

アンジオテンシンIIは血管における炎症反応と動脈硬化を促進する

市来 俊弘

要 旨：近年の研究から、アンジオテンシン(Ang)IIが動脈硬化を促進することが明らかとなってきた。その機序にはAngIIによるNADPH oxidaseを介した活性酸素の産生が重要と考えられている。活性酸素は一酸化窒素を減少させ、またNF- κ Bなどの転写因子を活性化しサイトカインの産生や接着因子の発現を誘導することにより血管の炎症を促進する。本総説ではAngIIによってサイトカインや接着因子がどのように制御されているかについて概説した。(J Jpn Coll Angiol, 2009, 49: 287-292)

Key words: angiotensin II, reactive oxygen species, CREB, cytokine, adhesion molecule

はじめに

古典的なアンジオテンシン(Ang)IIの役割は、水・電解質バランスや血圧の恒常性の維持にあると考えられてきた。しかし近年の研究から、AngIIが動脈硬化を促進することや糖尿病性血管障害において重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。しかしながら、その機序は、十分には理解されていない。

動脈硬化の進展において、Russel Rossは、マクロファージの浸潤を伴う血管壁での炎症反応が重要であることを提唱した。その後の多くの研究がこの仮説を支持している。この動脈硬化進展の過程で、インターロイキン(IL)-1 やIL-6, 腫瘍壊死因子(TNF) α , monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)などのサイトカインあるいはモノカインが重要な役割を果たすことが報告されている。興味深いことにAngIIは血管平滑筋細胞やマクロファージに作用して、これらのサイトカイン・ケモカインの発現、産生を誘導することが報告されている。またAngIIは内皮細胞に作用して、vascular cell adhesion molecule-1(VCAM1)やintercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)などの接着因子の発現を誘導し、単球の内皮細胞への接着を促進する。

本総説では、血管の炎症反応に関わるサイトカインや接着因子がどのようにAngIIによって制御されているの

か、また動脈硬化進展を促進する高血糖とAngIIの関わりについてわれわれの知見も含めて概説したい。

NADPH oxidase

1994年にAngII刺激によって平滑筋細胞から活性酸素が産生されるとエモリー大学のGriendlingらにより報告された¹⁾。その後の多くの研究が、AngIIによる血管病変の形成に活性酸素種が重要な役割を果たすことを報告している²⁾。この活性酸素はAngIIタイプ 1 受容体(AT1R)拮抗薬(ARB)とフラボ蛋白の阻害薬であるDPIにより阻害されることからAT1R/NADPH oxidaseを介したものと考えられている。

NADPH oxidaseはいくつかのサブユニットよりなる蛋白である。チトクローム b_{558} 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Rac 1などから構成される。チトクローム b_{558} 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}(NOX2)とから構成される。gp91^{phox}に相当する分子は現在NOXと呼ばれ、5種類のNOXが報告されている。血管平滑筋細胞ではNOX1とNOX4が主に活性酸素産生に関与すると考えられている。Ushio-Fukaiらは培養平滑筋細胞にp22^{phox}のアンチセンスを導入することによりp22^{phox}の発現を抑制したところAngIIによるスーパーオキシドの産生が抑制されたことを報告している³⁾。こ

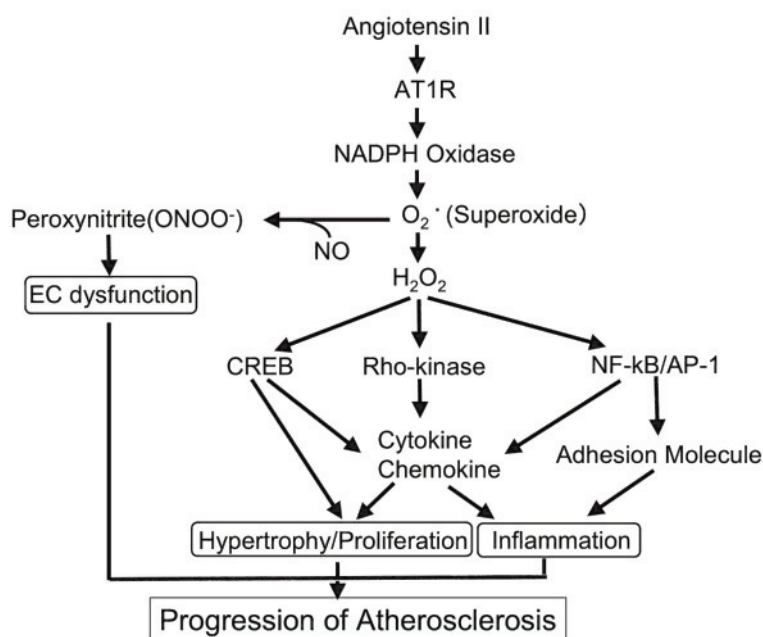


Figure 1 Signaling pathway of angiotensin II type 1 receptor leading to atherosclerosis. AT1R: angiotensin II type 1 receptor, CREB: cAMP response element binding protein, EC: endothelial cell

