


## 2002年度日中医学協会共同研究等助成事業報告書

－在留中国人研究者研究助成－

2002年10月28日

財団法人 日中医学協会  
理事長 殿

研究者氏名 吳 蕪   
所属機関名 愛媛大学医学部 医化学第一  
指導責任者氏名 堀内正嗣  
職 名 教授  
所在地 〒791-0295 愛媛県喜多郡津川町  
電話 089-980-5249 内線 \_\_\_\_\_

1. 研究テーマ 心血管リモデリングにおけるアンジオテンシンII受容体サブタイプの機能解析  
～サイトカイン産生調節との関連～

### 2. 本年度の研究業績

(1) 学会・研究会等における発表  有 ・  無 (学会名・演題)

(1) 第25回日本高血圧学会 2002年10月11~13日 (東京)

**Inhibition of the MCP-1 Expression by AT<sub>2</sub> Receptor Stimulation Results from the Stabilization of IκB**

Lan Wu, Tai-Xing Cui, Li-Juan Min, Jian-Mei Li, Tetsuya Shiuchi, Midori Okumura, Masaru Iwai, Masatsugu Horiuchi

(2) American Heart Association Scientific Session 2002 2002年11月17~24日 (シカゴ)

**AT<sub>2</sub> Receptor-Mediated Attenuation of MCP-1 Expression via IκB Stabilization**

Lan Wu, Tai-Xing Cui, Li-Juan Min, Jian-Mei Li, Tetsuya Shiuchi, Midori Okumura, Masaru Iwai, Masatsugu Horiuchi

(2) 学会誌等に発表した論文  有 ・  無 (雑誌名・論文名)

(1) J. Biol. Chem. (in preparation)

**Regulation of IκB and MCP-1 by Angiotensin Type 2 Receptor-activated SHP-1 in Fetal Vascular Smooth Muscle Cells**

Lan Wu, Tai-Xing Cui, Li-Juan Min, Jian-Mei Li, Tetsuya Shiuchi, Midori Okumura, Masaru Iwai, Masatsugu Horiuchi

## 心血管リモデリングにおけるアンジオテンシンⅡ受容体サブタイプの機能解析 ～サイトカイン産生調節との関連～

研究者氏名	呉 蘭
中国所属機関	広東医学院・生物化学・講師
日本研究機関	愛媛大学医学部医化学第一講座
指導責任者名	教授 堀内正嗣
共同研究者名	岩井 将, 崔 泰興, 浜井盟子

### 要旨：

心血管リモデリングにおけるアンジオテンシンⅡ受容体サブタイプの機能とその刺激伝達因子について特にケモカイン・サイトカインの発現調節に焦点をおいて解析した。その結果、炎症反応を含めた心血管リモデリングにおいてアンジオテンシンⅡは重要な調節因子であることが確認されたが、その作用は、AT1受容体を介したリモデリング促進作用に対し、AT2受容体の刺激が拮抗的に作用するという調節機序をとっていることが新たに判明した。さらに、このAT2受容体の機能発現に、IRF-1やSHP-1などのホスファターゼが重要な因子であることが明らかとなった。

**Key Words** アンジオテンシンⅡ, 心血管リモデリング, MCP-1, IRF-1

### 緒言：

アンジオテンシンⅡは昇圧作用のみでなく、近年、心血管リモデリングにも重要な役割をもつことが報告されている。アンジオテンシンⅡは2種の受容体サブタイプを有しており、それぞれAT1およびAT2とよばれている。心血管を中心にほとんどの臓器に分布しているAT1受容体に対し、AT2受容体は成体ではほとんど発現がみられないが、心血管障害など病的変化に伴い再発現するという特徴をもつ。指導責任者である堀内らはAT2受容体をクローニングし、その心血管障害における作用機構を中心に研究を行ってきたが、最近サイトカインにより産生されるIRF-1がAT2受容体発現に深く関与することを報告した。そこで、本研究においては、心血管障害に伴うサイトカイン産生と、AT2受容体発現および心血管リモデリングの関わりについて、AT2受容体遺伝子欠損マウス・IRF-1遺伝子欠損マウスを用いて解析を行った。

