

- 1583-1599.
- 12) Thanedar, S. & Margolin, W. (2004) *Curr. Biol.*, 14, 1167-1173.
- 13) Daniel, R.A. & Errington, J. (2003) *Cell*, 113, 767-776.
- 14) Mileykovskaya, E. & Dowhan, W. (2000) *J. Bacteriol.*, 182, 1172-1175.
- 15) Romantsov, T., Helbig, S., Culham, D.E., Gill, C., Stalker, L., & Wood, J.M. (2007) *Mol. Microbiol.*, 64, 1455-1465.
- 16) de Vrije, T., de Swart, R.L., Dowhan, W., Tommassen, J., & de Kruijff, B. (1988) *Nature*, 334, 173-175.

塩見 大輔

テキサス大学医学部ヒューストン
(現所属 国立遺伝学研究所)

Mechanism underlying subcellular localization of proteins in *Escherichia coli*

Daisuke Shiomi (University of Texas Medical School at Houston, 6431 Fannin Street, Houston, TX 77030 USA)
(Present address; National Institute of Genetics)

ウロテンシンⅡの動脈硬化促進機構

1. はじめに

ウロテンシンⅡ (urotensin II; UII) は、魚類 goby の脊椎尾部下垂体 (urophysis) から同定された収縮 (tension) に関わる物質として命名され、ソマトスタチン様ペプチドホルモンとして知られていた。魚類では心血管系、腸管、膀胱の平滑筋の収縮や水・Na⁺吸収の制御に関わる UI, UII, UIV 等が存在しているが、UI は哺乳類の corticotropin releasing factor に類似した構造を有していたことから哺乳類ではウロコルチンと呼ばれるようになった。その後 UII 類似ペプチドが哺乳類でも発見されるに至った。

1999 年に Ames らによりヒト UII が最初にクローニングされ¹⁾、同年に複数の研究者により、ヒト UII が orphan receptor GPR14, 別名 sensory epithelium neuropeptide-like receptor の内因性リガンドであることが明らかになった^{1,2)}。この受容体を介して UII は、最強の心血管収縮物質として、また不安/ストレスの神経伝達物質として作用する。本受容体は UII と特異的に結合するため UT 受容体と改名され、UII/UT 受容体に関する研究は循環器学や創薬領域において大きな注目を浴びるに至った。本稿では、既知の心血管収縮作用に加え、我々が最近明らかにした動脈硬化

促進作用に焦点を絞り、UII/UT 受容体の現状を紹介する。

2. ヒト UII の生成と構造

Ames らは、ラット GPR14 のホモログとしてヒト GPR14 をクローニングした¹⁾。この受容体遺伝子を発現させた HEK293 細胞を用い、細胞内 Ca²⁺増加をきたす生理活性ペプチドをスクリーニングした結果、魚類の UII がこれに該当することを見出し、引き続きヒト UII のクローニングに成功した¹⁾。ヒト UII の前駆体である prepro UII の cDNA は 688bp からなり、アミノ酸配列中に酵素切断部位である polybasic proteolytic cleavage site が 3 箇所存在するため、prepro UII_A (139 残基) と prepro UII_B (124 残基) の二つの異なる前駆体が作られる (図 1)¹⁾。いずれの前駆体からも urotensin converting enzyme (UCE) によって同一のアミノ酸 11 個からなるヒト UII (MW: 1388) が生成する (図 1)¹⁾。ヒト UII はジスルフィド結合の分子内架橋による環状構造を有し (図 2)、魚類 goby, ラット, マウスの UII と高い相同性を持つ。特に受容体との結合に重要な環状構造部位 (Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys) は全く同じアミノ酸配列を持つ (図 2)³⁾。一方、UT 受容体は 389 アミノ酸からなる 7 回膜貫通型である。なお UII および UT 受容体の遺伝子座は 1p36-p32, 17q25.3 である⁴⁾。

