

キマーゼと循環動態

高井 真 司*

はじめに

ヒトの血管組織において、アンジオテンシン変換酵素(ACE)とは異なるアンジオテンシンII産生酵素の存在が確認され、その後、その酵素はキマーゼと同定された^{1,2)}。キマーゼという酵素は、肥満細胞の顆粒中に存在するセリンプロテアーゼの一つであり、アンジオテンシンIをアンジオテンシンIIへ変換する。そのため、発見当初、キマーゼを阻害する薬は、新たな降圧薬になると考えられた。しかし、実際には、キマーゼ阻害薬は、血圧を下げなかった。また、キマーゼには、アンジオテンシンIIを産生する以外に血管リモデリングに関与するマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-2やMMP-9を活性化することが明らかとなってきた³⁾。

ACE同様にキマーゼは、アンジオテンシンII産生能があるにも拘らず、何故、血圧の調節機構に関与しないのだろう。また、血管組織に存在するキマーゼは、血管でどのような機能を果たしているのだろうか。その疑問を紐解きたいと思う。

生体内におけるキマーゼの動態

キマーゼは、肥満細胞の顆粒中に蓄積されている酵素だが、この顆粒中に存在している限り、キマーゼは、酵素機能を発揮することは不可能である。その理由は、肥満細胞顆粒中のpHにある。肥満細胞顆粒中のpHは5前後という非常に低い環境が保たれている。一方、キマーゼが酵素機能を発揮するにはpH7~9の環境が必要となり、pH5前後という環境下では、キマーゼは酵素活性を持ってないのである。

キマーゼが、酵素機能を発揮するには、肥満細胞顆粒中から放出されなければならない。そのためには、肥満細胞が何らかの刺激を受ける必要がある。肥満細胞を脱顆粒させるものとしてよく知られているのがIgEによる免疫学的刺激であるが、非免疫学的刺激として、サイトカインなども関与することが知られている。また、それら以外に、組織傷害などによる機械的刺激も肥満細胞の脱顆粒に重要と考えられる。通常、血管において、炎症や傷害が加わった場合、血管組織中の肥満細胞からキマーゼが放出され、酵素機能を発揮ようになる。そして、放出されたキマーゼは、細胞外マトリックスと結合し、数週間は酵素機能を発揮し続けると言われている。

キマーゼの特徴として、もう一つ知っておいていただきたいことがある。血液中には、キマーゼを阻害する内因性の阻害物質(セルピン)が存在することである。そのため、肥満細胞からキマーゼが放出され、例え、血液中へ流入しても数秒以内に失活する。したがって、キマーゼは、炎症や傷害が加わった局所でのみ、酵素機能を発揮するのである(図1)。

これら一連のキマーゼの生体内での酵素動態を考えると、それをターゲットとするキマーゼ阻害薬は、副作用が少ないと予想される。何故なら、キマーゼは、正常組織では酵素機能を持たず、そして、肥満細胞から脱顆粒した局所で酵素機能を発揮するが、血液中や血液を介して他の組織へ行き、酵素機能を発揮することはないからである。つまり、キマーゼ阻害薬は、キマーゼが活性化されている炎症または傷害が加わった局所でのみ、キマーゼに対する阻害作用を発揮する。

