

エンドセリンの産生調節と病態への関与

大喜多 守, 高岡昌徳, 松村靖夫*

Endothelin-1 Production and Its Involvement in Cardiovascular Diseases

Mamoru OHKITA, Masanori TAKAOKA, and Yasuo MATSUMURA*

Laboratory of Pathological and Molecular Pharmacology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences,
4-20-1 Nasahara, Takatsuki City 569-1094, Japan

(Received May 21, 2007)

Endothelin (ET) has been implicated in the pathogenesis of several cardiovascular disorders because of its powerful vasoconstrictor and growth-promoting properties. The ET family consists of three isoforms, ET-1, ET-2 and ET-3. ET-1 appears to be the predominant member of the family generated by vascular endothelial cells. In view of the multiple cardiovascular actions of ET-1, there has been much interest in its contribution to the pathophysiology of hypertension and arteriosclerosis. We have been investigating the roles of ET_A and ET_B receptors in ET-1-related cardiovascular diseases using subtype-selective ET receptor antagonists and ET_B receptor-deficient animals. Our studies have demonstrated that ET-1 overproduction and ET_A-mediated ET-1 actions seem to play a crucial role in the development of several types of hypertensive and post-ischemic diseases. On the other hand, ET-1 biosynthesis and release are regulated at the transcriptional level, and various endogenous substances are known to stimulate ET-1 gene expression by DNA binding of transcription factors. We and others have recently demonstrated that nuclear factor- κ B (NF- κ B), a transcription factor with a pivotal role in inducing genes involved in immune, inflammatory and stress responses, is responsible for endothelial ET-1 production. In *in vivo* studies, agents that can inhibit the NF- κ B activation improved the development of ET-1-related cardiovascular diseases. Thus, NF- κ B inhibition may be a pertinent treatment for ET-1 related diseases.

Key words—endothelin; nuclear factor-kappa B; nitric oxide; salt-sensitive hypertension; acute renal failure

1. はじめに

高血圧や動脈硬化など種々の心血管病変の発症時には、血管内皮細胞における一酸化窒素 (NO) の生成が低下する一方で、サイトカインや接着分子並びにエンドセリン (ET) など様々な生理活性物質の産生が亢進し、それらによって引き起こされる内皮機能の破綻が病態悪化への進行をさらに加速する。ETは強力かつ持続性の血管収縮作用を有することから、¹⁾ 発見当初より ET の循環調節への係わり、さらには高血圧や虚血性循環器系疾患の病因あるいは増悪因子としての役割が注目されてきた。ETには3種類のファミリーペプチド (ET-1, ET-2, ET-3) の存在が知られているが、血管系で産生されるのは

主に ET-1 であり、ET-1 の病態生理学的役割に対する関心が最も高い。事実、虚血性急性腎不全あるいは食塩感受性高血圧の病態発症・進展時における過剰な ET-1 産生亢進が、腎障害や血管肥厚形成の主たる要因の1つであること、また選択的 ET_A 受容体拮抗薬の投与は効果的にこれら病態に対して改善作用を示すことが明らかにされている。一方、ET-1 の産生調節が転写レベルで調節されていることから、われわれは ET-1 遺伝子発現に係わる転写因子をターゲットとした病態治療の有効性についても検討を進めてきた。その結果、ET-1 遺伝子発現の増強に係わる転写因子の活性化阻害は、著明な病態改善効果を示すことが明らかとなり、ET 受容体拮抗薬及び ET 変換酵素阻害薬とともに ET-1 関連疾患に対する新たな病態治療法の1つになり得る可能性が示唆された。本稿では、ET の産生調節と病態への関与について概説する。

大阪薬科大学病態分子薬理学研究室 (〒569-1094 高槻市奈佐原 4-20-1)

*e-mail: matumrh@gly.oups.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 127 年会シンポジウム S19 で発表したものを中心に記述したものである。

2. 血管内皮細胞における ET-1 産生

ET-1 は前駆体である prepro ET-1 からシグナルペプチドが除去されたのち、ペプチドホルモン産生のための切断部位として知られる塩基性アミノ酸対部で切断され、38 残基 (ブタでは 39 残基) のアミノ酸からなる中間前駆体 big ET-1 が生成される。ついで、特異的なエンドセリン変換酵素により Trp²¹-Val²² 結合が切断され、21 残基の ET-1 が産生される。ET-1 の分泌は、ET-1 遺伝子の発現レベルにより調節されている。すなわち、ET-1 遺伝子の転写活性が亢進すると ET-1 の生合成が促進され、構成的 (constitutive) に分泌される。このような転写レベルでの ET-1 遺伝子発現を促進する因子としてトロンピン、²⁾ tumor necrosis factor (TNF)- α ³⁾ 及び transforming growth factor (TGF)- β ¹⁴⁾ などがよく知られている。ET-1 遺伝子の転写活性を制御する因子としては、activator protein-1 (AP-1) 及び GATA-2 が知られており、⁵⁾ 内因性の ET-1 産生を制御する重要な因子として考えられている。また、TGF- β 1 や TNF- α などの ET-1 産生促進因子は、それぞれ nuclear factor- κ B (NF- κ B) 及び急性期反応調節領域 (acute phase reactant regulatory element; APRRE) と呼ばれるシス配列を介して ET-1 遺伝子発現を増強すると考えられているが、⁹⁾ これら増強因子による ET-1 遺伝子の転写メカニズムについてはいまだ不明な点が多い。

一方、最近の報告によれば血管内皮細胞の多彩な生理機能の発現に転写因子 nuclear factor- κ B (NF- κ B) が重要な役割を果たしていることが明らかにされている。NF- κ B は、免疫グロブリン κ 軽鎖遺伝子のエンハンサーに結合する核内因子として最初に同定された。⁶⁾ NF- κ B は、通常、負の制御因子である inhibitor κ B (I κ B) と会合した不活性型として細胞質に存在している。一方、細胞が活性酸素種による酸化ストレスや炎症性サイトカインなどのシグナルを感受すると、負の制御因子である I κ B は I κ B kinase によるリン酸化、ついでプロテアソームによる限定分解という一連の過程を経る。その結果、活性型となった NF- κ B は核へ移行し、標的遺伝子のシス領域の NF- κ B 結合部位に結合して転写を増強する。これまでに NF- κ B によって数多くの遺伝子が制御され、その多くが病態の誘発や形成に深く関与していることが明らかにされているが、⁷⁾

