

心不全におけるサイトカインと Phosphodiesterase インヒビター

蓬田伸一*, 遠藤政夫*

はじめに

サイトカインはインターロイキン (Interleukins: ILs) をはじめとして非常に多くの種類が知られている。サイトカインには proinflammatory サイトカイン (IL-1, tumor necrosis factor- α : TNF- α など), 免疫細胞の遊走や活性化に関与するケモカイン (IL-8, macrophage chemoattractant protein-1: MCP-1 など), あるいは増殖因子など種々の作用を持つ分子があり, 免疫反応や炎症反応に関わる重要な生理活性物質である。うっ血性心不全などの慢性心疾患には種々の神経液性因子がその病態形成に関与しているが, 最近ではサイトカインによる心筋のリモデリングや病態形成における役割が注目されている。本稿では心機能調節や心疾患におけるサイトカインの役割と, 心不全の治療薬として用いられている phosphodiesterase (PDE) インヒビターとの関係について述べる。

サイトカインと心機能

慢性心不全の患者の血中 TNF- α 濃度が健常人よりも高いことが報告されて以来, TNF- α をはじめとするサイトカインと心疾患との関連が注目を浴びてきた。マクロファージや monocytes によって産生される proinflammatory サイトカインの TNF- α は, 心不全患者だけでなく急性心筋梗塞の患者などでも血中レベルが上昇していることから, 慢性の心疾患においてはその原因に関わらず血中 TNF- α のレベルが上昇していると考えら

れる。健常人の心筋細胞ではその産生はないが, 末期の拡張型心筋症患者の心臓では mRNA レベルでも, 蛋白質レベルでもその産生が確認されており, 心臓特異的に TNF- α を発現させた transgenic マウスでは, 心室の拡張と駆出率の低下を伴った心筋症が認められる¹⁾ことから, 心筋細胞の産生する TNF- α はそれ自身が直接的に, あるいは他の炎症性細胞を介して心疾患を誘発するのに十分であるのかもしれない。

うっ血性心不全では, 心筋細胞の収縮性不全がその主因である。サイトカインの中には心筋の収縮性に影響を与えるものがあり, TNF- α や IL-6, IL-2 はハムスター心室乳頭筋の収縮を濃度依存的・可逆的に抑制する²⁾。この陰性変力作用は一酸化窒素合成酵素 (NOS) の阻害薬である L-NMMA を投与することで逆転されることから, これらのサイトカインは心筋に存在する constitutive NOS による NO (一酸化窒素) 産生を介して心筋の収縮力低下を引き起こすと考えられたが, その後単離心筋細胞を用いた研究では TNF- α の陰性変力作用は NO の産生亢進ではなく心筋細胞の Ca トランジェント (細胞内 Ca 濃度の一過性の上昇) を抑制することにより引き起こされることが示された (図 1)。一方, 病態生理学的な TNF- α の役割を検討するためにラットに浸透圧ポンプで持続性に TNF- α を投与した場合³⁾でも, 左心室の拡大や持続的な駆出率の低下が起こるが, このときの心室筋細胞収縮力の低下は NOS 阻害薬には全く感受性がなく, TNF- α により活性化されるスフィンゴミエリナーゼの阻害薬で一部抑制された (図 2)。持続性に TNF- α を投与した場合には TNF- α によって産生誘導される他のサ

*山形大学医学部薬理学講座

イトカイン (IL-1やIL-6など) の影響も考えられるので、これら全てがTNF- α の作用とは言えないが、いずれにしる一過性あるいは持続性にTNF- α が存在すると心筋収縮力や心機能の低下が惹起され、これらがうっ血性心不全の引き金となっている可能性が考えられる。

前述したとおりこれらのサイトカインは末期の慢性心疾患の心筋細胞からも産生されるが、病態の増悪や血中サイトカインレベル上昇、あるいは心機能不全の誘導には活性化された monocytes やマクロファージから産生されるサイトカインも重要と思われる。これらの細胞の活性化や、炎症部位への遊走に大きく関与するのがケモカインと呼ばれる一群のサイトカインである。中でも monocytes の遊走や活性化に関与しているのはC-Cケモカイン(その分子構造により分類されている)