キマーゼの代表的な作用は、アンジオテンシンIをアンジオテンシンIIへ変換することである。ア

*大阪医科大学薬理学教室

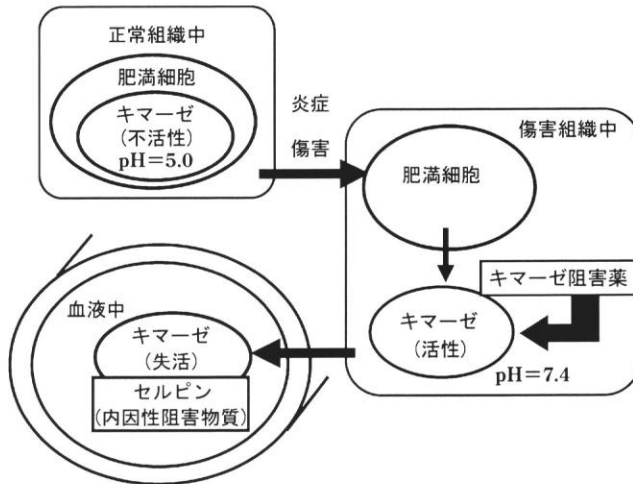


図1 生体内におけるキマーゼの動態

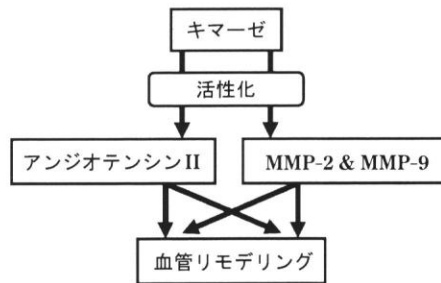


図2 キマーゼの酵素機能を介した血管リモデリングの機序

アンジオテンシン II は、血管平滑筋を収縮させる生理活性ペプチドであり、血圧の調節機構、そして、高血圧の原因物質との印象が強い。確かに、高血圧患者の血管組織では、アンジオテンシン II の作用亢進が見られ、そして、ACE 阻害薬やアンジオテンシン II 受容体遮断薬 (ARB) は、優れた降圧薬として普及している。一方、我々が腎性高血圧モデルや自然発症高血圧モデルの解析を行ったところ、キマーゼ阻害薬は降圧効果を示さず、ACE 阻害薬と ARB は同等に血圧を下げる^{4,5)}。したがって、キマーゼの産生するアンジオテンシン II は、高血圧の病態に関与しないと考えられる。その理由として、上記のように、キマーゼの酵素機能は、血管において何らかの炎症や傷害が加わった部位でのみ発揮されるからである。つまり、我々が検討した高血圧モデルでは、肥満細胞が脱顆粒するような刺激が、血管で起こらず、そのため、キマーゼは、酵素機能 (アンジオテンシン II 産生能) を発揮できなかったのであろう。

キマーゼの酵素機能

キマーゼには、様々な酵素機能が備わっている。代表的な作用としては、アンジオテンシン I をアンジオテンシン II へ変換することである。アンジオテンシン II は、高血圧と密接に関連するが、それ以外に血管平滑筋の遊走や増殖、線維芽細胞の増殖など、血管や臓器のリモデリングに深く関与することが知られている。キマーゼは、炎症や傷害された局所でのみアンジオテンシン II を産生し、血管肥厚 (動脈硬化) などと密接に関連すると考えられる (図2)。

キマーゼは、MMP-2 および MMP-9 の前駆体を活性体へ変換する作用も持つ。活性体となった MMP-2 および MMP-9 は、血管内皮細胞周囲の基底膜に存在する IV 型コラーゲンを分解することで、血管新生に深く関与する。血管新生は、動脈硬化発症にも大きな役割を担っていることが、最近、明らかとなってきた。また、動脈瘤においても、

MMP-2 活性や MMP-9 活性が亢進しており、動脈瘤の進展機序に関与している可能性が示唆される。したがって、キマーゼは、MMP-2 および MMP-9 の活性化を介しても動脈硬化や動脈瘤の進展に関与するのかもしれない(図2)。

キマーゼによる血管リモデリング

冠動脈が閉塞または狭窄した場合、バルーンカテーテルもしくはステントを用いた経皮的冠動脈形成術(PTCA)、内胸動脈または大伏在静脈を冠動脈のバイパスとして移植する冠動脈バイパス術(CABG)が施行される。しかし、前者はバルーンカテーテルで冠動脈を拡張したのちに再狭窄すること、後者の場合も移植血管として静脈を用いた場合、その狭窄率の高さが問題となっている。これらの狭窄の原因は、血管内膜の肥厚である。我々にとって、大変興味深い臨床研究が二つある。一つは、ACE 阻害薬が PTCA 後の再狭窄に対して無効であったこと⁶⁾、しかし、ARB は有効であったとの臨床研究がある⁷⁾。これらの薬効の差異から、PTCA 後の再狭窄には、ACE よりむしろキマーゼが産生するアンジオテンシン II が重要である可能性が示唆された。一方、CABG 後の移植血管の狭窄においてもキマーゼの産生するアンジオテンシン II が重要である可能性が高い⁸⁾。