特に心血管組織における NF- κ B の活性化はサイトカインや接着因子などの生理活性物質を誘導し、内皮機能障害や臓器障害の進展を増幅する。⁸⁾ これらの理由から、現在では様々な循環器系疾患において NF- κ B をターゲットとした病態治療の有効性が注目されている。われわれは ET-1 産生における NF- κ B の関与を明らかにする目的で、プロテアソーム阻害薬や抗酸化剤などの NF- κ B 活性化阻害作用を有する薬物が ET-1 産生に及ぼす影響について検討した。その結果、I κ B タンパクのリン酸化、プロテアソームによるリン酸化 I κ B タンパクの分解、活性型 NF- κ B の核への移行など、NF- κ B 活性化機構のいかなる段階を阻害しても血管内皮細胞における ET-1 産生は顕著に抑制されることを見出した (Figs. 1 and 2).^{9,10)} また、これら薬物を用いて病態の発症と進展に ET-1 が深く関与する deoxycorticosterone acetate (DOCA)-食塩高血圧モデルラット及び虚血性急性腎不全モデルラットに対する病態改善効果についても検討した。¹¹⁻¹⁸⁾ その結果、DOCA-食塩高血圧モデルラットにおいては、高血圧性の血管肥厚形成の軽減や (Table 1)、血管組織中における ET-1 含量の著明な減少がみられた (Fig. 3).^{11,12,17)} さらに、虚血性急性腎不全モデルラットを用いた場合においても、虚血再灌流による腎機能低下並びに腎組織障害は明らかに改善され (Fig. 4(A)), これら薬物投与による病態改善効果には腎 ET-1 産生抑制が深く関与していることを見出した (Fig. 4(B)).^{13,14)} したがって、ET-1 産生亢進を伴う様々な循環器系疾患に対して NF- κ B をターゲットとした治療が有効である可能性が示唆された。

3. NO による ET-1 産生抑制機序

血管内皮細胞における ET-1 産生は様々な促進因子によって制御されているが、それと同時にナトリウム利尿ペプチド (ANP, BNP)、プロスタサイクリン、アドレノメデュリンなどの抑制因子によってもその産生は調節されている。なかでも、NO が ET-1 産生を抑制的に制御していることは種々の実験により報告されているが、その詳細な作用機序についてはいまだ明確ではない。われわれも以前、自発性 NO 放出薬である FK409 の虚血性急性腎不全モデルラットに対する影響について調べたところ、FK409 の虚血前処置により、再灌流後にみられる

