

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) と循環制御

後藤 勝年*

はじめに

末梢臓器を支配する神経としては、交感（アドレナリン作動性）と副交感（コリン作動性）神経よりなる自律神経が知られていた。比較的最近になって、この範疇に属さない、いわゆる非アドレナリン・非コリン作動性 (NANC: nonadrenergic, noncholinergic) 神経も末梢の様々な機能調節に関わっていることが示されるようになってきた。そのうちでも求心性知覚神経の役割が注目される。従来、循環系における求心性知覚神経の役割としては、頸動脈洞などの圧受容器や頸動脈体などの化学受容器からの情報を中枢（主として延髄の血管運動中枢）に伝えることにより、交感神経系の緊張度を調節することが知られていた。興味深いことに、知覚神経系は中枢端のみでなく、末梢端にもペプチド性の神経伝達物質（Substance P や CGRP）を貯蔵しており、神経の興奮によってそれらを遊離して局所の循環制御に関わっているようである。ここでは、この求心性知覚神経による新しい循環制御機構を簡単に紹介する。

1. CGRP の発現と体内分布

CGRP (calcitonin gene-related peptide) はカルシトニン遺伝子の解析中に、同遺伝子にコードされていて既知の物質には相当するものがないペプチドとして、その存在が予想されていたものである（名前の由来でもある¹⁾。その後、Kimuraらによりブタ脊髄中から単離・精製され²⁾、CGRP が実存することが証明された。この遺伝子

から組織特異的なプロセッシング (alternative splicing) により、甲状腺C細胞では主にカルシトニンが、神経系では専ら CGRP が産生されることが判明している。

抗 CGRP 抗体を用いた免疫組織化学的検索によれば、CGRP は脊髄後根に高密度に検出され、三叉神経、小脳プルキンエ細胞、上丘、外側視床下部などの中枢神経系や、心臓、消化管、呼吸器、生殖泌尿器などの末梢臓器にも広範に分布することが示されている³⁾。注目すべきは、全身のほとんどの動脈周囲には、かなり密な CGRP 含有神経が認められることである。知覚神経毒として知られるカプサイシン（トウガラシの辛味成分）により、CGRP はかなり特異的に消失する。つまり、CGRP はカプサイシン感受性の一次知覚神経終末（中枢端）と同時に、遠位終末（末梢端）にも貯蔵されていて、ほとんどの場合 Substance P と共存している。消化管における一部の CGRP 神経はカプサイシン非感受性であることが知られているが、この神経は消化管の壁内神経叢に起源するものようであり、これに含まれるのは主として β -CGRP（前者は主に α -CGRP）である⁴⁾。

2. CGRP 作動性神経

モルモットの摘出心房筋標本を用い、左心房を電気刺激により一定のリズムで駆動しながら効果的に筋層内の神経を刺激する方法を用いると、心筋の収縮に対する神経興奮の影響を解析することが可能である。神経刺激直後には、交感神経の興奮による陽性変力及び副交感神経の興奮による陰性変力反応が著明に生じるが、これらをそれぞれの拮抗薬で遮断しておいた状態でも、神経刺激後

*筑波大学基礎医学系薬理

にゆっくりとした陽性変力反応が認められる。即ち、非アドレナリン・非コリン作動性 (NANC: nonadrenergic noncholinergic) 反応である⁵⁾。外部から適用した CGRP は強力な陽性変力作用を示すこと、筋層内には免疫組織化学的に陽性な CGRP 神経の存在することが認められること、更にカプサイシン処置によりこの神経が消失すると同時に、神経刺激によるゆっくりとした陽性変力反応も消失することから、この NANC 神経は CGRP を伝達物質とした求心性知覚神経であることが窺える。CGRP はヒトの心房筋に対しても同様の作用を発揮することが示されているが、心室筋に対する作用は余り強くない。後述するように、CGRP は血管拡張作用が極めて強力であり、心臓における CGRP 神経はおそらく管血管に作用し、心筋内の血流調節に与っている可能性が大きい⁶⁾。