A. 静脈移植(バイパスグラフト)後の血管肥厚

我々は、イヌの頸静脈を頸動脈へ移植するバイ

パスグラフトモデルを作製し、移植後1ヵ月において血管が肥厚すること、そして、移植した血管のキマーゼ活性および肥満細胞数が顕著に増加することを確認した⁹⁾。また、キマーゼ阻害による効果を検討するため、ペプチド性のキマーゼ阻害物質を移植する血管に直接作用させたのちに血管を移植した。移植後1ヵ月において、モデル群では顕著な血管肥厚が見られたが、キマーゼ阻害物質作用群で有意に抑制されていた。本モデルでは、血管移植後7日目までは ACE 活性がほとんど消失した状態であったのに対し、キマーゼ活性はその時点で有意に増加し、そして、有意な血管内膜肥厚が見られた¹⁰⁾。組織を解析した結果、移植直後から7日目まで、ACE の発現細胞である内皮細胞が消失していた。おそらく、静脈を動脈へ移植した際に内皮細胞が傷害され、ACE 発現細胞(内皮細胞)が消失したのと考えられる。一方、血管移植後7日のキマーゼ活性は、移植前に比して有意に増加し、そして、キマーゼを含有する肥満細胞も有意に増加していた。また、血管移植後7日の血管組織中のアンジオテンシン II 濃度、アンジオテンシン II 刺激により遺伝子発現が誘導されるコラーゲン I、コラーゲン III、フィブロネクチンの遺伝子発現は、有意に増加していた。しかし、キマーゼ阻害薬を作用させた移植血管では、これらすべてが有意に抑制され、内膜肥厚も抑制されていた(図3)。つまり、この移植後の血管組織では、キ

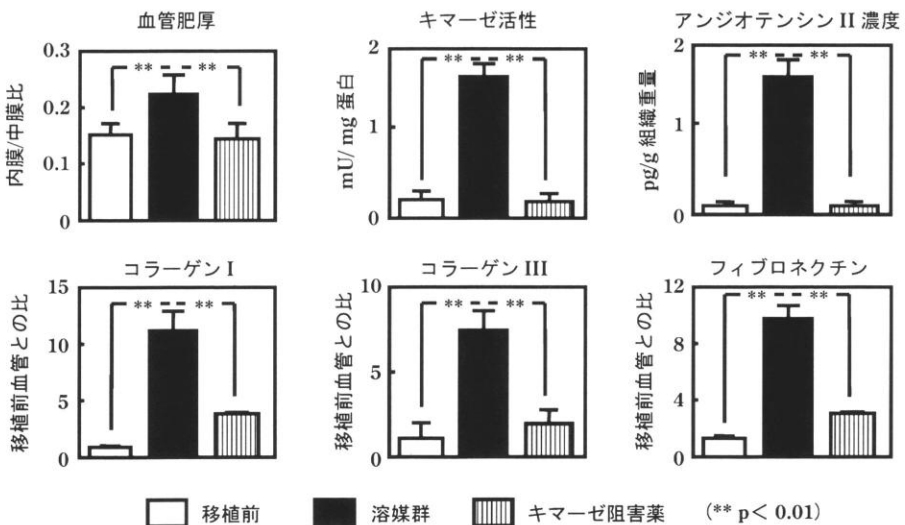


図3 イヌ移植血管における血管リモデリングに対するキマーゼ阻害薬の効果(文献10)より改変)

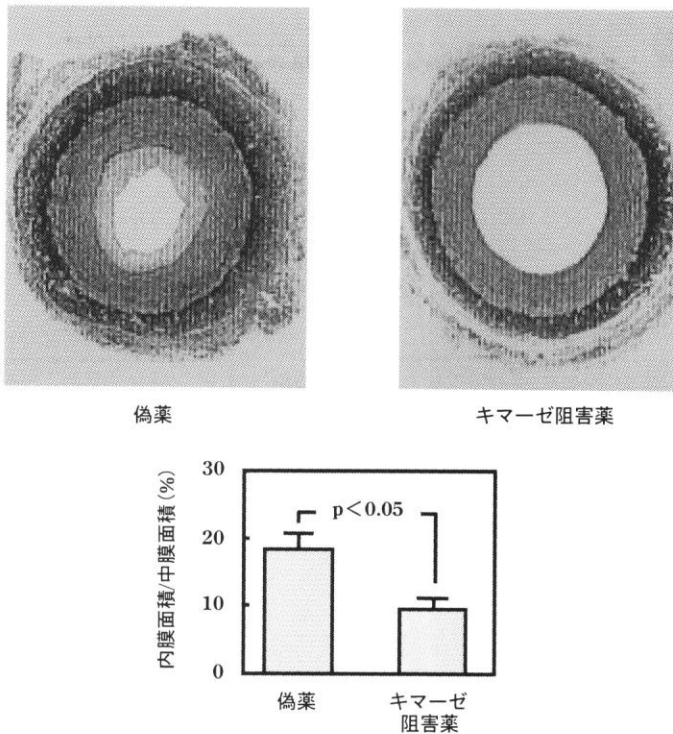


図4 イヌバルーンカテーテルによる傷害後の血管肥厚に対するキマーゼ阻害薬の効果 (文献11)より改変)

