

機関番号：32409
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21790248
 研究課題名（和文） ACE 阻害薬の降圧を超えた新たな薬効メカニズム：ACE シグナリングの新展開
 研究課題名（英文） Beneficial effect mechanism of ACE inhibitor without blood pressure reduction : New development of ACE intracellular signaling.
 研究代表者
 相崎 良美 (AIZAKI YOSHIMI)
 埼玉医科大学・医学部・助手
 研究者番号：30458525

研究成果の概要（和文）：

アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬には、他のレニンアンジオテンシン系（RAS）抑制薬にはない種々の多様性効果が報告されている。特に、ACE 阻害薬の多様性効果による臓器保護作用が注目されている。アンジオテンシン II (Ang II) 慢性刺激による高血圧ラットを作製し、この環境下での ACE 阻害薬の Ang II 産生抑制以外の効果を解析した。ACE 阻害薬投与による血圧降下は確認されなかったが、心臓の線維化および心機能の低下が抑えられていたことを明らかにした。ACE 阻害薬の RAS 抑制非依存的効果は、ACE 細胞内情報伝達活性化によって誘導されたシクロオキシゲナーゼ-2 (cyclooxygenase-2 : COX-2) を介したものであると考えられる。これは COX-2 が ACE 阻害薬の多様性効果の 1 つに関与する初めての報告である。

研究成果の概要（英文）：

Angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) have shown pleiotropic effects in contrast to other renin-angiotensin system (RAS) inhibitors. In particular, benefits of ACEI are noted for cardioprotective effects. We examined the effects of ACEI in hypertension caused by chronically Ang II stimulation, because we want to investigate the effect of ACEI without inhibition of AngII production. ACEI treatment did not show a reduction in blood pressure. However ACEI prevented development of collagen deposition and cardiac disfunction. This effect due to associated with cyclooxygenase-2 (COX-2) induction through ACE intracellular signaling. This is the first report that COX-2 contribute to one of pleiotropic effects of ACEI.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：心血管・血液

1. 研究開始当初の背景

レニンアンジオテンシン系(RAS)の最終活性産物であるアンジオテンシン II(Ang II)は、1型受容体(AT₁)を介し循環血流量増加、血圧上昇、細胞増殖、肥大などの種々の生理活性を引き起こす。これらの作用は生命維持や成長に必要なシステムである。

ONTARGET (The Ongoing Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial) 臨床大規模試験は、Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) の1つであるテルミサルタンのラミプリル(アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬)に対する非劣勢試験という位置づけであるが、視点を変えると循環系疾患に対するACE阻害薬の極めて高い有効性が再確認された結果でもあった。

現在日本で使用可能なRAS系抑制薬は、直接的レニン阻害薬(DRI)、ACE阻害薬とARBである。各薬剤はAng IIの作用を抑制するが、ACE阻害薬はプロテアーゼ阻害剤、DRIはレニン阻害薬、ARBは受容体拮抗薬でありその作用機序は異なる。ARBはAT₁受容体を阻害するため、血中Ang II濃度が上昇し2型受容体(AT₂)受容体を刺激する。一方、ACE阻害薬はAng IIの産生そのものを抑えるため、AT₁・AT₂両受容体を抑制する。またACE阻害薬はブラディキニン分解抑制作用も有しているため、咳そうという副作用を有する。AT₂受容体の作用がAT₁受容体に対して拮抗的であれば、理論的にはARBはAT₁受容体を阻害しAT₂受容体を刺激、更に咳そうという副作用もないので、ACE阻害薬よりも圧倒的に有効性が高いはずである。更に、ACE阻害薬はキマーゼ由来のAng II産生を抑制できない。しかし、ARBは臨床大規模試験において循環器系臓器保護薬としてACE阻害薬に対する極めて高い優位性を立証することが出来ないでいる。

2. 研究の目的

RASは、心血管系の機能調節、疾患形成において重要な役割を果たしている。ACEはAng IIの産生を抑制するが、Ang II産生抑制以外のRAS抑制非依存的な作用があると言われている。そのためACE阻害薬のRAS抑制非依存的な作用が、循環器系臓器保護作用の重要な部分を司っている可能性が高い。