3. UII/UT 受容体の組織分布と発現調節

ヒト UII および UT 受容体は心血管系、中枢神経系、腎臓をはじめ全身に発現している。ヒトの大動脈、頸動脈、冠動脈における粥状動脈硬化巣での UII/UT 受容体の発現は強く、UII は主に血管内皮細胞やリンパ球から分泌され、UT 受容体は心筋細胞、血管平滑筋細胞、単球/マクロファージ、NK 細胞に多く存在している⁵⁾。UII/UT 受容体の発現は、インターロイキン (IL) 6, IL1β, インターフェロン γ 等の炎症性サイトカインや低酸素によって促進される⁴⁾。また UT 受容体は、酸化 LDL, リポポリサッカリド, TNF-α によっても発現が促進される⁶⁾。しかし、圧負荷やずり応力 (シアストレス) によっては肺動脈内皮細胞の UII 発現は変わらなかったという報告がある。他には、ラット頸動脈にバルーン擦過傷を加えると、UII 発現は内膜増殖とともに増強する⁷⁾。動脈硬化モデル動物である ApoE ノックアウトマウスでは加齢 (28 週齢) とともに大動脈における UT 受容体の発現が増強する。ヒトにおいては、動脈硬化巣以外では糖尿病性腎や不全心において UII/UT 受容体は強発現している。