マーゼによるアンジオテンシン II 産生の亢進が、内膜肥厚発症に重要であったと考えられる。

B. バルーンカテーテルによる傷害後の血管肥厚

PTCA 後の血管再狭窄モデルとして、イヌの頸動脈内にバルーンカテーテルを挿入し、バルーンを膨らませることにより、内膜傷害モデルを作製した¹¹⁾。本モデル作製後 1 ヶ月において、傷害部位では顕著な内膜肥厚が確認できた。この内膜肥厚部位では、キマーゼ活性の有意な上昇を認めたが、ACE 活性の増加を認めなかった。本モデルに対するキマーゼ阻害薬の効果を検討するため、血管傷害 3 日前より、キマーゼ阻害薬またはプラセボを 1 日 1 回経口投与した。モデル作製後 1 ヶ月で、キマーゼ活性の顕著な増加と内膜肥厚が見られたが、キマーゼ阻害薬投与により、キマーゼ活性のみならず内膜肥厚も顕著に抑制された(図4)。これらのことより、バルーンカテーテルによる傷害後の内膜肥厚にもキマーゼの産生するアンジオテンシン II が重要であると考えられる。

C. 動脈硬化

ヒト動脈硬化部位において、キマーゼを発現し

ている肥満細胞が多数集積していることが知られている。特に、プラーク破綻を起こしている部位では、キマーゼが高密度に集積している。これらのことは、動脈硬化の進展およびプラーク破綻にキマーゼが関与している可能性を示唆するのかもしれない。多くの研究から、動脈硬化の進展にアンジオテンシン II が深く関与していることは明らかである。例えば、サル動脈硬化モデルの動脈硬化部位において、ACE およびキマーゼの遺伝子発現が有意に増加し、このモデルの動脈硬化は、ARB により有意に予防される^{12,13)}。しかし、臨床的には既に形成された動脈硬化に対し、抗動脈硬化を示す薬剤の開発が期待されている。最近、我々は、サル動脈硬化モデルを用いて、一旦、動脈硬化を形成させたのちに ARB を投与し、形成された動脈硬化が退縮できるか否かを検討した¹⁴⁾。方法としては 6 ヶ月間高脂肪食負荷を行ったのち、血管内超音波検査 (IVUS) にて大動脈に沈着したプラーク体積/全血管体積比を計測し、この値を投与前値とし、その後、ARB の投与を開始し、さらに 6 ヶ月間高脂肪食を負荷したのち、再度、IVUS に

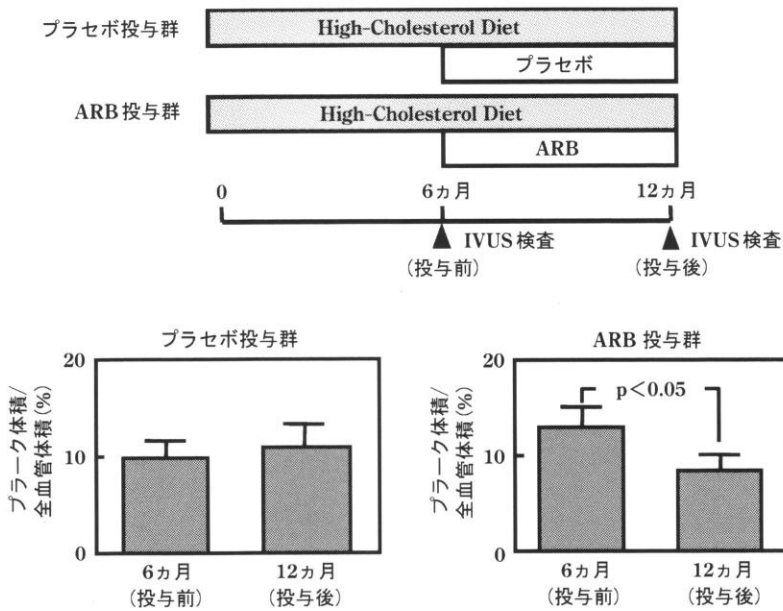


図5 サル動脈硬化退縮効果を検討した実験計画とアンジオテンシン II 受容体遮断薬 (ARB) による動脈硬化退縮効果(文献14)より改変)

