

Role of P2Y6 receptor in Cardiovascular Remodeling

キャロライン, スンギップ

<https://hdl.handle.net/2324/1441171>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（4）



(様式 5)

氏 名 : キャロライン スンギップ

論文題名 : Role of P2Y₆ receptor in Cardiovascular Remodeling
(心血管リモデリングにおける P2Y₆ 受容体の役割)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

【序論】

血行力学的負荷により誘発される心血管組織の形態構造改変(リモデリング)は、心血管機能不全の増悪要因として注目されている。心血管リモデリングの発症・進展には神経体液性因子の関与が示唆されており、実際に、神経体液性因子の受容体を遮断する薬がある程度の臨床的成功を収めている。しかし、心血管病を原因とする死亡者数は依然として多く、より画期的な治療薬開発に結びつく新たな病態形成機構の解明が急務とされている。本論文では、細胞外ヌクレオチドにより活性化される受容体(プリン作動性受容体)に着目した。細胞外ヌクレオチドは、神経終末から放出されるほか、細胞死や炎症、機械的伸展刺激などによっても細胞内から遊離され、細胞膜上のプリン作動性受容体に作用し、細胞内にシグナルを伝達する。プリン作動性受容体にはイオンチャンネル型の P2X 受容体チャンネルと G タンパク質共役型の 7 回膜貫通型 P2Y 受容体が存在する。このうち、P2Y₆ 受容体が血行力学的負荷により生じる心臓リモデリング(線維化)の引き金となる可能性が、P2Y₆ 受容体選択的阻害剤を用いて明らかにされた。しかし、化合物による心筋保護効果が果たして本当に P2Y₆ 受容体阻害によるものかどうかについては依然不明であった。

本研究では、P2Y₆ 受容体が本当に心血管リモデリングの新たな創薬標的分子となるかどうか、P2Y₆ 受容体欠損マウスに病態モデルを掛け合わせることで検討を行った。第 1 章では、アンジオテンシン II (Ang II) 誘発性の血圧増加ならびに組織リモデリングにおける P2Y₆ 受容体の関与を調べた。第 2 章では、大動脈狭窄による圧負荷誘発性の心臓リモデリングにおける P2Y₆ 受容体の関与を調べるとともに、P2Y₆ 受容体のメカノセンシングに関わる新たな分子機構についても解析を行った。

【第1章】

マウスの腹腔内にアンジオテンシン (Ang) II (1mg/kg/day, i.p.) を含んだ浸透圧ポンプを埋め込み、4 週間の持続投与を行なった。野生型マウスで血行動態解析を行った結果、Ang II 投与により著しい血圧上昇だけが観察された。この血圧上昇は P2Y₆ 受容体欠損マウスまたは P2Y₆ 受容体阻害薬 MRS2578 (3mg/kg/day, i.p.) 処置マウスにおいて部分的に抑制されることがわかった。Ang II 投与 4 週間後の野生型マウスで観察される血管周囲および腎糸球体周囲の線維化(コラーゲンの蓄積)が、P2Y₆ 受容体欠損マウスでは有意に抑制されていた。胸部大動脈摘出血管標本において、野生型マウスの大動脈血管では Ang II 慢性投与により内皮依存性の血管弛緩反応が有意に減弱していたのに対し、P2Y₆ 受容体欠損マウスの血管では内皮依存性弛緩反応が有意に保持されていた。血管内皮障害の原因として、酸化ストレスの関与が示唆されている。Ang II 投与後の野生型マウスの血管周囲では酸化ストレスマーカー

である 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE)の発現が増加しており、P2Y₆受容体欠損マウスの血管ではそれが有意に抑制されていた。一方、マウス大動脈血管マグヌス標本に Ang II 刺激を行ったところ一過性の収縮が認められ、この収縮は MRS2578 処置または P2Y₆受容体欠損により約 40%減少した。初代培養のラット大動脈血管平滑筋細胞に Ang II 刺激を行うことで誘発される Ca²⁺応答もまた、MRS2578 処置また P2Y₆受容体のノックダウンにより約 50%減少した。以上の結果から、Ang II は P2Y₆受容体を仲介することで高血圧を誘発することが初めて明らかにされた。

【第2章】

P2Y₆受容体欠損マウスの横行大動脈を狭窄 (transverse aortic constriction; TAC) し、圧負荷を誘発することで心臓リモデリングにおける P2Y₆受容体の役割解析を行った。MRS2578 (3mg/kg/day, i.p.) 投与により TAC 後の心不全が改善されることが以前の研究から明らかにされていたが、P2Y₆受容体欠損マウスでは TAC 後の生存率が野生型マウスのそれと比べて顕著に低下することが新たに見出された。TAC 処置 6 週間後の P2Y₆受容体欠損マウスの左室機能は、野生型マウスのそれと比べて著しく低下しており、形態的にも P2Y₆受容体欠損マウス心臓では心筋細胞の肥大 (心肥大) と線維化が有意に増加していた。さらに、TAC 6 週後の P2Y₆受容体欠損マウス心臓において、生存シグナルとして知られている extracellular signal-regulated kinase (ERK) や Akt の活性化が有意に減弱する一方で、細胞死誘発性の p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) 活性が増大していることも明らかになった。しかしその一方で、TAC 処置 2 週間後のマウス心臓切片を解析したところ、P2Y₆受容体欠損マウスのそれでは心肥大は野生型のそれと同程度に起こっていたものの、間質の線維化が有意に抑制されていた。これらの結果は、P2Y₆受容体が圧負荷による心臓の線維化を仲介する役割を持つ一方で、圧負荷に対する適応シグナルも活性化しており、適応シグナルが欠失することで圧負荷に対する適応ができなくなって結果的に突然死や心不全を誘発しやすくなる可能性が示された。

一方、ヒト P2Y₆受容体に対する full antagonist として作用する MRS2578 が、圧負荷モデルにおいて P2Y₆受容体欠損と相反する結果を示した機構についても解析した。MRS2578 はげっ歯類 P2Y₆受容体を 40%程度しか抑制しないことがわかり、この原因として、げっ歯類 P2Y₆受容体に存在する細胞外インテグリン結合 (RGD) 部位が関与する可能性が示された。さらに、RGD ドメインの変異または MRS2578 処置により、機械伸展刺激による P2Y₆受容体を介した生存シグナル活性化が減弱することを明らかにした。以上の結果から、P2Y₆受容体の RGD ドメインがメカニカルストレスに対する心筋適応を制御している可能性が示された。

【総括】

プリン作動性 P2Y₆受容体の病態生理学的意義については、薬理的阻害剤 MRS2578 を用いた解析が主流であり、得られた知見が実際に P2Y₆受容体阻害によって生じた現象かどうか判別することは困難であった。本論文では P2Y₆受容体欠損マウスを用いることで、血行力学的負荷により誘発される心血管リモデリングにおける P2Y₆受容体の役割を明らかにすることができた。さらに、遺伝子欠損マウスを用いて得られた知見から MRS2578 の反応性を見直すことで、げっ歯類 P2Y₆受容体の機械感受性の分子機構の一端が明らかとなった。上記の成果は P2Y₆受容体が心血管リモデリングの重要な仲介分子となることを強く示唆するものであり、ヒト P2Y₆受容体をアロステリックに制御する化合物が新たな心不全治療薬のシードとなる可能性を示す画期的な知見である。