

総説

肺血管リモデリングの発症機序に迫る

エンドセリン受容体シグナルからの視点

堀之内孝広 東 恒仁 真崎 雄一
三輪 聡一

北海道大学大学院医学研究科薬理学講座細胞薬理学分野

要約：肺血管リモデリングは、肺動脈内皮細胞・平滑筋細胞の異常増殖とアポトーシス耐性獲得によって惹起される器質的な肺血管病変であり、肺動脈性肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension：PAH）の発症・進展に深く関与している。エンドセリン-1（endothelin-1：ET-1）は、血管内皮細胞で産生される血管収縮性・炎症性ペプチドであり、PAHの病態形成において、重要な役割を担っている。ET-1によるエンドセリンA型受容体刺激は、transient receptor potential canonical 6（TRPC6）チャネルの活性化に伴う持続的なCa²⁺流入やRhoキナーゼの活性化を介して、肺血管リモデリングを引き起こす。一方、ET-1によるエンドセリンB型受容体の活性化は、血管内皮細胞における内皮由来弛緩因子の遊離および血中ET-1のクリアランスを介して、肺血管リモデリングの抑制に寄与する。本稿では、エンドセリン受容体シグナルに焦点を当て、肺血管リモデリングの発症機序と治療戦略について概説する。

東邦医学会誌 62(3)：197-199, 2015

KEYWORDS：endothelin-1 (ET-1), pulmonary arterial hypertension (PAH), pulmonary vascular remodeling

肺血管リモデリングは、肺動脈内皮細胞・平滑筋細胞の異常増殖とアポトーシス耐性獲得によって惹起される器質的な肺血管病変であり、肺動脈性肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension：PAH）の発症・進展に深く関与している。一般に、内膜・中膜の肥厚が進行した重度の肺血管リモデリングを伴うPAHでは、肺血管の拡張能が著しく低下していることから、血管拡張薬を用いたPAH治療に難渋する。そのため、肺血管リモデリングの発症・進展メカニズムの解明は、PAH患者の予後を改善する上で、喫緊の課題となっている。

エンドセリン-1（endothelin-1：ET-1）は、血管内皮細胞で産生される血管収縮性・炎症性ペプチドである¹⁾。PAH患者において、血漿ET-1濃度と平均肺動脈圧との間に正の相関が認められていることから、ET-1は、PAHの病態形成において、重要な役割を担っていると考えられている。一般に、ET-1が有する多彩な作用は、Gタンパク質共役型受容体であるエンドセリンA型受容体（endothelin type A receptor：ET_AR）やエンドセリンB型受容

体（endothelin type B receptor：ET_BR）を介して引き起こされる。血管系において、これら受容体の役割は大きく異なっており、ET_ARは「bad receptor」、一方、ET_BRは「good receptor」として機能している。例えば、ET-1によるET_AR刺激は、transient receptor potential canonical 6（TRPC6）チャネルの活性化に伴う持続的なCa²⁺流入やRhoキナーゼの活性化を介して、肺血管リモデリングを促進する²⁾。一方、ET-1によるET_BRの活性化は、血管内皮細胞における内皮由来弛緩因子の遊離および血中ET-1のクリアランスを介して、肺血管リモデリングに拮抗する¹⁾。

ET_ARとET_BRは、ET-1刺激によって、速やかに細胞内へ取り込まれる（internalization）が、internalization後の細胞内運命は大きく異なる^{1,3)}。すなわち、internalization後、ET_ARはrecycling endosomeへ輸送され、再び、細胞膜へリサイクルされるが、ET_BRはlate endosome/lysosomeへ輸送され、分解される⁴⁾（Fig. 1）。このような「ET受容体（endothelin receptor：ETR）の細胞内動態の制御機構」という概念を肺血管リモデリングの治療戦略に導入