のデータからもAngIIによる活性酸素種の産生はNADPH oxidaseを介するものと考えられる。

NADPH oxidaseによって産生されるスーパーオキシドはsuperoxide dismutaseにより過酸化水素に分解され、スーパーオキシドとともに、ERKやp38MAPKの活性化などAT1Rの信号伝達経路に重要な役割を果たすことが示されている。また、活性酸素はNF-κBやAP-1などのredox-sensitive transcription factorを活性化し、サイトカイン産生や接着因子の発現を誘導する(Fig. 1)。さらにスーパーオキシドは、一酸化窒素(NO)と反応し、NOを減少させるとともに、より細胞毒性の強いperoxynitriteを形成すると考えられている。NOの減少は、内皮依存性血管反応を減弱させ、血圧上昇につながり、さらに動脈硬化を促進する可能性が示唆されている。

アンジオテンシンIIとサイトカイン

IL-6は肝臓においてC-reactive protein(CRP)の産生を誘導し、血管平滑筋細胞の増殖を促進する。また接着因子の発現を増強するなどの作用を有し、動脈硬化を促進すると考えられている。IL-6遺伝子の転写調節領域に

は、NF-κB、NF-IL6(あるいはC/EBPβ)、cAMP response element-binding protein(CREB)、AP-1などのcis DNA elementが存在する。AngIIによるIL-6の発現誘導にはNF-κBとCREBが重要な役割を果たしていることが報告されている⁴⁾。われわれも、AngII刺激によるIL-6の発現誘導にCREBの活性化が重要であることを報告した⁵⁾。CREBは元々cAMP/PKA経路を介してリン酸化され、活性化される転写因子として同定されたが、PKA以外のさまざまな蛋白リン酸化酵素によっても活性化されることがわかってきた。われわれの検討では、AngIIはERKとp38MAPKを介してCREBを活性化させると考えられた⁶⁾。またCREBは活性酸素によっても活性化され、AngIIによるCREB活性化は抗酸化剤であるN-acetylcysteineで抑制されることが報告されている⁷⁾。

最近、甲状腺ホルモン(T3)がT3受容体(TR)を介してCREBの活性化を抑制することが報告された⁸⁾。そこで、AngIIによるCREBの活性化に対するT3の影響を検討した。予想どおりではあるが、T3はAngIIによるCREBのリン酸化を抑制した⁹⁾。前述のようにAngIIによるCREBのリン酸化はERKとp38MAPKに依存しているが、T3は

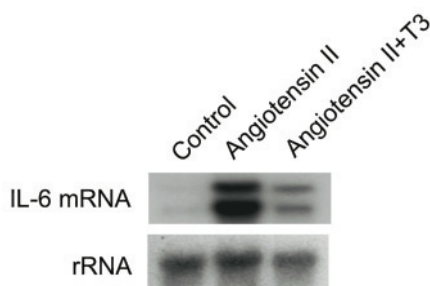


Figure 2 Inhibition of angiotensin II-induced interleukin-6 expression by thyroid hormone. Thyroid hormone (T3) attenuated angiotensin II-induced interleukin-6 (IL-6) expression in vascular smooth muscle cells.