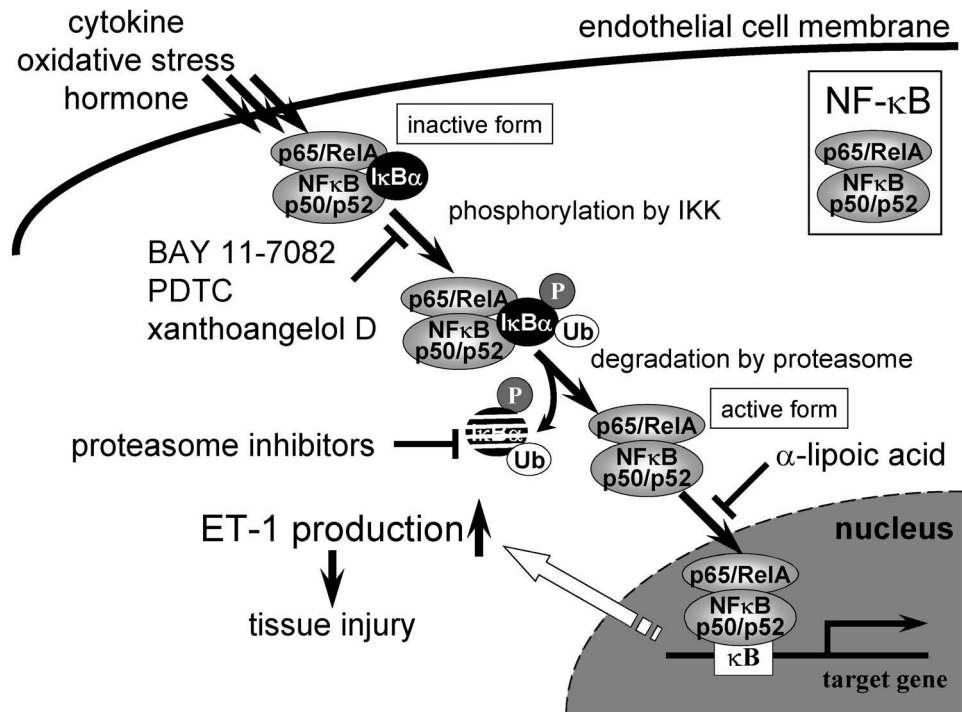


Fig. 1. Suppressors of NF-κB Activation

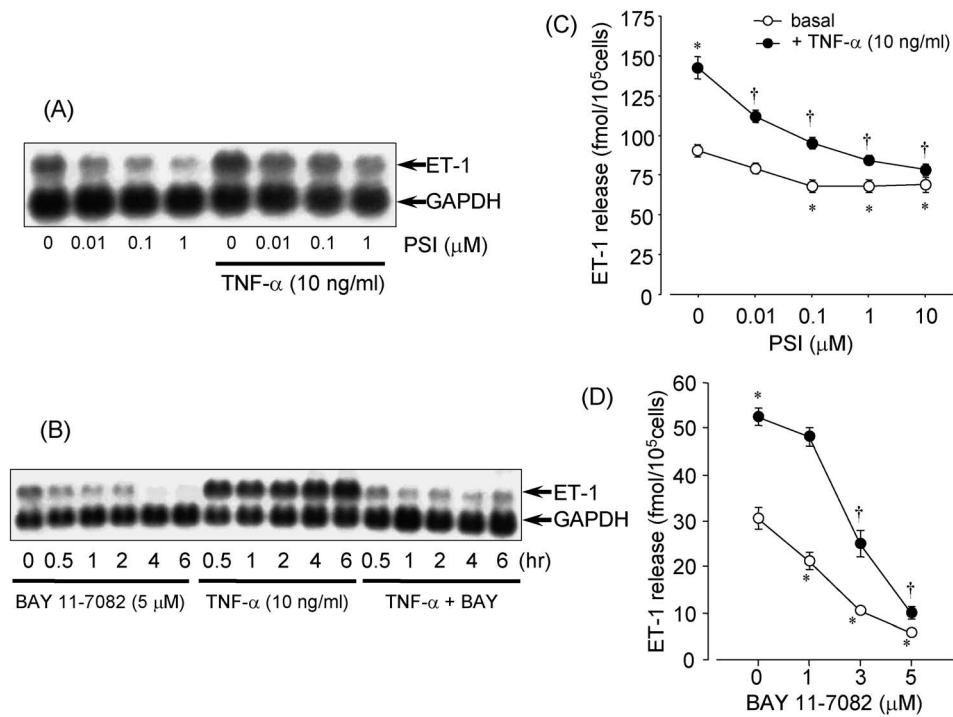


Fig. 2. Effects of NF-κB Inhibitors on ET-1 Production

(A) and (B): The changes of basal and TNF-α-induced prepro ET-1 mRNA expression in cultured endothelial cells treated with PSI or BAY 11-7082. (C) and (D): The changes of basal and TNF-α-induced ET-1 release from cultured endothelial cells treated with PSI or BAY 11-7082. Each value is expressed as the mean ± S.E. **p*<0.01 versus no addition. †*p*<0.01 versus TNF-α alone. Modified from Refs. 9) and 10).

Table 1. Morphometric Analysis of Aortas from Sham-Operated and DOCA-Salt Hypertensive Rats

Group	Wall thickness, mm	Wall area, mm ²	Wall-to-lumen ratio
Sham	120 ± 3.2	0.61 ± 0.01	0.36 ± 0.02
DOCA-salt	157 ± 3.6*	0.88 ± 0.03*	0.44 ± 0.01*
DOCA-salt + PSI	127 ± 6.5†	0.68 ± 0.05†	0.37 ± 0.02†

Values are mean ± S.E. * $p < 0.01$ versus sham, † $p < 0.01$ versus DOCA-salt. (Cited from Ref. 12).

腎機能低下及び腎組織障害が顕著に改善されることを認め、¹⁹⁾ この病態改善効果には FK409 による腎 ET-1 産生の抑制が関与していることを明らかにしている。²⁰⁾ これらのことから、われわれは NO の ET-1 産生制御機構に NF- κ B が関与するか否かについて培養血管内皮細胞を用いて検討を行った。その結果、NO 消去剤である carboxy-PTIO は強力な NF- κ B 活性化促進作用及び ET-1 産生増大作用を示し

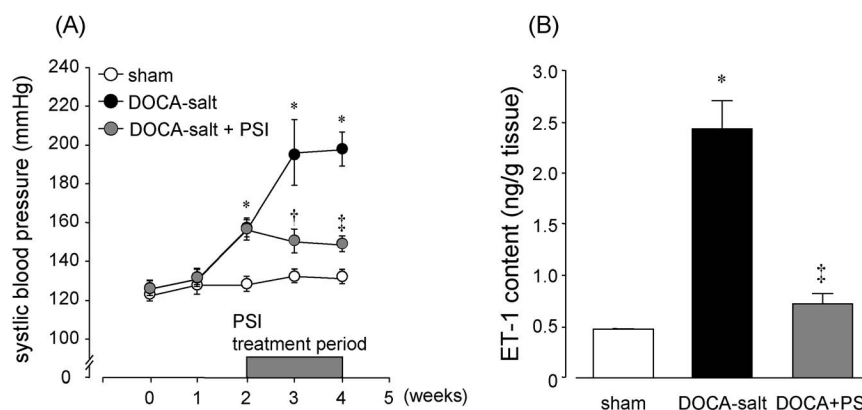


Fig. 3. Preventive Effect of PSI on Development of Hypertension in Deoxycorticosterone Acetate-Salt-Treated Rats

(A): Time course in systolic blood pressure of sham rats and DOCA-salt rats treated with or without PSI. Two weeks before start of DOCA-salt treatment, the rats were given PSI (3 mg/kg, *s.c.*) every other day for 2 weeks. Each value is expressed as the mean ± S.E. * $p < 0.01$, compared with sham rats, † $p < 0.05$, ‡ $p < 0.01$ compared with DOCA-salt rats. (B): Effect of PSI on aortic endothelin-1 content in DOCA-salt-induced hypertension. At the end of experiments (at 4 weeks), the aorta from sham rats and DOCA-salt rats treated with vehicle or PSI was prepared for measuring the ET-1 content. Each value is expressed as the mean ± S.E. * $p < 0.01$, compared with sham rats, ‡ $p < 0.01$ compared with vehicle-treated DOCA-salt rats. Cited from Ref. 12).

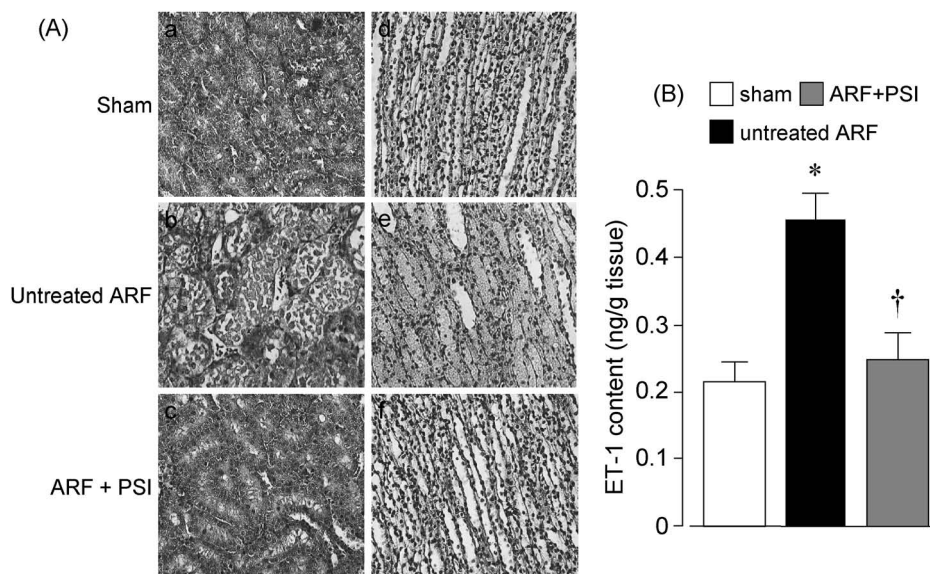


Fig. 4. Preventive Effect of PSI on Ischemic Acute Renal Failure

(A): Light microscopy of the kidney treated with vehicle (b and e), PSI 1 mg/kg (c and f), 1 day after ischemia/reperfusion, and sham rats (a and d). Tubular necrosis in outer zone outer stripe of medulla (left panels) is seen in (b). Proteinaceous casts in tubuli of inner zone of medulla (right panels) are seen in (e). There were no apparent tubular necrosis or proteinaceous casts in tubuli in PSI-treated rat kidneys (c and f), and the PSI kidneys appear almost normal as compared with the sham-operated, normal kidneys (a and d). Hematoxylin and eosin stain (magnification $\times 160$). (B): Effect of PSI (1 mg/kg) on renal ET-1 content in ischemia/reperfusion-induced ARF. Each value is expressed as the mean ± S.E. * $p < 0.01$, compared with sham rats, † $p < 0.01$ compared with untreated with ARF rats. ARF: acute renal failure. Modified from Refs. 12) and 14).