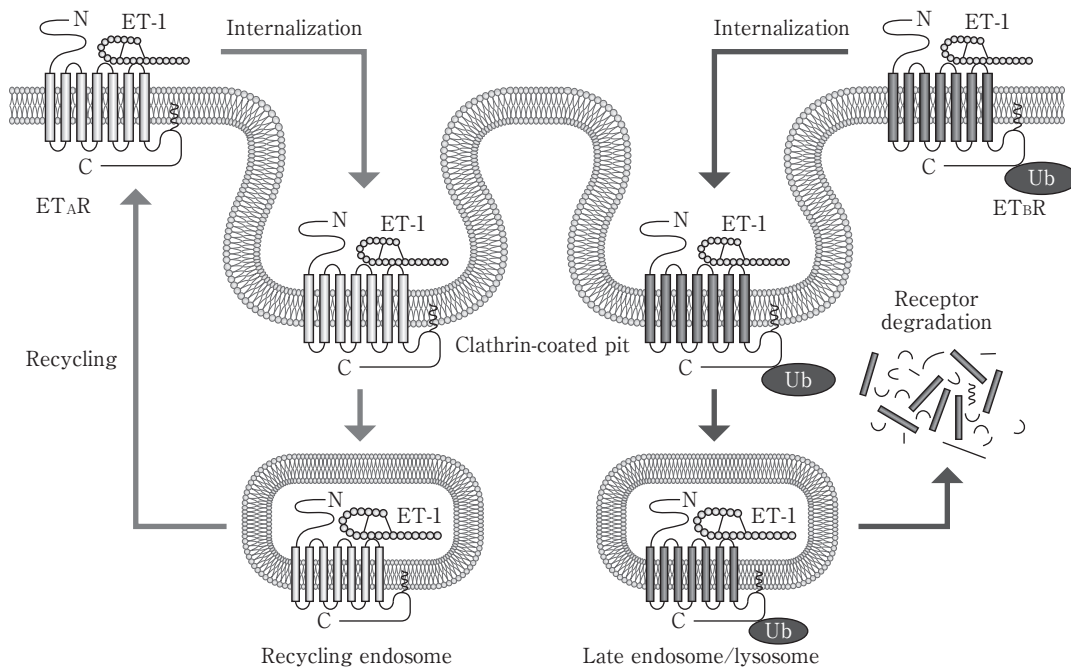


Fig. 1 Comparison of receptor trafficking of endothelin type A receptor (ETA_R) and endothelin type B receptor (ETB_R) after endothelin-1 (ET-1) stimulation.
Ub: ubiquitin

すると、bad receptorであるETA_Rをlate endosome/lysosome (分解系)へ、一方、good receptorであるETB_Rをrecycling endosome (再利用系)へ輸送制御することによって、肺血管リモデリングの発症・進展を抑制できるということになる。つまり、ETRの細胞内運命を決定付ける分子機構が、新たなPAH治療薬のターゲットになると考えられるが、ETRの細胞内動態の制御機構については、いまだに不明な点が多い。

本稿では、ETRの細胞内動態制御機構を含めたETRシグナルに焦点を当て、肺血管リモデリングの発症機序と治療戦略について概説する。

TRPC6

TRPC6は、陽イオン(Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺など)を非選択的に透過させる電位非依存性カチオンチャンネルであり、TRPC6を介して持続的に流入するCa²⁺は、心筋細胞の病的肥大や血管平滑筋細胞の増殖能亢進を病態基盤とする心血管リモデリングに関与している。TRPC6は、ETRと共役するホスファチジルイノシトール代謝回転によって産生されるジアシルグリセロールによって、直接活性化されることから、ETR作動性チャンネルとして機能すると考えられている^{2,5)}。実際、肺高血圧症の病態形成において、ETRとTRPC6は密接に関連しており、特発性肺高血圧症患者の肺動脈平滑筋細胞では、ETRの活性化がTRPC6の発現上昇をもたらしている。これらの知見は、ETR刺激によって誘発されるTRPC6を介した受容体作動性Ca²⁺

流入が、肺血管リモデリングの発症・進展において、重要な役割を担っていることを如実に物語っている。

TRPC6のチャンネル活性は、プロテインキナーゼ(protein kinase: PK) A (PKA) やPKC, PKGといったさまざまなタンパク質リン酸化酵素によるリン酸化によって調節されている。これらのキナーゼのうち、PKAは、TRPC6の細胞内N末端領域に存在する28番目のセリン残基をリン酸化することによって、ET-1によるETA_R刺激によって惹起されるTRPC6を介した受容体作動性Ca²⁺流入を抑制性に制御している⁵⁾。

現在、PAHの薬物治療には、プロスタサイクリンとその誘導体、ETR拮抗薬、ホスホジエステラーゼ5型阻害薬、可溶性グアニル酸シクラーゼ活性化薬が用いられている。このうち、プロスタサイクリンおよびその誘導体は、G_sタンパク質共役型受容体であるプロスタノイドIP受容体に結合し、G_sタンパク質/アデニル酸シクラーゼ/cyclic adenosine monophosphate(cAMP)/PKA系を活性化する。従って、プロスタサイクリンおよびその誘導体は、PKAによるTRPC6のリン酸化を介して、TRPC6の活性化に伴う受容体作動性Ca²⁺流入を抑制することによって、PAHや肺血管リモデリングに奏効している可能性が考えられる。

Rho キナーゼ

Rho キナーゼは、低分子量Gタンパク質Rhoの下流に位置するセリン・スレオニンリン酸化酵素であり、平滑筋細胞のCa²⁺非依存性収縮反応、遊走、増殖などに関与し

ている¹⁾。肺動脈平滑筋細胞において、ET_ARを介したRhoキナーゼの活性化は、炎症反応や細胞代謝異常を介して細胞増殖を促進させ、PAHや肺血管リモデリングの発症・進展に寄与する。実際、特発性肺高血圧症患者の肺血管において、Rhoキナーゼの発現と活性が上昇している。このことから、近年、PAHや肺血管リモデリングに対する新たな治療薬として、Rhoキナーゼ阻害薬が注目されている。

