

メカノトランスダクションと細胞反応—メカノ薬理学の発展を期して—

中山 貢一

Mechanotransduction and Cellular Response—A Challenge toward Development of Mechano-pharmacology

Koichi NAKAYAMA

Department of Cellular and Molecular Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, 52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka City 422-8526, Japan

(Received May 8, 2006)

Mechanoreception and subsequent cellular/molecular mechanisms of signal transduction pathways in response to mechanical stresses, including hemodynamic factors, passive stretching, and exercise, are ubiquitous in living organisms. Of these, the cardiovascular system involving the heart and blood vessels is known to be particularly sensitive to mechanical stimuli, for example, stretching and intraluminal pressurization, which might mimic an acute and/or chronic change in blood pressure and flow, induce a variety of responses including contraction, activation of various kinases and ionic channels, production of vasoactive substances, gene expression, and phenotype changes. We have started to clarify the mechanisms underlying this basic principle in the cardiovascular system as it is now generally considered that obesity and a lack of exercise are serious risk factors for cardiovascular diseases such as hypertension, atherosclerosis, and type 2 diabetes. We further extended our research field of mechanotransduction into adipocytes, skeletal muscle cells, and pancreatic beta cells, all of which are related to the core concerns in cardiovascular disease, including the so-called metabolic syndrome. In the present article, we discuss briefly the prologue to our study of mechanotransduction and several topics in the recent progress in this interesting area. We also emphasize that it is important to recognize biomechanical factors and control them not only for improvement in our knowledge of health and disease but also for the development of new drugs.

Key words—mechanotransduction; pulmonary hypertension; phospholipase A₂; adipocyte differentiation; skeletal muscle; glucose uptake

1. はじめに

血圧・血流や心臓・血管の収縮・弛緩などの血行力学因子は循環系作用に生理・病態反応を誘起させる要因の1つである。生体内では神経伝達物質やホルモンなどの液性化学受容と血行力学受容の複合効果が循環動態を即時的に、又は中・長期的に調節するとともに、病態、例えば血管の肥厚、動脈硬化、心肥大、高血圧症や血管攣縮の発症や進展とも深く関わりと考えられている。細胞がどのように力学刺激を受け入れ、生理・病態反応や遺伝子発現に転換されるかの過程の分子機構をメカノトランスダクシ

ョン (mechanotransduction) という。また、生命体の構造と機能を力学的観点から理解することを目指す学際分野をバイオメカニクス (biomechanics) という。1分間に5リットルもの血液が体内を駆けめぐるヒトの循環系では、血行力学因子はその生理的機能調節を担うために重要な役割を果たすと考えられる。このことは、例えば脳、冠、腎などの重要な器官においては、血流量を維持するために、血管平滑筋の自律的収縮・緊張性維持機構が極めてよく発達していることに現れており、既に1世紀前に Bayliss¹⁾ により筋原性血流自動調節 (myogenic regulation of constant blood flow) として記述されている。

筆者は、“循環系におけるバイオメカニクス反応と薬物による制御について”研究している。加えて近年、循環系の各種病態が、肥満や糖尿病などと複

静岡県立大学大学院薬学研究科細胞・分子薬理学教室
(〒422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1)

e-mail: nakyamk@ys7.u-shizuoka-ken.ac.jp

本総説は、平成17年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

合して発現する代謝症候群 (metabolic syndrome) という考え方が主流になった。循環系の各種病態の基盤病でもある糖尿病や肥満を踏まえて、脂肪細胞²⁾や骨格筋³⁾におけるバイオメカニクスの研究にも多くの協力者とともに発展させている。

本小稿においては、循環系におけるバイオメカニクス反応の研究に端を発し、発展しつつある課題を紹介したい。もって、生体反応に影響を与える機械物理因子の存在を認識し、その評価と制御に向けてメカノ薬理学分野 (biomechano-pharmacology) を新たに切り開くことの意義を論じたい。

2. メカノトランスダクションの研究—そのプロローグ—

筆者は東京大学薬学部微生物薬品化学教室 (水野傳一教授) の下で、卒業研究を行った。研究課題は「エーリッヒ腹水ガンにおけるメッセンジャー RNA の代謝回転」である。大学卒業後、三共株式会社中央研究所に勤務し、内地留學員として、東北大学医学部薬理学教室 (橋本虎六教授) において循環薬理学の薫陶を受けた。医学博士学位論文は“無麻酔犬における内臓痛発症の末梢機構”⁴⁾ である。平 則夫助教授の指導の下に、イヌの腸間膜動脈や大腿動脈に慢性的にカニューレを挿入し、無麻酔状態で、ブラジキニンやヒスタミンなどの発痛物質を投与して生じる鳴き声反応 (vocalization response) を痛みの指標として、内臓痛発症の末梢機構を定量的に解析した。その結果、内臓痛は腸管の強い収縮により、痛覚神経が機械的に変形し、上行性痛み刺激を生じ、体性痛は主として、痛覚神経の化学受容体が直接に刺激され生じること (Fig. 1) を明らかにした。

それらを基に、salicylate の鎮痛作用が体性部痛覚神経末梢部における上行性インパルスの抑制によること^{5,6)} また、鎮痙薬 anisotropine methylbromide による ACh (acetylcholine) の腸間膜動脈内投与による鳴き声反応の抑制作用が、anisotropine による腸管攣縮の阻止にあることを見出した。⁷⁾ これらの研究は、非ステロイド性消炎・鎮痛薬の作用機序の解明や力学受容のイオンチャネル機構、例えば TRP (transient receptor potential) チャネルなどの伸展活性化チャネルの分子実体に迫る研究分野に発展する先駆けとなっている。

本学位論文を通して、循環器系と中枢神経系が相

互に関係すること、末梢循環からの上行性インパルスが中枢神経に影響するなどを学んだ。それとともに、力学刺激がなぜ上行性の痛み刺激のインパルスを生じるかに強い関心を抱いた。

学位取得後、Albert Ludwig 大学生理学研究所 (フライブルグ, ドイツ) に勤務し、カルシウム拮抗 (Ca antagonism) という薬理作用の基本概念を提唱した Albrecht Fleckenstein 所長の下で、現在、臨床に使われている多くのカルシウム拮抗薬の基本薬理作用を明らかにしつつ、血管や心筋の伸展刺激活性化反応 (stretch activation) について研究した。冠動脈や脳動脈における血管攣縮や高血圧症の発生機序に、血圧の急激な上昇による血管壁に加わる血行力学刺激が、筋原性緊張・収縮 (myogenic tone/contraction) を亢進させること、カルシウム拮抗薬の降圧作用や血管攣縮抑制作用機序の1つが、過剰な筋原性収縮の抑制に基づくことなどを明らかにした。^{8,9)} 何ゆえに Fleckenstein は Ca channel blocker ではなく、Ca antagonist と命名した理由の1つは、血管や心筋の stretch activation による反応に対する本薬の作用に基づく。

1,4-ジヒドロピリジン系 Ca 拮抗薬の先駆となったドイツバイエル社のニフェジピンが、わが国で抗狭心症薬として臨床に使用されるようになってから、本 2006 年で 30 年となる。現在、Ca 拮抗薬の抗高血圧薬としての世界的広がりは、よく知られることであるが、歴史的には抗狭心症薬、あるいは抗不整脈としてのそれに比較すると遙かに短い。ニフェジピンに代表される 1,4-ジヒドロピリジン系 Ca 拮抗薬が特異的な冠動脈拡張と末梢抵抗血管拡張による血圧降下を示すことは、薬理学研究において橋本ら^{10,11)} によりごく初期から示された。また、本邦では萩野¹²⁾ によるベラパミルの抗高血圧療法についての報告、さらに、本態性高血圧症に対する降圧作用の報告が村上ら¹³⁾ によって世界で最初になされた。にもかかわらず、高血圧治療に関するガイドライン (例えば WHO/ISH 国際高血圧学会など) が