循環血液中の UII は、主に心血管系、肝臓、腎臓で産

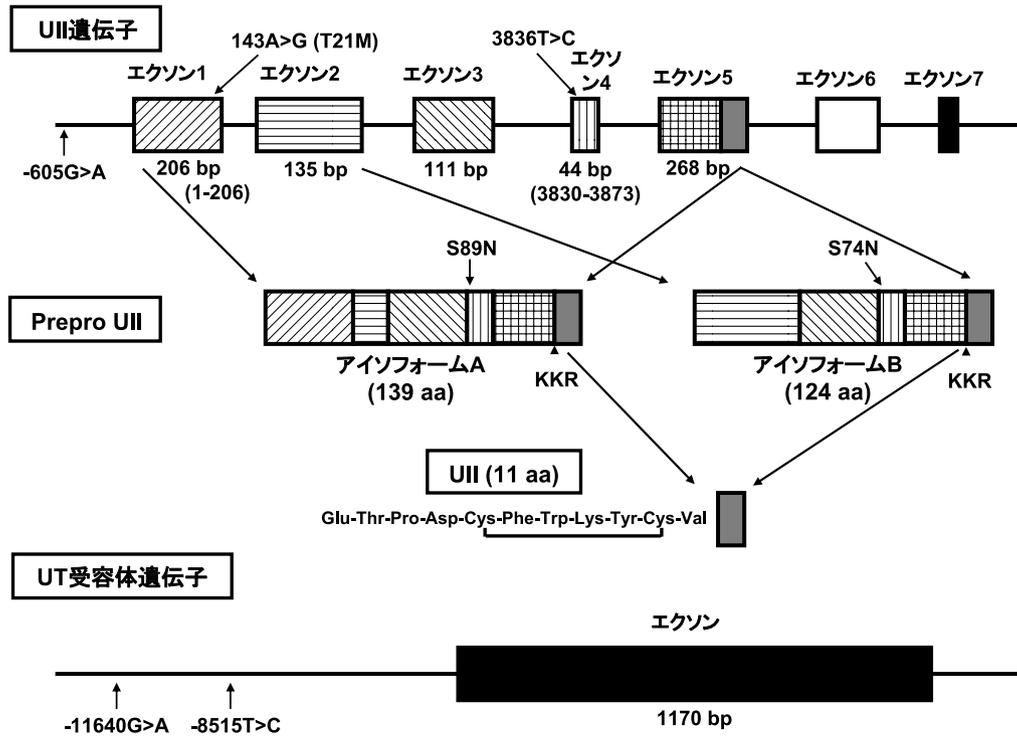


図1 ヒトウロテンシンII (UII) の生成

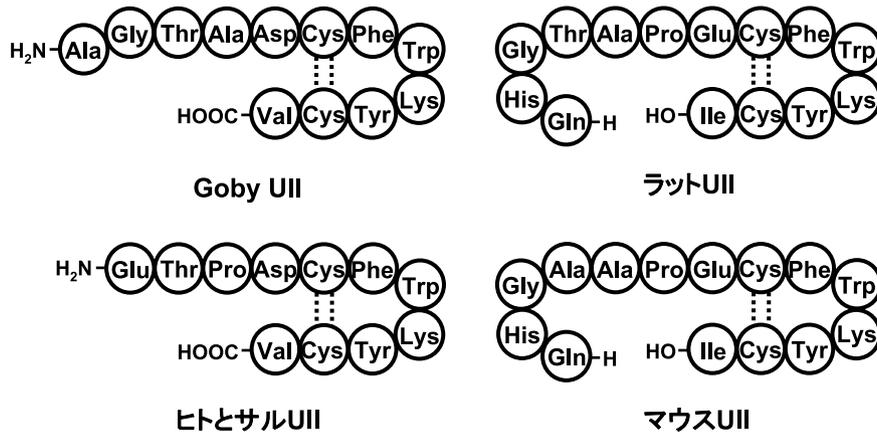


図2 ウロテンシンII (UII) の構造

生・分泌され⁸⁾、血漿UII濃度は健常人では約2 ng/ml (1.4-3.6 ng/ml)である(最新のELISAキットで測定したデータに限る⁹⁾。またヒトの尿中には血中より高濃度のUIIが認められる。UIIは尿管と腎血管の内皮細胞に存在し、ヘンレのループの太い上行脚を含んだ遠位尿管に強く発現しており、腎血流や電解質の調節に関与していると考えられている。

4. UIIの動脈硬化促進作用

我々は、本態性高血圧患者ならびに健常者の血漿UII濃度と動脈硬化の進展度との関係を検討し、本態性高血圧患者の血漿UII濃度は有意に高値であることを明らかにした⁹⁾。血漿UII濃度と頸動脈エコー上の内膜-中膜肥厚度やプラークの進展度との間には正の相関が見出された⁹⁾。他の危険因子との比較においてもUIIは、プラーク形成に関

する独立した危険因子であることが判明した⁹⁾。また Heringlakeらは、血漿 UII 濃度が冠動脈病変の重症度に正相関することを報告している¹⁰⁾。

最近我々は、9週齢のアポEノックアウトマウスにUIIをosmotic mini-pumpを用い4週間持続投与すると血中の活性酸素種(ROS)や酸化LDLの濃度が増加し、大動脈の血管壁肥厚や著明なプラークの形成、同部のマクロファージの浸潤・集積を認め、生食を投与したアポEノックアウトマウスに比べ、動脈硬化の進展が更に増強することを見出した。そのメカニズムは、UIIがマクロファージに発現する細胞内コレステロールエステル化酵素であるacyl-CoA: cholesterol acyltransferase-1(ACAT1)および酸化LDLを認識するスカベンジャー受容体のCD36やSRAの発現を増加させ、UIIがマクロファージの泡沫

表1 血管壁細胞でのUIIの動脈硬化促進作用

血管内皮細胞 透過性↑ コラーゲン1発現↑ MMP1発現↓ 増殖↑ アポトーシス↓	単球/マクロファージ 単球の遊走↑ 泡沫化↑ ACAT1発現↑ SRA, CD36発現↑ ABCA1発現→
血管平滑筋細胞 内皮依存性拡張↓ 内皮非依存性収縮↑ Fアクチン↑ NADPHオキシダーゼ(p22phox, NOX4)発現↑ RhoA発現↑ FAK発現↑ PAI-1発現↑ 遊走↑ 増殖↑	線維芽細胞 コラーゲン合成↑ 増殖↑

