

アンジオテンシン II タイプ 1 受容体の 発現と機能

市来 俊 弘*

はじめに

アンジオテンシン II (AngII) の二つの受容体 (タイプ 1 レセプター: AT1 とタイプ 2 レセプター: AT2) を区別する特異的な拮抗薬の開発と、それぞれの遺伝子のクローニングにより、レニン・アンジオテンシン系の研究は大きく進歩した¹⁾。また多くの大規模臨床試験の結果から、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬に降圧作用以上の心血管保護作用があることが明らかとなってきた。ACE 阻害薬に引き続き AT1 拮抗薬、いわゆる ARB が臨床使用され、心不全などにおけるその有効性を示すエビデンスが徐々に蓄積されてきた。その結果、レニン・アンジオテンシン系の阻害薬が降圧薬としてのみならず、広く循環器疾患治療薬として使用されるようになってきた。

本稿では、ARB が作用する受容体である AT1 の構造、信号伝達そして発現調節について概説した。

AngII 受容体の構造

現在までに遺伝子が単離されている AngII 受容体は AT1 と AT2 のみである。それぞれ 359 個²⁾ (図 1) と 363 個³⁾ のアミノ酸からなる 7 回膜貫通型の受容体で、三量体 G 蛋白と共役していると考えられている。

AT1 はマウスやラットでは 2 つのアイソフォームが別々の遺伝子上に存在しており、AT1a および AT1b と呼ばれている。AT1a と AT1b は発現する組織分布が異なるが、リガンドや拮抗薬の結合、あるいは細胞内シグナル伝達などを薬理学的には

区別できない。ヒトの AT1 は第 3 エクソンの alternative splicing により 2 種類の受容体の存在が報告されている⁴⁾。AT1 がいわゆる ARB が結合する受容体であり、Dup753 (Losartan) や Candesartan, Valsartan などが受容体特異的拮抗薬として臨床使用されている。表 1 に AT2 と比較した AT1 の特徴をまとめた。

AT1 のシグナリング

A. G 蛋白共役

AT1 は三量体 G 蛋白のうち Gq, Gi/o, G_{12/13} に共役していると報告されている。一般的に AngII は Gq あるいは G₁₂ を介して phospholipase C (PLC) β を活性化し、活性化された PLC はフォスファチジルイノシトール 2 リン酸を分解し、イノシトール 3 リン酸 (IP₃) とジアシルグリセロール (DG) を生じると考えられている。前者は小胞体からのカルシウム放出を誘導し、後者は Protein kinase C (PKC) を活性化する。ところがチロシンリン酸化によって活性化される PLC γ が AT1 を介して活性化されるとする報告もある⁵⁾。AngII は G $\alpha_{12/13}$ を介して、L 型カルシウムチャンネルを活性化する。この G $\alpha_{12/13}$ との共役は、低分子量 G 蛋白である Rho およびその下流の Rho-kinase 系を活性化する Rho guanine exchange factor (GEF) を活性化する信号伝達系としても重要である⁶⁾。

B. チロシンリン酸化

AngII の刺激は三量体 G 蛋白の活性化以外に一連の蛋白のチロシンリン酸化を誘導する。前述の PLC γ 以外に、AngII によって pp60^{C-SRC}, pp125^{FAK}, JAK2, STATs, TYK2 などのチロシンリン酸化が生じる。

