Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-30

血管作動物質による血管平滑筋の肥大、増殖機構とその病態（助成研究報告）

川原，康洋
津田，晃孝

(Citation)
神戸大学医学部神緑会学術誌,8:122-125

(Issue Date)
1992-06

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/81007243

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/81007243

KOBE UNIVERSITY

研究報告——

血管作動物質による血管平滑筋の肥大，増殖機構とその病態

神戸大学医学部第一内科　川原康洋　津田晃孝

1．はじめに

血管平滑筋細胞の肥大や増殖は高血圧における血管壁肥厚や動脈硬化巣の形成，経皮的冠状動脈形成術（PTCA）後の再狭窄に中心的な役割を果たしている．近年，血管収縮物質や弛緩物質などの血管作動物質が血管平滑筋細胞の肥大や増殖の制御にも関与することが明かにされ，高血圧や動脈硬化の発生，進展機構と関連して注目されている．最近私共は血管作動物質による血管平滑筋細胞の肥大，増殖制御の細胞内分子機構の研究を行っており，本稿ではその成績を報告する．

2．血管収縮物質による肥大，増殖促進の制御機構

アンギオテンシンⅡ，セロトニンやエンドセリン等の血管収縮物質が血管平滑筋細胞の受容体に結合すると，ある種のGTP結合蛋白質（Gp）を介してイノシトールリン脂質特異的ホスフォリパーゼCが活性化され，細胞膜のイノシトールリン脂質のうち最初にホスファチジルイノシトール4，5-二リン酸が加水分解されイノシトール一三リン酸（IP_3）とジグリセリド（DG）が産生される．[1,2,3] IP_3は細胞内のCa^{2+}貯蔵部位である筋小胞体からCa^{2+}を動員し血管平滑筋の収縮を引起こす．DGはCキナーゼを活性化するが，血管平滑筋の収縮反応におけるCキナーゼの役割は明かでない．私共は従来血管平滑筋細胞においてアンギオテンシンⅡやセロトニンがCキナーゼ系やCa^{2+}系の情報伝達系を介して細胞増殖に必須の細胞性癌遺伝子であるc-fos遺伝子の発現を促進すること[4]や細胞増殖因子の血管平滑筋細胞増殖作用を相乗的に促進すること[5,6]を示してきたが，最近エンドセリンもc-fos遺伝子の発現や血管平滑筋細胞の増殖を促進することが報告されている．[7]しかし，Cキナーゼ系やCa^{2+}系の情報伝達系がいかなる機構で核内遺伝子の発現や細胞増殖を促進するのかは明かではない．

血小板由来細胞増殖因子（PDGF）や上皮増殖因子（EGF）などの細胞増殖因子は血管平滑筋細胞の増殖を著明に促進することから動脈硬化巣の形成にも中心的な役割を果していると推定されているが，これらの細胞増殖因子の受容体は細胞内ドメインにチロシンキナーゼ活性を持ち，受容体キナーゼによるチロシンリン酸化反応がこれら細胞増殖因子の細胞増殖促進作用に必須である．私共は，抗ホスホチロシン抗体によるイムノブロット法を用いて血管平滑筋細胞におけるアンギオテンシンⅡ，セロトニンやエンドセリンなどの血管収縮物質の情報伝達機構にも蛋白質のチロシンリン酸化反応が関与することを見いだした．[8,9]図1にアンギオテンシンⅡの成績をPDGFと比較して示すが，アンギオテンシンⅡは血管平滑筋細胞で少なくとも9種類の蛋白質（190，117，105，82，79，77，73，45，40kDa）のチロシンリン酸化反応を促進した．