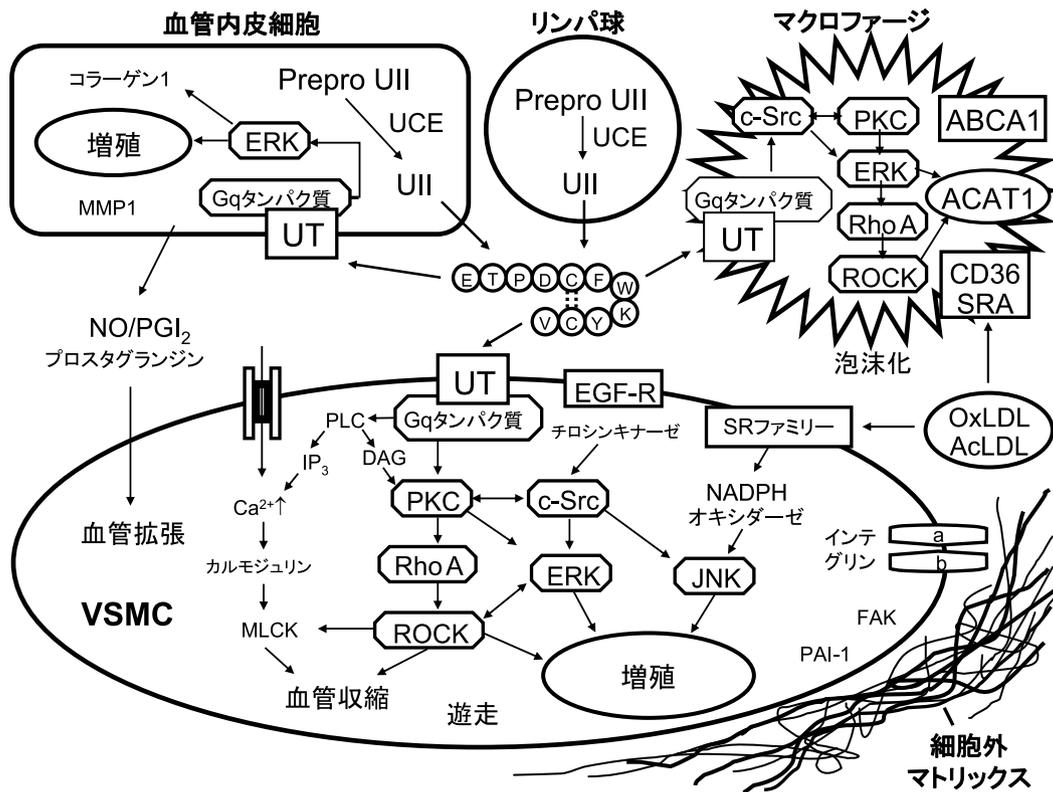


図3 血管壁細胞におけるウロテンシン II (UII) のシグナル伝達

ABCA1=ATP-binding cassette transporter A1, ACAT1=acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase 1, DAG=ジアシルグリセロール, EGF-R=上皮細胞増殖因子受容体, ERK=extracellular signal-regulated kinase, FAK=フォーカルアドヒージョンキナーゼ, IP₃=イノシトールトリスリン酸, JNK=c-Jun N-terminal kinase, LDL=低密度リポタンパク質, MLCK=ミオシン軽鎖キナーゼ, NADPH=ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸, NO=一酸化窒素, PAI-1=plasminogen activator inhibitor-1, PGI₂=プロスタサイクリン, PKC=プロテインキナーゼC, PLC=ホスホリパーゼC, ROCK=Rhoキナーゼ, SRA=スカベンジャー受容体クラスA, UCE=urotensin-converting enzyme, VSMC=血管平滑筋細胞

化(コレステロールエステル蓄積)を促進させたことを明らかにした(投稿中)。

UIIは、血管壁細胞に直接作用し動脈硬化を惹起・進展させることが知られている(表1)。血管内皮細胞の透過性を高め、コラーゲン1発現を促進し、内皮細胞の増殖促進とともにアポトーシスを抑制する⁴⁾。単球に作用して走化性を亢進させ⁶⁾、単球を動脈硬化巣に遊走させる。ヒト単球由来マクロファージでのUIIによるACAT1発現増強には、UT受容体/Gタンパク質/c-Src/PKC/ERK経路およびRhoA/Rhoキナーゼ経路が介在していることを我々は証明した(図3)¹¹⁾。血管平滑筋細胞に対してUIIは、内皮依存性の血管拡張作用を抑制する。この作用は特に血管内皮細胞障害下で顕著である。本来の作用である強力な血管収縮作用に加え、UIIは血管平滑筋細胞の内膜への遊走、増殖を促進させる⁴⁾。またNADPHオキシダーゼ(p22phox, NOX4)発現を促進しROSを産生させる¹²⁾。UIIはROS、酸化LDL、リゾホスファチジルコリン、セロトニンと相互作用して血管平滑筋細胞の増殖作用を相乗的に促進させる^{13,14)}。この作用には、UT受容体/Gqタンパク質/c-Src/PKC/ERK経路およびredox感受性JNK経路が関与している(図3)^{13,15)}。更に血管平滑筋細胞でのRhoA, FAK, PAI-1発現を促進し、細胞遊走や細胞外基質との接着、フィブリンの蓄積等に関与する⁴⁾。UIIは、線維芽細胞によるコラーゲンの合成や細胞増殖も促進させる⁴⁾。