*九州大学大学院医学研究院循環器内科

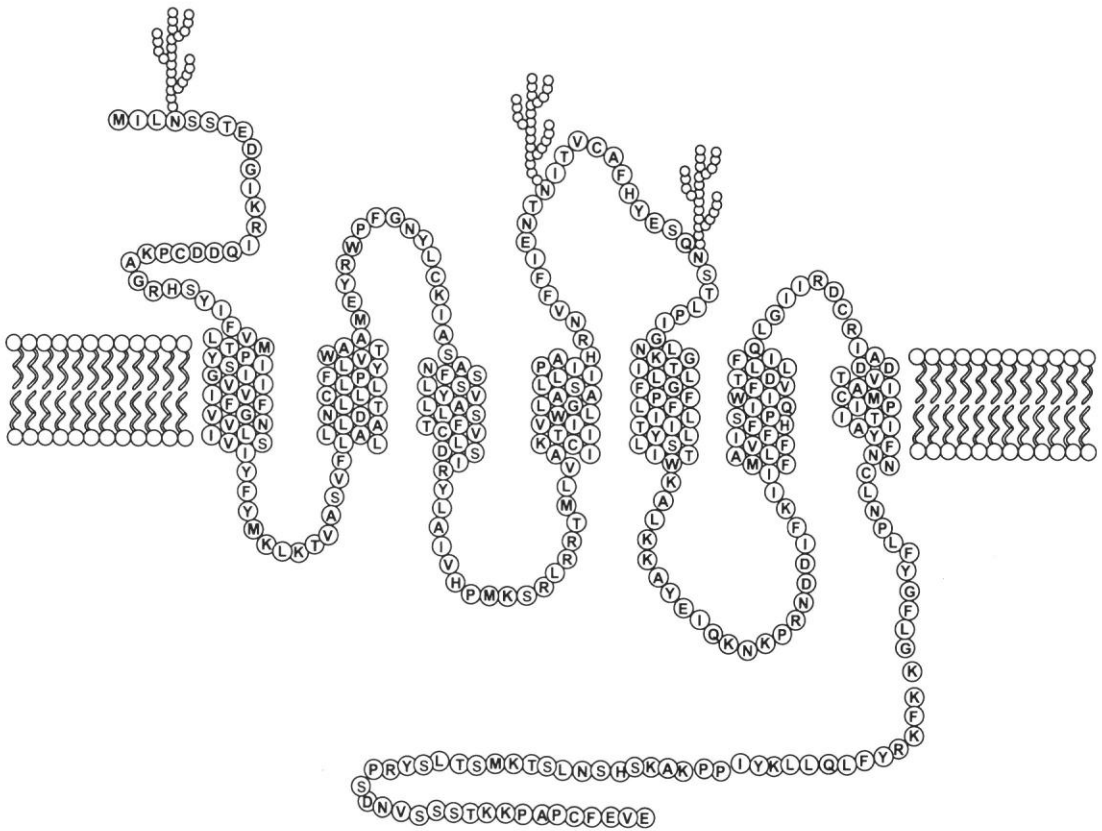


図1 AT1 受容体のアミノ酸配列と予想される構造
アミノ酸名は一文字の略号で示してある。

表1 AT1 と AT2 の特徴

	AT1	AT2
主要発現組織	血管平滑筋, 肝臓, 腎臓 副腎皮質, 心臓, 脳	胎児の腎, 皮下組織, 舌 副腎髄質, 子宮, 脳
特異的拮抗剤	ロサルタン, カンデサルタン, バルサルタン, オルメサルタンなど	PD123319, CGP42112A (高濃度)
染色体	ヒト-第3, ラット-第17 (AT1a) ラット-第2 (AT1b)	X 染色体
アミノ酸	359	363
細胞内信号伝達	Gq, Gi/o, G12/13 PLC 活性化 MAPK 活性化 JAK-STAT 系活性化 EGF-R の transactivation	Gi フォスファターゼ活性化 cGMP 系活性化?
主な生理作用	血管収縮 アルドステロン分泌 抗利尿作用 平滑筋細胞増殖・肥大, 心筋肥大 サイトカイン, 細胞外基質産生促進	血管拡張 アポトーシス誘導 ナトリウム利尿? 細胞外基質産生抑制

PLC γ の活性化はAT1受容体の細胞内C端に結合することによって生じると考えられている。JAK2も同様にC端に結合するとされる⁷⁾。しかしどのような機序によって結合し、チロシンリン酸化を受けるかは明らかではない。前述のPLC γ の活性化にはc-Srcが重要と考えられている⁸⁾。