であり、うっ血性心不全患者の重症度と比例してC-CケモカインであるMCP-1やmacrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) の血中濃度が上昇し(図3), そのレベルは心室駆出率と逆相関の関係にあることが報告されている⁴⁾。

これらのケモカインはマクロファージなどの炎症性細胞の炎症局所への遊走を促進するだけでなく、活性酸素の産生を直接的あるいは遊走した炎症性細胞を介して間接的に高めることで炎症部位での組織傷害に関与すると考えられる。ケモカインの作用により炎症性細胞が産生する活性酸素は、TNF- α などの proinflammatory サイトカインやMCP-1などのケモカイン産生に深く関与する転写因子の一つであるNF- κ Bの活性化を引き起こす。NF- κ Bは通常細胞質に存在し、その阻害蛋白質であるI- κ Bと複合体を形成することで不活性化状態となっている。I- κ Bがリン酸化とそれに引き続いたユビキチン化により分解されると

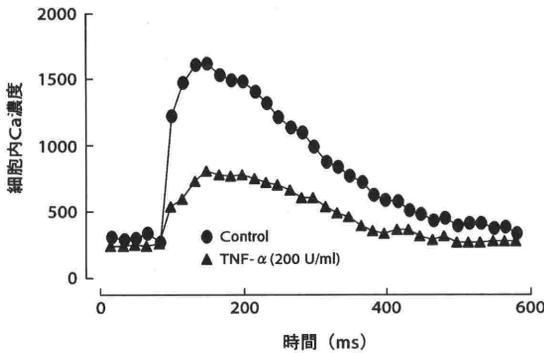


図1 TNF- α による心筋細胞Ca トランジェントの抑制 (Yokoyama T, Vaca L, Rossen RD, et al: J Clin Invest 92: 2303-2312, 1992 より改変).

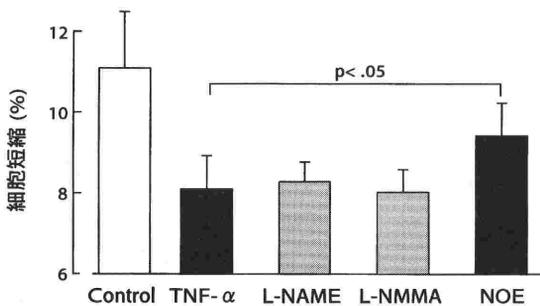


図2 TNF- α を持続的に投与したときの陰性変力作用³⁾ この作用はスフィンゴミエリナーゼ阻害薬のNOEにより一部逆転される。

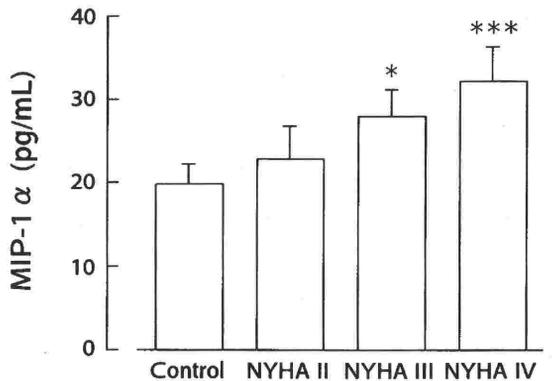
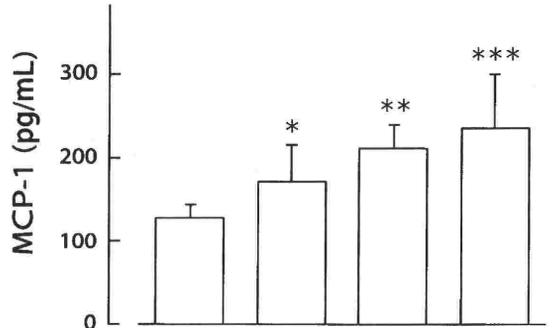