ラットに CGRP を静注すると、全身のほとんどの組織において血管拡張が認められ、著しい血圧低下が生じる⁷⁾。ヒトにおいても、CGRP は組織の血管拡張に基づく血流増加反応を惹起することが確かめられている。CGRP の血管拡張作用は既知の内因性物質の中でも最強の部類に属するものである。CGRP 神経が実際に血管拡張に関わっているということを実験的に明確に証明したのは、摘出したラット腸管膜動脈床の灌流標本を用いた *in vitro* の実験である⁸⁾。この標本の灌流圧をモニターすることにより、抵抗血管系の反応を定量的に解析することが可能である。栄養液を一定の流速で灌流しながら経壁的に神経刺激すると、交感神経の興奮に基づく一過性の血管収縮反応 (灌流圧の増加) が認められる。この交感神経系の機能を抑制しておいて血管収縮薬 (例えば methoxamine) を灌流液中に添加しておくと、持続的な血管収縮が得られる。このような状態で神経刺激を行うと、比較的ゆっくりとした血管拡張反応が生じる。この場合の反応は NANC 神経の興奮によるものであり、その伝達物質は CGRP である。これは、1) CGRP 拮抗薬 (CGRP₈₋₃₇) の存在により消失すること⁹⁾、2) 灌流液中には刺激頻度に応じた量の CGRP が流出してくること¹⁰⁾、3) カプサイシン存在の溶液で短時間 (20分ほど) 還流すると、血管周囲の神経から CGRP が枯渇すると同時に、神経刺激による血管拡張反応も消失する (図1)¹¹⁾、などの実験事実に基づ

くものである。かなり以前から、血管を積極的に拡張させる神経の存在が指摘されてきたが、いわゆる血管拡張神経とその伝達物質を明らかにしたのは、この研究が最初のものである。Kawasakiらのグループは、これらの研究の延長としてのラット脊髄の電気刺激による降圧反応を解析し、この反応はカプサイシン感受性 (おそらく求心性知覚) 神経の興奮が逆行性に伝播し、その末梢端から内因性 CGRP が遊離されることによって血管拡張が生じることに基づくものであることを証明している (図2)¹²⁾。

求心性知覚神経は前述のように、末梢の情報を中心神経系に伝えることを第一の役割としていることに疑いの余地はない。では、その末梢端で血管拡張性の伝達物質を遊離するという事は、一体如何なることを意味するのであろうか? これは未だ想像の域を脱していないが、局所の循環状態の変化 (虚血、酸素不足、圧の変化、等々) を察知したその部位の知覚神経が、中枢に興奮 (情報) を伝えると同時に、軸策反射様の機構により周辺の知覚神経末端部に興奮を伝播し、その末端から伝達物質を遊離することにより血管拡張を惹

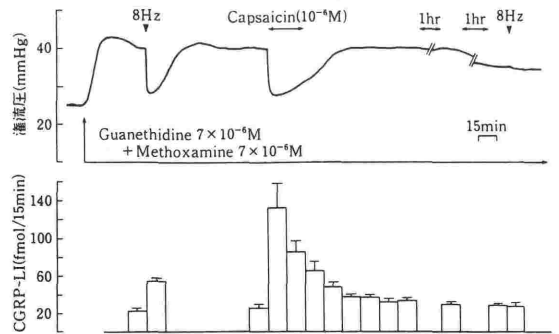


図1 ラット腸管膜動脈の神経刺激及びカプサイシンによる拡張反応と灌流液中への CGRP の遊離

ラットの摘出腸管膜動脈床を 37°C の Krebs 液で還流し、guanethidine で交感神経の機能を抑制しておき、methoxamine により持続的に収縮させる (圧の上昇)。神経刺激及びカプサイシンにより血管拡張反応 (上図) が出現し、灌流液を15分間づつ採取してラジオイムノアッセイ法で CGRP を測定したものの (下図)。カプサイシンを適用した後は、神経刺激による拡張反応も CGRP の遊離も起こらなくなっている。(文献11より引用)

