

降圧因子としてのアドレノメデュリンと PAMP

北村和雄*

アドレノメデュリン (AM) と PAMP の特徴

A. AM・PAMP の構造と分布

アドレノメデュリン (AM) はヒト褐色細胞腫組織から発見された強力な血管拡張性ペプチドであり、特徴として分子内に6個のアミノ酸よりなるリング構造とC末端のアミド構造を有している(図1)¹⁾。ヒト AM の前駆体の構造は、図1に示すように21個のシグナルペプチドを含む185個のアミノ酸よりなる²⁾。AM 前駆体からはもう一つの生理活性ペプチドがより AM とは別に生合成されることが明らかとなり、このペプチドは proadrenomedullin

N-terminal 20 peptide (PAMP) と命名された(図1)。PAMP を麻酔下ラットに投与すると速やかに強力な降圧活性が認められるが、持続時間は AM と比較して短時間である。PAMP の降圧機序として交感神経末梢からのカテコールアミン放出抑制作用が報告されている³⁾。これらのことから AM と PAMP という共通の前駆体から生成されたペプチドが異なる機序で降圧活性を示し、協調して循環調節に関与していると考えられる(図1)。

AM は正常の副腎髄質にも高濃度存在しているが、他の組織でも広く生合成・分泌されている。褐色細胞腫組織や副腎では高濃度の AM mRNA が

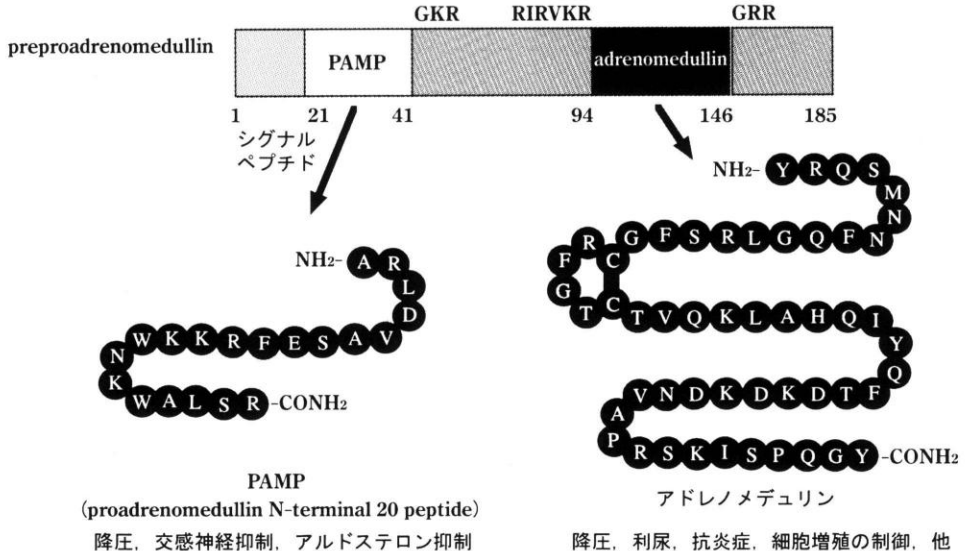


図1 ヒトアドレノメデュリン前駆体の構造と生合成機構およびアドレノメデュリン (AM) と proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) の構造

AM 前駆体からは AM 以外に、proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) が別の生理活性ペプチドとして生合成される。両ペプチドとも降圧作用を示すペプチドであるが、それらの作用機序は異なっている。(北村和雄, 循環器科 2005; 57: 134-40. より引用)

*宮崎大学医学部内科学講座循環体液制御学分野

認められるが、肺、腎、心臓、血管などの主要な組織でも、副腎髄質に匹敵する AM mRNA が発現している。特に、血管内皮培養細胞や線維芽培養細胞からは大量の AM が分泌されている⁴⁾。

一方、AM と PAMP は血中にも存在しており、心不全、高血圧・動脈硬化、敗血症性ショック等の患者では血中 AM と PAMP 濃度が疾患の重症度に従って上昇していることが明らかになっている。これらの疾患においては AM・PAMP の産生が増加し、降圧系の循環調節因子として作用するばかりではなく、抗炎症・臓器保護因子としての役割も果たしていることが示唆されている。