図3 血中ケモカイン濃度と心疾患の関係⁴⁾ NYHA classの重症度と血中ケモカイン濃度は比例する。

NF- κ B が核へ移行し、サイトカインをはじめとする多くの遺伝子の発現に影響を与える。活性酸素がどのような形で I- κ B のリン酸化を促進するのははまだ完全には解明されていないが、リン酸化部位とユビキチン化部位を欠損した I- κ B を心臓特異的に発現させて NF- κ B の活性化を阻害すると、LPS で誘発される敗血症性心機能低下が著しく改善する⁵⁾ことから、NF- κ B の活性化とそれによる新たなサイトカインの産生亢進は心機能不全などの病態の増悪に深く関与していると考えられる。このように、心筋細胞や心臓へ遊走・浸潤してきた炎症性細胞によるサイトカイン・ケモカイン産生は、それ自体が心機能の低下に関与するだけでなく、さらなる心機能の低下へのループを形成していると考えられる。

サイトカインと PDE インヒビター

PDE は、広範囲な細胞調節機能を持つ環状ヌクレオチド (cyclic AMP: cAMP, cyclic GMP) を

不活性な代謝産物 (5'-AMP, 5'-GMP) に加水分解する酵素の一群で、現在報告されているだけでも異なる19種類の遺伝子からなるスーパーファミリーを形成している。その分子内構造や、基質に対する特異性あるいは親和性によりサブファミリーが存在し、通常 PDE I ~ X に分類される⁶⁾。表1に示すように、これらのアイソザイムは基質に対する特異性のほかに局在も大きく異なっており、たとえば PDE IV は免疫系の細胞に比較的多く発現し、それらの細胞の免疫応答に重要な役割を果たしていると考えられている。細胞による違いはあるが、免疫系細胞に PDE インヒビターを投与すると免疫賦活機能が低下する。非選択的な PDE インヒビターのテオフィリンは喘息などの慢性炎症性疾患の治療に現在でも使用される薬物であるが、この作用は主として PDE IV を阻害することによる抗炎症作用に基づく。T リンパ球では PDE IV を選択的に阻害すると IL-2 や interferon- γ などの proinflammatory サイトカインの産生が

表1 ヒト環状ヌクレオチド PDE アイソザイム

Family	Characteristics	Km (mM) (cAMP; cGMP)	Primary tissue distribution
PDE I	Ca ²⁺ /calmodulin-stimulated	1-30; 3	heart, brain, lung, smooth muscle
PDE II	cGMP-stimulated	50; 50	adrenal gland, heart, lung, liver, platelets
PDE III	cGMP-inhibited cAMP specific	0.2; 0.3	heart, lung, liver, platelets, adipose tissue, immunocytes
PDE IV	cAMP-specific cGMP-insensitive	4; >3000	Sertoli cells, kidney, brain, liver, lung, immunocytes
PDE V	cGMP-specific	150; 1	lung, platelets
PDE VI	cGMP-specific	2000; 60	photoreceptor
PDE VII	cAMP-specific high affinity	0.2; >1000	skeletal muscle, heart, kidney, brain, pancreas, T lymphocytes
PDE VIII	cAMP-specific IBMX-insensitive	0.07; nd	testis, eye, liver, kidney, brain, skeletal muscle, embryo, ovary
PDE IX	cGMP-specific high affinity IBMX-insensitive	nd; 0.07	small intestinal smooth muscle, liver, lung, brain, testis, heart, skeletal muscle, thymus, spleen
PDE X	cAMP-inhibited	0.05; 3	

