

動脈硬化病態生理におけるレニン・アンジオテンシン系の役割

福田 大受¹ 佐田 政隆^{1,2}

要 旨：アンジオテンシンII(Ang II)を最終活性物質とするレニン・アンジオテンシン系(renin-angiotensin system: RAS)は、昇圧システムとして発見された。その血中での作用が注目されてきた。しかし近年、血中RASよりも組織RASが動脈硬化病変の形成に重要であることが示されてきている。心血管系におけるRASの作用は活性酸素種の産生をもとにした炎症反応の惹起・内皮機能障害・細胞増殖などが含まれる。RASは、さまざまな機序で動脈硬化病変の増悪に関与し、心血管系の疾患の発症とその後の病態の進展に重要な役割を果たしている。

(J Jpn Coll Angiol, 2008, 48: 449-454)

Key words: atherosclerosis, renin-angiotensin system, reactive oxygen species, inflammation

はじめに

レニン・アンジオテンシン系(renin-angiotensin system: RAS)は当初血圧や体液電解質の調節にかかわる液性因子として発見された。近年では動脈硬化に関与する重要な因子として注目されている。RASの構成物質であるアンジオテンシンII(angiotensin II: Ang II)は強力な昇圧物質であるだけでなく、生体内で細胞増殖や肥大、分化などに広く関与していることが報告されている。Ang II受容体としては、Ang IIタイプ 1 受容体(AT1受容体)とAng IIタイプ 2 受容体(AT2受容体)が存在することが報告されている。心血管系ではAng IIはAT1受容体を介して、動脈硬化に促進的に作用する。一方、AT2受容体はAT1受容体に拮抗して働くことが報告されている。動脈硬化は血管細胞だけではなく、炎症細胞などのさまざまな細胞と、これらの細胞から産生される液性因子の絡み合った疾患と考えられている。特にAng IIは前炎症物質として、血管壁で炎症反応を惹起することで動脈硬化病変形成に中心的な働きをすることが報告されている。本稿ではAng IIが炎症反応を惹起し、促進する機序として酸化ストレスと、それに基づく血管構成細胞の反応、さ

らに最近注目されている組織RAS系やRAS系阻害による動脈硬化の治療・予防の可能性について概説する。

レニン・アンジオテンシン系と活性酸素種

AT1受容体を介した細胞内情報伝達においては、受容体型(epidermal growth factor: EGF)と非受容体型proline-rich tyrosine kinase 2 (PYK2), Src, Janus kinase 2 (JAK2)のチロシンキナーゼが中心的な役割を果たしている。これらのチロシンキナーゼは下流のセリンスレオニンキナーゼであるMAPK(mitogen-activated protein kinase)ファミリー extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun N-terminal kinase (JNK), p38MAPK, p70S6KやAkt/プロテインキナーゼBの活性化や転写調節に関与している。Ang IIによるチロシンキナーゼの活性化には細胞内のCa²⁺の上昇、活性酸素種(reactive oxygen species: ROS), メタロプロテアーゼ, AT1受容体との結合などが報告されている。中でもROSは、近年血管内皮細胞や血管平滑筋細胞など多くの血管構成細胞で産生され、チロシンリン酸化を促進したり、セリンスレオニンキナーゼを活性化することから、セカンドメッセンジャーとして動脈硬化病変の形成に重要な役割を果たす。ROSがさまざまな酵素をリン酸化する機序としては、チロシンホスファター

¹東京大学大学院医学系研究科循環器内科

²徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部循環器内科学

2008年5月26日受理

ゼの直接阻害が考えられている。Ang IIは血管構成細胞からのROSの産生を促進させる。ROSの産生系としてキサンチンオキシダーゼ、シクロオキシダーゼ、リポキシゲナーゼやNADPHオキシダーゼなどがあるが、血管壁ではNADPHオキシダーゼが中心的な役割を果たしていると考えられている¹⁾。また血管壁では、血管内皮細胞だけではなく、血管平滑筋細胞や外膜の線維芽細胞の細胞膜に存在するNADPHオキシダーゼも、ROSの産生に関与している。Ang II刺激によるROSを介する動脈硬化病変形成には、細胞の増殖やアポトーシスなどに関与するMAPKファミリー²⁾、抗アポトーシス作用や細胞増殖に関与するAkt/プロテインキナーゼB³⁾などさまざまなシグナル伝達系が関わっている。またROSはEGF受容体をトランスアクチベーションする機序も知られている⁴⁾。またnuclear factor (NF)- κ BもROSによって制御され、細胞増殖や肥大などさまざまな経路を介して動脈硬化に関与していると考えられている。Ang II刺激によるROS産生機構や、それを介するシグナル伝達系が、動脈硬化領域における新たな研究分野、治療対象として注目されている。