### 対象と方法：

1) カフ血管傷害モデルにおける検討：マウスの大腿動脈周囲にポリエチレンチューブをカフ状に留置して炎症性血管傷害を誘発し、傷害血管における新生内膜形成・細胞増殖について形態学的・組織学的に検討し、またケモカインであるMCP-1の発現・サイトカインであるTNF- $\alpha$ 、IL-6の発現についてNorthern blot、Western blotにより調べた。これらの変化についてAT2受容体遺伝子欠損マウス、IRF-1遺伝子欠損マウスにおいても検討した。

2) 圧負荷心肥大モデルにおける検討：マウスの腹部大動脈を狭窄させることにより心臓に圧負荷をか

け心肥大モデルを作成し、肥大心における冠動脈肥厚および線維化を組織学的に検討した。また、AT2 受容体の発現、MCP-1 の発現、TNF- $\alpha$ 、IL-6 の発現について測定した。これらの変化について AT2 受容体欠損マウスにおいても検討した。

3) 培養血管平滑筋細胞を用いた検討：ラットより胎児期の血管平滑筋細胞を分離し継代培養を行う。この培養血管平滑筋細胞にアンジオテンシン II を作用させ、MCP-1 の発現を Northern blot にて検討し、用量依存性と時間経過について調べた。さらに、このアンジオテンシン II の作用に対し、AT1 受容体ブロッカーおよび AT2 受容体ブロッカーを添加した場合の変化を調べた。

**結果：**

1) カフ血管傷害における AT2 受容体の役割

マウス大腿動脈周囲にカフを留置し、血管傷害を引き起こすと傷害血管における AT1 受容体の発現増加と AT2 受容体の発現が認められるとともに、新生内膜形成、DNA 合成増加、MCP-1・TNF- $\alpha$ 、IL-6 の発現増加が引き起こされた。AT2 受容体遺伝子欠損マウスを用いて同様に血管傷害を誘発した場合には、野生型マウスよりも、これらの変化が増強していた。また、AT1 受容体ブロッカーである valsartan を投与すると、血管傷害時の変化が抑制されるが、valsartan の抑制効果は AT2 受容体欠損マウスにおいて減弱していた (図 1、図 2)。さらに、IRF-1 遺伝子欠損マウスを用いて血管傷害を誘発すると、AT2 受容体欠損マウスの場合と同様にリモデリングの増強が認められた。

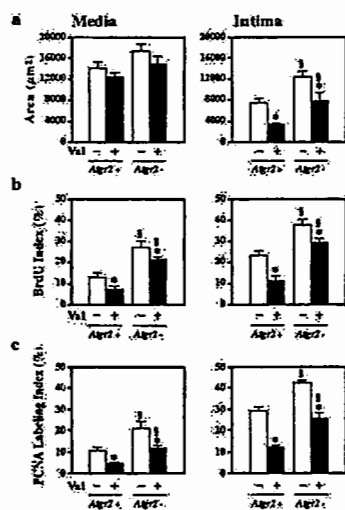


図 1

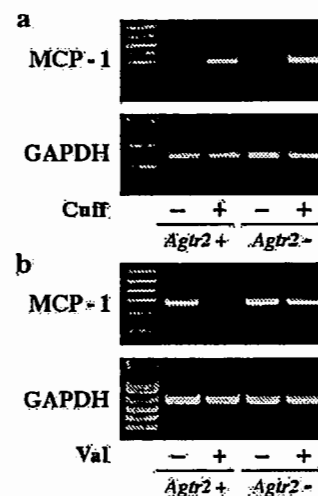


図 2

2) 心肥大モデルにおける AT2 受容体の役割

マウス心肥大モデルにおいても、冠動脈の肥厚および冠動脈周囲の線維化が認められ、これらの変化は AT2 受容体遺伝子欠損マウスにおいて野生型マウスよりも増強しており、また valsartan による抑制効果も野生型マウスよりも AT2 受容体遺伝子欠損マウスにおいて減弱していた。AT2 受容体の発現は、肥大心の特に冠動脈平滑筋層に認められた。