て大動脈内プラーク体積/全血管体積比を計測した。投与前値との比較を行うことにより、ARB 投与後の動脈硬化退縮作用を検討したのである。図5が示すように、プラセボ投与群では、プラーク体積/全血管体積比が、投与前と投与後でやや微増するのに対し、ARB 投薬群では、投与前に高脂肪食負荷により一旦形成されたプラーク体積/全血管体積比が、投与後には有意に減少(退縮)していた。このように、アンジオテンシン II は、動脈硬化の発症のみならず、進展に大きく寄与しているのである。キマーゼ阻害薬を用いた研究としては、ハムスター動脈硬化モデルにおいてキマーゼ阻害薬が有意に動脈硬化発症を予防するとの報告がある¹⁵⁾。最近、動脈硬化の進展に血管新生に関与する MMP-2 や MMP-9 が重要な役割を担っている可能性が指摘されている。したがって、キマーゼは、アンジオテンシン II の産生のみならず、MMP-2 および MMP-9 の活性化を介して動脈硬化の病態に関与している可能性がある。

D. 動脈瘤

ヒト動脈瘤において、キマーゼ活性の顕著な増加が見られる¹⁶⁾。このキマーゼの発現細胞は、主に外膜側に集積しており、MMP-9 の発現もキマーゼ発現細胞に隣接して高発現していた。動脈瘤は、

中膜の被薄化を伴うが、それには MMP-9 が深く関与する。ハムスター動脈瘤モデルにおいて、キマーゼ活性の増加、動脈径の拡張や中膜被薄化が見られたが、キマーゼ阻害薬投与群では、キマーゼ活性が有意に抑制されると共に動脈径の拡張や中膜被薄化は抑制されていた(図6)¹⁷⁾。また、アンジオテンシン II 産生活性や MMP-9 の活性も有意にキマーゼ阻害薬により減少していた。動脈瘤進展にキマーゼが産生するアンジオテンシン II や MMP-9 の活性化が関与すると考えられる。

おわりに

キマーゼは、正常な血管では酵素機能を持たず、炎症が顕著な部位、または、傷害を受けた血管において局所的に酵素機能を発揮しているであろう。したがって、全身循環に対する影響は少ないものの、炎症や傷害を受けた血管のリモデリングに深く関与し、局所の循環に大きな役割を担っていると考えられる。キマーゼ阻害薬は、現在、開発途上であるが、おそらく、炎症や傷害が起こっている血管リモデリングにのみ作用するので、副作用が少ない血管リモデリング抑制薬になると期待している。