アンジオテンシンIIの 血管構成細胞に対する作用

(1)内皮機能障害

血管内皮細胞は血管のトーン、凝固、細胞死、白血球遊走を制御する物質など、さまざまな生理活性物質を産生し、一種の内分泌器官として捉えられるようになってきた。内皮細胞が産生する一酸化窒素(NO)は、内皮依存性の血管弛緩作用や、cGMP(cyclic quonossine monophosphate)を介した血管平滑筋増殖抑制作用、血小板凝集抑制作用、接着因子発現抑制作用、フリーラジカルの消去作用を持つ。これらの抗動脈硬化作用を持つNOとROSのバランスが、正常な血管機能の維持に必要である。そのバランスの異常により炎症の惹起や、凝固線溶系の異常を誘導し、動脈硬化を促進させると考えられる。

ATI受容体刺激によって引き起こされたROSの増加は内皮細胞におけるVCAM-1(vascular cell adhesion molecule-1)やICAM-1(intracellular adhesion molecule-1)などの接着因子や⁵⁾、MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1)などのケモカインの発現を誘導することで、単球や好中球の接着を促進する⁶⁾。さらに酸化LDL産生の増加や、酸化LDL受容体発現の亢進作用も認められ

ている⁷⁾。また内皮細胞や血管平滑筋細胞などの血管構成細胞から、IL-6(interleukin-6)やTNF- α (tumor necrosis factor- α)などの炎症性サイトカインの放出を促進し、血管局所、特に動脈硬化部位における炎症を惹起する⁸⁾。また血管新生に関与するVEGF(vascular cell adhesion molecule)の発現も促進されることが知られている⁹⁾。つまり、Ang IIはROSの産生を介し、炎症細胞や血管構成細胞を活性化させることで前炎症性物質を産生し、さらにこの反応が新たな炎症細胞の誘導をもたらすことで、動脈硬化に促進的に作用する(Fig. 1)。このように動脈硬化の炎症の存在が、動脈硬化病変形成に重要であることが認められるようになってきている。実際ヒトにおける動脈硬化病変においてもRAS系が活性化していることが証明されている。またこの他にも、Ang IIは内皮細胞にPAI-1の発現を誘導し、凝固線溶系に対する作用も併せ持つことが知られている¹⁰⁾。

(2)血管リモデリング作用

血管壁は圧負荷やshear stressなどの血行力学的な刺激や、炎症や高コレステロールなどの各種の病態で生じるさまざまな因子の影響を受ける。その結果、血管壁を構成する平滑筋細胞の形質変換、肥大・増殖や、コラーゲン線維などの間質成分の増生、アポトーシスを介し、血管壁はその構造を再構築させる。なかでもRAS系の最終活性物質であるAng IIは、重要な役割を果たしている。

Ang IIは血管平滑筋において、成長因子であるPDGF(platelet-derived growth factor)、basic-FGF(fibroblast growth factor)やTGF- β 1(transforming growth factor- β 1)の発現を誘導する^{11,12)}。さらにROSを介したMAPKの活性化により平滑筋細胞の分裂・増殖を引き起こすだけでなく、平滑筋細胞のアポトーシスも抑制する。またAng IIは血管平滑筋に作用し、コラーゲン線維などの細胞外基質の産生を促進させる¹³⁾。またAng IIは動脈硬化プラークの増大に寄与するだけでなく、一方でROSを介しMMPs(matrix metalloproteinases)などのタンパク分解酵素の産生を増加させ、細胞外基質の分解を促進し、プラークの不安定化をももたらすと考えられている¹⁴⁾。