たが (Figs. 5(A), 6(A), and 6(C)), これとは逆に, FK409 は NF- κ B の抑制性結合タンパクである I κ B α タンパク発現を誘導することにより NF- κ B 活性化を顕著に阻害し (Figs. 5(B) and 5(C)), この阻害作用に伴って ET-1 産生が有意に抑制されるこ

とを見出した (Figs. 6(B) and 6(D)).^{21,22)} 以上のことから, NO の ET-1 産生抑制作用の一部に NF- κ B 活性化阻害が密接に関与している可能性が示唆された. 一方, これまでの実験成果から, NF- κ B が ET-1 産生において重要な役割を果たしている

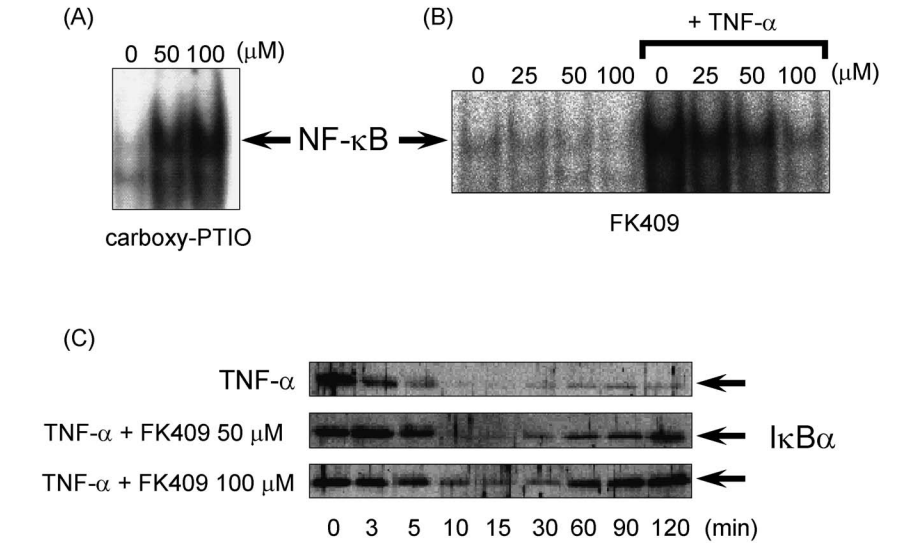


Fig. 5. Suppressive Effects of NO on NF- κ B Activation

(A) and (B): The changes of basal and TNF- α -induced-NF- κ B activation in cultured endothelial cells treated with carboxy-PTIO or FK409. (C): The changes of I κ B α protein expression by FK409 under TNF- α -stimulated condition in cultured endothelial cells. Cited from Ref. 22).

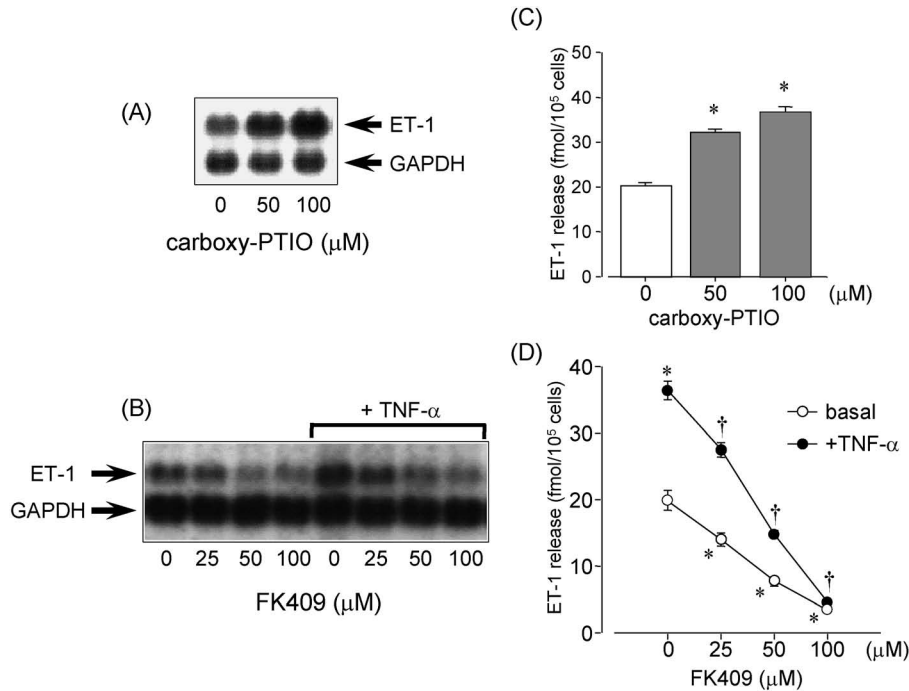


Fig. 6. Inhibitory Effects of NO on ET-1 Production

(A) and (B): The changes of basal and TNF- α -induced prepro ET-1 mRNA expression in cultured endothelial cells treated with carboxy-PTIO or FK409. (C) and (D): The changes of basal and TNF- α -induced ET-1 release from cultured endothelial cells treated with carboxy-PTIO or FK409. Each value is expressed as the mean \pm S.E. * p < 0.01 versus no addition. † p < 0.01 versus TNF- α alone. Cited from Ref. 22).