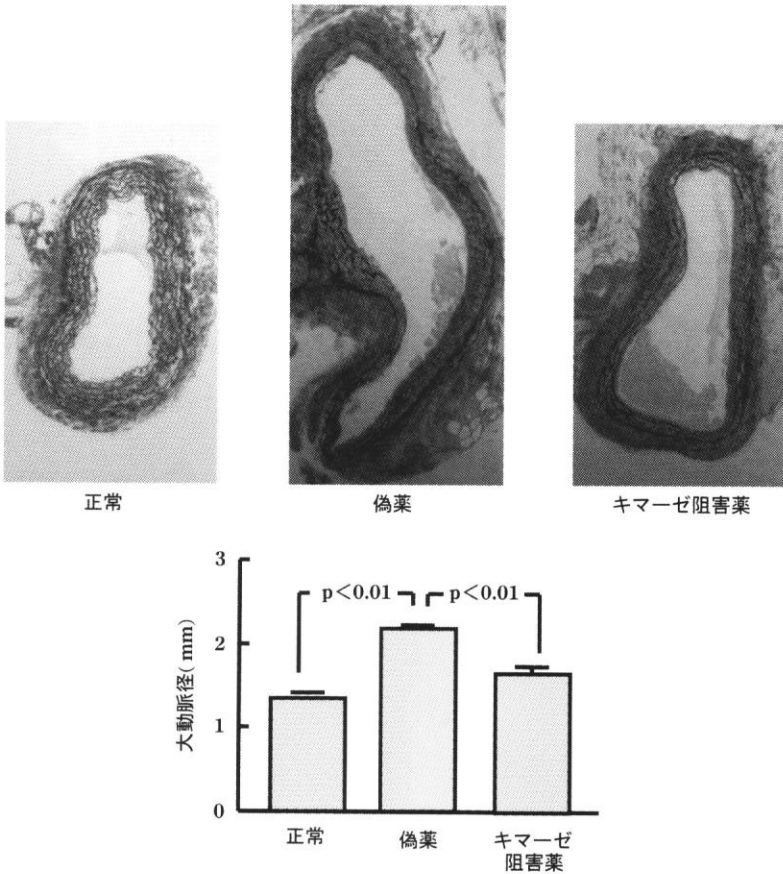


図6 ハムスター大動脈瘤モデルに対するキマーゼ阻害薬の効果
(文献17)より改変)

文 献

- Okunishi H, Oka Y, Shiota N, et al: Marked species-difference in the vascular angiotensin II-forming pathways: humans versus rodents. *Jpn J Pharmacol* 1993; 62: 207-10.
- Takai S, Shiota N, Sakaguchi M, et al: Characterization of chymase from human vascular tissues. *Clin Chim Acta* 1997; 265: 13-20.
- Takai S, Jin D, Muramatsu M, et al: Chymase as a novel target for the prevention of vascular diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 518-22.
- Jin D, Takai S, Shiota N, et al: Roles of vascular angiotensin converting enzyme and chymase in two-kidney, one clip hypertensive hamsters. *J Hypertens* 1998; 16: 657-64.
- Kirimura K, Takai S, Jin D, et al: Role of chymase-dependent angiotensin II formation in regulating blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2005; 28: 457-64.
- MERCATOR Study Group: Dose the new angiotensin converting enzyme inhibitor cilazapril prevent restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty? *Circulation* 1992; 86: 100-10.
- Peters S, Gotting B, Trummel M, et al: Valsartan for prevention of restenosis after stenting of type B2/C lesions: the VAL-PREST trial. *J Invasive Cardiol* 2001; 13: 93-7.
- Nishimoto M, Takai S, Sawada Y, et al: Chymase-dependent angiotensin II formation in the saphenous vein versus the internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121: 729-34.
- Takai S, Yuda A, Jin D, et al: Inhibition of chymase reduces vascular proliferation in dog grafted veins. *FEBS Lett* 2000; 467: 141-4.
- Nishimoto M, Takai S, Kim S, et al: Significance of chymase-dependent angiotensin II-forming pathway in the development of vascular proliferation. *Circulation* 2001; 104: 1274-9.
- Takai S, Sakonjo H, Fukuda K, et al: A novel chymase inhibitor, 2-(5-formylamino-6-oxo-2-phenyl-1,6-dihydro-pyrimidine-1-yl)-N-[4-dioxo-1-phenyl-7-(2-pyr-

- idyloxy]2-heptyl]acetamide (NK3201), suppressed intimal hyperplasia after balloon injury. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304: 841-4.
- 12) Takai S, Shiota N, Kobayashi S, et al: Induction of chymase that forms angiotensin II in the monkey atherosclerotic aorta. *FEBS Lett* 1997; 412: 86-90.
 - 13) Takai S, Kim S, Sakonjo H, et al: Mechanisms of angiotensin II type 1 receptor blocker for anti-atherosclerotic effect in monkeys fed a high-cholesterol diet. *J Hypertens* 2003; 21: 361-9.
 - 14) Takai S, Jin D, Sakaguchi M, et al: The regressive effect of an angiotensin II receptor blocker on formed fatty streaks in monkeys fed a high-cholesterol diet. *J Hypertens*, 2005; 23: 1879-86.
 - 15) Uehara Y, Urata H, Ideishi M, et al: Chymase inhibition suppresses high-cholesterol diet-induced lipid accumulation in the hamster aorta. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 870-6.
 - 16) Nishimoto M, Takai S, Fukumoto H, et al: Increased local angiotensin II formation in aneurysmal aorta. *Life Sci* 2002; 71: 2195-205.
 - 17) Tsunemi K, Takai S, Nishimoto M, et al: A specific chymase inhibitor, 2-(5-formylamino-6-oxo-2-phenyl-1,6-dihydropyrimidine-1-yl)-N-[[3,4-dioxo-1-phenyl-7-(2-pyridyloxy)]-2-heptyl]acetamide (NK3201), suppresses development of abdominal aortic aneurysm in hamsters. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 879-83.