

# アンジオテンシンタイプ2受容体を介した血管弛緩機構

岡本 博, 屋山 勝俊

神戸学院大学薬学部 生命薬学部門 循環器薬理学研究室

## 1. はじめに

Angiotensin II (Ang II) は、レニン-アンジオテンシン系 (RA 系) において中心的役割を担う分子であり、多様な働きを持つホルモン様因子として心臓血管系の機能調節と病態に重要な役割を果たしている。最近まで、Ang II が RA 系機能を代表するものと考えられてきたが、Ang II 代謝物である Ang-(1-7) や Ang-(3-8) (Ang IV) にも、それぞれ独自の受容体を介した特有の生理作用を持つことが近年明らかにされてきた(1)。また、レニン前駆体であるプロレニンやレニンを結合する受容体が発見され、レニンが Ang I 産生酵素としての役割だけではなく、プロレニン/レニン受容体への内在性リガンドとして再認識されてきている(2)。このように、RA 系の研究は、Ang II を超えた領域へと展開しつつあり、特に関連する循環器領域において現在最もホットな領域である。

Ang II 受容体は、1991 年に AT<sub>1</sub> 受容体が、そして 1993 年には AT<sub>2</sub> 受容体がクローニングされた。AT<sub>1</sub> 受容体は、血管収縮、血管平滑筋増殖、細胞外マトリックス合成促進、心筋肥大、交感神経刺激作用、等によく知られる Ang II 作用を仲介する(1)。一方、AT<sub>2</sub> 受容体は、血管拡張、神経細胞増殖抑制、血管平滑筋細胞のアポトーシス抑制作用を仲介すると報告されてきた。このように、Ang II 分子は結合する受容体サブタイプによって、ほぼ拮抗する生理作用を発揮し、受容体サブタイプの発現バランスによって、Ang II 作用が切りかえられる(3, 4)。興味あることには、上述の Ang-(1-7) や Ang IV にも血管拡張や細胞増殖抑制作用が認められ、AT<sub>1</sub> 受容体を介した多彩で強力な Ang II の作用に対して、それに拮抗する機構が RA 系内部に何重にも準備されていると考えられる。

AT<sub>1</sub> 受容体に関する研究に比べ、AT<sub>2</sub> 受容体の機能に関する研究はわずかであり、その情報伝達機構や生理・病態上の役割について不明な点が多い(3, 4)。その理由のひとつに、AT<sub>2</sub> 受容体は胎児期に高発現するが出生後急激に減少し、AT<sub>1</sub> 受容体に比較して検出が容易ではないことにある。私達は、心不全の病態モデルとして知られる腹部大動脈狭窄 (Aortic Banding) をラットならびにマウスに施した結果、急激な高血圧負荷を受けた胸部大動脈において、AT<sub>2</sub> 受容体が極めて短時間のうちに増加することを認め、これを実験材料として血管の AT<sub>2</sub> 受容体を介した Ang II の血管弛緩機構について研究を進めてきた(5-8)。以下に、この私達の研究を中心に血管における AT<sub>2</sub> 受容体の役割についてご紹介する。

## 2. 高血圧負荷が血管 AT<sub>2</sub> 受容体発現を亢進させる

ラット及びマウスの腹部大動脈に banding を作成すると、術後 4 日以内に両動物のいずれにおいても、胸部大動脈の AT<sub>2</sub> 受容体 mRNA 発現量に顕著な増加を認めたが、AT<sub>1</sub> 受容体 mRNA 発現レベルに変化を認めなかった。このような高血圧負荷に応答した血管 AT<sub>2</sub> 受容

体発現の亢進は、腎性高血圧モデルである 2-kidney, 1-clip Goldblatt (2K1C) 高血圧マウスでも同様に認められた。banding による血管 AT<sub>2</sub> 受容体 mRNA 量増加は、マウスで術後 1 週目まで認められたが、ラットでは術後 4 週においても持続していた。Banding 形成直後から AT<sub>1</sub> 受容体遮断薬を投与しておく、banding による AT<sub>2</sub> 受容体発現は完全に抑制されたが、同程度にまで血圧を下げる Ca 拮抗薬では無影響であった。よって、Banding による血管 AT<sub>2</sub> 受容体発現亢進は、AT<sub>1</sub> 受容体活性化を介した機構に依存し、血圧に依存するものではないと結論した。同様の結果は、2K1C 高血圧マウスにおいても認められた。このような観察より、banding 及び 2K1C いずれの高血圧モデルにおいても、循環血中 Ang II レベルの増加は血管 AT<sub>1</sub> 受容体を介して血圧上昇に働くが、同時に誘導される AT<sub>2</sub> 受容体により Ang II 作用を血管弛緩の方向へと切り換え、それによって血管を過剰な負荷から保護するよう働くものと想像される。