AngIIによるERKとp38MAPKの活性化には影響を与えなかった。免疫沈降の実験から、以前報告されているように、TRとCREBの直接の蛋白-蛋白相互作用によりCREBのリン酸化が抑制されていることが示唆された。その結果、AngIIによるIL-6の発現誘導もT3により抑制された(Fig. 2)。ラット頸動脈をバルーンで傷害した後にT3を2週間腹腔内投与したところ、新生内膜におけるAT1Rの発現が低下するとともに新生内膜形成の程度も抑制された。これらのデータより、T3はAT1Rの発現低下とCREBの機能阻害を介して新生内膜形成を抑制することが示唆された。甲状腺機能低下症では動脈硬化形成が促進されることが知られている。これまでは、酸化LDLの増加など血清脂質プロファイルの変化が動脈硬化を促進する主因と考えられていた。われわれの結果は、甲状腺ホルモンが血管に直接作用し、AT1Rの発現低下とCREBの機能阻害などを介して血管の炎症を抑制する結果、抗動脈硬化作用を示す可能性を示唆している。

CREBには関連したいくつかの転写因子が存在しておりファミリーを形成している。その中でinducible cAMP early repressor(ICER)はCRE依存性の遺伝子発現を抑制する転写因子であることが報告されている。これはICERがDNAに結合する領域を持つが、遺伝子発現を活性化する領域を欠いているためである。ICERの過剰発現は、血管平滑筋細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した¹⁰⁾。またラット頸動脈のバルーン傷害後の新生内膜形成を抑制した。したがって、CREBはサイトカインの誘導

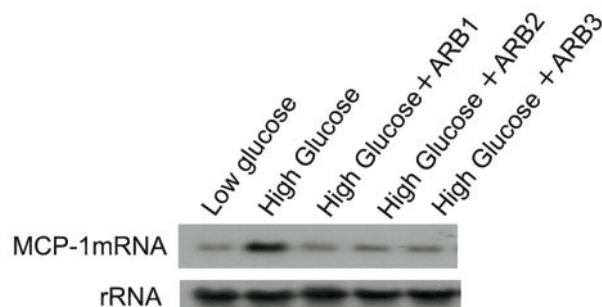


Figure 3 High glucose-induced expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) mRNA was inhibited by angiotensin II receptor blocker (ARB). Three different ARBs (1-3) were used to confirm the result.

のみならず、血管平滑筋細胞の増殖、生存をも制御する因子と考えられた。

MCP-1は単球の遊走を活性化するモノカインであり、動脈硬化病変の形成を促進することが数多く報告されている。MCP-1の発現誘導には、酸化ストレスが重要な役割を果たす¹¹⁾。AngII刺激によりAT1Rを介して産生される活性酸素種はAT1Rの信号伝達系に重要な役割を果たすと同時に血管病変形成にも重要と考えられている。実際AngIIによるMCP-1の発現誘導は抗酸化剤により抑制されることが報告されている。また、われわれはAngIIによるMCP-1の産生に低分子量G蛋白であるRhoと、Rhoの下流で活性されるRho-kinaseが重要な役割を果たすことを報告した¹²⁾。Rho-kinaseの阻害薬Y27632はAngIIによるMCP-1の発現を抑制した。Y27632などのRho-kinase阻害薬は、血管傷害後の新生内膜形成やアポリポ蛋白E欠損マウスの動脈硬化を抑制することが報告されている。増殖抑制効果と共に、MCP-1などのサイトカインの産生抑制がRho-kinase阻害薬による動脈硬化進展抑制の機序と考えられる。興味深いことにRho-kinaseの活性化にも活性酸素が関与すると報告されている¹³⁾。

糖尿病は動脈硬化の重要なリスク因子であり、最近特に、食後の一過性の高血糖が動脈硬化進展において重要な役割を持つとする報告が多くなされている¹⁴⁾。興味深いことに、培養平滑筋細胞の培地を低グルコース(100mg/dl)から高グルコース(400mg/dl)に交換すると、約3時間後をピークにMCP-1の産生が誘導されることが

わかった(Fig. 3)。このMCP-1の発現誘導はアンジオテンシン受容体拮抗薬で抑制されることから、平滑筋細胞からAngIIが分泌されオートクライン的に作用しMCP-1の発現を誘導している可能性が考えられた。実際、高グルコース培地にするとアンジオテンシノーゲンmRNAの増加が認められた。したがって、食後に血糖値が急上昇すると、血管自体からのサイトカインの産生が増加し、動脈硬化の進展を促進させる可能性が考えられる。

アンジオテンシンと接着因子

AngIIは血管内皮細胞にVCAM-1やICAM-1などの接着因子の発現を誘導する。

ラットにAngIIを投与すると、血圧の上昇とともに大動脈におけるVCAM-1の発現が増加するが、ノルエピネフリンを投与して同等に血圧を上げてもVCAM-1の誘導は生じなかったとされる¹⁵⁾。したがって血圧上昇の効果とは独立してAngIIがVCAM-1の発現を増加させることが示唆されている。このAngIIによるVCAM-1の発現は、活性酸素によりNF- κ Bを阻害しているIk-Bが分解される結果、NF- κ Bが活性化されることにより誘導されると報告されている¹⁶⁾。前述のように、AT1RはNADPH oxidaseを活性化し活性酸素の産生を誘導すると考えられているが、興味深いことにこの論文ではAngIIにより誘導される活性酸素はミトコンドリア由来とされる。