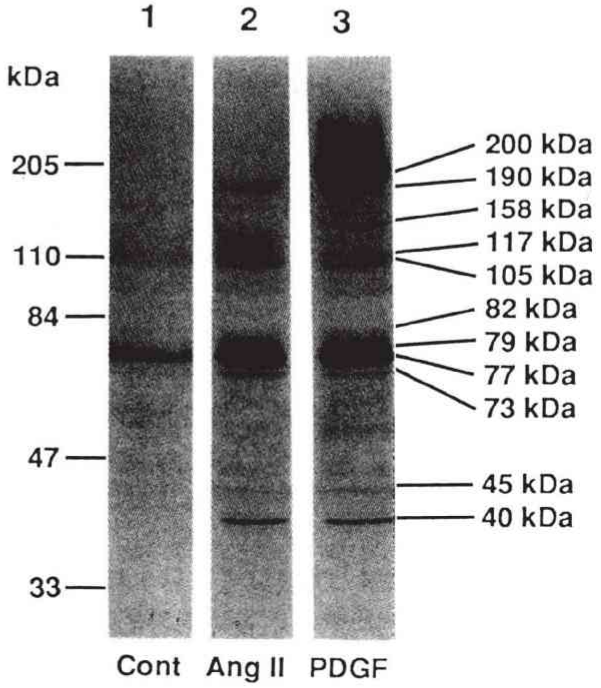

図1　血管平滑筋細胞におけるアンギオテンシンⅡとPDGFによるチロシンリン酸化反応

MAPキナーゼ（Mitogen-Activated Protein Kinase）は各種細胞増殖因子の作用時にスレオニンとチロシン残基がリン酸化されて活性化され，細胞増殖因子のシグナルを細胞膜からリボゾームや細胞核へ伝達する分子量約40kDaのプロテインキナーゼとして注目されて

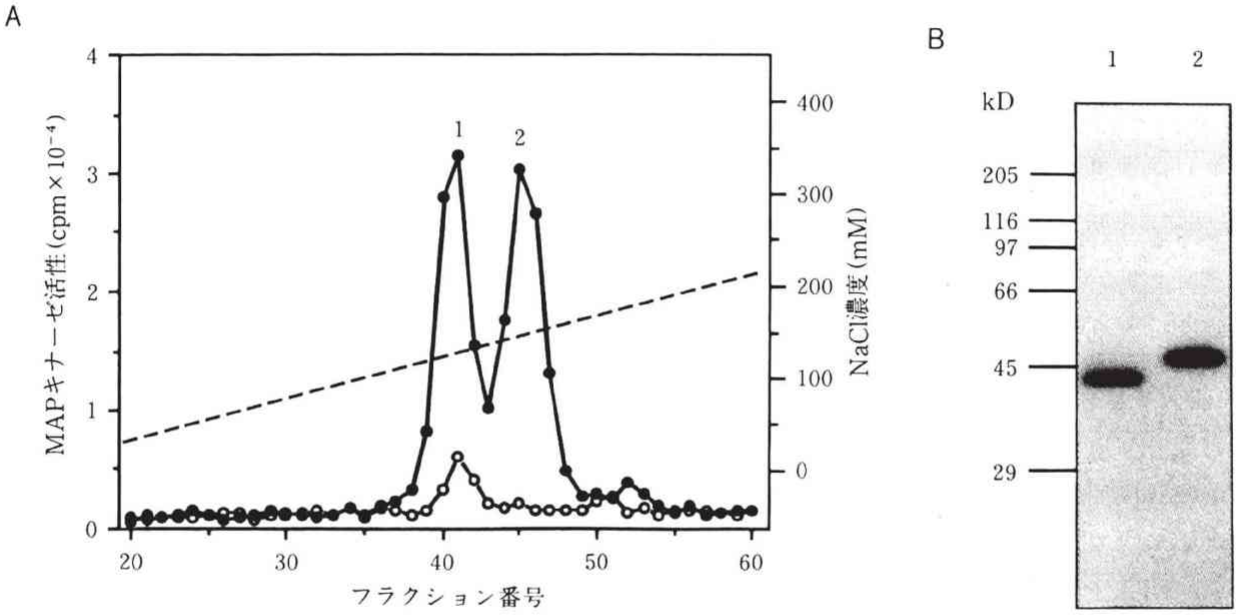

図2　アンギオテンシンⅡで活性化されるMAPキナーゼのMonoQカラムクロマトグラフィー(A)と精製MAPキナーゼのゲル内リン酸化法による検出(B)
(A)●—●：アンギオテンシンⅡ刺激後，○—○：アンギオテンシンⅡ刺激前
1：MAPキナーゼⅠ，2：MAPキナーゼⅡ
(B)1：MAPキナーゼⅠ（40 kDa），2：MAPキナーゼⅡ（45 kDa）

いる．アンギオテンシンⅡの作用時にチロシンリン酸化される40kDaと45kDaの蛋白質は分子量の上でMAPキナーゼと類似している．最近，MAPキナーゼのcDNAがクローン化されMAPキナーゼには少なくとも3種類のアイソザイムが存在することが明かにされているが，[10]私共はアンギオテンシンⅡで刺激した血管平滑筋細胞の細胞質画分ではMAPキナーゼ活性が上昇することやアンギオテンシンⅡによって活性化されるMAPキナーゼには各種カラムクロマトグラフィーによって分離される分子量約40kDaと45kDaの少なくとも2種類の分子種が存在することを明かにした（図2）.[11]これら2種のMAPキナーゼを抗ホスホチロシン抗体によるイムノブロットで検討すると，それぞれアンギオテンシンⅡの作用時にチロシンリン酸化される40kDaと45kDaの蛋白質と一致した．従って，アンギオテンシンⅡの作用時には40kDaと45kDaの2種類のMAPキナーゼがチロシンリン酸化を受けて活性化されることが明らかとなった．MAPキナーゼは種々の細胞増殖因子刺激時にスレオニンとチロシン残基のリン酸化反応を介して活性化されることは上述したが，私共はアンギオテンシンⅡの作用時にMAPキナーゼはチロシン残基とともにスレオニン残基のリン酸化反応も促進されることを確認している．