C. 上皮細胞成長因子受容体の transactivation と mitogen-activated protein kinase

近年、リゾフォスファチジン酸やトロンビンなどの7回膜貫通型受容体のアゴニストが上皮細胞成長因子受容体(epidermal growth factor receptor: EGF-R)をtransactivationすることが明らかとなってきた⁹⁾。これらのアゴニストは細胞膜のmatrix metalloproteinase (MMP)を活性化し、やはり細胞膜に存在するproheparin-binding epidermal growth factor (proHB-EGF)を膜から切り出す。その結果遊離したHB-EGFがオートクラインあるいはパラクライン的にEGF-Rを活性化すると考えられている¹⁰⁾。AngIIについても同様の報告がある¹¹⁾。血管平滑筋細胞においてAngIIはAT1を介してMMP依存性にEGF-Rをtransactivationする。この過程には細胞内Ca²⁺の上昇やc-Srcの活性化、活性酸素の産生が必要と考えられている。この活性化されたEGF-Rの下流でextracellular signal-regulated protein kinase (ERK)とp38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)が活性化されると考えられている。

D. NADPH oxidase と活性酸素

エモリー大学のGriendlingらは平滑筋細胞をAngIIで刺激すると、スーパーオキシドが産生されると報告した¹²⁾。以来、AngIIによって産生される活性酸素が心血管系に及ぼす作用について精力的に研究されるようになった。細胞にはミトコンドリアやxanthine oxidaseなどの活性酸素種の発生源があるが、AngIIによる活性酸素の産生はdiphenylene iodoniumと呼ばれるflavoproteinの阻害薬でブロックされるため、NAD(P)H oxidaseによるものと考えられている。NAD(P)H oxidaseはいくつかのサブユニットからなる蛋白で、膜に結合したチトクロームb₅₅₈と細胞質に存在するp47^{phox}、p67^{phox}および低分子量G蛋白であるRac1より構成される。チトクロームb₅₅₈はNADPHから分子状酸素へ電子を伝達する最後の担体として働き、p22^{phox}と糖蛋白のgp91^{phox}(現在はNox2)から構成

される。内皮細胞ではこれらの5つのサブユニットがすべて発現しているとされているが、ラット平滑筋細胞ではp67^{phox}とgp91^{phox}の発現はほとんど認められない¹³⁾。その後gp91^{phox}と56%の相同性を示すNox1がクローニングされ¹⁴⁾、平滑筋細胞で発現していることから、平滑筋細胞のチトクロームb₅₅₈はp22^{phox}とNox1とから構成されていると考えられる。同じホモログの一つであるNox4は平滑筋細胞および内皮細胞ともに多く発現しており、血管における活性酸素の産生に関与している可能性が示唆されている。

AngIIによって産生された活性酸素は、血圧の上昇、内皮依存性血管弛緩反応の減弱などをもたらす。これはスーパーオキシドがすみやかに一酸化窒素(NO)と反応し、NOを不活化することによるものと考えられている。また活性酸素はいわゆるレドックス感受性の転写因子であるAP-1やNF- κ Bを活性化してサイトカインや接着因子の発現、平滑筋細胞の増殖、凝固系の亢進などを促進し動脈硬化の進展をもたらすと考えられる(図2)。

AngIIによるNAD(P)H oxidaseの活性化の機序は明らかではないが、TouyzらはフォスホオリパーゼD(PLD)によって産生されるフォスファチジン酸が重要であることを報告している¹⁵⁾。