nd: not determined

IBMX: 3-isobutyl- 1 -methylxanthine

抑制される一方で, anti-inflammatory サイトカインの IL-10 産生が亢進することが報告されている。

心臓ではおもに PDEⅢが発現しており, うっ血性心不全の治療薬として使用されているミルリノンやアムリノンとは主としてこの酵素を選択的に阻害することで強心薬として作用する。これらの PDEⅢインヒビターで心臓の PDE を阻害すると, β 受容体刺激などを介して産生される cAMP が心筋細胞内に蓄積し, cAMP 依存性プロテインキナーゼ (PKA) が活性化される。その結果, (1) L-type Ca チャネルがリン酸化されて開口確率が上昇し, 細胞内に流入する Ca 量が増加する, (2) 筋小胞体 Ca チャネル (リアノジン受容体) がリン酸化されて遊離 Ca 量が増加することにより細胞内 Ca 濃度 (Ca トランジェント) が増大し, 陽性変力作用 (強心作用) が惹起される。このように PDEⅢインヒビターは cAMP および PKA を介して強心作用を示すが, 活性化された PKA はこれ以外の機能蛋白質もリン酸化する。すなわち, ホスホランパンや転写因子 CREBs (cAMP-response element-binding proteins) なども PKA によりリン酸化を受ける。ホスホランパンのリン酸化は筋小胞体 (SR) Ca-ATPase の活性を亢進させることで SR 内への Ca 過剰負荷を引き起こし, 最終的には異所性自動能の亢進, つまり不整脈の原因となりうる。心筋細胞において CREB によって制御されている遺伝子の詳細は今のところ不明であるが, PKA のリン酸化部位に変異を導入して PKA のリン酸化が起らない CREB を心筋特異的に発現させた transgenic マウスでは, ヒトの特発性拡張型心筋症と非常によく似た症状を示す⁷⁾ことから, PKA による CREB のリン酸化は何らかの遺伝子の発現調節を介して潜在的に心機能を調節していると推察される。

前項で述べたように, TNF- α などの proinflammatory サイトカインは陰性変力作用を惹起する。胎児ラットの心筋細胞でも, その培養系に TNF- α を添加すると陰性変力作用が惹起されるが, このとき β アゴニストのエピネフリンを投与すると, エピネフリンで刺激される心筋細胞の収縮性と cAMP 産生がコントロール群よりも抑制されていることがわかる。この結果は TNF- α が β 受容体のシグナル伝達系に何らかの影響を与え

た結果その感受性が低下したことを示唆している⁸⁾。同じ細胞を TNF- α で処理したのち PDEⅢインヒビターのアムリノンを投与すると, 細胞の収縮性は著しく改善するが cAMP の産生はほとんど変わらない (図 4)。この結果は敗血症ショックなどで循環血中に大量の TNF- α が放出され, カテコールアミンに対する感受性が低下している場合には, PDEⅢインヒビターのアムリノンの使用で心機能や血行動態の改善を図ることが出来る可能性を示唆している⁹⁾。

PDE インヒビターは免疫系細胞ではサイトカイン産生を抑制するが心筋細胞ではどうだろうか? 心筋細胞のサイトカイン産生に対する PDE インヒビターの作用についての報告はまだ少ない

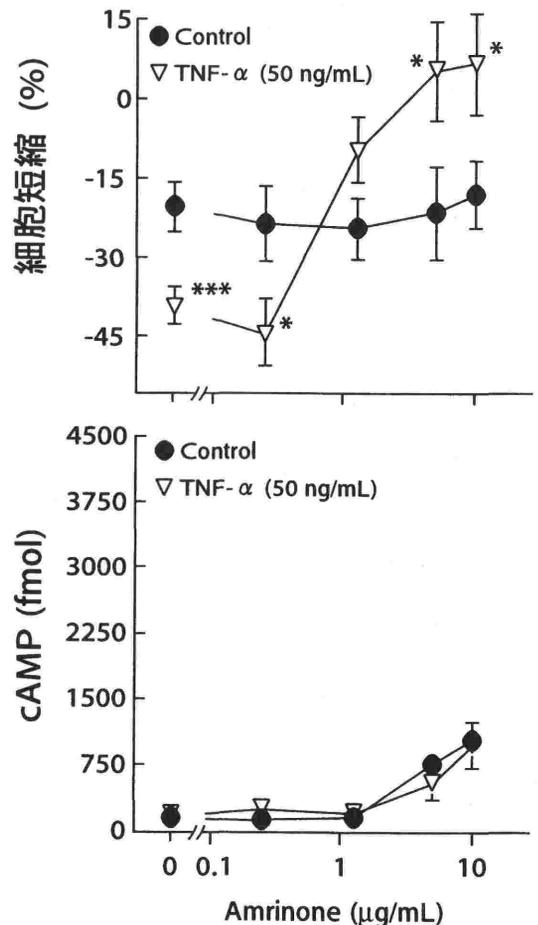


図 4 TNF- α の陰性変力作用に対する amrinone の作用⁸⁾
Amrinone は TNF- α による陰性変力作用を逆転するが, cAMP 濃度は変化させない。