上述したチロシンリン酸化反応やMAPキナーゼの活性化はCキナーゼ活性化作用のあるホルボールエステルや細胞質へのCa^{2+}動員を惹起するCa^{2+}イオノフォアによっても引き起こされることから，これらの反応は血管平滑筋細胞の情報伝達系においてCキナーゼの活性化やCa^{2+}動員の下流に位置すると考えられる．しかし，Cキナーゼの活性化やCa^{2+}動員によるMAPキナーゼの活性化の機構は不明である．最近Ahnら[12]はSwiss3T3細胞においてEGFの作用時に活性化されるMAPキナーゼの活性化因子を見いだしており細胞増殖因子はこの活性化因子を介してMAPキナーゼの活性を制御するものと考えられている．私共もアンギオテンシンⅡの作用時に同様のMAPキナーゼ活性化因子が関与することを認めており，Cキナーゼの活性化やCa^{2+}動員は本活性化因子を介してMAPキナーゼの活性を制御するものと考えられる．今後，血管収縮物質によるMAPキナーゼの活性化機構に関しては，Cキナーゼの活性化やCa^{2+}動員によるMAPキナーゼ活性化因子の活性化機構と本活性化因子によるMAPキナーゼリン酸化反応の制御機構が残された課題となっている．

一方，MAPキナーゼの下流に関しても最近数多くの知見が集積しつつある．すなわち，従来より種々の細胞増殖因子の作用時にはリボゾームのS_6蛋白質のリン酸化反応が促進し，この蛋白質のリン酸化反応が

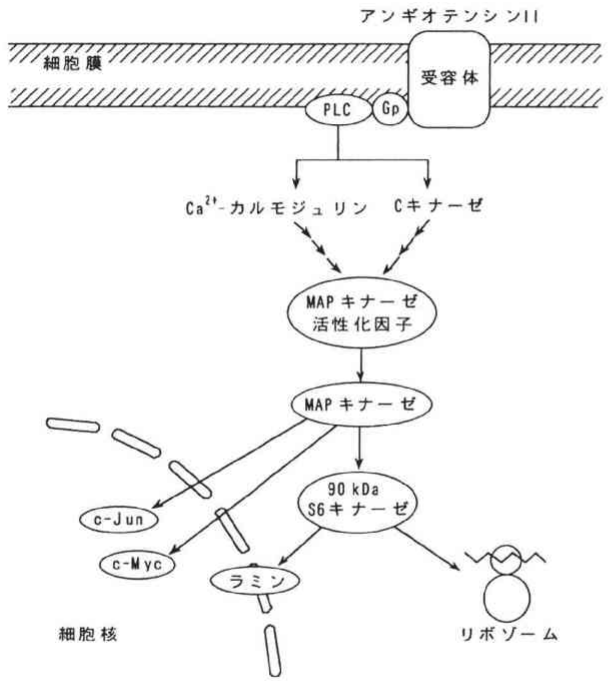

図3　アンギオテンシンⅡの細胞内情報伝達

蛋白質合成の制御に重要な役割を果たしていると推定されている．Bühler ら[13]はアンギオテンシンⅡ刺激後の血管平滑筋細胞の細胞質画分で S_6 キナーゼが活性化されていることを報告しており，私共もこの結果を追試確認している．最近，細胞内には2種類（分子量約90kDa と70kDa）の S_6 キナーゼが存在し，このうち90kDa の S_6 キナーゼは in vitro で MAP キナーゼによってリン酸化されて活性化されることが明らかにされている．従って，アンギオテンシンⅡやエンドセリンの細胞内情報伝達機構には〔C キナーゼあるいは Ca^{2+}／カルモジュリン依存性キナーゼ→MAPキナーゼ活性化因子→MAP キナーゼ→90kDaS_6 キナーゼ〕から成るカスケードが関与すると考えられる（図3）．一方，Tsuda ら[14]はアンギオテンシンⅡ刺激時に血管平滑筋細胞の核膜蛋白質のラミンがC キナーゼ系を介してリン酸化されることを見いだしている．ラミンは染色体の高次構造の維持に重要な役割を果たしており，遺伝子の発現などの核機能の調節に関与すると推定されている．最近，90kDa の S_6 キナーゼがラミンをリン酸化するとの報告があり，[15]上述したキナーゼカスケードが細胞核への情報伝達にも関与する可能性が高い．さらに最近，核内で働く転写制御因子である細胞性癌遺伝子の *c-jun* 遺伝子や *c-myc* 遺伝子の産物が MAP キナーゼの標的蛋白質である可能性が示され，[16]MAP キナーゼが直接細胞核に情報を伝達する可能性も強くなっている．