B. AM の作用

AM には多彩な作用が明らかにされたが、その特徴的な作用は強力な降圧作用である。AM を麻酔下のラットに単回静注すると、30～60 分間持続する強力な血管拡張を伴った降圧が観察される¹⁾。AM の血管拡張作用は、大動脈、腸間膜動脈を始め各種の血管で認められる。AM は血管の内皮細胞と平滑筋細胞でエンドセリン 1(ET1)の産生を抑制することが報告されている。また、ブタ冠動脈由来平滑筋細胞でのノルエピネフリンによる Ca^{2+} の増加を抑制する。さらに、ヒトの冠動脈由来平滑筋細胞では、AM は AII による遊走促進を抑制する。このように AM は強力な降圧作用を示すとともに、内在性の各種昇圧因子に拮抗的に作用する性質が認められる。

実験動物やヒトに AM を静注すると、降圧とともに心拍数と心拍出量は増加する。AM の心拍出

量増加作用は AM が心臓に直接作用している可能性も考えられている。さらに、培養心筋細胞を用いた研究から、AM はアンジオテンシン II による心筋蛋白合成能の活性化を著明に抑制し、アンジオテンシン II による心筋肥大を抑制する作用があることが示唆されている⁵⁾。AM の血管拡張作用や利尿作用および心拍出量(CO)増加作用や臓器保護作用等を考えると心不全や虚血性心疾患の治療薬として期待できる。AM 投与はヒト左心不全において、血行動態、腎機能、神経体液性因子を改善することが明らかにされている。

AM は腎動脈内に投与した時、強力な水・ナトリウム利尿作用をしめす。この時、腎血流量の増加と糸球体濾過率の増加が認められるが、AM は尿細管にも作用して Na の再吸収を抑制することが報告されている。また、AM は副腎皮質からのアルドステロン分泌抑制作用、ラット下垂体前葉からの ACTH 分泌抑制作用を有す。さらに、覚醒ラットの脳室に AM を投与すると、飲水行動の抑制、塩分摂取行動の抑制、摂食行動の抑制、バゾプレシンの分泌抑制等が報告されている。このように、AM は末梢性にも中枢性にも水・電解質バランスの調節に関与している可能性がある。

現在までに明らかにされている AM の作用を昇圧因子であるアンジオテンシン II と比較してみると、AM のほとんどの作用はアンジオテンシン II に拮抗する事が分かる(表1)。AM がアンジオテンシン II に拮抗する内因性因子として極めて重要な役割を果たしていることが予想される。

表1 アドレノメデュリンとアンジオテンシン II の作用の比較

	アドレノメデュリン	アンジオテンシン II
血管	平滑筋弛緩 増殖抑制	平滑筋収縮 増殖促進・肥大
心臓	肥大抑制・抗線維化	肥大促進・線維化
腎	ナトリウム利尿	ナトリウム再吸収
アルドステロン	分泌抑制	分泌促進
バゾプレッシン	分泌抑制	分泌促進
飲水・食塩摂取	抑制	促進
カテコラミン	分泌抑制	分泌促進
酸化ストレス	抑制	促進
インスリン抵抗性	抑制	促進
炎症	抑制	促進
血圧	低下	上昇
体液量	減少	増加

アドレノメデュリン(AM)と PAMP の治療薬としての可能性

以上のように、AM と PAMP は循環器系をはじめとする生体内の幅広い組織で生合成・分泌され、多彩な作用を有している極めて重要な循環調節因子であることが明らかになった。今後は AM・PAMP の臨床応用に向けた研究が期待されるが、以下に当教室で行っている AM・PAMP を治療薬として応用するための基礎研究を紹介する。