今後、UIIまたはUT受容体の遺伝子改変動物を用いて動脈硬化の発症、進展におけるUII/UT受容体システムの役割が更に解明されることが期待される。

5. UIIと動脈硬化関連疾患との関係

日本人や中国人の本態性高血圧や2型糖尿病の発症に関わる候補遺伝子として、UII遺伝子多型があることが報告されている⁴⁾。またUII/UT受容体は、冠動脈病変部に強く発現し、炎症性サイトカインや虚血(低酸素)によって発現が促進される。ヒト動脈硬化巣ではUIIは主に血管内皮細胞やリンパ球から分泌され、UT受容体は心筋、血管平滑筋細胞および単球/マクロファージに多く存在している⁵⁾。

血漿UIIは、虚血性心疾患、心不全、糖尿病、腎不全等の内皮細胞障害をきたす疾患で増加している⁴⁾。虚血性心疾患の場合、急性心筋梗塞の発症直後には血漿UII濃度は著明に増加し、時間とともに減少する傾向にある。しかし、冠動脈病変が存在する限り高値のままであり、冠血行再建術を施行しても再狭窄が生じると高くなる⁴⁾。

我々のデータでは血漿UII濃度は、その他の動脈硬化関連疾患、すなわち脳梗塞後に発症する血管性認知症、睡眠時無呼吸症候群、糖尿病性網膜症等において有意に増加しており、これらの疾患の病因、病態に深く関与していることが示唆される(投稿中)。また高血圧性または糖尿病性腎症においては、尿中UIIの増加が認められ、腎症の合併を示す指標ともなる。他にUIIは血中の遊離脂肪酸を増加させたり、膵臓からのインスリン分泌の抑制や末梢組織でのインスリン抵抗性を示すことも報告されている⁴⁾。以上に加え、UIIは摂食(肥満)や喫煙との関連も証明され、生活習慣病やメタボリック症候群のメディエーターとして重要視されてきている¹⁶⁾。

6. 治療への応用

最近約10年間、UT受容体の拮抗剤は難治性高血圧や心不全の治療薬、抗不安薬として開発が進められてきた。

我々は、UT受容体の選択的拮抗剤である4-aminoquinolineを用いることにより、培養ヒト単球由来マクロファージにおいてUII誘発性のACAT1発現促進を抑制し¹¹⁾、前述のアポEノックアウトマウスにおいてUII誘発性の動脈硬化促進作用を解除することができた。また、9週齢のアポEノックアウトマウスにUII投与無しに本薬剤のみを8週間持続投与すると動脈硬化病変の進展を食止められることも明らかにした(投稿中)。また、Rakowskiらは、UT受容体拮抗剤のSB611812がラット頸動脈のバルーン傷害後の内膜肥厚による再狭窄を抑制したと報告している⁷⁾。最近の臨床研究では、UT受容体拮抗剤であるpalosuran⁸⁾、糖尿病性腎障害を合併した高血圧症例に約2週間の経口投与によりタンパク尿を有意に改善させたと報告された¹⁷⁾。その機序としてはpalosuranの腎血流増加作用に起因するものが考えられた。今後、UT受容体拮抗剤の臨床応用による動脈硬化関連疾患の治療戦略の再構築が大いに期待される。

7. おわりに

本稿では、ヒトUIIの生成、構造、発現制御について記し、これまでよく知られてきた最強の心血管収縮作用に加え、我々が見出した動脈硬化促進作用や動脈硬化関連疾患との深い関わりを紹介した。また、UT受容体拮抗剤の抗動脈硬化作用による動脈硬化関連疾患に対する今後の治療戦略を展望した。