ACE阻害薬のRAS抑制非依存的な作用の詳細なメカニズムを解明することで、心疾患に対するより緻密な治療が実行可能とする基礎を導きだすことを目的としている。本研究で

は、1)病態モデルとして、Ang II慢性刺激による高血圧ラットを作製し、ACE阻害薬のRAS抑制非依存的な心不全抑制作用の解析、2)ACEシグナリング(ACE阻害薬とCOX-2)の解析に焦点をあて研究を行う。

3. 研究の方法

(1)Ang II慢性刺激による高血圧ラットを作製する。7-8週令のSDラットにAng II(200 ng/min/kg)を詰めた浸透圧ポンプ(Alzet osmotic pump, 10日間)の皮下挿入手術を施行し、Ang II強制刺激環境を構築する。

(2)(1)で作製した高血圧ラットにACE阻害薬(20 mg/kg/day)を飲水投与し、ACE阻害薬のRAS抑制非依存的な心不全抑制作用を確認する。非観血法による血圧の測定、超音波診断装置による心機能の観察、病理組織による評価を行う。

(3)(2)で得られたACE阻害薬の効果が、ブラディキニンによるものであるのか、ACE細胞内情報伝達活性化(COX-2の発現誘導)が関与しているのかを検討する。薬理的抑制実験により確認を行う。

(4)(2)および(3)で得られた結果について、培養細胞を用いて確認を行う。

4. 研究成果

(1)ACE阻害薬のRAS抑制非依存的な作用を確認するために、Ang II慢性刺激による高血圧ラットを作製した。Ang II投与ラットでは血圧の上昇、心肥大、心臓の線維化、心臓超音波検査により心機能の低下が確認された。

(2)(1)で作製した高血圧ラットにACE阻害薬(20 mg/kg/day)を飲水投与し、ACE阻害薬のRAS抑制非依存的な心不全抑制作用を確認した結果、ACE阻害薬投与による血圧降下は確認されなかった(表1)。しかし、心臓の線維化および心機能の低下が抑えられていたことを明らかにした(表1、図1)。

	control	Ang II	Ang II + ACE 阻害薬
SBP (mm Hg)	119 ± 2	209 ± 4*	206 ± 4*
LVM (g)	0.37 ± 0.01	0.61 ± 0.03*	0.62 ± 0.02*
EF (%)	72.9 ± 1.33	93.1 ± 1.72*	84.0 ± 1.77*†
LVEDVI	2.35 ± 0.16	1.00 ± 0.09*	1.97 ± 0.03†
E/A	1.80 ± 0.07	1.00 ± 0.06*	1.57 ± 0.07†

表 1 血行動態および心機能評価

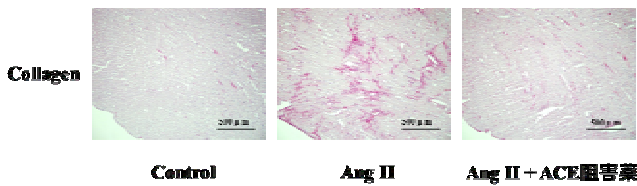


図 1 心筋の線維化

(3)(2)で得られた ACE 阻害薬の効果が、ブラディキニンによるものであるのか、ACE 細胞内情報伝達活性化 (COX-2 の発現誘導) が関与しているのか検討を行った。ACE 阻害薬の作用はブラディキニン B2 受容体拮抗薬によって抑制されなかったことから、ブラディキニンによる可能性は極めて低い。組織染色の結果から、ACE 阻害薬を投与したラットにおいてのみ、心臓における COX-2 の発現が観察された (図 2)。ACE 阻害薬が ACE に結合し、ACE 細胞内情報伝達が活性化され、COX-2 の発現を誘導することによると考えられる。また、動物実験における ACE 阻害薬の作用は COX 阻害薬によって抑制された。ACE 阻害薬が ACE に結合し、ACE 細胞内情報伝達が活性化され、COX-2 の発現を誘導することによると考えられる。