A. 急性心筋梗塞治療薬としての可能性⁶⁾

本研究代表者らのこれまでの研究により、AM が急性心筋梗塞後に生じる左室リモデリングを抑制する可能性が示唆されていた。そこで、左冠動脈結紮によりラット急性心筋梗塞(MI)モデルを作成して、直後より1週間 human AM(hAM)を腹腔内投与(0.3, 1.0 μ g/h)した。MI 作成9週後に、左室リモデリングの進行と心不全の程度を評価した。急性期の hAM 投与により、MI ラットの生存率が改善し(図2)、心不全の指標としての肺重量と左室拡張末期圧が改善した(図3)。また、AM 投与により、非梗塞部の心筋細胞の肥大を抑制してコラーゲン沈着が減少した。作用機序を明確にするため MI 後1週間の時点での評価した。AM は、非梗塞部心筋のアンジオテンシン変換酵素(ACE)と NADPH oxidase サブユニット p22-phox 発現を抑制し、酸化ストレスの指標である尿中イソプロスタンの排泄を減少させた。

B. 内皮機能障害ラットにおける内皮機能改善効果⁷⁾

ダール食塩感受性高血圧(DS)ラットは、早期より内皮機能が障害されることが知られている。本研究では、DS ラットにおける hAM の血管内皮機能改善効果を解析した。高食塩食飼育 DS ラットに hAM を4週間持続皮下投与(1.0 μ g/h)し、生食投与群や食塩抵抗性(DR)ラットと比較した。アセチルコリンによる摘出大動脈の内皮依存性の血管弛緩反応は、DS+生食群で低下していたが、AM 投与により DR ラットレベルまで改善した(図4)。次に、内皮機能改善機序について検討した。活性酸素産生は、DS+生食群で増加していたが AM 投与により減少し、この作用は L-NAME 投与や内皮除去で抑制された。一方、DS+生食群の eNOS と p22phox の発現が増加していたが、AM 投与により

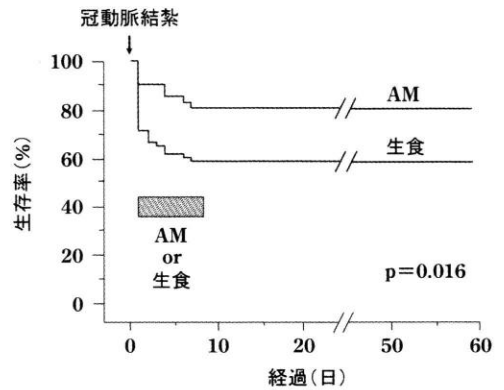


図2 急性心筋梗塞ラットにおける生存率改善効果 (文献6より改変引用)

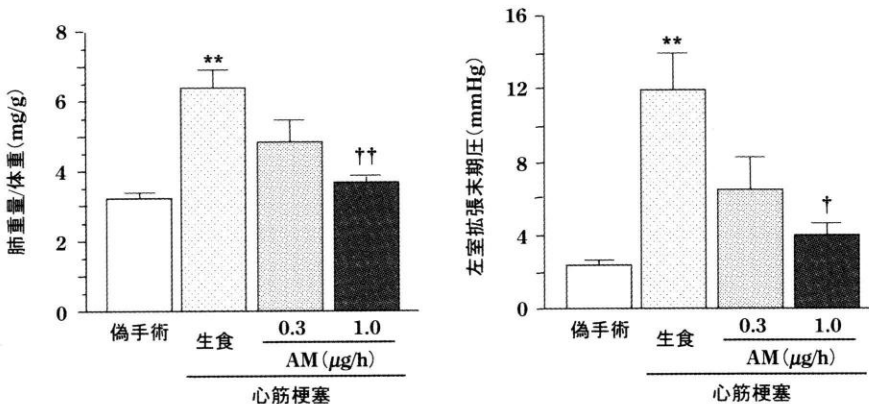


図3

ラット心筋梗塞の急性期の AM 投与は慢性期心不全を軽減した。
**p<0.01, †p<0.05, ††p<0.01(文献6より改変引用)

低下し、逆に、GTP cyclohydrolase I と soluble guanylyl cyclase-1 発現は、DS+生食群で低下していたが AM 投与により回復した。