血管局所におけるレニン・アンジオテンシン系

Ang IIを最終活性物質とするRAS系は、昇圧物質として発見された経緯から血中での作用が注目されてきた。

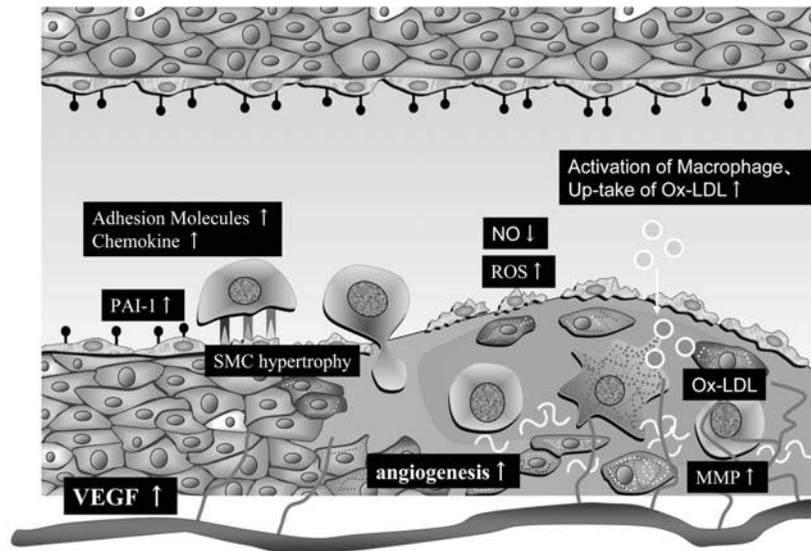


Figure 1 Promotion of atherosclerosis by angiotensin II. Angiotensin II (Ang II) impairs NO synthesis and promotes reactive oxygen species production by endothelial cells, causing endothelial dysfunction. Ang II also promotes adhesion and infiltration of monocytes/macrophages by up-regulating adhesion molecules and chemokines such as MCP-1. Ang II promotes oxidation of LDL and foam cell formation of macrophages. Ang II functions to destabilize atherosclerotic plaques by activating macrophages, which induce apoptosis of smooth muscle cells and proteolysis of collagen by MMPs. Ang II up-regulates VEGF production and induces periaortic angiogenesis.

しかし近年、血中RAS系よりも組織RAS系が動脈硬化病変の形成に重要であることが示されてきている。特にヒトの粥状動脈硬化病変には、アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin converting enzyme: ACE), Ang IIやATI受容体の発現が増加していることが報告されている¹⁵⁾。動脈硬化病変部位においては、単球・マクロファージ系の細胞がACEを産生し、肥満細胞からはキマーゼが産生される。つまりAng IIIは前項までに述べたような機序を介し、炎症性物質の産生を直接増加させるだけでなく、炎症反応の惹起により局所にACEを産生することで、さらに局所Ang IIを増加させATI受容体を活性化させる。さらにこれらのACEやAng IIIはプラーク内の辺縁部位に多く認められ、MMPs産生増加によるプラークの不安定化をも助長する可能性が示唆されている¹⁴⁾。このように血管局所で炎症細胞からRAS関連タンパクが産生されていることは、動脈硬化の炎症性疾患という概念を強調するものであり、一方で治療の対象となる可能性が注目されている。

血管前駆細胞とレニン・アンジオテンシン系

近年、われわれは骨髄由来の血管前駆細胞が動脈硬化巣の形成に関与するという新しい動脈硬化に関する概念を提唱してきた¹⁶⁻²⁰⁾。これはさまざまな実験モデルで証明されているだけでなく、ヒトにおいても異性間骨髄移植の症例などで実際に報告されている²¹⁾。血管前駆細胞の動脈硬化病変形成に関して、前駆細胞の骨髄からの動員、局所での定着、分化、増殖という過程が必要であると考えているが、そこにRASが関与している可能性がある^{19, 22)}。アポE欠損マウスにAng IIを投与すると、動脈硬化病変の形成が促進される。われわれは、全身にGFPを発現するアポE欠損マウスを作成し、その骨髄を通常のアポE欠損マウスに移植した¹⁹⁾。この骨髄キメラマウスにAng IIを投与すると、Sudan IV染色で陽性となる動脈硬化病変の形成がvehicle群に比べて有意に促進された。同部位にはより多くのGFP陽性細胞の集積が認められた(Fig. 2)。またわれわれは、ヒトの末梢血中から平滑筋のマーカーである α -smooth muscle actin陽性となる