考えられるが、ET-1 遺伝子上の NF- κ B 結合部位に関しては現在までのところほとんど解明されていない。そこで、ブタ ET-1 遺伝子 5' 上流の塩基配列を解読したところ、6 ヶ所の NF- κ B 結合部を同定し、いずれの結合部位に対しても NF- κ B サブユニット p50 あるいは p65 が特異性を示すモチーフであることが判明した（未発表データ）。今後は、これら結合部位における ET-1 遺伝子発現の制御機構についてさらに詳細に検討していく予定である。

4. 疾病治療へのアプローチ：食塩感受性高血圧

ET-1 は強力な血管収縮作用を有することから発見当初から高血圧や循環器系疾患の病因あるいは増悪因子として注目され、現在までに ET-1 の生理学的・病態生理学的役割が数多く調べられるとともに、ET 変換酵素阻害薬や ET 受容体拮抗薬など ET-1 をターゲットとした治療薬の開発・研究が今なお進められている。特に ET 受容体拮抗薬の開発は目まぐるしく、これまでに経口投与可能な非ペプチド性拮抗薬が数多く開発され（Table 2）、国内においても非選択的 ET_A/ET_B 受容体拮抗薬であるボセンタンが肺性高血圧に対する治療薬として 2005 年より臨床で用いられている。ET 変換酵素阻害薬や ET 受容体拮抗薬は ET-1 及び ET 受容体の生理学的・病態生理学的役割を調べる上で有効な薬理学的ツールであり、これまでに確認されている ET 受容体を介する ET-1 の作用としては（Fig. 7）、血管平滑筋細胞上の ET_A 及び ET_{B2} 受容体を介した血管収縮作用、血管内皮細胞上の ET_{B1} 受容体による NO

や PGI₂ 産生増大に基づく血管弛緩作用、尿細管細胞上の ET_{B1} 受容体を介した水及びナトリウム利尿作用など、生体の循環調節においては ET-1 とその受容体を介する作用が極めて重要であることは明らかである。また、各種動物疾患モデルを用いた検討から、内因性 ET-1 は高血圧、肺性高血圧、動脈硬化、血管肥厚、くも膜下出血後の脳血管攣縮、狭心症、心筋梗塞、慢性心不全、急性・慢性腎不全など様々な循環器疾患に深く関わっている実験成果が数多く報告されている。²³⁾ 一方、われわれはミネラルコルチコイド誘発性の DOCA-食塩高血圧モデルラットを用いて食塩感受性高血圧発症及び進展時における ET-1 と ET 受容体の役割について検討を行ってきた。DOCA-食塩高血圧モデルラットの血管壁や腎臓においては ET-1 産生が有意に増大しており、本モデル動物の高血圧発症と進展にはこれら臓器における ET-1 の過剰産生が深く関与しているものと考えられる。²⁴⁾ また、DOCA-食塩誘発性の高血圧の進展に及ぼす選択的 ET_A 受容体拮抗薬（ABT-627）あるいは選択的 ET_B 受容体拮抗薬（A-192621）の影響について調べたところ、DOCA-食塩処置による血圧の上昇は ABT-627 によりほぼ完全に抑制された。²⁵⁾ したがって、本病態モデル動物における高血圧の進展には主に ET-1/ET_A 受容体系が主要な役割を果たしていると考えられる。なお、ET_B 受容体拮抗薬を投与した場合には臓器障害において悪化傾向がみられたため、ET-1/ET_B 受容体系は病態に対して保護的に機

Table 2. Endothelin Receptor Antagonists

	Selective ET _A	Selective ET _B	Nonselective ET _A /ET _B
Peptide	BQ-123		
	BQ-610	BQ-788	D142893
	FR139317	IRL2500	TAK044
	TTA 788	RES701-1	
Nonpeptide	Atrasentan → ABT-627, BMS182874,		
	Darusentan → LU135252, PD156707,		
	PD176856, Ro61-0612, ← Tezosentan		A-182086
	Ro61-1790, S-0139,		L-754142
	EMD122946, SB234551,	A-192621	Ro46-2005
	SB247083, TBC11251, ← Sitaxsentan	K-8794	Bosentan → Ro47-0203
	ZD1611, T-0201,		SB209670
	J-104121, J-104131,		Enrasentan → SB217242
	YM598		

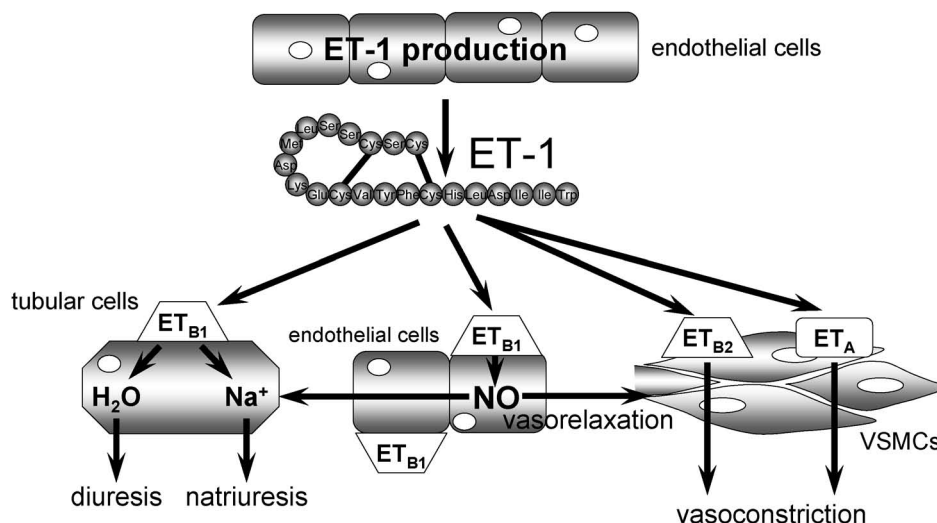


Fig. 7. Receptor-Specific Actions of ET-1

能しているものと考えられる。さらに、食塩感受性高血圧の発症及び進展時における ET_B 受容体の役割についてより明確にするため、ET_B 受容体遺伝子欠損ラット（本モデル動物は腸壁内神経節細胞の欠如による中毒性巨大結腸のため生後 4 週までに死亡するので、ドパミン β-ヒドロキシラーゼ遺伝子プロモーターを用いて副腎と交感神経系にのみ ET_B 受容体遺伝子を導入して生存能力を維持させたトランスジェニックラットである）を用いて同様の検討を行った結果、本動物では DOCA-食塩処置による高血圧の発症と進展が極めて顕著であり、血管や腎臓の障害も高度に進行することが明らかになるとともに、これら組織障害は ABT-627 の処置によりほぼ完全に抑制されることが判明した。²⁶⁾ なお、DOCA-食塩処置中に NO 合成酵素阻害薬を併用した場合においても著しい血管肥厚形成や腎障害がみられることから、血管内皮における ET_B 受容体を介する NO 産生系は DOCA-食塩高血圧に伴う臓器障害に対して保護的に作用するものとみなすことができる。同様の ET_B 受容体/NO 産生系の保護的な役割に関しては、正常動物に高食塩負荷した場合にも認められている。²⁷⁾ また、脳卒中易発性 SHR の腎臓では高食塩負荷に伴い、ET_A/ET_B 受容体バランスに異常が生じ、この変化が高血圧の発症と進展に関与する可能性も示唆されている。²⁸⁾ Gariepy ら²⁹⁾ は、ET_B 受容体遺伝子欠損ラットを用いた検討から、血管や腎臓における ET_B 受容体異常と食塩感受性との関係を強く示唆している。すなわち、