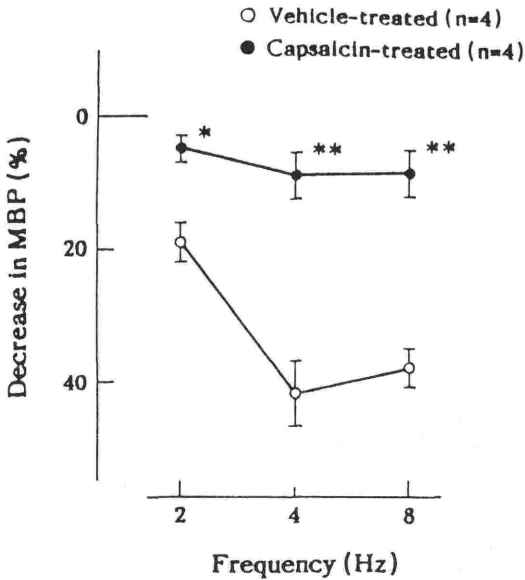


図2 ラット脊髄の電気刺激による降圧反応に対するカプサイシン前処置の影響
 麻酔したラットの脊髄を破壊しておき、methoxamine の静脈内持続注入によって一定の血圧を保ちながら、脊髄に装置した電極（脊髄破壊に用いたステンレス線）より通電した際の刺激頻度・降圧反応の関係。（文献12より引用）

起するという、いわば局所の血流調節機構に関わっていることが考えられる。このような考え方を裏付けるような実験事実も示されている。例えば、モルモットの摘出空腸・腸管膜動脈標本において、空腸の伸展によって反射的に引き起こされる周囲の腸管膜動脈の過分極反応がその一つである。この反応はカプサイシンの前処置により消失するだけでなく、少量のカプサイシン自体によっても同様の過分極反応が生ずる¹³⁾。これはおそらく、腸管の圧変化を察知した知覚神経が興奮し、その興奮が軸策様反射によって近くの腸管膜動脈周囲の知覚神経末端に伝播し、CGRP を遊離して過分極を引き起こしたことが窺える。ちなみに、CGRP は血管平滑筋の過分極を引き起こす作用のあることが証明されている¹⁴⁾。

3. CGRP 作動性神経と病態生理

皮膚などにおいて、求心性知覚神経の末梢端部の軸策反射による血管拡張（紅斑，腫脹，浮腫などの主として炎症性反応）には、以前から

Substance P が関与しているものと考えられてきた。知覚神経の末梢端には多くの場合、CGRP と Substance P が共存しているため、この神経の興奮により CGRP のみでなく Substance P も同時に遊離されることが想像される。Substance P には血管拡張作用だけでなく毛細血管透過性を増加させる作用のあることが知られている。CGRP それ自体には透過性増加作用はないが、併用すると血管拡張作用により、Substance P の浮腫形成作用を増強させることが示されている。従って、毛細血管領域においては、知覚神経末梢端部からのこれら伝達物質の遊離は好ましい結果をもたらさないことが予想される。Substance P の血管拡張作用は内皮細胞依存性であり、内皮から EDRF などを遊離することによってのみ血管拡張作用が発揮される。神経終末の多くは外膜側（内皮とは反対側）にあり、その終末から遊離された Substance P が血管平滑筋の幾層もの細胞間を拡散して内皮細胞に到達し得るか否かは議論の余地のあるところではあるが、細動脈以上の比較的太い動脈系では Substance P の関与は殆ど問題にはならず、専ら CGRP の血管拡張作用が重要なものであろうと考えられる。

イヌの大槽内に自家血を投与して実験的に脳血管攣縮を作成すると、柔膜の血管周囲に密に存在する CGRP 含有神経（三叉神経由来）からしばらくの間（～2週間）CGRP が枯渇することが認められている¹⁵⁾。これは、激しい脳血管攣縮に対する補償的な反応として CGRP が過度に遊離されたためか、CGRP が枯渇したがために血管攣縮が起り易くなったのか、解釈の難しい現象ではあるが興味深い結果である。クモ膜下出血のヒト患者において、術後に CGRP を適用すると症状悪化がかなり抑制されるという¹⁶⁾。ネコにおいて、nitroglycerin や nitropurusside の脳血管拡張作用の一部が内因性の CGRP（三叉神経）を介していることが示されている¹⁷⁾。これらの事実は、CGRP 作動性神経が脳循環系の独特の自動血流調節機構に関わっていることを示唆するものであり、脳血管攣縮や偏頭痛などの血管性疾患との関わりからも、この神経の役割は今後も注目されるものであろう。