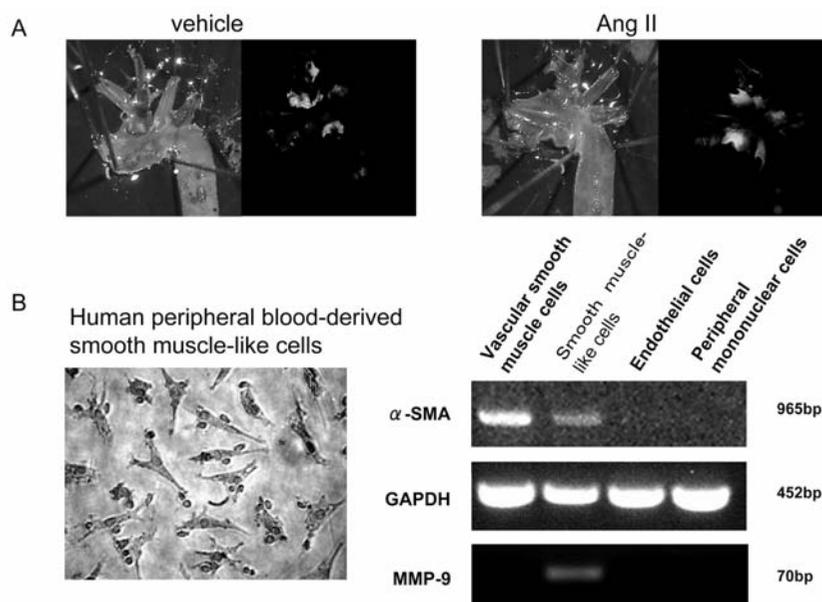


Figure 2 Ang II promotes accumulation of macrophages in atherosclerotic plaque.
 A: Ang II infusion into the BM-chimeric mice promoted atherosclerotic lesion formation as determined by *en face* Sudan IV staining. Bone marrow-derived GFP-positive cells accumulated at the sites of atherosclerosis.
 B: α -smooth muscle actin-positive cells could be obtained from the culture of human peripheral mononuclear cells. Those smooth muscle-like cells expressed MMP-9.

細胞を培養できる系を報告した¹⁷⁾。その系で得られる平滑筋様の細胞はMMP-9を発現しており、骨髄由来の細胞が、プラークの不安定化にも関与するのではないかと考えている。

レニン・アンジオテンシン系の阻害と動脈硬化抑制・治療

RAS系の阻害薬としては、主にACE阻害薬とアンジオテンシン受容体拮抗薬(angiotensin receptor blocker: ARB)が、現在、主として臨床の場で用いられている。またこれらの薬剤が動脈硬化病変の形成を抑制するという報告もなされている。その機序として、降圧作用だけではなく、血中・組織ACE阻害によるAng II産生の抑制や、AT1受容体ブロックによるAng II刺激の伝達の抑制により、前項で述べた酸化ストレスなどのさまざまなAng IIの動脈硬化促進作用を抑制するためと考えられている。またステント留置などの経皮的冠動脈形成術後の再狭窄病変は、新生内膜の過剰な増殖で生じるが、そこには平滑筋細胞の増殖や炎症の存在が認められている。これらの

部位には、動脈硬化巣と同じようにACEやAT1受容体の発現が亢進している。RAS系の阻害が再狭窄予防に有効である可能性が報告されており期待されている^{23,24)}。

おわりに

動脈硬化におけるRAS系の役割を、ROSによって引き起こされる炎症を中心に述べた。Ang IIは血管局所においても産生され、平滑筋細胞や内皮細胞だけではなく、単球・マクロファージ系の免疫をつかさどる細胞にも作用して、内皮機能障害・炎症反応・細胞増殖・酸化LDLの取り込み亢進・細胞外基質の産生・易血栓性などのさまざまな過程を介して、動脈硬化に促進的に作用する。なかでもROSはAng IIシグナル伝達系の重要な調節因子であり、AT1受容体からNADPHオキシダーゼ活性化に関与する制御因子の同定、さらにROSを介するリン酸化酵素の解明は非常に重要である。酸化ストレス・炎症を中心にRAS系の理解を深めることは、動脈硬化性病変形成の病態生理の解明に重要であり、動脈硬化領域における新たな研究分野、治療対象になると考えられる。