ET_B 受容体遺伝子欠損ラットに高食塩負荷を行うと顕著な血圧の上昇が認められるが、この上昇は上皮型 Na チャネル阻害薬であるアミロライドの投与により完全に抑制される。また、ET_B 受容体が腎尿細管における上皮型 Na チャネル (ENaC) の活性を抑制的に制御していること、その一方で、ET_A 受容体の異常な活性化は ENaC 活性の増大を引き起こすという報告³⁰⁾ もあることから、ET_B 受容体遺伝子欠損ラットの食塩感受性高血圧の発症がこれら ET_B 受容体による ENaC 活性抑制機構の欠落と ET-1/ET_A 受容体系の機能亢進による体内の Na 貯留の増大に起因する、すなわち病態発症の成因が腎臓に局在する可能性が考えられた。事実、高食塩負荷時における ET_B 受容体遺伝子欠損ラットの平均血圧や心拍数の増大は ABT-627 の慢性投与により完全に抑制され (Table 3)、高食塩負荷時における腎機能の低下も ABT-627 投与により完全に改善された (Fig. 8)。³¹⁾ これらの結果から、ET_B 受容体遺伝子欠損ラットにおける食塩感受性の成因が腎臓に局在する可能性が考えられたため、野生型及び ET_B 受容体遺伝子欠損ラット間での腎交差移植後の血圧の変化について調べたところ、高食塩負荷時においては、ET_B 受容体遺伝子欠損ラットの血圧はいずれの対象群と比較しても有意に高いものであり、また野生型ラットにおいては腎臓の genotype の違いによる有意な差は認められなかった (Table 4)。したがって、ET_B 受容体遺伝子欠損ラットでみられる食塩感受性高血圧発症の成因が腎臓に局在

Table 3. Effects of ABT-627 (10 mg/kg/day) on Hemodynamics and Ingestive Behavior in ET_B-Wild-Type and ET_B-Deficient Rats Treated with High-Sodium Diet (8%) for 3 Weeks

Genotype/treatment	ET _B -wild/vehicle	ET _B -wild/ABT-627	ET _B -def/vehicle	ET _B -def/ABT-627
MAP (mmHg)	107.74 ± 2.08	89.54 ± 2.67*	170.13 ± 4.57*	90.98 ± 1.53*
HR (BPM)	320.90 ± 6.10	336.42 ± 11.49	404.62 ± 11.73*	331.54 ± 9.78*
Food intake (g/kg/day)	66.20 ± 3.19	67.73 ± 3.42	70.65 ± 2.71	64.79 ± 2.55
Water intake (ml/kg/day)	363.85 ± 14.41	297.73 ± 16.21*	441.13 ± 14.45*	326.28 ± 9.98*
Urine volume (ml/kg/day)	251.85 ± 16.36	222.81 ± 14.42*	337.86 ± 17.32*	237.50 ± 7.30*

**p* < 0.01 vs wild/vehicle, †*p* < 0.01 vs ET_B-def/vehicle. (Modified from Ref. 31).)

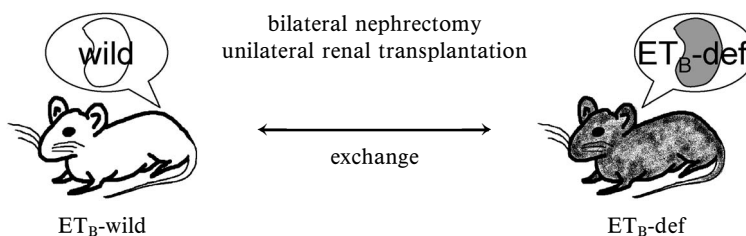


Table 4. Effects of Renal Cross-Transplantation on Blood Pressure Salt-Sensitivity

ET _B genotype body/kidney	wild	ET _B -def	wild	ET _B -def
MAP (mmHg) sodium-def diet	131 ± 4	140 ± 6	134 ± 5	157 ± 7
MAP (mmHg) high-sodium diet	157 ± 6	166 ± 7	187 ± 10*	211 ± 9*

**p* < 0.01 vs wildtype rats with a wildtype kidney, †*p* < 0.01 vs wildtype rats with an ET_B-deficient kidney. (Modified from Ref. 31).)

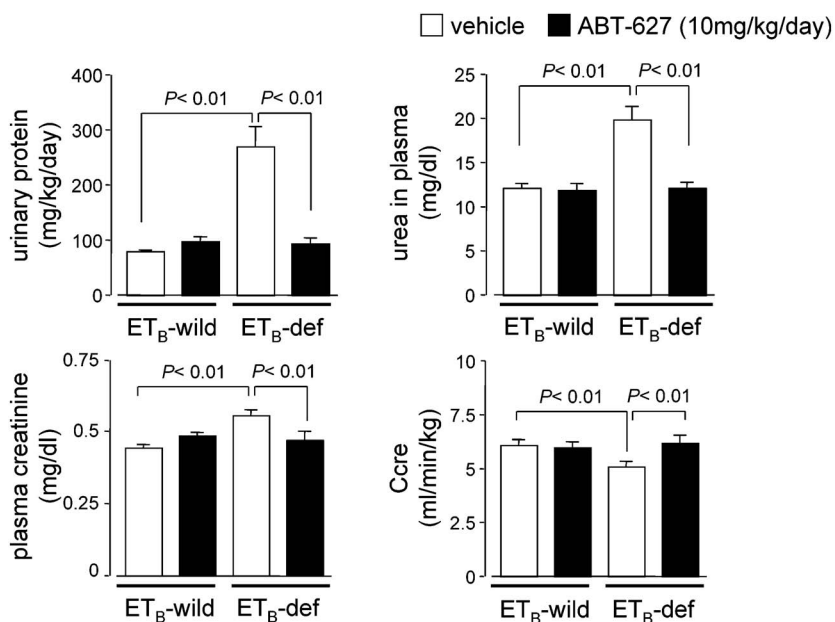


Fig. 8. Effects of Treatment with ABT-627 on Blood and Urinary Parameters of ET_B-Deficient Rats.