C. 動脈硬化モデルラットにおける血管の線維性増殖の抑制効果⁸⁾⁹⁾

ラットの頸動脈内膜をバルーン障害して、合成ラット AM 0.2 μ g/h/rat を 2 週間持続静注し、頸動脈の線維増殖性変化を評価した。頸動脈内膜を傷害すると、内膜のみならず外膜にも線維増殖性変化を生じ、血管へのコラーゲン沈着が増加した。AM 投与により、内膜面積が低下し、外膜の線維芽細胞数が有意に減少して、血管へのコラーゲン沈着も減少した。培養血管外膜線維芽細胞を用いて解析したところ、AM は細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、Ang II により抑制されたマトリックスメタロプロテアーゼ-2(MMP-2)活性を上昇させた。8-Br-cAMP も MMP-2 活性を上昇させ、PKA 阻害

薬 H-89 は同活性を抑制した。次に、アンジオテンシン II (Ang II) 持続皮下注(250ng/kg/min)によりラット高血圧モデルを作成して、同時に 2 週間 hAM 60ng/kg/min を持続皮下注し、冠動脈を中心に評価した。Ang II 持続投与により、冠動脈外膜の線維芽細胞が活性化(増殖と α -SMA 発現増加)され左室コラーゲンと TGF- β 1 発現が増加したが、AM 投与はこれらの変化を抑制し心筋線維化も抑制した。培養ラット新生児心線維芽細胞における検討では、心線維芽細胞の α -SMA 発現は TGF- β 1 により増加したが AM は発現を抑制した。8-Br-cAMP も TGF- β 1 による α -SMA 発現を抑制して、PKA 阻害薬 H-89 は AM の抑制作用をブロックした。**D. PAMP の心保護作用¹⁰⁾**

PAMP はカテコラミンやアルドステロン分泌抑制作用を有しており、心血管保護的に作用する可能性があるが、PAMP の機能は AM ほど明らかになっていない。そこで、PAMP 過剰発現ラット(PAMP-Tg)を作成して、心血管保護作用の評価を試みた。改変 human PAMP (hPAMP) 遺伝子導入により PAMP のみを過剰発現させ、血中や心臓を含む主要な臓器で高濃度の hPAMP を確認した。片腎を摘出し 8% NaCl 高食塩食を 5 週間負荷すると、血圧が上昇して心肥大と心線維化が生じた。野生型ラット(Wt)と比較すると PAMP-Tg ではそれらの変化が軽減していた(図5)。心筋のレニンとアンジオテンシン I 変換酵素(ACE)遺伝子発現を測定したところ、Tg ラットでは、レニン遺伝子が Wt の約 2.5 倍に上昇していたが、ACE 遺伝子は約 60%に抑制されてた。

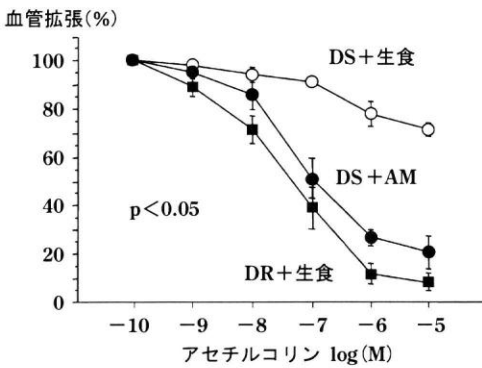


図4

AM はダール高血圧ラット(DS)の内皮機能を改善した。(文献 7 より改変引用)

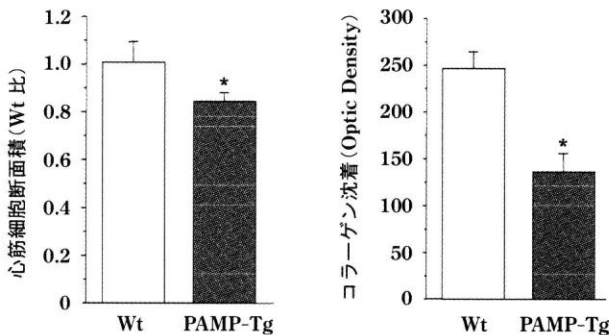


図5

PAMP 過剰発現ラット(PAMP-Tg)では片腎摘と食塩負荷による心筋細胞肥大と心筋コラーゲン沈着が軽減されていた。*p<0.05(文献 10 より改変引用)