遺伝子発現と生理学および病態生理学的役割

A. AT1の組織分布

AT1aとAT1bはリガンド結合特性やシグナル伝達においては差が認められないが、その遺伝子発現調節と組織分布は異なることが示されている。

AT1aは主に心臓、腎臓、大動脈、肝臓、脳などに発現している。平滑筋細胞はAT1aを発現している。一方AT1bは副腎と脳下垂体に主に発現している。

副腎皮質はAT1aとAT1bを発現しており、副腎髄質はAT1aを発現している。腎臓ではAT1bはメサンジウム細胞と傍糸球体細胞においてのみ発現している。主な臓器におけるAT1受容体中のAT1aの発現比率は、肝臓では100%、肺では85%、腎臓では73%、副腎では48%、脳下垂体では15%と報告されている。

脳のAT1は血圧や飲水行動、食塩摂取などに関与している。脳内には組織RASがあり、局所的に

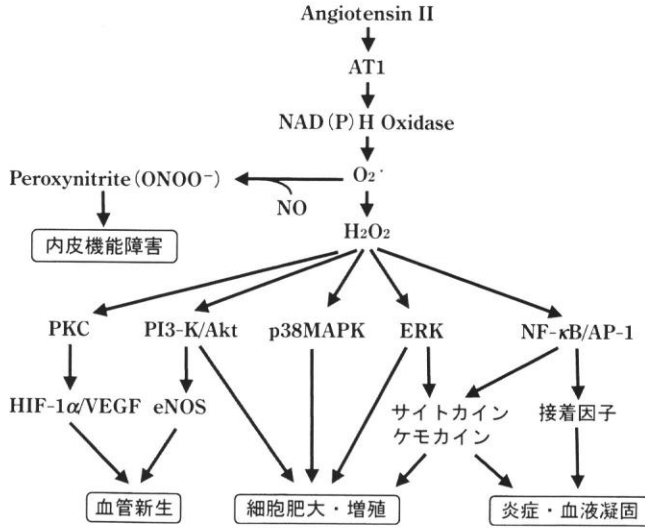


図2 アンジオテンシン II によって産生される活性酸素が血管系に及ぼす影響
 活性酸素が活性化する蛋白リン酸化酵素, 転写因子, 蛋白などを示す.
 PI3-K: phosphatidyl inositol 3-kinase, HIF-1α: hypoxia inducible factor, VEGF: vascular endothelial growth factor,
 eNOS: endothelial nitric oxide synthase. その他の略語は本文中を参照.

産生された AngII と循環血液中の AngII の、両方の影響をうける。脳血液関門のため循環血液中の AngII は、脳血液関門のない脳室周囲器官を介して作用すると考えられている。この領域には AT1 が豊富に発現している。視床下部の傍側脳室核にも AT1 の発現が多く、この領域は脳下垂体前葉のホルモン分泌、心血管の自律神経制御に関与すると考えられている。脳内の AT1 の多くは AT1a であるが脳下垂体前葉は主に AT1b が発現しており、プロラクチンや ACTH の分泌を制御すると考えられている。また最近、脳内における AT1a が主に昇圧反応に関与し、AT1b が飲水行動に関与するという報告がなされている¹⁶⁾。

心臓では心筋細胞と心臓線維芽細胞の両方に AT1 の発現が認められている。AngII は心筋細胞に直接作用し心筋の肥大を生じる。線維芽細胞において AngII は増殖を促進し、コラーゲンなどの細胞外基質の産生を誘導する。これらにより心臓の肥大に重要な役割を果たしている。また、心筋細胞を伸展すると心筋細胞自体より AngII が分泌され、オートクライン的に心筋細胞の肥大に関わる可能性が示されている¹⁷⁾。心筋梗塞後に生じる左心室の拡大、いわゆる心室リモデリングにおいても AngII は重要な役割を果たすと考えられている。