3．血管弛緩物質による増殖抑制作用

βアドレナリンやプロスタサイクリンは血管平滑筋細胞の受容体に結合しある種の GTP 結合蛋白質（Gs）を介して細胞膜のアデニル酸シクラーゼを活性化する．その結果，細胞内のサイクリック AMP が増加して血管平滑筋が弛緩する．一方，同じく強力な血管弛緩物質である心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）の受容体は膜型グアニル酸シクラーゼそのものであり，ANP の結合によって活性化され細胞内サイクリック GMP を増加させる．また，アセチルコリンなどの作用時に血管内皮細胞から放出されて血管を弛緩させる血管内皮由来弛緩因子（EDRF）の本体は一酸化窒素（NO）に代表されるある種のニトロソ化合物であり，ニトログリセリンやニトロプルシッドなどの血管拡張薬と同様，血管平滑筋の可溶性グアニル酸シクラーゼを活性化して細胞内サイクリック GMP を増加させる．これらのサイクリックヌクレオチドはそれぞれサイクリック AMP 依存性プロテインキナーゼとサイクリック GMP 依存性プロテインキナーゼによる蛋白質リン酸化反応を介して作用を発現すると考えられているが，その機序については不明な点が多い．

従来より，血管平滑筋細胞においてはプロスタグランディン E_1，プロスタサイクリンやアデノシンなどのサイクリック AMP 上昇作用のある血管弛緩物質が増殖を抑制することが知られていたが，私共は ANP やニトロプルシッドがサイクリック GMP を介して血管平滑筋細胞の増殖を抑制することを明らかにしている（図4）．[17]サイクリック AMP やサイクリック GMP による血管平滑筋細胞の増殖や肥大の抑制機構の詳細は明らかではないが，これらの血管弛緩物質は増殖刺激数時間後に作用させても有効なことから，細胞周期の G_1 期に作用して S 期への進行を抑制するものと考えられる．

4．おわりに

血管平滑筋細胞は正常の中膜に存在し筋原線維に富み収縮能を有する収縮型と，培養細胞や動脈硬化巣の内膜肥厚部にみられ筋原線維が減少し粗面小胞体の増加やゴルジ野の拡大が認められ増殖能を有する合成型の2種類のフェノタイプを呈する．[18]本稿では血管収縮物質と血管弛緩物質が血管の収縮，弛緩のみならず血管平滑筋細胞の増殖をそれぞれ促進，抑制することを述べたが，このような細胞応答の相違は血管平滑筋細胞のフェノタイプの相違に依存する（図5）．すなわち血管収縮物質は収縮型の血管平滑筋細胞に作用すると収縮を引き起こすのに対して合成型の血管平滑筋細胞に作用すると増殖を促進する．血管弛緩物質は収

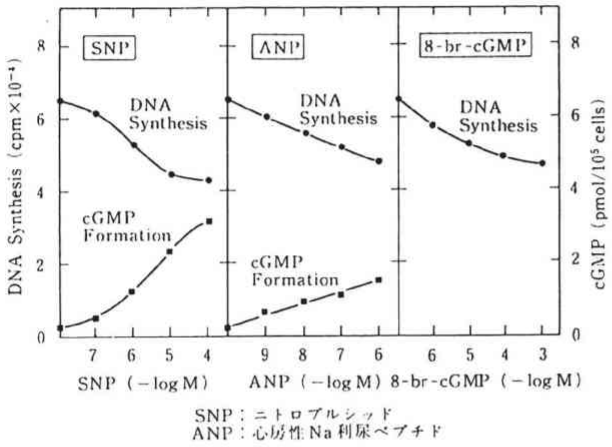

図4　血清によるDNA合成に対するcyclic GMPを介する血管弛緩物質の効果

縮型の血管平滑筋細胞に作用すると弛緩を引き起こすのに対して合成型の血管平滑筋細胞に作用すると増殖を抑制する．したがって，血管作動物質による血管平滑筋細胞の増殖，肥大の制御機構の理解には本稿で述べた細胞増殖因子や血管作動物質の作用機構の解明と共に血管平滑筋細胞のフェノタイプの変換機構の解明も重要な課題である．今後血管作動物質による血管平滑筋細胞の増殖，肥大の制御機構や血管平滑筋細胞のフェノタイプの変換機構がより詳細に理解されると共にその知見が動脈硬化の退縮，予防法やPTCA後の再狭窄の予防法の確立につながることが期待される．