中山貞一

静岡県立大学名誉教授。東京大学薬学部薬学科卒業。静岡県立大学大学院薬学研究科細胞・分子薬理学教授を経て現在に至る。現在、岩手医科大学客員教授、静岡県立大学客員教授、薬学博士、医学博士。

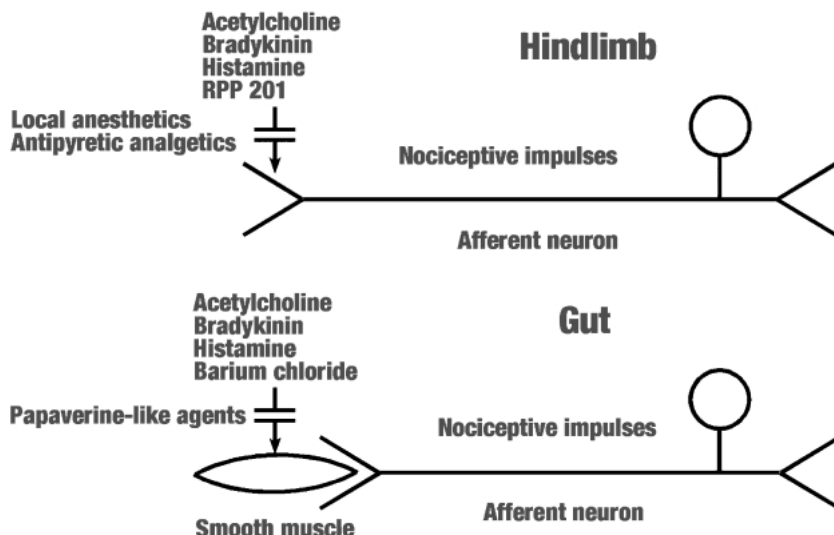


Fig. 1. Peripheral Mechanisms for Pain Sensation in Somatic Area and Visceral One

Ca拮抗薬を一次選択薬の1つに加えたのはようやく15—20年後の1988—1989年のことであった。なぜ、わが国を除く世界各国で、抗高血圧薬としてのCa拮抗薬の認知が遅れたのか。日本と世界の研究のあり方や、薬の歴史という面からも思い起こす価値がある。その詳細については以下の総説を参照されたい。¹⁴⁾

わが国研究者とFleckensteinらのCa拮抗薬の抗狭心症作用についての考え方の違いを簡潔に纏めてみる。ヒトでCa拮抗薬、特にニフェジピンが抗狭心症薬(抗スパズム薬)になり得る薬理学的機序の大筋は以下の通りである。わが国の研究者:冠動脈主幹部に作用し、冠動脈スパズムを緩解する。降圧作用が心臓に対する後負荷の軽減をもたらす。降圧作用はカルシウムイオンの心筋細胞内流入の阻止による心抑制に比べて1/10—100の少量でもたらされる。つまり、カルシウム拮抗薬は、まずは血管拡張作用を主体とする、抗高血圧薬、抗狭心症薬である。一方、Fleckensteinの考え方は、心筋の興奮・収縮連関の抑制による心収縮力と酸素消費量の低下、高エネルギーリン酸の節約効果が抗狭心症効果の主体と考えた¹⁵⁾日本では、薬理・臨床の実験事実の積み重ねから到達した。カルシウム拮抗という概念、先にありきとの違いである。

わが国研究者によるカルシウム拮抗薬の明快な作用機序を目の当たりにして、Ca拮抗薬の新たな血管作用を見つけ出す急務にFleckensteinは直面した。すなわち、高血圧症などの血管攣縮性の病態

を、血管内腔圧上昇に伴う血管壁伸展刺激により、血管平滑筋の収縮張力の増加とpositive feedback機構の亢進(stretch activation)が起こる。カルシウム拮抗薬はこの悪循環を絶つことで、高血圧症、冠動脈や脳動脈の攣縮の緩解に奏功する機序を提唱した。¹⁵⁾この血管のstretch activationを研究の中心に据えて、1)冠動脈や脳動脈及び末梢抵抗血管における血管攣縮や高血圧症の発生機序に、血圧の急激な上昇に伴う血管壁に加わる伸展刺激が筋原性収縮を亢進させること(Fig. 2)、2)カルシウム拮抗薬の降圧作用や血管攣縮抑制作用機序の1つが、過剰な筋原性収縮の抑制に基づくことなどを明らかにした。^{8,9)}何ゆえにFleckensteinはCa channel blockerではなく、Ca antagonistと命名した理由の1つは、血管や心筋のstretch activationによる反応に対する本薬の機能的Ca拮抗作用に基づく。

さらに、筆者はドイツ留学前に、母校東京大学薬学部薬害研究施設(粕谷豊教授)の下で、肺循環における薬物代謝機能についての基礎的研究に携わった。また、ドイツから帰国後、同学部薬品作用学教室(粕谷豊教授)において、Ca流入阻止薬(Ca entry blocker)の範疇に属する、フルナリジンやシンナリジンの薬理作用を研究する機会を得た。これらの研究を通して、薬学薬理学の研究者に多くの知己を得ることができた。また、細胞体に加わるバイオメカニカルストレス(生体力学)に強く興味を抱くようになり、本小稿の基盤となる研究テーマ“循環系におけるバイオメカニクス反応と薬物によ

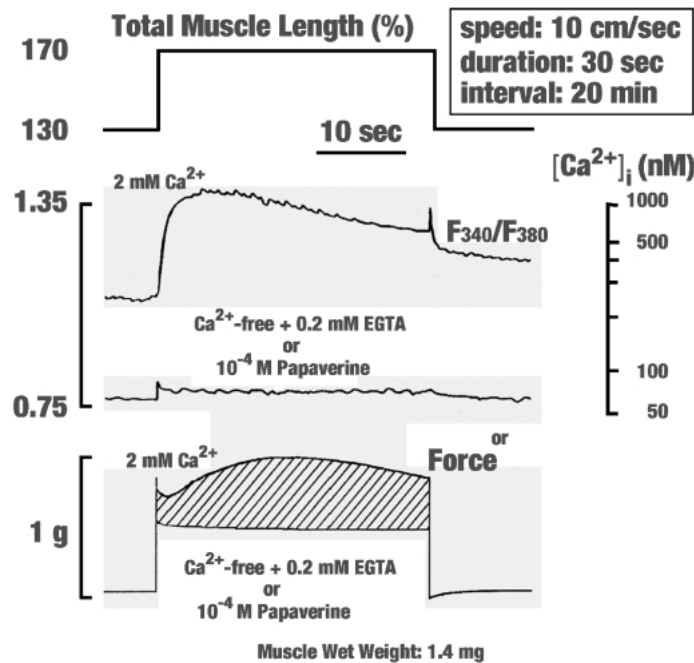


Fig. 2. Typical Mechanical Response to Quick Stretch and Intracellular Ca^{2+} Signals of a Canine Cerebral Artery Loaded with Fura-2

Note that contractile activity shown as hatched area of the mechanogram and Ca^{2+} signals are totally eliminated after treatment with papaverine.