AngII刺激は、内皮細胞におけるICAM-1の発現も増加させることが報告されている。興味深いことに、正常血圧および、高血圧患者にAngIIを投与すると血中の可溶性ICAM-1の発現が増加し、この増加はARB投与で抑制されると報告されている¹⁷⁾。

実際、ラットにAngIIを投与し、その4時間後に腸間膜動脈を生体顕微鏡で観察すると、白血球の接着が観察されることが報告されている¹⁸⁾。AngII投与は血管におけるVCAM-1、ICAM-1、P-selectin、E-selectinなどの発現を増加させたが、この腸間膜動脈への白血球の接着はP-selectinに対する抗体で阻害される。

一方で、AngIIによる白血球の内皮細胞への接着がE-selectinに対する抗体で阻害されるという報告もなされている¹⁹⁾。AngIIによる白血球の血管への接着に、どの接着因子が最も重要であるのか、あるいは複数の因子の複合的な作用が必要なのかは不明であるが、AngIIによる接着因子の発現誘導は、生体内でも内皮への白血球の接着に重要であることが示唆される。

アンジオテンシンと動脈硬化

AngIIが動脈硬化を促進することがさまざまなモデルを用いて明らかにされている。

現在、最もよく用いられる動脈硬化のモデル動物は、アポリポ蛋白E欠損マウス(ApoEKO)であり、AngIIの投与はApoEKOの動脈硬化形成を促進するとともに、腹部大動脈瘤の形成を誘導することが報告されている²⁰⁾。アポリポ蛋白E欠損マウスにストレプトゾトシンを投与して作成した糖尿病併動脈硬化モデルにおける動脈硬化病変も、イルベサルタン投与により抑制された。血圧を同等に降下させたアムロジピン投与群ではこの抑制効果が認められなかったことから、イルベサルタンの効果は降圧によるものではないと考えられる。

これらの動脈硬化モデルでの検討はARBを用いたものであるが、AT1R遺伝子欠損マウスを用いた研究が報告された。Wassmannらはアポリポ蛋白E欠損マウスとAT1R欠損マウスを交配し、両方の遺伝子を欠損するマウスを作成した²¹⁾。これらのマウスに高脂肪食を負荷し動脈硬化病変形成の程度を比較している。AT1Rを欠損するアポリポ蛋白E欠損マウスはAT1Rを有するアポリポ蛋白E欠損マウスと比べ、活性酸素の産生、内皮機能障害や動脈硬化病変形成が抑制されたと報告されている。

Strawnらはカニクイザルに高脂肪食を投与する動脈硬化モデルにロサルタンを投与し、病変形成への影響を検討している²²⁾。ロサルタンの投与は血圧や脂質プロファイルなどには影響を与えなかったが、大動脈と冠動脈における初期動脈硬化病変の形成を対照群と比較して約50%抑制したと報告されている。したがって、霊長類においてもAngIIが動脈硬化病変の形成に重要な役割を果たすと考えられる。

おわりに

AngIIはNADPH oxidaseを介して活性酸素種の産生を誘導し、内皮機能の障害やサイトカイン、接着因子の発現を誘導することにより動脈硬化を進展させると考えられる。したがって、動脈硬化性疾患の治療にレニン・アンジオテンシン系阻害薬が有効であると考えられる。また、NF- κ BやCREBなどの転写因子、あるいはRho-kinaseの阻害薬などが動脈硬化の治療に有用である可能性が示唆される。