### 3) 培養血管平滑筋細胞を用いた検討

ラット胎児期の血管平滑筋細胞を分離培養し、アンジオテンシン II を作用させると MCP-1 の発現が増加した (図 3)。この増加は、AT1 受容体ブロッカーである valsartan により抑制され、AT2 受容体ブロッカーである PD123319 を作用させると逆に増強した。さらに、細胞内に変異 SHP-1 を過剰発現させるとアンジオテンシン II による MCP-1 発現がさらに増加した。

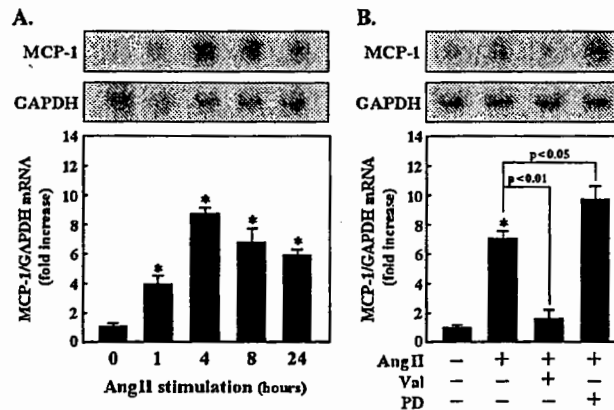


図 3

#### 考察:

本研究における実験結果において、カフ血管傷害と圧負荷心肥大の双方において、その傷害に伴う形態学的変化と炎症反応および線維化が、AT1 受容体ブロッカーにより抑制されたことから、心血管リモデリングにおいてアンジオテンシン II が AT1 受容体を介して促進的に作用することが確認された。また、これら病態モデルにおいて病変部位に発現しており、心血管リモデリングが AT2 受容体欠損マウスにおいて増強すること、および AT1 受容体ブロッカーの抑制作用が AT2 受容体欠損マウスにおいて減弱していた結果から考察すると、AT2 受容体は心血管リモデリングに対し AT1 受容体に拮抗するかたちで抑制的に作用することが判明した。

さらに、この AT2 受容体の作用を細胞レベルで確認するために、培養血管平滑筋細胞を用いて検討を行ったが、その結果、AT1 受容体を介した刺激が MCP-1 の産生を増加させ、AT2 受容体を介した刺激はこれに拮抗して MCP-1 産生に対し抑制的に作用することが明らかとなった。さらに、IRF-1 が AT2 受容体の作用発現に関与しており、また AT2 受容体を介した刺激伝達系において SHP-1 が重要な役割を担っていることも判明した。

#### 参考文献:

1. Akishita M, Horiuchi M, Yamada H, et al.: Inflammation influences vascular remodeling through AT2 receptor expression and signaling. *Physiol Genomics*. 2:13-20 (2000).
2. Cui T-X, Nakagami H, Iwai M, et al.: Pivotal role of tyrosine phosphatase SHP-1 in AT2 receptor-mediated apoptosis in rat fetal vascular smooth muscle cell. *Cardiovasc Res*. 49:863-871 (2001).
3. Lan W, Iwai M, Nakagami H, et al.: Roles of angiotensin II type 2 receptor stimulation associated with selective angiotensin II type 1 receptor blockade with valsartan in the improvement of inflammation-induced vascular injury. *Circulation*. 104:2716-2721 (2001).

注：本研究の成果については、2002年10月11日から13日に開催された「第25回日本高血圧学会総会・国際セッション」にてポスター発表、また2002年11月17日から20日にアメリカ合衆国シカゴにて開催される American Heart Association の第75回総会にて口演発表。

作成日：2002年10月23日