る制御”が定まった。爾来、この関連分野の研究を、帝京大学（加藤 仁教授）及び静岡県立大学において多くの協力者とともに遂行している。

3. 肺動脈の力学刺激応答性

正常な肺動脈では、脳動脈とは異なり、筋原性反応はほとんどみられないことが知られている。¹⁶⁾ 一方、肺循環に局限した動脈圧（肺動脈圧）が亢進する肺高血圧発症の場合でもある。われわれは、肺循環における血行力学刺激の亢進が肺高血圧発症に係わるのではないかという仮説を立て、肺動脈のメカノトランスダクションについて研究を行ってきた。実際、内皮無傷の摘出肺動脈は、機械的に内腔径を広げること（ストレッチ）により、即時的な収縮を発生する。しかし、内皮を剥離するとストレッチ誘発性収縮を発生しなくなる。¹⁷⁾ われわれは、この内皮依存性の収縮が、末梢プロスタノイドに転換されない、非転換型プロスタグランジン H_2 (untransformed PGH_2) の産生によることを明らかにした。¹⁸⁾ さらに、ストレッチ誘発性の PGH_2 産生に、炎症性反応に係わる sPLA_2 の過剰発現の可能性を指摘したい。また、血行力学刺激が増殖因子受容体、例えば $\text{PDGF-R}\beta$ (platelet-derived growth factor-receptor β) の過剰発現を誘起し、肺高血圧症に

おける悪循環機構における役割を示唆した。¹⁹⁾ ここでは、これらから得られたいくつかの話題とそれらを踏まえた創薬標的の可能性について述べたい。

4. ストレッチ誘発性の PGH_2 産生

正常なウサギ肺動脈に過剰な機械的伸展（ストレッチ）を与えることにより、平滑筋の一過的な収縮・緊張性の増大がみられる。この反応は1分程度で最大レベルに達する即時反応で、ストレッチ刺激によって内皮から様々なプロスタグランジン（PG）類が産生・放出されることにより、一過性の収縮・緊張性の増大が生じるためである。当初は thromboxane A_2 (TXA_2) がストレッチ誘発性収縮の誘起分子であると推定した。¹⁷⁾ しかし、その後の研究の結果、主たるストレッチ誘発性収縮の誘起分子は、PG産生の中間産物である PGH_2 が TXA_2 等の最終産物に転換されずに血管内皮から遊離することが確かめられた。¹⁸⁾ TP受容体は TXA_2 のみならず PGH_2 の受容体でもある。^{20,21)} 高血圧自然発症ラット（SHR）などいくつかの高血圧モデル動物において、 PGH_2 は血管緊張性を増大させることが報告されている。²²⁻²⁷⁾ 実際、 PGH_2 を外から栄養液へ添加すると、ウサギ肺動脈は用量依存的に収縮し、TP受容体拮抗薬・SQ29,548 処置で収縮が阻害さ

れたが、TXA₂合成阻害薬であるオザゲレル処置では収縮は影響されなかった。通常PGH₂は不安定な中間代謝産物であり、栄養液中に放出される量を直接定量することは困難である。しかし、還元剤、例えばSnCl₂存在下で速やかに安定なPGF_{2α}に変換しPGH₂量を測定する方法²⁸⁾を採用した結果、非転換型PGH₂の産生量がストレッチにより増加しており、この産生は内皮由来であることが確かめられた。¹⁸⁾ 肺動脈の収縮に関して言えば、非転換型PGH₂の産生はストレッチ刺激特異的であり、アセチルコリンにより誘導される肺動脈の内皮依存性収縮因子はTXA₂である。^{18,29,30)}

5. sPLA₂とPG産生の2重経路説

一般にPGの生合成経路であるアラキドン酸カスケードの最上流はホスホリパーゼA₂(PLA₂)による膜リン脂質からのアラキドン酸の遊離反応である。この反応の大部分は細胞質性のPLA₂(cPLA_{2α})に担われていると考えられている。³¹⁾ また、血管の収縮・弛緩や血小板凝集などの反応は

PG最終産物(例えば、PGF_{2α}, PGI₂, TXA₂等)が係わるとされる。なぜ、PGH₂のような中間産物がPG最終産物まで行かずに非転換型で遊離するのは、アラキドン酸カスケードについての教科書的記述³¹⁾からは不思議である。ここで、力学刺激の入力部の1つの候補としてのインテグリンをキー分子とする、われわれが考えているPG産生の2重経路説(Dual pathway of PG production)(Fig. 3)についてその概要を述べる。

インテグリンは18種類のα鎖、8種類のβ鎖のヘテロ2量体からなり、少なくとも24種類の異なる組み合わせを取り得ることが知られている。³²⁾ このうち、血管平滑筋ではα₁β₁, α₃β₁, α₅β₁, α_vβ₁, α_vβ₃などが多く、内皮細胞ではα₂β₁, α₃β₁, α₅β₁, α_vβ₃が多いと報告されている。^{33,34)} これらインテグリンアイソフォームのうち、コラーゲンを標的とする(α₁β₁, α₂β₁)もの以外は細胞外マトリクス(ECM)中のArg-Gly-Asp(RGD)配列を結合標的としている。そこで、インテグリン-ECM結合の競合的阻

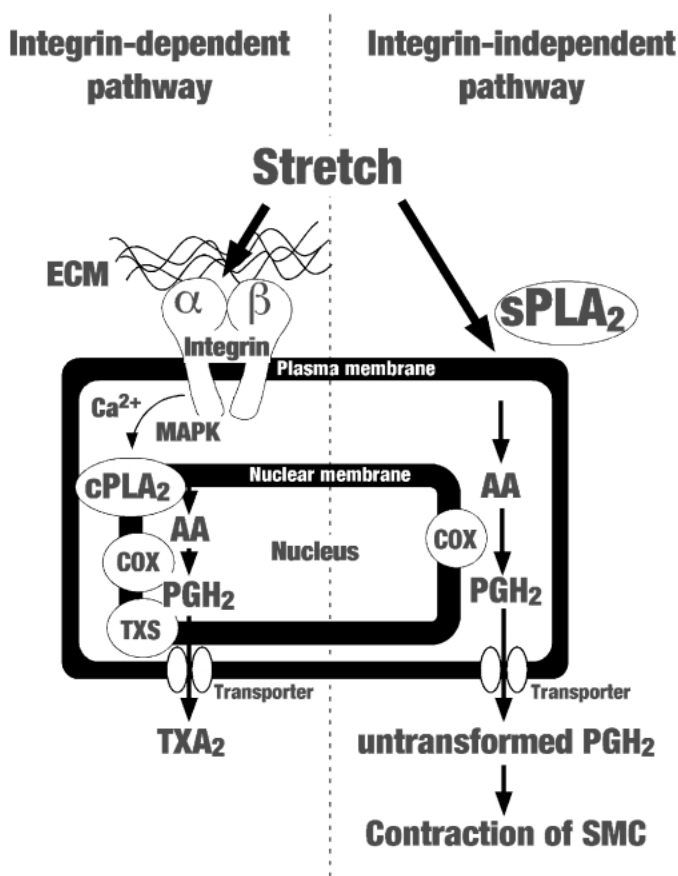


Fig. 3. Proposed Dual Pathway of Stretch-induced Production of Prostaglandins in Endothelial Cells

害薬として繁用されている Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro (GRGDSP; RGD ペプチド) を用いて、ストレッチ誘発性 PG 産生の変化を調べた。その結果、産生が阻害されるもの (例: TXA₂) と阻害されないもの (例: 非転換型 PGH₂) があつた。