Comparative data on levels of urinary protein, urea in plasma, plasma creatinine, and creatinine clearance in ET_B-wild-type and ET_B-deficient rats treated with high-sodium diet for 3 weeks. Each value is expressed as the mean ± S.E. Modified from Ref. 31).

する可能性は低いものと考えられ、むしろ心・血管系あるいは交感神経系における ET-1/ET_A 受容体系の機能亢進が深く関与している可能性が示唆された。以上、これまでの結果を考え合わせると、高血圧性の血管病変や腎障害には選択的 ET_A 受容体拮抗薬の適用が好ましいとみなすべきであり、ET_B 受容体の選択的拮抗は病態増悪的に作用する可能性が高いと考えられる。しかしながら、非選択的 ET_A/ET_B 受容体拮抗薬が選択的 ET_A 受容体拮抗薬と同様に高血圧病変を改善するという報告もある。³²⁾ この改善効果は、血管収縮性に作用する ET_{B2} 受容体の機能阻害に基づくものであるが、血管内皮や腎尿細管における ET_{B1} 受容体の機能阻害が生体に与える影響についてはいまだ解明されておらず、近年よく議論されている非選択的 ET_A/ET_B 受容体拮抗薬と選択的 ET_A 受容体拮抗薬のいずれが病態治療により効果的かという問題に関しては明確な結論が得られていないのが現状である。

5. 疾病治療へのアプローチ：急性腎不全

急性腎不全における ET-1 の関与については、ET-1 の発見当初から数多く調べられてきた。すなわち、急性腎不全の患者や実験的モデル動物においては血中 ET-1 濃度が増加していること、また、虚血・再灌流後に生じる腎機能障害と並行して腎 ET-1 含量と ET_A 及び ET_B 受容体が増加することなどが明らかにされている。また、本病態に対して選択的 ET_A 受容体拮抗薬や非選択的 ET_A/ET_B 受容体拮抗薬、あるいは ET 変換酵素阻害薬は、虚血再灌流による腎機能、腎組織障害を顕著に改善することが報告されている。³³⁾ われわれも、ABT-627 の経口投与³⁴⁾ や ET 変換酵素阻害薬 SM-19712³⁵⁾ が虚血前処置、再灌流後処置のいずれにおいても顕著な障害改善効果を示すことを報告している。また、虚血中から再灌流後にかけて腎組織中の ET-1 mRNA 並びに ET-1 ペプチド含量は経時的に上昇することも認めた。さらに、この虚血再灌流による急性腎不全に Na⁺-Ca²⁺ 交換体 (NCX) の逆向き輸送を介する Ca オーバーロードが密接に関与することも示したが、³⁶⁾ ET-1 過剰産生は NCX 阻害薬の投与により完全に正常レベルに回復することから、腎微小血管あるいは尿細管上皮細胞における細胞内 Ca 濃度の上昇が引き金になっている可能性が高い。一方、血管内皮細胞に低酸素暴露をすると転写因子

hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α が活性化し、ET-1 遺伝子発現が増大することが知られている。³⁷⁾ 事実、腎虚血を施した腎組織においては、ET-1 ペプチドの発現増大部位は尿細管周囲血管の内皮に集中することが報告されている。³⁸⁾ したがって、腎虚血再灌流時には恐らく細動脈の血管内皮細胞において ET-1 の産生増大が起これ、隣接する血管平滑筋細胞の ET_A 受容体を介する過収縮により尿細管細胞への酸素供給が低下して尿細管壊死につながるものと考えられる。Ruschitzka ら³⁹⁾ は、虚血再灌流による急性腎不全ラットでは腎動脈だけでなく大動脈においても ET-1 産生が増大しており、内皮依存性血管弛緩反応が減弱することを報告している。また、彼らは、この内皮機能障害が急性腎不全による心血管合併症につながるのではないかと考えており、原因としては、血中 ET-1 濃度あるいは組織中 ET-1 量の増大による内皮由来 NO 産生の低下を挙げている。われわれの研究においても、自発性 NO 放出薬である FK409 の虚血前処置は、再灌流後にみられる腎機能低下及び腎組織障害を顕著に改善することを明らかにしており、この病態改善効果には NO による腎 ET-1 産生の抑制が密接に関与していることを報告している。^{19,20)} さらに、血管内皮細胞の NO 産生増大を引き起こす 17 β -estradiol (E₂)^{40,41)} や虚血性プレコンディショニング (ischemic preconditioning; IP)⁴²⁾ などによっても同様の病態改善効果が認められることから、虚血再灌流後の内皮機能障害による NO 産生の低下は、腎 ET-1 産生の亢進とそれに引き続く臓器障害の進展を加速する原因の 1 つであると推察される。腎虚血再灌流障害の発症と進展に関しては、これまでに多くの生体内因子の関与が報告されており、障害を改善する薬剤も多岐に亘るが、少なくとも血管内皮における ET-1 の過剰産生と ET_A 受容体を介する作用は重要な因子の 1 つであり、臨床的にも恐らく ET_A 受容体拮抗薬の適用対象となる疾患の 1 つと考えられる。

6. おわりに

以上、本稿では、われわれが最近までに得た NF- κ B を介した ET-1 産生調節機構と病態治療への応用と、食塩感受性高血圧や虚血性急性腎不全における ET システムについて紹介した。また、本実験成績により、ET-1 は食塩感受性高血圧や虚血性急性腎不全の発症・進展カスケードにおいて最も下流に位

置する極めて重要な因子であり、NF- κ B 活性化阻害薬、自発性 NO 放出薬、NCX 阻害薬並びに ET_A 受容体拮抗薬などはこれら病態に対する治療薬として有効である可能性が示唆された。

ET が発見されてから 20 年弱の間に ET の生理学的・病態生理学的役割が多く研究者によって解明され、ET システムの生体制御に果たす役割は大きな広がりを見せている。また、それと同時に ECE 阻害薬、ET 受容体拮抗薬は今もなお研究・開発がなされており、今後、ET 関連疾患に対するこれら薬物の臨床応用も期待される。