ラットの胃動脈へ endothelin-1 を局所投与すると、胃粘膜障害が惹起される。胃粘膜の保護に

は粘膜の血流保持が重要であると考えられているが、この障害は endothelin-1 の強力な持続的な血管収縮作用によるものと思われる。カプサイシンの前処置により予め CGRP を枯渇させておくと、endothelin-1 による胃粘膜障害は増悪するが、CGRP を同時に投与しておくことで障害が緩解されるという¹⁸⁾。おそらく消化管などにおいても CGRP 作動性神経は局所の血流制御に何らかの役割を果たしているものと想像され、この機能が低下すると粘膜障害などの消化管病変が起こり易くなるものと考えられる。

おわりに

現在、CGRP をコードする遺伝子は2種類知られている。これまで述べてきたカルシトニン/ α -CGRP をコードする遺伝子と、新たに見いだされた β -CGRP のみをコードする遺伝子である。 α -CGRP と β -CGRP とはアミノ酸組成が僅かに異なるのみで、それぞれの抗体を用いた免疫組織化学的手法で識別することは極めて困難である。しかし、それらの mRNA の塩基組成はかなり異なっており、適当なヌクレオチドをプローブとした hybridization 法などを用いれば、組織・細胞レベルにおけるそれぞれの発現様式を探ることも可能である¹⁹⁾。 α 及び β アイソフォームの作用や拮抗薬の効果を用いた薬理学的解析、更に特異的結合実験などから、CGRP の受容体には少なくとも2種類以上の受容体サブタイプが存在することが示唆されている。それぞれの受容体サブタイプに更に詳細な薬理的、生化学的性質や分子構造の解析は今後の課題である。

CGRP 作動性神経は、カプサイシン感受性の求心性知覚神経であると言われているが、その中でも無髄のC線維と部分的に有髄のA δ 線維(主として thermoceptor 及び polymodal nociceptor に関連)がカプサイシンに対する特異性が高いようである。このような神経線維にはカプサイシンに特異的な受容体が存在するものと考えられる。最近になって、カプサイシン類似のオルヴァニル(olvanil)や、カプサイシンに競合的に拮抗する効果を有するカプサゼピン(capsazepine)なども見い出されてきており(図3)²⁰⁾、これらは上記の考えを支持するものである。カプサイシンは高濃度では知覚神経を変性させてしまう神経毒でもあ

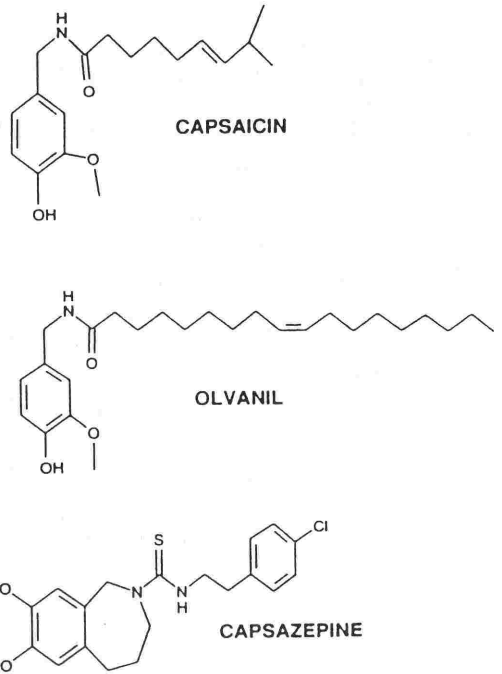


図3 カプサイシン及びその類似化合物と競合的拮抗薬の構造
 オルヴァニル(olvanil)はカプサイシンより強力なアゴニストであり、カプサゼピン(capsazepine)はカプサイシンの競合的拮抗薬。(文献20より引用)

るが、このような化合物を修飾し、より特異性の高い(例えば、知覚神経を興奮させるが変性させない、等)誘導体が見い出されれば、新しいタイプの薬物開発にもつながることが期待されよう。