アラキドン酸カスケードの最上流は cPLA₂ とすれば、血管内皮に主として発現しているインテグリン $\alpha_v\beta_3$ を介したピトロネクチン刺激による cPLA₂ の活性化の報告³⁵⁾は重要な情報である。インテグリン $\alpha_v\beta_3$ は RGD ペプチド感受性アイソフォームであることから、ストレッチによりインテグリンが活性化する過程に同様な経路を当てはめて考えてみる。その場合、最上流の酵素 (cPLA₂) がインテグリンに RGD ペプチドで阻害されるのに、なぜ末梢の PG のうち、産生が阻害されるものと阻害されないものがあるのかという疑問が生じる。つまり、カスケードのより上流の反応が RGD ペプチド感受性インテグリンに依存すればその下流の反応も RGD ペプチド感受性インテグリン依存的になってしかるべきである。そこで、ストレッチ刺激により誘導される RGD 感受性と非感受性の PG 類の生合成経路が独立して存在し、非転換型 PGH₂ は TXA₂ などの前駆体となる PGH₂ とは異なる経路で産生されるのではないかと考えた。また、われわれは、非転

換型 PGH₂ の産生に分泌性の PLA₂ アイソフォーム (sPLA₂) の関与を想定している。実際、ストレッチ誘発性の非転換型 PGH₂ 産生及び収縮のいずれも sPLA₂ 特異的阻害薬で抑制されることを確認している。³⁶⁾

6. 肺高血圧症と PDGF 受容体 β の過剰発現

ウサギ肺動脈組織にストレッチ刺激を与えると、少なくとも刺激 5 分後には、分子量 115-kD の FAK や 180-kD の PDGF-R β を含めて、様々なタンパク質のチロシンリン酸化レベルの増加が観察された¹⁹⁾ (Fig. 4)。その中で興味深いのは、肺動脈のメカニカルストレスが *in vivo* で増大している肺高血圧症モデルラットにおいて、肺動脈特異的に PDGF-R β の発現レベルが増大していることである¹⁹⁾ (Fig. 4)。PDGF-R β については SHR や DOCA-salt ラットなどの全身性高血圧モデルの大動脈においてもその発現増大が確認されており、³⁷⁾ 圧上昇による *in vivo* でのメカニカルストレス増大に伴う共通したメカニズムの関与も考えられる。

7. メカノトランスダクションと脂肪細胞分化機能

生活習慣に起因する循環系機能不全の原因として、肥満、高血圧、糖尿病などのリスクファクターが集積したメタボリックシンドロームは、近年大き

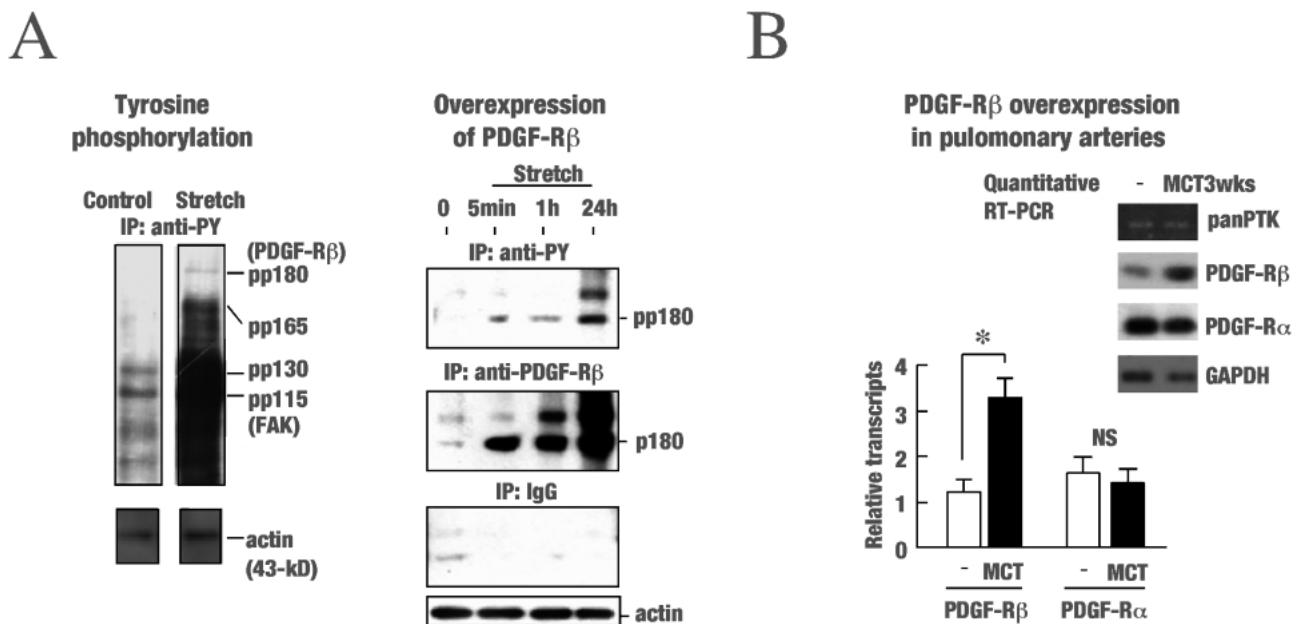


Fig. 4. Tyrosine Phosphorylation and PDGF-R β Overexpression in Pulmonary Artery

A) Immunoprecipitation analysis of stretch-induced tyrosine phosphorylation and PDGF-R β overexpression in cultured smooth muscle cells derived from rabbit pulmonary artery. B) Quantitative RT-PCR analysis of PDGF-Rs in pulmonary arteries of rats with monocrotaline (MCT)-induced pulmonary hypertension.

な注目を浴びている。メタボリックシンドロームにおける脂肪細胞は、脂肪の蓄積のみならず多様な生物活性を示すアディポカインを産生する内分泌性細胞としての位置付けにあり、脂肪細胞の数と機能を適正な状態に維持することは、同疾患の改善のためには重要な課題である。このことから、脂肪細胞の増殖・分化の機構は生活習慣病の発症時、特に病的肥満の形成過程において重要な役割を演じると考えられる。そこで、まず脂肪細胞の分化過程へのメカニカルストレスの作用を検討した。

8. 周期的伸展による脂肪細胞分化の抑制機構

マウス 3T3-L1 細胞は、分化誘導物質による 2 日間の刺激（誘導期）ののち、7—10 日程度（成熟期）で多数の脂肪滴を細胞内に蓄積した成熟脂肪細胞へと分化する。前述の肺動脈平滑筋細胞及び内皮細胞への伸展刺激装置を用いて、3T3-L1 の分化誘導期に周期的ストレッチ刺激（130% 1 Hz）を与えたところ、対照（100%）の細胞に比べ、成熟期での脂肪細胞分化マーカーの発現が強く抑えられた。脂肪細胞の分化誘導過程では CCAAT/enhancer-binding proteins (C/EBPs) や peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ など一連の転写因子群の逐次的な発現が重要であることが明らかにされている。^{38,39} 周期的ストレッチは分化決定に重要な役割を果たす PPAR γ の発現を抑制することが分かった。²⁾ すなわち、脂肪細胞への分化決定の阻害に至るまでのメカノトランスダクション機構に関して、3T3-L1 分化誘導期に周期的ストレッチ刺激を与えると持続的に ERK の活性化が起こること、さらに ERK の上流シグナルの阻害薬 (PD98, 059) により ERK の活性化を抑制すると、PPAR γ の発現及び成熟脂肪細胞への分化レベルが回復することを明らかにした²⁾ (Fig. 5)。ストレッチによる脂肪細胞分化の抑制の意義としては、例えば、病的肥満形成過程での過剰な脂肪細胞の分化に伴う脂肪組織の過形成の抑制に繋がりが得るのではないかと、これは *in vivo* において検証される必要がある。