1) Ames, R.S., Sarau, H.M., Cambers, J.K., Willette, R.N., Aiyar,

- N.V., Romanic, A.M., Loudon, C.S., Foley, J.J., Sauermelch, C.F., Coatney, R.W., Ao, Z., Disa, J., Holmes, S.D., Stadel, J. M., Martin, J.D., Liu, W.S., Glover, G.I., Wilson, S., McNulty, D.E., Ellis, C.E., Elshourbagy, N.A., Shabon, U., Trill, J.J., Hay, D.W.P., Ohlstein, E.H., Bergsma, D.J., & Douglas, S.A. (1999) *Nature*, 401, 282–286.
- 2) Nothacker, H.P., Wang, Z., McNeill, A.M., Saito, Y., Merten, S., O'Dowd, B., Duckles, S.P., & Civelli, O. (1999) *Nat. Cell Biol.*, 1, 383–385.
 - 3) Guerrini, R., Camarda, V., Marzola, E., Arduin, M., Calo, G., Spagnol, M., Rizzi, A., Salvadori, S., & Regoli, D. (2005) *J. Pept. Sci.*, 11, 85–90.
 - 4) Watanabe, T., Kanome, T., Miyazaki, A., & Katagiri, T. (2006) *Hypertens. Res.*, 29, 375–387.
 - 5) Boussette, N., Patel, L., Douglas, S.A., Ohlstein, E.H., & Giaid, A. (2004) *Atherosclerosis*, 176, 117–123.
 - 6) Segain, J.P., Rolli-Derkinderen, M., Gervois, N., de la Bletiere, D.R., Loirand, G., & Pacaud, P. (2007) *J. Immunol.*, 179, 901–909.
 - 7) Rakowski, E., Hassan, G.S., Dhanak, D., Ohlstein, E.H., Douglas, S.A., & Giaid, A. (2005) *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 39, 785–791.
 - 8) Charles, C.J., Rademaker, M.T., Richards, A.M., & Yandle, T. G. (2005) *Peptides*, 26, 2211–2214.
 - 9) Suguro, T., Watanabe, T., Ban, Y., Kodate, S., Misaki, A., Hirano, T., Miyazaki, A., & Adachi, M. (2007) *Am. J. Hypertens.*, 20, 211–217.
 - 10) Heringlake, M., Kox, T., Uzun, O., Will, B., Bahlmann, L., Klaus, S., Eleftheriadis, S., Armbruster, F.P., Franz, N., & Kraatz, E. (2004) *Regul. Pept.*, 121, 129–136.
 - 11) Watanabe, T., Suguro, T., Kanome, T., Sakamoto, Y., Kodate, S., Hagiwara, T., Hongo, S., Hirano, T., Adachi, M., & Miyazaki, A. (2005) *Hypertension*, 46, 738–744.
 - 12) Djordjevic, T., BelAiba, R.S., Bonello, S., Pfeilschifter, J., Hess, J., & Grolach, A. (2005) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 25, 519–525.
 - 13) Watanabe, T., Pakala, R., Katagiri, T., & Benedict, C.R. (2001) *Circulation*, 104, 16–18.
 - 14) Watanabe, T., Pakala, R., Katagiri, T., & Benedict, C.R. (2001) *J. Hypertens.*, 19, 2191–2196.
 - 15) Watanabe, T., Takahashi, K., Kanome, T., Hongo, S., Koba, S., Katagiri, T., Miyazaki, A., Pakala, R., & Benedict, C.R. (2006) *Hypertens. Res.*, 29, 821–831.
 - 16) Watanabe, T., Kanome, T., & Miyazaki, A. (2006) *Curr. Hypertens. Rev.*, 2, 237–246.
 - 17) Sidharta, P.N., Wagner, F.D., Bohnemeier, H., Jungnik, A., Halabi, A., Krahenbuhl, S., Chadha-Boreham, H., & Dingemans, J. (2006) *Clin. Pharmacol. Ther.*, 80, 246–256.

渡部 琢也

(昭和大学医学部生化学教室)

Urotensin II promotes atherosclerosis
 Takuya Watanabe (Department of Biochemistry, Showa University School of Medicine, 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8555, Japan)