

[2008年3月20日 (VOL.41 NO.12) p. 73]

TOPICS

血管構造安定化の機序を解明

アドレノメデュリン機能発揮にRAMP2が必須



新藤 隆行 氏

アドレノメデュリン(AM)は当初、血管を拡張する働きを持つペプチドとして同定された。信州大学大学院臓器発生制御医学講座の新藤隆行教授らは2001年に初めてAMノックアウトマウスの作製に成功し、これらのマウスが胎生中期に死亡すること、その理由は血管の著明な脆弱性によることを示した。今回、同教授らはAMの受容体システムに注目し、AMがその受容体を通じて血管にシグナル伝達するには、RAMP2と略称される受容体活性調節蛋白が必須であること、RAMP2ノックアウトマウスはAMノックアウトと同様のフェノタイプを示すことを明らかにした。多くの循環器疾患や再生医療の血管新生に有望な新規治療薬として、AM-RAMP2システムの可能性が注目されている。

AMノックアウトマウスは胎生中期に死亡

1993年にヒト副腎から単離されたAMは、強力な血管拡張作用を持つ降圧物質として知られていたが、2001年に新藤教授らがAMノックアウトマウス(AM^{-/-})を作製し、血管構造の安定化に必須の物質であることを示したことがAM研究上の1つの大きな突破口となった。以来、現在までにこのペプチドが全身に広範に分布し、細胞増殖・分化・遊走の調節、抗炎症作用、抗アポトーシス作用、ホルモン分泌調節、抗酸化作用など、きわめて多彩な生理活性を持つことが報告されており、多様な分野のAMIに関連する論文は累積2,000本以上を数えるという。

同教授らが示したように、AMノックアウトマウスの血管はきわめて脆弱で、電顕所見による血管構造は孔だらけであり、血管内皮細胞が基底膜から剥離している(図1)。このため著明な浮腫と出血を生じ、胎生中期に死亡する。逆にAMを過剰発現させた成体マウスでは、動脈硬化抵抗性、心肥大抵抗性であることが確認され、循環器疾患を発症しても臓器障害は軽度であった。

これらの知見から、血管新生をサポートする薬剤として、あるいは循環器疾患の治療薬としてAMへの期待が高まったが、同教授は「AMIは血中半減期が短く、1時間ほどで消失してしまう。さらにペプチド製剤は製造コストが高く、慢性疾患の治療薬としては使いにくい」と指摘する。そこで同教授らは、AMそのものに替わりうる治療標的として、AMの受容体システムに注目した。

クリックで拡大

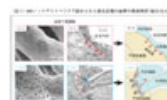


図1

AMの受容体重合蛋白RAMP2に注目

AMの受容体であるCRLR(calcitonin-receptor like receptor)は、7回膜貫通型のG蛋白共役型受容体。RAMP(receptor activity-modifying protein: 受容体活性調節蛋白)と呼ばれる補助蛋白と重合して存在していることが1998年に報告されている。RAMPは進化的に脊椎動物以上にしか認められていない蛋白で、哺乳類ではRAMP1、2、3の3つのサブアイソフォームが知られている。

CRLRは奇妙な受容体で、AMの受容体であると同時に、CGRP(calcitonin gene-related peptide: カルシトニン遺伝子関連ペプチド)という別の生理活性ペプチドの受容体としても働く。CRLRにRAMP1が重合しているときはおもにCGRPの受容体として機能し、RAMP2とRAMP3が重合しているときはAMの受容体として機能する(図2)。ちなみに、AMと受容体を“共有”するCGRPは、AMと同様に血管拡張作用を持ち、AMが発見される以前は唯一の血圧低下物質と言われていた。いずれにせよ、このように1

クリックで拡大

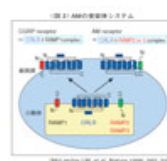


図2

つの受容体が明確に機能分化している例はCRLRで初めて見出されたもので、現在のところ、こうしたユニークな受容体システムはほかには知られていない。

AMノックアウトマウスは胎生13.5～14.5日に死亡する。その直前の胎生12.5日の血管を観察すると、RAMP2が特に強発現しているのが認められた。新藤教授らは、このことは血管形成におけるRAMP2の重要性を示唆するものではないかと考え、RAMP2ノックアウトマウス(RAMP2^{-/-})を作製してみた。すると驚くべきことに、AMもその受容体CRLRも正常であるにもかかわらず、AMノックアウトと同様の表現型が再現されることがわかった。