腎臓における AT1 は糸球体輸出細動脈やメサン

ジウム細胞、傍糸球体細胞、近位尿細管などに多く発現している。腎臓において AngII は AT1 を介して、腎血管抵抗を増大させ、腎血漿流量を減少させる。同時に糸球体輸出細動脈を収縮させるため、糸球体毛細血管圧が上昇し糸球体ろ過率は維持される。尿細管ではナトリウムの再吸収を増加させる。また AngII は、メサンジウム細胞や糸球体内皮細胞を増殖させ、メサンジウム細胞からのコラーゲンやフィブロネクチンの産生を増加させるので、腎の増殖性変化や線維化にも関与するとされている。

血管における AngII は血管を収縮させるのみならず、血管平滑筋細胞の増殖と肥大を誘導する。しかし培養平滑筋細胞を得た血管床によっては、AngII によって肥大は生じるが、増殖は生じないとする報告がある。In vivo においては中膜平滑筋細胞の肥大に関与すると考えられている。バルーンによる血管傷害後の新生内膜の形成は中膜平滑筋細胞の増殖と遊走によって生じると考えられているが、この過程においても AT1 が重要と考えられている。血管平滑筋細胞において AngII はサイトカイン、増殖因子や細胞外基質などの産生を誘導する。

AngII は、副腎皮質ではおもにアルドステロンの分泌を制御し、これは AT1b を介すると考えられて

いる。髄質の AT1 はカテコラミンの産生・分泌を促進する。最近 AT2 がこの作用に拮抗し、カテコラミンの産生・分泌を抑制することが報告された¹⁸⁾。

B. AT1 の遺伝子発現制御

AT1a 遺伝子のプロモーター領域には AP1, glucocorticoid response element (GRE), SP-1, NF- κ B, cyclic AMP response element (CRE) などの転写調節領域が認められる。培養血管平滑筋細胞は AT1a を強く発現し、AT1 の発現制御に関して多くの研究がなされている。グルココルチコイドは、3カ所に認められる GRE の一つを介して AT1 の発現を増加させるとされ、Cushing 症候群における血圧上昇における AT1 の関与が示唆されている。しかしながら、他の転写調節領域の機能については十分には解析されていない。その他、IL-1 α や LDL は AT1a の発現を増加させ、一酸化窒素は AT1a の発現を減少させると報告されている。IL-1 α や LDL は動脈硬化を促進する因子であり、一酸化窒素はそれに拮抗すると考えられている。これらの因子の動脈硬化への影響と AT1 発現への影響が相関することは面白い現象であり、動脈硬化進展における AT1 の関与を示唆するデータとも考えられる。高脂血症患者においては血小板の AT1 の発現量が増加しており、スタチンを投与して4週

間治療を行うと LDL のレベルには変化がなくとも AT1 の発現量や血管の AngII に対する反応性が正常化すると報告されている¹⁹⁾。また AngII 自体は AT1 の発現を減少させる、いわゆる homologous downregulation を生じる。我々は、この過程に ERK と活性酸素が関与することを報告した²⁰⁾。血管平滑筋細胞における AT1a の発現を制御する物質について表2にまとめた。発現調節機構としては、転写レベルの調節と転写後の mRNA 安定性の変化による調節が報告されている(図3)。

AT1b 遺伝子のプロモーター領域には PEA3, SP-1

表2 血管平滑筋細胞の AT1 発現を制御する因子

増減	因子	機序
増加	IL-1 α	?
	LDL コレステロール	転写後調節
	インスリン	転写後調節
	NaCl	転写後調節
	グルココルチコイド	転写調節
減少	一酸化窒素	転写調節
	レチノイン酸	転写調節
	PPAR γ リガンド	転写調節
	甲状腺ホルモン	転写および転写後調節
	アンジオテンシン II	転写後調節
	エストロゲン	転写後調節
	スタチン	転写調節