文 献

- 1) Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD et al: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1994, **74**: 1141–1148.
- 2) Mehta PK, Griendling KK: Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, **292**: C82–97.
- 3) Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T et al: p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 23317–23321.
- 4) Sahar S, Reddy MA, Wong C et al: Cooperation of SRC-1 and p300 with NF- κ B and CREB in angiotensin II-induced IL-6 expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27**: 1528–1534.
- 5) Funakoshi Y, Ichiki T, Ito K et al: Induction of interleukin-6 expression by angiotensin II in rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 1999, **34**: 118–125.
- 6) Funakoshi Y, Ichiki T, Takeda K et al: Critical role of cAMP-response element-binding protein for angiotensin II-induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 18710–18717.
- 7) Ichiki T, Tokunou T, Fukuyama K et al: Cyclic AMP response element-binding protein mediates reactive oxygen species-induced c-fos expression. *Hypertension*, 2003, **42**: 177–183.
- 8) Méndez-Pertuz M, Sánchez-Pacheco A, Aranda A: The thyroid hormone receptor antagonizes CREB-mediated transcription. *EMBO J*, 2003, **22**: 3102–3112.
- 9) Fukuyama K, Ichiki T, Imayama I et al: Thyroid hormone inhibits vascular remodeling through suppression of cAMP response element binding protein activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26**: 2049–2055.
- 10) Ohtsubo H, Ichiki T, Miyazaki R et al: Inducible cAMP early repressor inhibits growth of vascular smooth muscle cell. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27**: 1549–1555.
- 11) Chen XL, Tummala PE, Olbrych MT et al: Angiotensin II induces monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in rat vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1998, **83**: 952–959.
- 12) Funakoshi Y, Ichiki T, Shimokawa H et al: Rho-kinase mediates angiotensin II-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 2001, **38**: 100–104.
- 13) Jin L, Ying Z, Hilgers RH et al: Increased RhoA/Rho-kinase signaling mediates spontaneous tone in aorta from angiotensin II-induced hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **318**: 288–295.
- 14) 山崎義光: 食後高血糖と動脈硬化. *日本臨牀*, 2005, **63**: 1853–1856.
- 15) Tummala PE, Chen XL, Sundell CL et al: Angiotensin II induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in rat vasculature: A potential link between the renin-angiotensin system and atherosclerosis. *Circulation*, 1999, **100**: 1223–1229.
- 16) Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A et al: Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor- κ B activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 645–651.
- 17) Pastore L, Tessitore A, Martinotti S et al: Angiotensin II stimulates intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression by human vascular endothelial cells and increases soluble ICAM-1 release in vivo. *Circulation*, 1999, **100**: 1646–1652.
- 18) Alvarez A, Cerdá-Nicolás M, Naim Abu Nabah Y et al: Direct evidence of leukocyte adhesion in arterioles by angiotensin II. *Blood*, 2004, **104**: 402–408.
- 19) Gräfe M, Auch-Schwelk W, Zakrzewicz A et al: Angiotensin II-induced leukocyte adhesion on human coronary endothelial cells is mediated by E-selectin. *Circ Res*, 1997, **81**: 804–811.
- 20) Daugherty A, Manning MW, Cassis LA: Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Invest*, 2000, **105**: 1605–1612.
- 21) Wassmann S, Czech T, van Eickels M et al: Inhibition of diet-induced atherosclerosis and endothelial dysfunction in apolipoprotein E/angiotensin II type 1A receptor double-knockout mice. *Circulation*, 2004, **110**: 3062–3067.
- 22) Strawn WB, Chappell MC, Dean RH et al: Inhibition of early atherogenesis by losartan in monkeys with diet-induced hypercholesterolemia. *Circulation*, 2000, **101**: 1586–1593.

Angiotensin II Accelerates Vascular Inflammation and Atherosclerosis

Toshihiro Ichiki

Department of Advanced Therapeutics for Cardiovascular Diseases,
Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka, Japan

Key words: angiotensin II, reactive oxygen species, CREB, cytokine, adhesion molecule

Recent studies have indicated that angiotensin (Ang) II accelerates atherogenesis and diabetic vasculopathy, which involves inflammatory blood vessel response. It is generally accepted that reactive oxygen species (ROS) derived from NADPH oxidase play an important role in atherogenesis accelerated by AngII. ROS quench nitric oxide leading to endothelial dysfunction and high blood pressure. ROS induce expression of cytokine and adhesion molecules in the blood vessel through activation of transcription factors such as NF- κ B and cAMP response element binding protein. Rho-kinase, a downstream molecule of Rho small G protein, is also involved in cytokine production by AngII. These data suggest that inhibition of the renin-angiotensin system may be beneficial for the treatment of atherosclerotic cardiovascular diseases. Inhibitors for NF- κ B, cAMP response element binding protein or Rho-kinase are also promising drugs for the treatment of atherosclerosis.

(J Jpn Coll Angiol, 2009, **49**: 287–292)