### 3. AT<sub>2</sub> 受容体発現が亢進した大動脈の Ang II 収縮応答性は減弱する

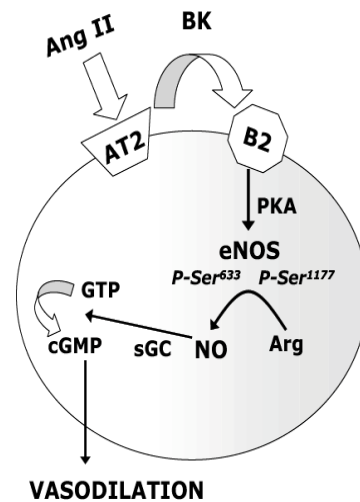
AT<sub>2</sub> 受容体 mRNA 発現が亢進した血管において、Ang II の収縮応答に変化が見られるかを、banding あるいは 2K1C 高血圧のラット・マウスから胸部大動脈を摘出し検討した。摘出大動脈リングは、Ang II に対して AT<sub>1</sub> 受容体依存性の収縮反応を示すが、banding あるいは 2K1C 高血圧マウス大動脈では、その収縮応答性（最大収縮）に明らかな減弱が認められた。この Ang II 収縮応答の減弱は、AT<sub>2</sub> 受容体選択的拮抗薬 PD12319 で完全に抑制され、またブラジキニン B<sub>2</sub> 受容体選択的拮抗薬 icatibant によっても消失した。よって、AT<sub>2</sub> 受容体の発現が亢進した血管では、AT<sub>2</sub> 受容体ならびに B<sub>2</sub> 受容体の両者に依存した弛緩機構が作動し、AT<sub>1</sub> 受容体を介した血管収縮作用に拮抗するものと結論づけた。また、一酸化窒素 (NO) 合成酵素阻害薬で血管を前処置すると、AT<sub>2</sub> 受容体に依存した Ang II 収縮応答の減弱が消失したことから、NO 依存性の血管弛緩機構が AT<sub>2</sub> 受容体の下流にあると推測した。以上の結果から、Ang II による AT<sub>1</sub> 受容体依存性の血管収縮は、病態下で発現が亢進した AT<sub>2</sub> 受容体により拮抗され、この拮抗には B<sub>2</sub> 受容体の活性化に続く NO 産生の亢進が関与すると考えられた。NO による血管弛緩は血管平滑筋の cGMP 産生増加を介する。実際に、banding あるいは 2K1C 高血圧マウスの胸部大動脈において顕著な cGMP 量の増加が認められ、AT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬あるいは B<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の投与により、増加した胸部大動脈 cGMP 量は投与 1 時間後に対照動物レベルまで減少した。よって、これら高血圧動物の大動脈では、in vivo において持続的な AT<sub>2</sub> 受容体の活性化に続く B<sub>2</sub> 受容体→NO 産生→cGMP 産生が行われていると考えられる。

### 4. AT<sub>2</sub> 受容体発現が亢進した大動脈の NO 産生は増加する

血管内皮細胞での NO 産生は内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) により行われる。eNOS はアセチルコリンや BK などの血管作動物質や shear stress などの機械的刺激により、Ca<sup>2+</sup>-カルモジュリン (CaM) に依存した一過性の活性化を起こす。もうひとつの調節機構として、eNOS のリン酸化による活性化/不活性化機構が明らかにされている。例えば、shear stress や

血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は、phosphoinositide 3-kinase (PI3K) の活性化を介して protein kinase B (Akt) を活性化し (リン酸化 Akt)、活性化 Akt は eNOS の Ser1177 をリン酸化して持続的に NO 産生を高める。eNOS には何ヶ所かのリン酸化部位があり、特に Ser1177 あるいは Ser633 のリン酸化は、eNOS の持続的活性化と Ca<sup>2+</sup>感受性増大を起こすことが知られる。

高血圧負荷により AT<sub>2</sub> 受容体の発現が亢進したマウス胸部大動脈では、総 eNOS、Ser1177 リン酸化 eNOS、Ser633 リン酸化 eNOS のいずれの含量においても、明らかに増加していた。これらマウスに AT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬、あるいは B<sub>2</sub> 受容体拮抗薬を投与すると、総 eNOS 量は増加したままであったが、両リン酸化 eNOS 量の増加は、完全に抑制された。よって、banding により増加した大動脈の AT<sub>2</sub> 受容体は、AngII に応答して eNOS のリン酸化を起こし、これを持続的に活性化すると考察した。B<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の投与によっても、同様の eNOS リン酸化抑制が認められたことより、AT<sub>2</sub> 受容体シグナルは B<sub>2</sub> 受容体活性化を介して eNOS リン酸化を起こし、NO 産生を高めると考えられた。