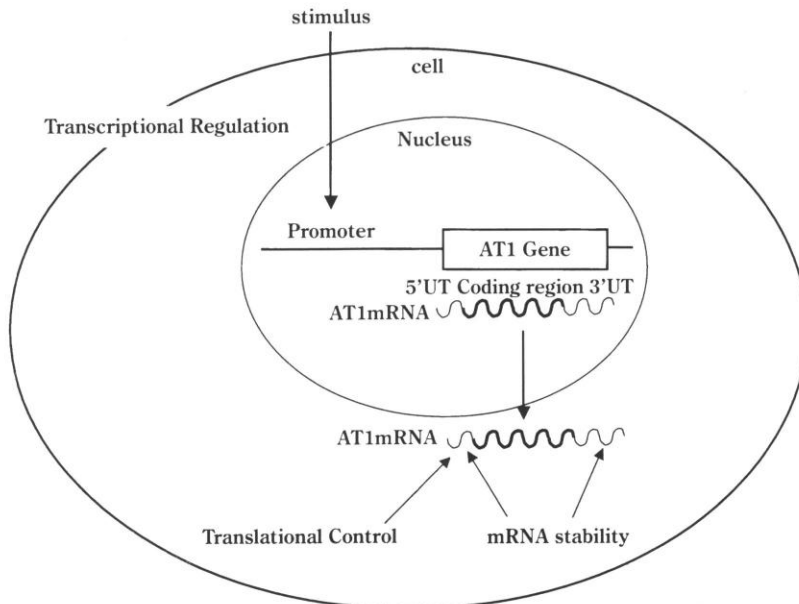


図3 AT1 受容体遺伝子発現の制御

AT1 の発現は、遺伝子プロモーターの転写活性 (Transcriptional regulation)、翻訳レベルでの制御 (Translational control) と mRNA の安定性 (mRNA stability or posttranscriptional regulation) により調節されていると報告されている。

などがあり AT1a とは異なった遺伝子発現制御を受けている。例えば、エストロゲンは脳下垂体の AT1a には影響を与えないが AT1b の発現を減少させる。

ノックアウトマウスとトランスジェニックマウス

現在、遺伝子が同定されているレニン・アンジオテンシン系のすべての構成要素、つまりアンジオテンシノーゲン、レニン、ACE、ACE2、AT1a、AT1b そして AT2 のノックアウトマウスが作成されている。AT1a ノックアウトマウスでは約 20mmHg の血圧低下を認めたが、ACE やアンジオテンシノーゲンノックアウトマウスに認められたような明らかな腎臓の形態異常は認められていない。AT1b ノックアウトマウスでは基礎血圧も変化なく、腎病変も認められなかった。AT1a ノックアウトマウスにおいて、静脈内投与された AngII に対する昇圧反応が認められないことから、当初 AT1b は血圧制御にはあまり関与しないものと考えられた。ところがその後、AT1a ノックアウトマウスに ACE 阻害薬を投与すると血圧が若干低下し、さらにその状態において AngII を投与すると、わずかではあるが濃度依存性に血圧の上昇が認められた。このことから少なくとも AT1a がいない状態においては AT1b も血圧制御に関与することが証明された²¹⁾。AT1ab ダブルノックアウトマウスでは AT1a ノックアウトマウスよりさらに血圧が低下することも AT1b の血圧制御における役割を支持するものと考えられる。一方、明らかな腎病変は AT1ab ダブルノックアウトマウスにのみ認められることから腎臓の発生においては AT1a と AT1b は相補的であると考えられる。

心臓特異的に AT1 を過剰発現するトランスジェニックマウスは心筋の肥大とともに房室ブロックを生じ生後 1 週間のうちに死亡すると報告された²²⁾。その後、異なった種のマウスを用いた AT1 トランスジェニックマウスにおいて心肥大を生じるが生存しうることが報告された。

おわりに

アンジオテンシン変換酵素阻害薬や ARB は心血管病や糖尿病の治療に有用であることが示されているが、残念ながらその効果は限定的である。

アンジオテンシン II が心血管病変の形成に深く関わっていることは明らかであり、その信号伝達経路の解析から新たな治療標的が見つければ画期的な治療方法の開発にもつながると期待される。