9. 骨格筋のストレッチ反応と糖取り込み

骨格筋は成人では体重の 30—40% を占め、最も大きな器官である。血液循環の立場では、安静状態では、全循環血液量の 20% 程度が流れるが、激しい運動時にはその 80% 以上にもなる。骨格筋でこのような急激な循環の変化を調節する機序は興味

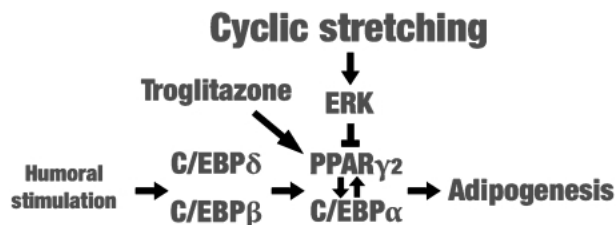


Fig. 5. Schematic Diagram Indicating Stretch-induced Inhibitory Effect on Adipogenesis

深い。さらに、糖・脂質代謝の面からも骨格筋が注目されている。日常の健康の維持や肥満・糖尿病などのメタボリックシンドロームの改善に、食事療法とエクササイズ（運動）の組み合わせが推奨される。その最大の理由は、エクササイズは骨格筋を収縮させ、化学エネルギーを運動エネルギーへ変換することでエネルギー源を消費し、また、エクササイズは骨格筋自身の増殖、肥大などの生理的形質変換を促す。その結果、基礎代謝量を増やし、カロリー摂取の制限と相まって体内のエネルギーの需給バランス改善に寄与している。

一方、エクササイズをメカノトランスダクションの観点から捉えると、骨格筋自身はエクササイズにより局所的力学刺激（受動的伸展、ストレッチ）を絶えず受けている。このストレッチ刺激の受容機構が詳細に判明してきた。本稿では、最近、われわれが報告した、このストレッチ刺激によるインスリンを必要としないインスリンシグナル経路を活性化する新しい機構を紹介する^{3,40} (Fig. 6)。

10. エクササイズとインスリン

骨格筋や脂肪細胞において、グルコース輸送担体 glucose transporter 4 (GLUT4) の細胞質から細胞膜上への移行 (translocation) は血糖取り込みを促進する重要な機序である。インスリンは、インスリン受容体を介して、insulin receptor substrate-1 (IRS-1) のリン酸化や PI3K, Akt/protein kinase B (PKB) 等を活性化し、GLUT4 を細胞膜へ移行させる。エクササイズによっても骨格筋細胞で GLUT4 の細胞膜への移行が生じることが示された。⁴¹⁾ これまではインスリン刺激時とエクササイズはいずれも GLUT4 を細胞膜へ移行させ糖取り込みを増加させるが、その細胞内シグナリングは独立したものと考えられてきた。エクササイズを骨格筋細胞の収縮に伴うエネルギーレベルの変化が主たるも

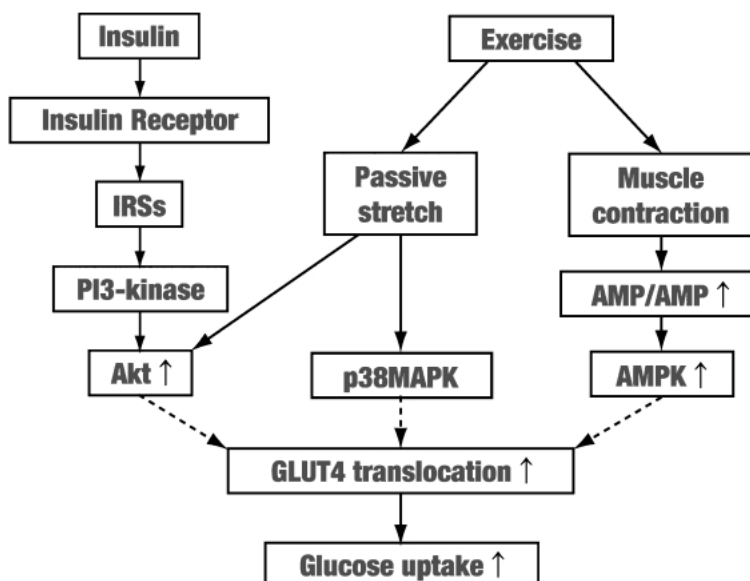


Fig. 6. Cascades of Intracellular Signaling Leading to Glucose Uptake in Response to Exercise and Insulin

のとすれば、キー分子は細胞の代謝センサーと目された AMP-activated protein kinase (AMPK) であった。⁴²⁾ AMPK は、 α , β , γ の 3 量体からなるセリン、スレオニンキナーゼで、エネルギー代謝の亢進で AMP/ATP 比が上昇すると、その上流にある AMPK キナーゼ (AMPKK) によってリン酸化され活性化となる。

確かに、エクササイズの代替薬と言われ、AMPK 活性を上げる 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside (AICAR) を骨格筋に作用させると、GLUT4 の細胞膜移行が促進される。⁴³⁾ しかし、AMPK の α サブユニットのドミナントネガティブ体を骨格筋に特異的に過剰発現させたマウスでは運動による糖取り込みの増加は部分的にしか抑制されず、⁴⁴⁾ 骨格筋収縮時における AMPK 活性と糖取り込みが比例しない。⁴⁵⁾ さらに、AMPK α 2 ノックアウトマウスでも運動による糖取り込みの増加は部分的にしか抑制されない。⁴⁵⁾ したがって、エクササイズに伴う糖取り込みの増加が AMPK のみでは説明できない。⁴⁶⁾ そのため、種々の機序や分子、例えば筋収縮に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇、カルモジュリンキナーゼ II (CaMKII) の関与、プロテインキナーゼ C (PKC) などが考えられるようになった。

11. ストレッチのシグナリング

骨格筋に対するストレッチは、Akt/PKB や p38MAPK を活性化することが知られている。⁴⁷⁾ 最

近、われわれはマウス骨格筋に対するストレッチによる GLUT4 の細胞膜への移行と糖取り込みを促進する一連の細胞内情報伝達機構を解析した。その結果、AMPK は活性化されず、Akt/PKB 及び p38MAPK が活性化されることが分かった (Fig. 7)。³⁾ すなわち、これはインスリンなきインスリンシグナル経路の賦活化と言える。骨格筋を含む非感覚細胞における力学因子感受分子(メカノセンサー)の実体は何かという問には明快な答えはまだない。インテグリンや伸展活性化チャネル(例えば、TRP チャネル)に加え、PKC, CaMKII などもメカノトランスダクションで活性化される分子である。いずれにせよインスリンの分泌不全や作用不全による糖尿病を考えると、インスリンの必要のないインスリンシグナル活性化経路に関わる分子を制御することにより血糖の調節ができる可能性があり、創薬のターゲットとして極めて重要と思われる。

12. エクササイズの新しい意義

エクササイズはこれまでは体内のエネルギーの需給バランス改善の面が強調されてきた。エクササイズは同時に骨格筋細胞へのストレッチ等の局所的力学刺激を与える。ストレッチは、筋をリラックスさせ、体の柔軟さや予備運動や運動後のクールダウンへの効用のみが強調されてきた。骨格筋へのストレッチは即時的に糖代謝を改善させ得る。しかもその細胞内シグナリングはインスリンを必要としないインスリン経路の活性化である。例え自分で身体が動