RAMP2ノックアウトは AMノックアウトを再現

RAMP2ノックアウトマウスでは、発達した血管はほとんど形成されず、ちりちりと縮れたような微細な血管しか観察されない。これらの血管壁では通常の層状構造が形成できず、内皮細胞は離離し、細胞死を特異的に検出するTUNEL染色で内皮細胞のアポトーシスが多数確認された。このように血管構造がきわめて脆弱であるため、全身性に著明な浮腫を来し、AMノックアウトで観察されたのと同時期の胎生中期で死亡する(図3)。また、RAMP2ノックアウトマウスの遺伝子発現を調べたところ、内皮細胞同士をつなぎ合わせているクロージン5や血管のタイトジャンクション形成に不可欠のVE-カドヘリンなどの接着因子、基底膜を形成する4型コラーゲンなどの遺伝子発現がいずれも著明に低下しており、血管の脆弱化と透過性亢進を裏づける結果が得られた。

注目すべきことに、RAMP2ノックアウトマウスではAMの発現は通常の約5倍に高まっていた。新藤教授は「RAMP2ノックアウトマウスでは代償性にAMの発現が高まるが、やはり胎生致死は不可避であり、RAMP2はAMが受容体に結合して機能を発揮するために必須の分子であることが初めて明らかになった。当初、RAMP2をつぶしてもRAMP3で代償されて何事も起こらないのではないかと考えられていたが、RAMP3ノックアウトマウスは通常のマウスと同様に生まれて寿命を全うする。RAMP3は同じAMとのかかわりでも、また別の機能を持つ可能性がある」と話している。

クリックで拡大



図3

AM-RAMP2システムによる新規治療薬の可能性

では成体でRAMP2の発現低下が見られる場合はどうか。RAMP2ヘテロ欠損マウス(RAMP2^{+/-})は外見上は普通に成長するが、ヒスタミン投与による実験では血管の透過性が亢進しており、また大動脈の断端からの血管新生の様子を観察した大動脈リングアッセイで、内皮細胞増殖因子(VEGF)存在下でも血管の形成不全が確認された(図4)。一方、ヒト臍帯静脈内皮細胞とヒト肺がん細胞を融合させて株化したEAhy926細胞でRAMP2を過剰発現させると、基底膜構成因子や細胞接着因子の遺伝子発現の亢進が認められ、細胞間のタイトジャンクションを破壊する過酸化水素(H₂O₂)で処理しても、細胞間接着が強く保たれることが確認された。

新藤教授らは現在、理化学研究所との共同研究でRAMP2の詳細な構造解析を進めており、「血管をつくる蛋白は、VEGF、肝細胞増殖因子(HGF)を筆頭にいろいろ報告されているが、AMあるいはRAMP2のように血管構造を安定化させる物質はこれまで報告されていない。これらのノックアウトマウスが胎生中期に死亡するのは、血管はできてくるものの、その構造を強く保持できないためであることが明らかになってきた。かつRAMP2が不足すれば、成長後も血管が不安定になることもわかってきた。今後、再生医療をはじめ、循環器疾患、あるいは現在適切な薬剤がない脳浮腫の治療にも幅広く使えるのではないかと、AM-RAMP2システムによる新薬の可能性に期待を寄せている。

クリックで拡大



図4

[| 本サイトのご利用について](#) | [お問い合わせ](#) | [プライバシーポリシー](#) | [会社概要](#) |

株式会社 メディカルトリビューン

〒102-0084 東京都千代田区二番町2-1(二番町Tビル)

TEL:03-3239-7210(代表) FAX:03-3239-7243

Copyright ©2007-2008 Medical Tribune Inc., an Impress Group company. All rights reserved.

文字の大きさ [小](#) [中](#) [大](#)