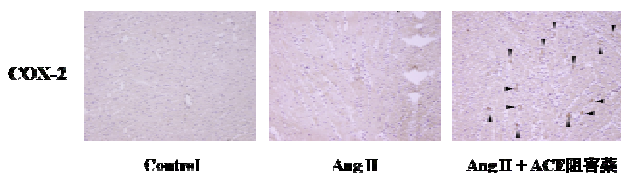


図 2 心筋の COX-2 免疫組織染色

(4) ACE 阻害薬による ACE 細胞内情報伝達活性化 (COX-2 の発現誘導) を確認した。培養細胞実験の結果から、ACE を発現させた細胞に ACE 阻害薬 (Imidaprilat) を投与すると、COX-2 の発現が増加することが認められた (図 3)。また ACE 細胞内情報伝達は c-Jun N-terminal kinase (JNK) を介していることから、JNK 阻害薬 (SP600125) による抑制実験を行った。その結果、ACE 阻害薬による COX-2 の発現誘導は抑えられていた (図 3)。

以上の結果より、ACE 阻害薬の RAS 抑制非依存的効果は、ACE 細胞内情報伝達活性化によって誘導された COX-2 を介したものであると考えられる。

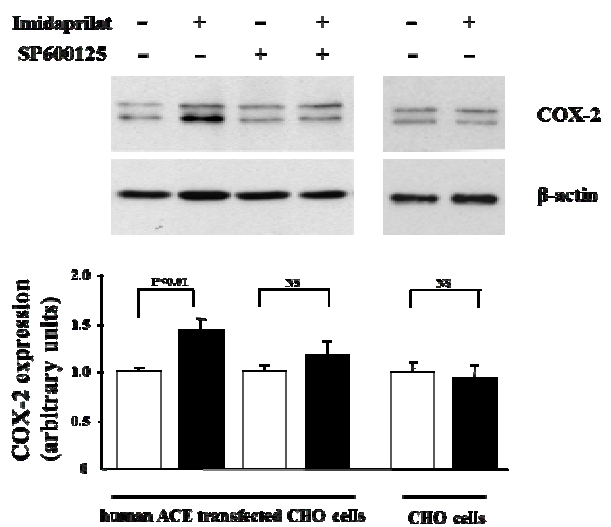


図 3 ACE 阻害薬による COX-2 の発現

これらの結果は、ACE 阻害薬が高血圧の治療のみならず、心疾患に対するより緻密な治療法の開発に貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

Ayumu Yoshikawa, Yoshimi Aizaki, Ken-ichi Kusano, Fukuko Kishi, Teruo Susumu, Shinichiro Iida, Shoichi Shiura, Shigeyuki Nishimura, Masayoshi Shichiri, Takaaki Senbonmatsu, The (Pro)renin receptor is cleaved by ADAM19 in the Golgi leading to its secretion into extracellular space, Hypertension research, 34, 599-605,

2011, 査読あり

Takaaki Senbonmatsu, Shinichiro Iida, Ayumu Yoshikawa, Yoshimi Aizaki, Sun Xiao, Shigeyuki Nishimura, Tadashi Inagami, New perspectives on secretion of (pro)renin receptor into extracellular space, *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 2, 1362-1367, 2010, 査読あり

[学会発表](計7件)

Yoshimi Aizaki, RAS Independent Manner: COX-2 Induction by ACE-Ace Inhibitor Signaling Prevents Development of Diastolic Dysfunction, THE 23RD SCIENTIFIC MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF HYPERTENSION, 2010年9月27日, Vancouver

Shinichiro Iida, Experimental Model of Diastolic Dysfunction in Non-Genetic Model of Hypertension in Rats, International Symposium on Cardiovascular Endocrinology and Metabolism, and the 14th Scientific Session of the Society of Cardiovascular Endocrinology and Metabolism, 2010年4月1日, 奈良

相崎良美, Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) の心保護作用, 第13回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 2009年10月23日, 大宮

飯田慎一郎, アンジオテンシン II 刺激による高血圧性拡張心不全, 第13回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 2009年10月23日, 大宮

6. 研究組織

(1) 研究代表者

相崎 良美 (AIZAKI YOSHIMI)
埼玉医科大学・医学部・助手
研究者番号: 30458525