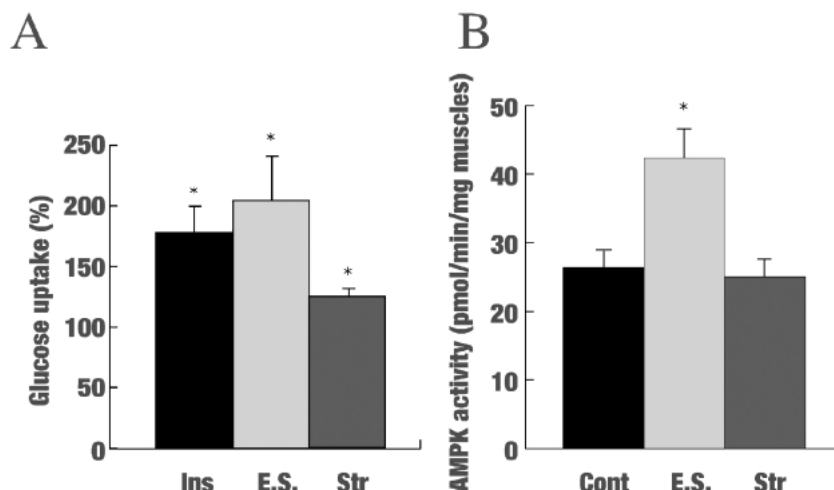


Fig. 7. Effects of Insulin (ins), Electrical Stimulation (ES) and Passive Stretching (Str) on Glucose Uptake (Panel A) and AMPK Activity (Panel B) in Isolated Hindlimb Muscles of Mice

Values are mean ± S.E. * $p < 0.05$ and not significant (NS) vs control (cont). Modified from Ito et al.³⁾

かせなくても、周りの者が骨格筋へのストレッチを施せば糖代謝の改善にも繋がることを示唆されている。³⁾ 以上要約するとエクササイズは代謝を亢進するのみならず、骨格筋へ局所的力学刺激を与える。骨格筋への伸展刺激は Akt/PKB, p38MAPK を活性化し、GLUT4 のトランスロケーションを促しインスリンなしに糖取り込みを促進する。

13. メカノトランスダクション創薬へ向けて

神経伝達物質やホルモンなどの化学・液性因子に対する生体反応の定量化に、薬理学では用量-作用関係の掌握と解析が第一歩となる。同様の手法をメカノトランスダクションの研究にも応用し、生命体に加わる力などの物理量-反応として捉えることで、薬理学としての立場で、この方面の研究に積極的に係わることが大切と思われる。ここでは、メカノトランスダクションの研究を、創薬を目指す取り組みにどのように生かすかを考えてみたい。

14. 肺高血圧症治療薬とメカノトランスダクション

肺高血圧症は原発性肺高血圧症を始めとして、様々なタイプがあるものの、共通して著明な肺動脈圧の上昇、肺動脈の収縮機能異常、並びに心肺組織リモデリングを伴う、極めて予後の悪い難治性疾患である。2006年3月名古屋で行われた本疾患を巡る薬物療法に関する第70回日本循環器学会年会トピックシンポジウム（肺高血圧症に有効な薬剤は何か⁴⁸⁾）においても、新規薬剤の臨床への導入が討議

されるとともにその薬物治療の問題点も浮き彫りになった。現在、薬物療法に使用されるものとしては、プロスタサイクリン製剤（静注、epoprostenol；経口、beraprost）や NO の吸入、エンドセリン受容体拮抗薬（bosentan）に加え、5型 phosphodiesterase 阻害薬（sildenafil, zaprinast 等。わが国では当該疾患へは保険適用未承認）などがある。いずれも血管緊張性を低下させる薬剤である。また、古くは TXA₂ 合成阻害薬や TP 受容体拮抗薬などが検討されてきた。

正常個体内では、肺動脈は low-pressure 側（ -10 mmHg）の血管であり、体循環に比べると低レベルのメカニカルストレスしか発生していないと想像されるのに対して、肺高血圧に際しては（ -25 mmHg $<$ ）右心室壁の肥厚など、メカニカルストレス上昇による代償性の組織変化が明らかに肺循環側に認められる。したがって、肺動脈で過剰なメカニカルストレスが発生していることは明らかである。われわれはこの過剰なメカニカルストレスが発生することが病態形成時に血管の機能異常の一因となっているのではないかと考えている。

過剰なメカニカルストレス発生に関与する因子として 1) 炎症反応と sPLA₂ 及び 2) PDGF-R β について病態の面から考察してみたい。

肺循環傷害性アルカロイドのモノクロタリン投与により肺高血圧を発症したラット（以下 MCT-PH ラット）から摘出した肺動脈は、正常血管に比べて

明らかに緊張性が増大している。また、高血圧相当レベルの受動張力を持続的に与えることにより、収縮・弛緩を律動的に繰り返す収縮異常がおよそ30—50%の頻度で観察される。⁴⁹⁾ この病態血管は内皮除去後も高レベルの非転換型 PGH₂ の産生がみられるとともに、その際の律動性収縮は、sPLA₂ 阻害薬処置により完全に消失する。³⁶⁾ 肺高血圧症はしばしば肺循環関連組織での炎症反応が付随することが知られている。これらを勘案すると、肺動脈血管病態に、sPLA₂ によるアラキドン酸代謝物の関与があると思われる。過剰なメカニカルストレスによって生じる PGH₂ が、肺高血圧発症に際して肺動脈局所で sPLA₂ により産生され肺動脈収縮を誘起する。このことは、創薬標的として考えた場合、sPLA₂ 阻害薬の肺高血圧症への適用拡大に繋がる可能性もあると考える。

メカニカルストレスによる PDGF-R β 過剰発現が、一種の悪循環機構としてモノクロタリン誘発性肺高血圧ラット (MCT-PH ラット) の病態を増悪する可能性は、われわれが初めて提唱した^{19,50)} (Fig. 8)。最近、Schermuly ら⁵¹⁾ も、MCT-PH ラット及び低酸素性肺高血圧マウス、さらにはヒト原発性肺高血圧症の肺組織において PDGF-R β の過剰発

現を見出した。加えて、PDGF-R β も含めたチロシンキナーゼの ATP 拮抗型阻害薬である STI571 (imatinib) を用いた実験治療学的研究から、MCT-PH ラット及び低酸素性 PH マウスの病態改善を報告している。⁵¹⁾ エンドセリンは血管内皮細胞などにおいて伸展刺激などの力学刺激で産生が高まることが知られる。肺高血圧症に際して、強い血管収縮作用を持つエンドセリンやその受容体 (ET_A 及び ET_B) の発現が肺組織で特異的に高まっていることが明らかになり、実際、bosentan などのエンドセリン受容体拮抗薬がわが国を含む世界で臨床使用されている。肺高血圧症発症時には、エンドセリンのほかにも、メカノストレス関連分子であり、sPLA₂ 依存的非転換型 PGH₂ や interleukin-6 などのサイトカイン類の産生も高まる (投稿中)。これらのメカノストレス関連分子間の複合的作用を標的とする創薬は、肺高血圧症治療に応用可能であろう。

15. 脂肪細胞及び骨格筋のメカノトランスダクションと創薬

脂肪細胞や骨格筋などメタボリックシンドロームと関連する細胞群において、メカニカルストレスを細胞機能の制御に積極的に利用することを考えた場合、既存の薬物との併用によるそれぞれの薬理効果