本邦において承認されているRhoキナーゼ阻害薬は、くも膜下出血の予後改善に用いるファスジル塩酸塩水和物(ファスジル)[商品名:エリル, 旭化成ファーマ(株), 東京]および緑内障・高眼圧症治療に用いるリバスジル塩酸塩水和物[商品名:グラナテック, 興和(株), 名古屋]である。これらのうち、PAHや肺血管リモデリングに対する有効性の基礎研究・臨床研究が進んでいるものは、ファスジルである。

ファスジルは、肺高血圧症モデル動物において、肺血管リモデリングの発症・進展を抑制するだけでなく(予防プロトコル)、既に形成された肺血管リモデリングの退縮(リバースリモデリング)をも引き起こす(治療プロトコル)。また、重度PAH患者において、ファスジルの急速投与(点滴静注)は、肺血管抵抗を改善する。最近では、ファスジルの小規模臨床試験(プラセボ経口投与群11名, ファスジル経口投与群9名)が実施された。その結果、両群間で平均肺動脈圧, 肺血管抵抗, 心係数, 6分間歩行距離に有意な差は認められなかったものの、ファスジル経口投与群において、心係数改善の発生頻度が有意に上昇した。この小規模臨床試験において、PAHに対するファスジルの有効性は確認されなかったが、PAHに対するファスジルの臨床試験は端緒に就いた段階であるので、今後の展開に期待したい。

ETRの細胞内動態制御機構

ET_ARとET_BRは、その一次構造が酷似しているにもかかわらず、internalization後の受容体分解速度が大きく異なり、ET_BRはET_ARよりも速やかに分解される^{3,4)}。また、前述したように、internalizationしたETRの細胞内動態も大きく異なり、ET_ARはrecycling endosomeへ輸送され、再び、細胞膜へリサイクルされるが、ET_BRはlate endosome/lysosomeへ輸送され、分解される⁴⁾(Fig. 1)。このようなETRの細胞内運命を決定付ける分子メカニズムとして、ETRのユビキチン化修飾が重要な役割を担っている^{3,4)}。例えば、ET-1刺激によって、ET_ARはユビキチン化修飾をほとんど受けないが、ET_BRはユビキチン化修飾を受ける^{3,4)}。そして、ET_BRのC末端領域に存在する5個のリシン残基(K)を全てアルギニン残基(R)に置換したユビキチン化抵抗性ET_BR(5KR)変異体では、ユビ

キチン化修飾を受ける野生型ET_BRとは異なり、internalization後、late endosome/lysosomeではなく、recycling endosomeへ輸送される⁴⁾。これらの知見は、ユビキチン化修飾を受けない受容体はrecycling endosomeへ輸送される一方、ユビキチン化修飾を受ける受容体はlate endosome/lysosomeへ輸送されることを強く示唆している。

PAH患者では、血管平滑筋の過収縮や血管内皮細胞の機能不全を来しており、このような病態形成に、血管平滑筋細胞におけるET_ARの発現量増加ならびに血管内皮細胞に発現するET_BRの発現量低下が関与している¹⁾。このことは、PAHや肺血管リモデリングの発症・進展を抑制する上で、ETR発現量の異常を正常化する必要性を示している。従って、ETRの発現量や細胞内動態を制御する受容体のユビキチン化修飾機構は、受容体発現量の是正を目的とした新たなPAH治療戦略を確立する上で、今後、重要になると考えられる。

おわりに

2001年に、非選択的ETR拮抗薬であるボセンタンが、PAH治療薬として誕生してから、早14年が経過した。この間、アンプリセンタンやマシテンタンといったETR拮抗薬の登場ならびにPAHの診断技術や治療方法の向上に伴って、PAHや肺血管リモデリングの発症・進展におけるETRシグナルの病態生理的重要性は、広く認識されるようになった。しかしながら、ETRシグナルの全貌が解明された訳ではない。今後、ETRシグナル関連分子をターゲットにした新たなPAH治療薬やリバースリモデリング作用を有する薬物の開発が期待される。

文 献

- 1) Horinouchi T, Terada K, Higashi T, et al: Endothelin receptor signaling: New insight into its regulatory mechanisms. *J Pharmacol Sci* **123**: 85-101, 2013
- 2) Horinouchi T, Terada K, Higa T, et al: Function and regulation of endothelin type a receptor-operated transient receptor potential canonical channels. *J Pharmacol Sci* **117**: 295-306, 2011
- 3) Nishimoto A, Lu L, Hayashi M, et al: Jab1 regulates levels of endothelin type A and B receptors by promoting ubiquitination and degradation. *Biochem Biophys Res Commun* **391**: 1616-1622, 2010
- 4) Terada K, Horinouchi T, Fujioka Y, et al: Agonist-promoted ubiquitination differentially regulates receptor trafficking of endothelin type A and type B receptors. *J Biol Chem* **289**: 35283-35295, 2014
- 5) Horinouchi T, Higa T, Aoyagi H, et al: Adenylate cyclase/cAMP/protein kinase A signaling pathway inhibits endothelin type A receptor-operated Ca²⁺ entry mediated via transient receptor potential canonical 6 channels. *J Pharmacol Exp Ther* **340**: 143-151, 2012