謝辞 本研究の遂行に有益な御助言及び多大な御支援を賜りました共同研究者の先生方、実験に御協力頂きました大阪薬科大学病態分子薬理学研究室の大学院生・学生諸氏に厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金、文部科学省ハイテク・リサーチ・センター整備事業による私学助成の援助の下に行われたことを記して感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K., Masaki T., *Nature*, **332**, 411–415 (1988).
- 2) Kitazumi K., Tasaka K., *Biochem. Pharmacol.*, **46**, 455–464 (1993).
- 3) Marsden P. A., Brenner B. M., *Am. J. Physiol.*, **262**, C854–C861 (1992).
- 4) Murata S., Matsumura Y., Takada K., Asai Y., Takaoka M., Morimoto S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **274**, 1524–1530 (1995).
- 5) Miyauchi T., Masaki T., *Annu. Rev. Physiol.*, **61**, 391–415 (1999).
- 6) Sen R., Baltimore D., *Cell*, **46**, 705–716 (1986).
- 7) Tak P. P., Firestein G. S., *J. Clin. Invest.*, **107**, 7–11 (2001).
- 8) Tedgui A., Mallat Z., *Circ. Res.*, **88**, 877–887 (2001).
- 9) Ohkita M., Takaoka M., Kobayashi Y., Itoh E., Uemachi H., Matsumura Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **88**, 197–205 (2002).
- 10) Ohkita M., Takaoka M., Shiota Y., Nojiri R., Sugii M., Matsumura Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **89**, 81–84 (2002).
- 11) Okamoto H., Takaoka M., Ohkita M., Itoh M., Nishioka M., Matsumura Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **350**, R11–R12 (1998).
- 12) Takaoka M., Itoh M., Okamoto H., Ohkita M., Matsumura Y., *Curr. Top. Pharmacol.*, **5**, 99–107 (2000).
- 13) Takaoka M., Itoh M., Hayashi S., Kuro T., Matsumura Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **384**, 43–46 (1999).
- 14) Takaoka M., Itoh M., Kohyama S., Shibata A., Ohkita M., Matsumura Y., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **36** (Suppl. 1), S225–S227 (2000).
- 15) Itoh M., Takaoka M., Shibata A., Ohkita M., Matsumura Y., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **298**, 501–507 (2001).
- 16) Takaoka M., Kobayashi Y., Yuba M., Ohkita M., Matsumura Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **424**, 121–129 (2001).
- 17) Takaoka M., Ohkita M., Itoh M., Kobayashi Y., Okamoto H., Matsumura Y., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **28**, 466–468 (2001).
- 18) Takaoka M., Ohkita M., Kobayashi Y., Yuba M., Matsumura Y., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **29**, 189–194 (2002).
- 19) Matsumura Y., Nishiura M., Deguchi S., Hashimoto N., Ogawa T., Seo R., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **287**, 1084–1091 (1998).
- 20) Kurata H., Takaoka M., Kubo Y., Katayama T., Tsutsui H., Takayama J., Matsumura Y., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **44** (Suppl. 1), S455–S458 (2004).
- 21) Ohkita M., Takaoka M., Shiota Y., Nojiri R., Matsumura Y., *Clin. Sci.*, **103** (Suppl. 48), 68S–71S (2002).
- 22) Ohkita M., Takaoka M., Sugii M., Shiota Y., Nojiri R., Matsumura Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **472**, 159–164 (2003).
- 23) Goto K., Hama H., Kasuya Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **72**, 261–290 (1996).
- 24) Lariviere R., Day R., Schiffrin E. L., *Hypertension*, **21**, 916–920 (1993).
- 25) Matsumura Y., Hashimoto N., Taira S., Kuro T., Kitano R., Ohkita M., Opgenorth T. J., Takaoka M., *Hypertension*, **33**, 759–765 (1999).
- 26) Matsumura Y., Kuro T., Kobayashi Y., Konishi F., Takaoka M., Wessale J. L., Op-

- genorth T. J., Gariepy C. E., Yanagisawa M., *Circulation*, **102**, 2765–2773 (2000).
- 27) Giardina J. B., Green G. M., Rinewalt A. N., Granger J. P., Khalil R. A., *Hypertension*, **37**, 516–523 (2001).
- 28) Rothermund L., Luckert S., Kossmehl P., Paul M., Kreutz R., *Hypertension*, **37**, 275–280 (2001).
- 29) Gariepy C. E., Ohuchi T., Williams S. C., Richardson J. A., Yanagisawa M., *J. Clin. Invest.*, **105**, 925–933 (2000).
- 30) Gallego M. S., Ling B. N., *Am. J. Physiol.*, **271**, F451–F460 (1996).
- 31) Ohkita M., Wang Y., Nguyen N. D., Tsai Y. H., Williams S. C., Wiseman R. C., Killen P. D., Li S., Yanagisawa M., Gariepy C. E., *Hypertension*, **45**, 940–946 (2005).
- 32) Li J. S., Lariviere R., Schiffrin E. L., *Hypertension*, **24**, 183–188 (1994).
- 33) Takaoka M., Kuro T., Matsumura Y., *Drug News Perspect.*, **13**, 141–146 (2000).
- 34) Kuro T., Kohnou K., Kobayashi Y., Takaoka M., Opgenorth T. J., Wessale J. L., Matsumura Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **82**, 307–316 (2000).
- 35) Matsumura Y., Kuro T., Kobayashi Y., Umekawa K., Ohashi N., Takaoka M., *Jpn. J. Pharmacol.*, **84**, 16–24 (2000).
- 36) Yamashita J., Itoh M., Kuro T., Kobayashi Y., Ogata M., Takaoka M., Matsumura Y., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **296**, 412–419 (2001).
- 37) Hu J., Discher D. J., Bishopric N. H., Webster K. A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**, 894–899 (1998).
- 38) Wilhelm S. M., Simonson M. S., Robinson A. V., Stowe N. T., Schulak J. A., *Kidney Int.*, **55**, 1011–1018 (1999).
- 39) Ruschitzka F., Shaw S., Gygi D., Noll G., Barton M., Luscher T. F., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **10**, 953–962 (1999).
- 40) Takaoka M., Yuba M., Fujii T., Ohkita M., Matsumura Y., *Clin. Sci.*, **103** (Suppl. 48), 434S–437S (2002).
- 41) Shibata Y., Takaoka M., Maekawa D., Kuwahara C., Matsumura Y., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **44** (Suppl. 1), S459–S461 (2004).
- 42) Yamashita J., Ogata M., Itoh M., Yamasowa H., Shimeda Y., Takaoka M., Matsumura Y., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **42**, 419–427 (2003).