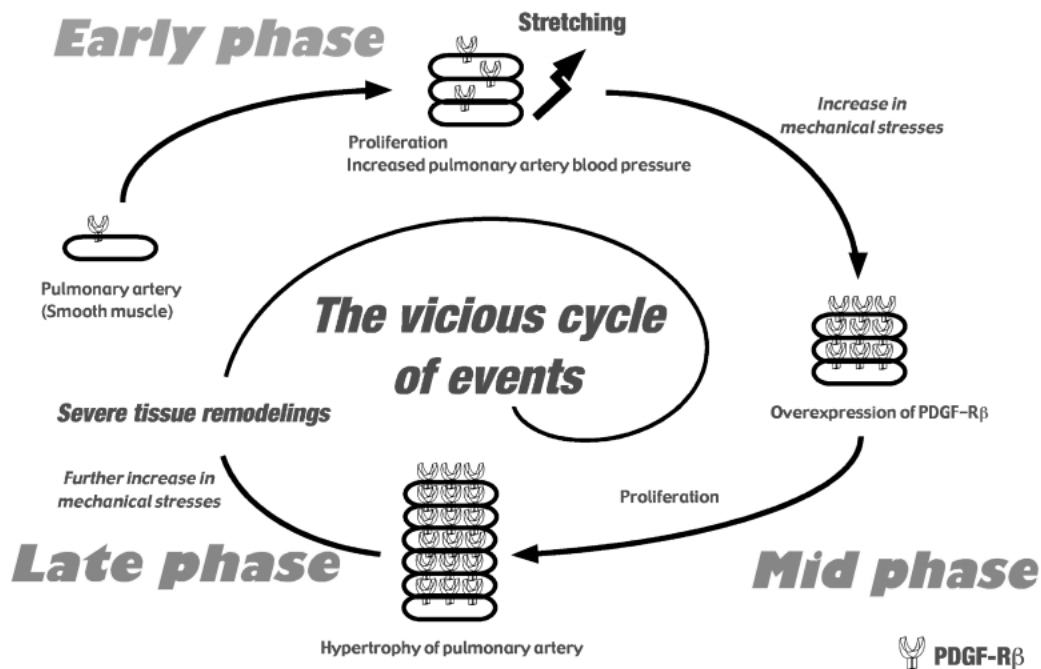


Fig. 8. Proposed Mechanism for Overexpression of PDGF-R β in Pulmonary Artery during Development of Pulmonary Hypertension

A vicious spiral model for pulmonary hypertension associated with remodeling of pulmonary artery. Modified from Tanabe et al.^{19,50)}

の増大や修飾を期待することが考えられる。ストレッチによる脂肪細胞の分化抑制の意義を、脂肪組織における脂肪細胞の再生・更新の抑制と捉え、チアゾリジン誘導体 (TDZ) などのインスリン抵抗性改善薬との併用を取り上げてみる。TDZ は、PPAR γ に対する合成リガンドであり、アディポネクチンなど善玉アディポカインを産生する小型脂肪細胞を増やし、TNF やレジスチンなど、インスリン抵抗性を誘導する悪玉アディポカインを産生する肥大化脂肪細胞のアポトーシスを誘導する。一方、TDZ の欠点の1つとして、肥満が誘導される恐れがあることが指摘されている。したがって、例えば TDZ 投与に際して、メカニカルストレスを適切に併用することにより、薬物の効果をファインチューニングする方法論に繋がると期待される (Fig. 9).^{2,52)}

本邦で行われた大規模臨床試験 (JELIS) により、魚類に多く含まれる長鎖不飽和 n-3 脂肪酸 (PUFAs) の一種 EPA (eicosapentanoic acid) が、冠動脈イベントを抑制することが、2005 年末に明らかにされた。⁵³⁾ 脂肪細胞分化に係わる PPAR γ の活性化経路は EPA 等でも修飾を受ける。メカニカルストレスを適切に併用することにより、脂肪細胞分化抑制の面からも薬物効果の増大に繋がると可能性がある。⁵⁴⁾

骨格筋へのストレッチはインスリンなきインスリン系の賦活である。AMPK 活性を増強する AICR は一時期、エクササイズ代替薬とも言われた。エクササイズは筋収縮と受動的伸展の複合刺激と捉えることができる (Fig. 6)。AMPK を活性化し、糖取り込みや脂肪酸燃焼を促進し、結果としてインスリン抵抗性の改善に至る戦略 (例: アディポネクチン療法など) が提唱されている。加えて、メカノトランスダクション研究を生かし、インスリンシグナル活性化経路に係わる分子を制御することにより、血糖値調節やインスリン抵抗性の低減を目指す創薬が重要であると強調したい。

16. おわりに

創薬を目指す薬理学や薬学を発展させるためには、生命体に加わる物理的因子の存在を認識し、その評価と制御に向けて新たな分野を切り開いていくことが求められる。薬学薬理学の立場で、創薬を目指すメカノトランスダクション研究を推進する重要

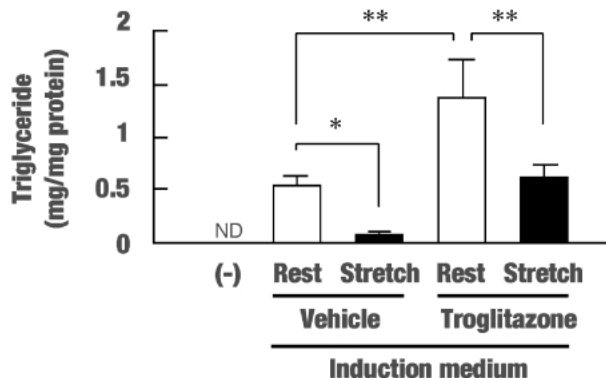


Fig. 9. Effect of Troglitazone on the Stretch-induced Inhibition of Adipocyte Differentiation of 3T3-L1 Cells

Triglyceride accumulation after maturation period for differentiated 3T3-L1 cells with (solid bar) or without (open bar) cyclic stretching (130%, 1 Hz), and in the presence or absence of troglitazone (30 μ M) during the induction period. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $n = 5$. Modified from Tanabe et al.²⁾

性を改めて強調したい。

謝辞 本小稿の掲載に際し、御世話になった、薬学人の母体 (die Muttergesellschaft) である日本薬学会並びに編集部に深く感謝いたします。また、肺循環や脂肪細胞の研究に専心された、協力者である田辺由幸博士に感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Bayliss W. M., *J. Physiol.* (London), **28**, 220–231 (1902).
- 2) Tanabe Y., Koga M., Saito M., Matsunaga Y., Nakayama K., *J. Cell Sci.*, **117**, 3605–3614 (2004).
- 3) Ito Y., Obara K., Ikeda R., Ishii M., Tanabe Y., Ishikawa T., Nakayama K., *Pflügers Arch.*, **451**, 803–813 (2006).
- 4) Taira N., Nakayama K., Sano N., Hashimoto K., *Tohoku J. Exp. Med.*, **96**, 112–112 (1968).
- 5) Taira N., Nakayama K., Hashimoto K., *Jpn. J. Physiol.*, **20**, 571–583 (1970).
- 6) Taira N., Nakayama K., Hashimoto K., *Tohoku J. Exp. Med.*, **96**, 365–377 (1968).
- 7) Nakayama K., Taira N., Hashimoto K., Kobayashi S., Kumakura S., *Jpn. J. Pharmacol.*, **22**, 215–220 (1972).
- 8) Fleckenstein A., Nakayama K., Fleckenstein-Gruen G., Byon Y. K., “Ionic Actions on Vascular Smooth Muscle,” ed. by Betz E. Sprin-