文 献

- 1) de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, et al: International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415-72.
- 2) Sasaki K, Yamano Y, Bardhan S, et al: Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor. *Nature* 1991; 351: 230-3.
- 3) Kambayashi Y, Bardhan S, Takahashi K, et al: Molecular cloning of a novel angiotensin II receptor isoform involved in phosphotyrosine phosphatase inhibition. *J Biol Chem* 1993; 268: 24543-6.
- 4) Curnow KM, Pascoe L, Davies E, et al: Alternatively spliced human type 1 angiotensin II receptor mRNAs are translated at different efficiencies and encode two receptor isoforms. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 1250-62.
- 5) Marrero MB, Paxton WG, Duff JL, et al: Angiotensin II stimulates tyrosine phosphorylation of phospholipase C-gamma 1 in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 10935-9.
- 6) Gohla A, Schultz G, Offermanns S: Role for G₁₂/G₁₃ in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. *Circ Res* 2000; 87: 221-7.
- 7) Ali MS, Sayeski PP, Dirksen LB, et al: Dependence on the motif YIPP for the physical association of Jak2 kinase with the intracellular carboxyl tail of the angiotensin II AT1 receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 23382-8.
- 8) Ushio-Fukai M, Griendling KK, Akers M, et al: Temporal dispersion of activation of phospholipase C-beta1 and -gamma isoforms by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. Role of alphaq/11, alpha12, and beta gamma G protein subunits. *J Biol Chem* 1998; 273: 19772-7.
- 9) Daub H, Weiss FU, Wallasch C, et al: Role of transactivation of the EGF receptor in signaling by G-protein-coupled receptors. *Nature* 1996; 379: 557-60.
- 10) Prenzel N, Zwick E, Daub H, et al: EGF receptor transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. *Nature* 1999; 402: 884-8.
- 11) Eguchi S, Numaguchi K, Iwasaki H, et al: Calcium-dependent epidermal growth factor receptor transactivation mediates the angiotensin II-induced mitogen-activated protein kinase activation in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 8890-6.
- 12) Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, et al: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase ac-

- tivity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1994; 74: 1141-8.
- 13) Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M: NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 2000; 86: 494-501.
 - 14) Suh YA, Arnold RS, Lassegue B, et al: Cell transformation by the superoxide-generating oxidase Mox1. *Nature* 1999; 401: 79-82.
 - 15) Touyz RM, Schiffrin EL: Ang II-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cells. *Hypertension*. 1999; 34: 976-82.
 - 16) Davissou RL, Oliverio MI, Coffman TM, et al: Divergent functions of angiotensin II receptor isoforms in the brain. *J Clin Invest* 2000; 106: 103-6.
 - 17) Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, et al: Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell* 1993; 75: 977-84.
 - 18) Takekoshi K, Ishii K, Shibuya S, et al: Angiotensin II type 2 receptor counter-regulates type 1 receptor in catecholamine synthesis in cultured porcine adrenal medullary chromaffin cells. *Hypertension* 2002; 39: 142-8.
 - 19) Nickenig G, Baumer AT, Temur Y, et al: Statin-sensitive dysregulated AT1 receptor function and density in hypercholesterolemic men. *Circulation* 1999; 100: 2131-4.
 - 20) Ichiki T, Takeda K, Tokunou T, et al: Reactive oxygen species-mediated homologous downregulation of angiotensin II type 1 receptor mRNA by angiotensin II. *Hypertension* 2001; 37: 535-40.
 - 21) Oliverio MI, Best CF, Kim HS, et al: Angiotensin II responses in AT1A receptor-deficient mice: a role for AT1B receptors in blood pressure regulation. *Am J Physiol* 1997; 272: F515-20.
 - 22) Hein L, Stevens ME, Barsh GS, et al: Overexpression of angiotensin AT1 receptor transgene in the mouse myocardium produces a lethal phenotype associated with myocyte hyperplasia and heart block. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 6391-6.