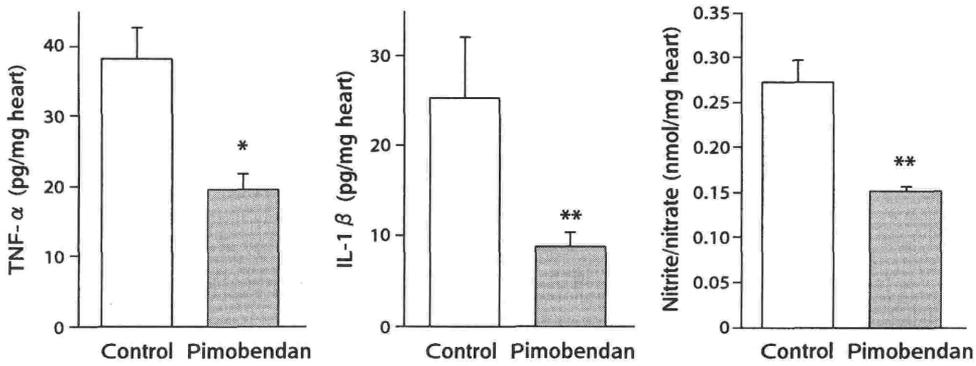


図5 サイトカイン及び NO 産生に対する pimobendan の抑制作用¹⁰⁾

が, Sasayama らのグループがマウスのウイルス性心筋炎モデルにおいて PDE III インヒビターのピモベンダンが心筋組織でのサイトカインや NO の産生を抑制し (図 5), 生存を促進したことを報告している¹⁰⁾. ピモベンダンのサイトカイン産生抑制の機序は不明であるが, LPS 刺激した monocytes のサイトカイン産生を PDE III インヒビターは抑制するものの 8-Br-cAMP が抑制しないことから PDE インヒビターのサイトカイン産生抑制作用は cAMP の増加によるものではないと考えられる。

おわりに

β 遮断薬や ACE 阻害薬によりその予後改善効果が認められたとはいえ, うっ血性心不全などの慢性心疾患の死亡率は依然として高い. これらの疾患の病状の進行にサイトカインが関与していることは間違いないが, その役割についてはまだ解明されていない. その役割が明確になれば, 抗サイトカイン抗体や可溶性受容体を用いた新たな治療法が可能になるかもしれない. PDE インヒビターは心不全モデル動物において血中サイトカインレベル上昇を抑制する. この分野での研究の進展が待たれる.

文 献

1) Bryant D, Becker L, Richardson J, et al : Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor

necrosis factor- α . *Circulation* 97 : 1375-1381, 1998
 2) Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, et al : Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 257 : 387-389, 1992
 3) Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ, et al : Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- α promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation* 97 : 1382-1391, 1998
 4) Aukrust P, Ueland T, Müller F, et al : Elevated circulating levels of C-C chemokines in patients with congestive heart failure. *Circulation* 97 : 1136-1143, 1998
 5) Haudek SB, Spencer E, Bryant DD, et al : Overexpression of cardiac I- κ B α prevents endotoxin-induced myocardial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280 : H 962-H968, 2001
 6) Soderling SH, Beavo JA : Regulation of cAMP and cGMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Curr Opin Cell Biol* 12 : 174-179, 2000
 7) Fentzke RC, Korcarz CE, Lang RM, et al : Dilated cardiomyopathy in transgenic mice expressing a dominant-negative CREB transcription factor in the heart. *J Clin Invest* 101 : 2415-2426, 1998
 8) Kumar A, Kosuri R, Kandula P, et al : Effects of epinephrine and amrinone on contractility and cyclic adenosine monophosphate generation of tumor necrosis factor α -exposed cardiac myocytes. *Crit Care Med* 27 : 286-292, 1999
 9) Barton P, Garcia J, Kouatli A, et al : Hemodynamic effects of IV milrinone lactate in pediatric patients with septic shock. *Chest* 109 : 1302-1312, 1996
 10) Iwasaki A, Matsumori A, Yamada T, et al : Pimobendan inhibits the production of proinflammatory cytokines and gene expression of inducible nitric oxide synthase in murine model of viral myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 33 : 1400-1407, 1999