- ger-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1976, pp. 117–123.
- 9) Fleckenstein A., Nakayama K., Fleckenstein-Gruen G., Byon Y. K., *Calcium Transport Contraction Secretion*, 555–566 (1975).
 - 10) Hashimoto K., Taira N., Sato S., Chiba S., Hashimoto K., Tamura K., Endoh M., Iijima T., *Heart*, **3**, 1294–1304 (1971).
 - 11) Hashimoto K., Taira N., Chiba S., Hashimoto Jr. K., Endo M., *Arzneim-Forschung*, **22**, 15–21 (1972).
 - 12) Hagino D., *Jpn. J. Clin. Exp. Med.*, **45**, 208–242 (1968).
 - 13) Murakami M., Murakami E., Takekoshi N., Tsuchiya M., Kin T., *Jpn. Heart J.*, 128–135 (1972).
 - 14) Nakayama K., *Seitai no Kagaku*, **46**, 678–683 (1995).
 - 15) Fleckenstein A., “Use of Calcium Antagonists in the Treatment of Hypertension,” Chap. 7.4, John Wiley and Sons, New York, NY., 1983, pp. 306–311.
 - 16) Barnes P. J., Liu S. F., *Pharmacol. Rev.*, **47**, 87–131 (1995).
 - 17) Nakayama K., Ueta K., Tanaka Y., Tanabe Y., Ishii K., *Br. J. Pharmacol.*, **122**, 199–208 (1997).
 - 18) Saito M., Tanabe Y., Kudo I., Nakayama K., *Eur. J. Pharmacol.*, **467**, 151–161 (2003).
 - 19) Tanabe Y., Saito M., Ueno A., Nakamura M., Takeishi K., Nakayama K., *Mol. Cell. Biochem.*, **215**, 103–113 (2000).
 - 20) Rosenfeld L., Grover G. J., Stier Jr. C. T., *Cardiovasc. Drug Rev.*, **19**, 97–115 (2001).
 - 21) Ushikubi F., Nakajima M., Hirata M., Okuma M., Fujiwara M., Narumiya S., *J. Biol. Chem.*, **264**, 16496–16501 (1989).
 - 22) Asano H., Shimizu K., Muramatsu M., Iwama Y., Toki Y., Miyazaki Y., Okumura K., Hashimoto H., Ito T., *J. Hypertens.*, **12**, 383–390 (1994).
 - 23) Fu-Xiang D., Jameson M., Skopec J., Diederich A., Diederich D., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **20** (Suppl 12), S190–192 (1992).
 - 24) Huang A., Sun D., Koller A., *Hypertension*, **35**, 925–930 (2000).
 - 25) Lin L., Balazy M., Pagano P. J., Nasjletti A., *Circ. Res.*, **74**, 197–205 (1994).
 - 26) Shimizu K., Muramatsu M., Kakegawa Y., Asano H., Toki Y., Miyazaki Y., Okumura K., Hashimoto H., Ito T., *Diabetes*, **42**, 1246–1252 (1993).
 - 27) Soler M., Camacho M., Escudero J. R., Iniguez M. A., Vila L., *Circ. Res.*, **87**, 504–507 (2000).
 - 28) Camacho M., Lopez-Belmonte J., Vila L., *Circ. Res.*, **83**, 353–365 (1998).
 - 29) Altieri R. J., Kiritsy-Roy J. A., Catravas J. D., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **236**, 535–541 (1986).
 - 30) Buzzard C. J., Pfister S. L., Campbell W. B., *Circ. Res.*, **72**, 1023–1034 (1993).
 - 31) Smyth E. M., Burke A., FitzGerald G. A., “Goodman and Gilman’s the Pharmacological Basis of Therapeutics,” 11th ed., Chap. 25, ed. by Brunton L. L., McGraw-Hill, New York, 2005, pp. 653–670.
 - 32) Bouvard D., Brakebusch C., Gustafsson E., Aszodi A., Bengtsson T., Berna A., Fassler R., *Circ. Res.*, **89**, 211–223 (2001).
 - 33) Lampugnani M. G., Resnati M., Dejana E., Marchisio P. C., *J. Cell Biol.*, **112**, 479–490 (1991).
 - 34) Lusinskas F. W., Lawler J., *FASEB J.*, **8**, 929–938 (1994).
 - 35) Bhattacharya S., Patel R., Sen N., Quadri S., Parthasarathi K., Bhattacharya J., *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **280**, L1049–1056 (2001).
 - 36) Morikawa Y., Tanabe Y., Saito M., Okamoto Y., Nakayama K., Abstracts of papers, The 125th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, 2005, p. 139.
 - 37) Sarzani R., Arnaldi G., Chobanian A. V., *Hypertension*, **17**, 888–895 (1991).
 - 38) Rangwala S. M., Lazar M. A., *Annu. Rev. Nutr.*, **20**, 535–559 (2000).
 - 39) Rosen E. D., Walkey C. J., Puigserver P., Spiegelman B. M., *Genes Dev.*, **14**, 1293–1307 (2000).
 - 40) Ito Y., Nakayama K., *Folia Pharmacologica Japonica*, **127**, 314 (2006).
 - 41) Ploug T., van Deurs B., Ai H., Cushman S. W., Ralston E., *J. Cell Biol.*, **142**, 1429–1446 (1998).
 - 42) Winder W. W., Hardie D. G., *Am. J. Physiol.*, **270**, E299–304 (1996).
 - 43) Hayashi T., Hirshman M. F., Kurth E. J.,

- Winder W. W., Goodyear L. J., *Diabetes*, **47**, 1369–1373 (1998).
- 44) Mu J., Brozinick Jr. J. T., Valladares O., Bucan M., Birnbaum M. J., *Mol. Cell*, **7**, 1085–1094 (2001).
- 45) Derave W., Ai H., Ihlemann J., Witters L. A., Kristiansen S., Richter E. A., Ploug T., *Diabetes*, **49**, 1281–1287 (2000).
- 46) Rose A. J., Richter E. A., *Physiology* (Bethesda), **20**, 260–270 (2005).
- 47) Sakamoto K., Aschenbach W. G., Hirshman M. F., Goodyear L. J., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **285**, E1081–1088 (2003).
- 48) The 70th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, Topic 4, *Circ. J.*, **70** (Suppl I), 64–65 (2005).
- 49) Kiyoshi A., Ishikawa T., Hayashi K., Iwatsuki Y., Ishii K., Nakayama K., *Pflügers Arch.*, **447**, 142–149 (2003).
- 50) Tanabe Y., Saito M., Obara K., Ishikawa T., Nakayama K., *Vasc. Biol. Med.*, **2**, 331–332 (2001).
- 51) Schermuly R. T., Dony E., Ghofrani H. A., Pullamsetti S., Savai R., Roth M., Sydykov A., Lai Y. J., Weissmann N., Seeger W., Grimminger F., *J. Clin. Invest.*, **115**, 2811–2821 (2005).
- 52) Tanabe Y., Nakayama K., *Folia Pharmacologica Japonica*, **124**, 337–344 (2004).
- 53) Yokoyama M. O. H., Matsuzaki M., Matsuzawa Y., Saito Y., Ishikawa Y., Oikawa S., Sasaki J., Hishida H., Itakura H., Kita T., Kitabatake A., Nakaya N., Sakata T., Shimada K., Shirato K., for the JELIS Investigators, 2005 AHA Annual Meeting in Dallas, Late Breaking Session, November 13–16, 2005.
- 54) Matsunaga Y., Tanabe Y., Nakayama K., *J. Pharmacol. Sci.*, **97** (Suppl I), 118 (2005).