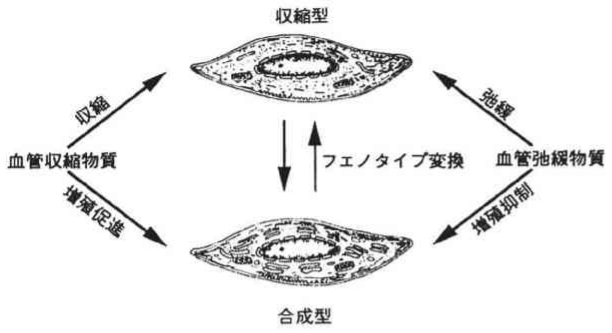

図5　血管平滑筋のフェノタイプと細胞応答

本研究を支えて下さいました社団法人神緑会に深甚なる謝意を表します．

文　献

1．Alexander, R.W., Brock, T.A., Gimbrone, M.A., Jr. and Rittenhouse, S. E. Hypertension 7, 447-451, 1985.
2．Araki, S., Kawahara, Y., Kariya, K., Sunako, M., Fukuzaki, H. and Takai, Y. Biochem. Biophys. Res. Commum. 15, 1072-1079, 1989.
3．Sunako, M., Kawahara, Y., Hirata, K., Tsuda, T., Yokoyama, M., Fukuzaki, H. and Takai, Y. Hypertension 15, 84-88, 1990.
4．Kawahara, Y., Sunako, M., Tsuda, T., Fukuzaki, H., Fukumoto, Y. and Takai, Y. Biochem. Biophys. Res. Commum. 150, 52-59, 1988.
5．Araki, S., Kawahara, Y., Kariya, K., Sunako, M., Tsuda, T., Fukuzaki, H. and Takai, Y. Biochem. Biophys. Res. Commum. 168, 350-357, 1990.
6．Araki, S., Kawahara, Y., Fukuzaki, H. and Takai, Y. Atherosclerosis 83, 29-34, 1990.
7．Komuro, I., Kurihara, H., Sugiyama, T., Takaku, F. and Yazaki, Y. FEBS Lett. 238, 249-252, 1988.
8．Tsuda, T., Kawahara, Y., Shii, K., Koide, M., Ishida, Y. and Yokoyama, M. FEBS Lett. 285, 44-48, 1991.
9．Koide, M., Kawahara, Y., Tsuda, T., Ishida, Y., Shii, K. and Yokoyama, M. Atherosclerosis 92, 1-7, 1992.
10. Boulton, T.G., Nye, S.H., Robbins, D.J., Ip, N.Y., Radziejewska, E., Morgenbesser, S.D., Depinho, R.A., Panayotatos, N., Cobb, M.H. and Yancopoulos, G.D. Cell 65, 663-675, 1991.
11. Tsuda, T., Kawahara, Y., Ishida, Y., Koide, M., Shii, K. and Yokoyama, M. Circ. Res. in press
12. Ahn, N.G., Seger, R., Bratlien, R.L., Diltz, C.D., Tonks, N.K. and Krebs, E.G. J. Biol. Chem. 266, 4220-4227, 1991.
13. Scott-Burden, T., Resink, T.J., Baur, U., Burgin, M. and Bühler, F.R. Biochem. Biophys. Res. Commun. 151, 583-589, 1988.
14. Tsuda, T. and Alexander, R.W. J. Biol. Chem. 265, 1165-1170, 1990.
15. Warg, G.E. and Kirschner, M.W. Cell 61, 561-577, 1990.
16. Alvarez, E., Northwood, I.C., Gonzales, F.A., Latour, D.A., Seth, A., Abate, C., Curran, T. and Davis, R.J. J. Biol. Chem. 266, 15277-15285, 1991.
17. Kariya, K., Kawahara, Y., Araki, S., Fukuzaki, H. and Takai, Y. Atherosclerosis 80, 143-147, 1989.
18. Ross, R. Arteriosclerosis 1, 293-311, 1981.