**Schematic Diagram Depicting the Cell Signaling Process in the Endothelium of the Thoracic Aorta Whereby Ang II Induces Vasodilation.** Ang II binds to AT<sub>2</sub> receptors on the endothelium. The activation of AT<sub>2</sub> receptors stimulates bradykinin (BK) production which stimulates serine phosphorylation of eNOS at Ser<sup>633</sup> and Ser<sup>1177</sup> by a protein kinase A (PKA)-dependent pathway via the activation of B<sub>2</sub> receptor. Phosphorylation of eNOS increases NO production, activating soluble guanylyl cyclase (sGC), which converts GTP to cGMP. cGMP mediates vasodilation.

## 5. AT<sub>2</sub> 受容体活性化は protein kinase A を介して eNOS をリン酸化する

では高血圧負荷で認められた大動脈での eNOS リン酸化は、shear stress や VEGF などと同様に、も Akt 活性化によるのであろうか? Banding 及び 2K1C 高血圧マウスの大動脈 Akt 量と、その活性型であるリン酸化 Akt (Ser473) 量を測定したところ、両者とも増加するが、これらの増加は、AT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬あるいは B<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の投与によっても全く影響されなかった。よって、Ang II による AT<sub>2</sub> 受容体を介した eNOS リン酸化に Akt の関与はないと結論した。

一方、banding マウスから胸部大動脈を摘出し、in vitro で Ang II 刺激を行うとリン酸化 eNOS 量は増加するが、この AT<sub>2</sub> 受容体依存性の eNOS リン酸化は、Akt の上流にある PI3K の阻害薬では影響されず、protein kinase A 阻害薬により強く抑制された。以上の結果より、AT<sub>2</sub> 受容体のシグナル下流に、protein kinase A の活性化と、それによる eNOS リン酸化機構が存在すると考えられる。

## 6. 今後の展望

ここでは、著者らの研究を中心に、圧負荷を受けた血管が AT<sub>2</sub> 受容体の発現を高め、その結果、Ang II による血管収縮反応が減弱すること、この機構にブラジキニン受容体の活性化と、それに続く eNOS リン酸化による活性化を経由した NO/cGMP 系の関与があることを紹介した。このような Ang II そのものによる AT<sub>1</sub> 受容体への拮抗機構が、病態生理学的に何を意味するかはまだ明らかではない。しかし、圧負荷に応答して AT<sub>2</sub> 受容体系が活性化されることから、この系が過剰な AT<sub>1</sub> 受容体刺激から血管を保護する働きを担っているようにも考えられる。

この AT<sub>2</sub> 受容体を介した血管弛緩機構において、最大の謎はブラジキニンの関与である。AT<sub>2</sub> 受容体刺激は何らかのシグナルを経由して B<sub>2</sub> 受容体を活性化するが、ブラジキニンそのものが血管局所で産生遊離されているように想像される。最近、私達は、banding により AT<sub>2</sub> 受容体が発現している血管を用いた *in vitro* 実験により、AT<sub>2</sub> 受容体刺激に応答してブラジキニンが産生・遊離されることを認めている。よって、血管 AT<sub>2</sub> 受容体による血管弛緩機構は、AT<sub>2</sub> 受容体→ブラジキニン産生→B<sub>2</sub> 受容体→eNOS→NO というシグナル伝達で行われると考えている。この機構は、冒頭で述べた Ang-(1-7) や Ang IV による血管弛緩機構にも一部共通するものであるとも推測され、AT<sub>2</sub> 受容体によるブラジキニン産生の詳細な機構について現在研究を進めている。

高血圧症など循環器疾患の分子機構の解明に加えて、その治療薬開発への観点でも、今後の AT<sub>2</sub> 受容体の機能に関する研究に期待が寄せられる。これら機構の詳細な理解は、循環器系疾患の理解と治療薬開発に意義あるものと期待している。

## 引用文献

- 1) De Gasparo M. et al., *Pharmacol. Rev.*, 52, 415-472 (2000).
- 2) Augusto R. et al., *Hypertension*, 38, 660-664 (2001).
- 3) Matsubara H., *Circ. Res.*, 83, 1182-1191 (1998).
- 4) Henrion D. et al., *Hypertension*, 38, 1150-1169 (2001).
- 5) Yayama K. et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 308, 736-743 (2004).
- 6) Hiyoshi H. et al., *Hypertension*, 43, 1258-1263 (2004).
- 7) Hiyoshi H. et al., *Hypertension*, 45, 967-973 (2005).
- 8) Yayama K. et al., *Hypertension*, 48, 958-964 (2006).