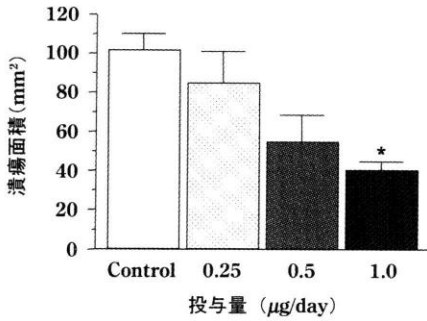


図6

AMは濃度依存性到大腸潰瘍を小さくさせた。
*p<0.05(文献11より改変引用)

E. 潰瘍性大腸炎治療薬としての可能性¹¹⁾

ラット大腸漿膜下酢酸注入により大腸潰瘍を作成し、hAM(0.25~1.0µg/0.5ml 生食)を経肛門的に1日1回投与し、潰瘍面積、組織重量、組織病理学的所見について検討した。大腸漿膜下酢酸注入により再現性の高い潰瘍形成が得られたが、5日間のAM投与により濃度依存性に潰瘍が縮小した(図6)。1.0µg/日AMを5日間注腸投与したラットでは、生食投与群と比較して、潰瘍面積が縮小し浮腫や炎症細胞浸潤が改善していた。潰瘍面積の時間経過を調べたところ、生食投与群では5日目以降に潰瘍が改善したが、AM投与群は3日目に改善傾向を示した。潰瘍を含む組織のサイトカイン含量を測定したところ、IFN-γ濃度は両群間で差がなかったが、AM投与群の組織IL-6量が低値であった。

おわりに

AMとPAMPは共通の前駆体から生合成される降圧系の因子として、多彩な機能を有する極めて重要な生理活性ペプチドであることが明らかとなり、AMとPAMPによる新たな生体内調節機構が存在することが明らかとなった。今後はAMとPAMPを臨床に応用するためのトランスレーションリサーチのさらなる進展が期待される。

文献

- 1) Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, et al: Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 192: 553-60.
- 2) Kitamura K, Sakata J, Kangawa K, et al: Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194: 720-5.
- 3) Shimosawa T, Ito Y, Ando K, et al: Proadrenomedullin NH(2)-terminal 20 peptide, a new product of the adrenomedullin gene, inhibits norepinephrine overflow from nerve endings. *J Clin Invest* 1995; 96: 1672-6.
- 4) Minamino N, Kikumoto K, Isumi Y: Regulation of adrenomedullin expression and release. *Microsc Res Tech* 2002; 57: 28-39.
- 5) Tsuruda T, Kato J, Kitamura K, et al: Adrenomedullin: a possible autocrine or paracrine inhibitor of hypertrophy of cardiomyocytes. *Hypertension* 1998; 31: 505-10.
- 6) Nakamura R, Kato J, Kitamura K, et al: Adrenomedullin administration immediately after myocardial infarction ameliorates progression of heart failure in rats. *Circulation* 2004; 110: 426-31.
- 7) Cao YN, Kuwasako K, Kato J, et al: Beyond vasodilation: the antioxidant effect of adrenomedullin in Dahl salt-sensitive rat aorta. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332: 866-72.
- 8) Tsuruda T, Kato J, Matsui E, et al: Adrenomedullin alleviates not only neointimal formation but also perivascular hyperplasia following arterial injury in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 508: 201-4.
- 9) Tsuruda T, Kato J, Hatakeyama K, et al: Antifibrotic effect of adrenomedullin on coronary adventitia in angiotensin II-induced hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 921-9.
- 10) Cao YN, Kuwasako K, Kato J, et al: Overexpression of proadrenomedullin N-terminal 20 peptide blunts blood pressure rise and attenuates myocardial hypertrophy and fibrosis in hypertensive rats. *FEBS Lett* 2005; 579: 4997-5001.
- 11) Ashizuka S, Ishikawa N, Kato J, et al: Effect of adrenomedullin administration on acetic acid-induced colitis in rats. *Peptides* 2005; 26: 2610-5.