文 献

- 1) Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M: NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*, 2000, **86**: 494–501.
- 2) Viedt C, Soto U, Krieger-Brauer HI et al: Differential activation of mitogen-activated protein kinases in smooth muscle cells by angiotensin II: involvement of p22phox and reactive oxygen species. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 940–948.
- 3) Ushio-Fukai M, Alexander RW, Akers M et al: Reactive oxygen species mediate the activation of Akt/protein kinase B by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 22699–22704.
- 4) Ushio-Fukai M, Griendling KK, Becker PL et al: Epidermal growth factor receptor transactivation by angiotensin II requires reactive oxygen species in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21**: 489–495.
- 5) Marui N, Offermann MK, Swerlick R et al: Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest*, 1993, **92**: 1866–1874.
- 6) De Keulenaer GW, Ushio-Fukai M, Yin Q et al: Convergence of redox-sensitive and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in tumor necrosis factor- α -mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 385–391.
- 7) Li DY, Zhang YC, Philips MI et al: Upregulation of endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein (LOX-1) in cultured human coronary artery endothelial cells by angiotensin II type 1 receptor activation. *Circ Res*, 1999, **84**: 1043–1049.
- 8) Liao F, Andalibi A, Qiao JH et al: Genetic evidence for a common pathway mediating oxidative stress, inflammatory gene induction, and aortic fatty streak formation in mice. *J Clin Invest*, 1994, **94**: 877–884.
- 9) Fujiyama S, Matsubara H, Nozawa Y et al: Angiotensin AT(1) and AT(2) receptors differentially regulate angiopoietin-2 and vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis by modulating heparin binding-epidermal growth factor (EGF)-mediated EGF receptor transactivation. *Circ Res*, 2001, **88**: 22–29.
- 10) Vaughan DE, Lazos SA, Tong K: Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest*, 1995, **95**: 995–1001.
- 11) Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ: Induction of platelet-derived growth factor A-chain and c-myc gene expressions by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989, **83**: 1419–1424.
- 12) Itoh H, Mukoyama M, Pratt RE et al: Multiple autocrine growth factors modulate vascular smooth muscle cell growth response to angiotensin II. *J Clin Invest*, 1993, **91**: 2268–2274.
- 13) Kato H, Suzuki H, Tajima S et al: Angiotensin II stimulates collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *J Hypertens*, 1991, **9**: 17–22.
- 14) Galis ZS, Muszynski M, Sukhova GK et al: Enhanced expression of vascular matrix metalloproteinases induced in vitro by cytokines and in regions of human atherosclerotic lesions. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, **748**: 501–507.
- 15) Diet F, Pratt RE, Berry GJ et al: Increased accumulation of tissue ACE in human atherosclerotic coronary artery disease. *Circulation*, 1996, **94**: 2756–2767.
- 16) Fukuda D, Shimada K, Tanaka A et al: Circulating monocytes and in-stent neointima after coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol*, 2004, **43**: 18–23.
- 17) Fukuda D, Sata M, Tanaka K et al: Potent inhibitory effect of sirolimus on circulating vascular progenitor cells. *Circulation*, 2005, **111**: 926–931.
- 18) Fukuda D, Sata M: The renin-Angiotensin system: a potential modulator of endothelial progenitor cells. *Hypertens Res*, 2007, **30**: 1017–1018.
- 19) Fukuda D, Sata M, Ishizaka N et al: Critical role of bone marrow angiotensin II type 1 receptor in the pathogenesis of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, **28**: 90–96.
- 20) Sata M: Role of circulating vascular progenitors in angiogenesis, vascular healing, and pulmonary hypertension: lessons from animal models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26**: 1008–1014.
- 21) Caplice NM, Bunch TJ, Stalboerger PG et al: Smooth muscle cells in human coronary atherosclerosis can originate from cells administered at marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100**: 4754–4759.
- 22) Fukuda D, Sata M: Role of bone marrow renin-angiotensin system in the pathogenesis of atherosclerosis. *Pharmacol Ther*, 2008, **118**: 268–276.
- 23) Peters S, Götting B, Trümmel M et al: Valsartan for prevention of restenosis after stenting of type B2/C lesions: the VAL-PREST trial. *J Invasive Cardiol*, 2001, **13**: 93–97.
- 24) Yamada T, Kondo T, Numaguchi Y et al: Angiotensin II receptor blocker inhibits neointimal hyperplasia through regulation of smooth muscle-like progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27**: 2363–2369.

Role of Renin-angiotensin System in the Pathogenesis of Atherosclerosis

Daiju Fukuda¹ and Masataka Sata^{1,2}

¹Department of Cardiovascular Medicine, The University of Tokyo Graduate School, Tokyo, Japan

²Department of Cardiovascular Medicine, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

Key words: atherosclerosis, renin-angiotensin system, reactive oxygen species, inflammation

The renin-angiotensin system (RAS) has been demonstrated to play a critical role in the initiation and progression of atherosclerosis, thereby contributing to development of cardiovascular diseases. Angiotensin II (Ang II), a major substrate in RAS, stimulates atherosclerosis through various deleterious effects such as endothelial dysfunction, cellular proliferation, and inflammation. Recently, local RAS in vasculature is reported to play an important role. Many of these atherogenic actions of Ang II are mediated by reactive oxygen species (ROS). Investigation of the role of ROS and inflammation induced by RAS may provide a clue to understanding the pathophysiology of atherosclerotic diseases, and may lead to a new therapeutic strategy. (J Jpn Coll Angiol, 2008, **48**: 449–454)