランスポーターは構造の異なる多種類の有機アニオンの輸送を司る多選択性トランスポーター、すなわち単一のトランスポーター蛋白質分子が多くのアニオン性物質の排泄を担っているものと予想されていた。その典型的な基質の一つが PAH (パラアミノ馬尿酸) であることから、腎有機アニオントランスポーターは PAH トランスポーターとして知られていた。我々はこの PAH トランスポーター (OAT1: organic anion transporter 1) を発現クローニング法を用いて単離した<sup>2)3)</sup>。

OAT1 は 551 アミノ酸よりなる 12 回膜貫通型のトランスポーターで、その基質輸送は細胞外 Na<sup>+</sup> に非依存的であり、交換輸送体として機能する。OAT1 の基質は予想どおり多岐にわたり、内因性アニオン (プロスタグランジン, cAMP, cGMP, 尿酸, α-ケトグル

タル酸), アニオン性薬物 (β ラクタム系抗生物質, 利尿薬, 非ステロイド性抗炎症薬, ACE 阻害薬, メトトレキサート等), 代謝産物 (各種薬物抱合体) さらにカビ毒などの環境物質を輸送する, まさに多選択性トランスポーターである。OAT1 は腎臓以外では脳に弱い発現を認める。

意外なことに OAT1 は有機カチオントランスポーター (OCT1)<sup>4)</sup> と低い相同性 (アミノ酸レベル 38%) を有し, 新しいトランスポーターファミリー (organic ion transporter superfamily) を形成することが明らかとなった。既に我々は, このファミリーに属する OAT2<sup>5)</sup> を含む複数のアイソフォームを単離している。アイソフォームのそれぞれは, 肝, 腎, 脳を含む特徴的な組織分布を示し, 基質認識性も異なる。腎以外の組織における有機アニオン輸送の詳細は目下追及中であり, このファミリーのメンバーの解析により, 生体における有機イオン (薬物を含む) の分布と排泄動態, およびそれぞれの組織での生理, 薬理学的意義の理解が進むものと考えられる。さらにこのファミリーの最大の特徴である基質多選択性について, トランスポーターの基質認識機構の解明が進展し, 生体内薬物間相互作用の *in vitro* 評価法への応用も期待される。

#### [文献]

- 1) Pritchard JB, Miller DS: *Physiol Rev* 73: 765-796, 1993
- 2) Sekine T, Watanabe N, Hosoyamada M, Kanai Y, Endou H: Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter. *J Biol Chem* 272: 18526-18529, 1997
- 3) Sekine T, Cha SH, Hosoyamada M, Kanai Y, Watanabe N, Furuta Y, Fukuda K, Igarashi T, Endou H: Cloning, functional characterization and localization of a rat renal Na<sup>+</sup>-dicarboxylate transporter. *Am J Physiol* (in press)
- 4) Grundemann D, Gorboulev V, Gambaryan S, Veyhl M, Koepsell H: *Nature* 372: 549-552, 1994
- 5) Sekine T, Cha SH, Tsuda M, Apiwattanakul N, Nakajima N, Kanai Y, Endou H: Identification of multispecific organic anion transporter 2 expressed predominantly in the liver. *FEBS letter* (in press)