References

- 1) Amara, S. G., Jonas, J., Rosenfeld, M. G., et al.: Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature* 298:240-244, 1982.
- 2) Kimura, S., Sugita, Y., Kanazawa, I., et al.: Isolation and amino acid sequence of calcitonin gene-related peptide from porcine spinal cord. *Neuropeptides* 9:75-82, 1987.
- 3) Hokfelt, T., Arvidsson, U., Ceccatelli, S., et al.: Calcitonin gene-related peptide in the brain, spinal cord, and some peripheral systems. *Annals New York Acad. Sci.* 657:119-134, 1992.
- 4) Amara, S. G., Arrizza, J. L., Leff, S. E.: Expression in brain of a messenger RNA encoding a novel neuropeptide homologous to calcitonin gene-related peptide. *Science* 229:1094-1097,

- 1985.
- 5) Goto, K., Ishikawa, T., Kimura, S., et al.: Intramural nerve-mediated inotropic responses of left atria of rats and guinea pigs: Demonstration of alpha adrenergic and nonadrenergic noncholinergic responses in guinea pigs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **243**:723-730, 1987.
 - 6) Goto, K., Miyauchi, T., Homma, S. et al.: Calcitonin gene-related peptide in the regulation of cardiac function. *Annals New York Acad. Sci.* **657**:194-203, 1992.
 - 7) Dipette, d. J., Schwarzenberger, K., Kerr, N. et al.: Systemic and regional hemodynamic effects of calcitonin gene-related peptide. *Hypertension* **9(Suppl. III)**:142-146, 1987.
 - 8) Kawasaki, H., Takasaki, K., Saito, A., et al.: Calcitonine gene-related peptide acts as a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat. *Nature* **335**: 164-167, 1988.
 - 9) Han, S.-P., Naes, L., & Westfall, T.: Calcitonin gene-related peptide is the endogenous mediator of nonadrenergic noncholinergic vasodilation in rat mesentery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **423**-428, 1990.
 - 10) Fujimori, A., Saito, A., Kimura, S., et al.: Neurogenic vasodilation and release of calcitonin gene-related peptide (CGRP) from perivascular nerves in the rat mesenteric artery. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **165**:1391-1398, 1989.
 - 11) Fujimori, A., Saito, A., Kimura, S., et al.: Release of calcitonin gene-related peptide (CGRP) from capsaicin-sensitive vasodilator nerves in the rat mesenteric artery. *Neurosci. Lett.* **112**:173-178, 1990.
 - 12) Taguchi, T., Kawasaki, H., Imamura, T., et al.: Endogenous calcitonin gene-related peptide mediates nonadrenergic noncholinergic depressor response to spinal cord stimulation in the pithed rat. *Circ. Res.* **71**:357-364, 1992.
 - 13) Meehan, A. G. & Kreulen, D. L.: A capsaicin-sensitive inhibitory reflex from colon to mesenteric arteries in the guinea-pig. *J. Physiol.* **448**: 153-159, 1992.
 - 14) Nelson, M. T., Huang, Y., Brayden, J. E., et al.: Arterial dilations in response to calcitonin gene-related peptide involve activation of K⁺-channels. *Nature* **344**:770-773, 1990.
 - 15) Nozaki, K., Kikuchi, H. & Mizuno, N.: Changes of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in cerebrovascular nerve fibers in the dog after experimentally produced subarachnoid hemorrhage. *Neurosci. Lett.* **102**: 27-32, 1989.
 - 16) Johnston, F. G., Bell, B. a., Robertson, I. J., et al.: Effect of Calcitonin gene-related peptide on postoperative neurological deficits after subarachnoid hemorrhage. *Lancet* **335**:869-872, 1990.
 - 17) Wei, E. P., Moskowitz, M. A., Boccalini, P., et al.: Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arteries. *Circ. Res.* **70**:1313-1319, 1992.
 - 18) Whittle, B. J. R. & Lopez-Belmonte, J.: Interaction between the vascular peptide endothelin-1 and sensory neuropeptides in gastric mucosal injury. *Br. J. Pharmacol.* **102**:950-954, 1991.
 - 19) Noguchi, K., Senba, E., Morita, Y., et al.: α -CGRP and β -CGRP mRNAs are differentially regulated in the rat spinal cord and dorsal root ganglion cells. *Mol. Brain Res.* **7**:299-304, 1990.
 - 20) Dray, A.: Neuropharmacological mechanisms of capsaicin and related substances. *Biochem. Pharmacol.* **44**:611-615, 1992.