

アンギオテンシン受容体とアミロイド β タンパク質産生

鄒 鶴

1. はじめに

アルツハイマー病では大脳皮質の広範な神経細胞脱落が起こる。その原因はアミロイド β タンパク質 (amyloid β -protein: $A\beta$) が重合し蓄積するためとされている。したがって、アルツハイマー病の予防・治療法の開発方針として、 $A\beta$ の産生阻害や重合抑制などの治療戦略がとられている。 $A\beta$ は、 β セクレターゼおよび γ セクレターゼによるアミロイド前駆体タンパク質から切断されて産生され、主に $A\beta 40$ と $A\beta 42$ の2種存在し、 $A\beta 40:A\beta 42$ の比はほぼ10:1である。 $A\beta 42$ は凝集しやすく、毒性が高いことから、アルツハイマー病の原因分子だと考えられている。一方、高血圧はアルツハイマー病あるいは認知症の危険因子として報告され、特に中年期の高血圧はアルツハイマー病発症との関連が深い。レニン・アンギオテンシン系は重要な血圧調節機構として100年以上前に発見され、現在も基礎から大規模臨床試験まで幅広い研究が行われている。アンギオテンシン受容体ブロッカー (angiotensin receptor blocker: ARB) やアンギオテンシン変換酵素阻害剤をはじめとするレニン・アンギオテンシン系の阻害薬は、高血圧の治療に応用されている。臨床疫学研究ではARB投与が認知障害の発症を抑制するという結果が報告されている。一方、筆者らの研究から、いくつかのARBが $A\beta$ の産生に影響を与えることが明らかとなった。さらに、筆者らは、アンギオテンシン受容体タイプ1a (angiotensin receptor type 1a: AT1a) 欠損のアルツハイマー病モデルマウスにおいて、 $A\beta$ 産生および脳内の $A\beta$ 蓄積が減少していることを見いだした。ヒトでは、マウスAT1aに相当するAT1は、血圧調節に中心的な役割を担っており、高血圧治療のためにARBが臨床に広く用いられている。本稿では、 $A\beta$ 産生および脳内の $A\beta$ 蓄積におけるAT1の関与について考察したい。

2. アルツハイマー病とARB

アルツハイマー病は、認知症の原因の約60%を占める進行性の神経変性疾患である。アルツハイマー病の病理学上の特徴は、老人斑と神経原線維変化を伴う神経細胞脱落である。老人斑は $A\beta$ からなり、 $A\beta$ がアミロイド前駆体タンパク質から β セクレターゼおよび γ セクレターゼにより切り出される。アルツハイマー病の発症機序には、 $A\beta$ の凝集・沈着が引き金となって、神経原線維変化、神経細胞脱落、ひいては認知症を引き起こすというアミロイドカスケード仮説が最も有力視されている¹⁾。

近年の疫学研究では、アルツハイマー病の発症は血圧調節と関連していることが明らかとなってきた。特に中年期の高血圧はアルツハイマー病の主な危険因子の一つであり、中年期の高血圧が起因しているアルツハイマー病患者は全体の約5%を占めている。一方、晩年期の低血圧、あるいは降圧剤を服用している低血圧患者はアルツハイマー病を発症しやすいことが報告されている²⁻⁴⁾。レニン・アンギオテンシン系は、血圧と体液恒常性を調節するきわめて重要な内分泌系である。レニンは、アンギオテンシンノーゲンのN末端から10個のアミノ酸であるアンギオテンシンIを切り出す。アンギオテンシンIは、アンギオテンシン変換酵素によって、C末端から2個のアミノ酸が切り出されて8個のアミノ酸であるアンギオテンシンIIになる。アンギオテンシンIIは、AT1を介して血管収縮やアルドステロン分泌を引き起こし、血圧を制御している。脳内では独自のレニン・アンギオテンシン系が存在し、記憶、ストレス、脳血流、渇き感などを制御している⁵⁾。興味深いことに、アンギオテンシンIIは、学習能力と記憶を阻害することが報告されている。一方、アンギオテンシンIVは、アンギオテンシン受容体タイプ4 (angiotensin receptor type 4: AT4) を介して記憶の獲得と定着を促進している⁶⁾。これらの知見は、アルツハイマー病の発症にAT1が何らかのメカニズムで関与している可能性を示唆している。

2007年にWangらは、ARBであるvalsartanが $A\beta 42$ の凝集を阻害し、アルツハイマー病モデルマウスの $A\beta$ 沈着や記憶を改善したことを報告した⁷⁾。2010年にDanielyanらは、losartanが抗炎症作用を持ち、 $A\beta$ 沈着を減らしたことを見いだしている⁸⁾。さらに、ARBを服用している高血圧

岩手医科大学薬学部神経科学講座 (〒028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田2-1-1)

Regulation of $A\beta$ production by angiotensin receptor type 1a

Kun Zou (Department of Neuroscience, School of Pharmacy, Iwate Medical University, 2-1-1 Nishitokuta, Yahaba, Iwate 028-3694, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2016.880771

© 2016 公益社団法人日本生化学会

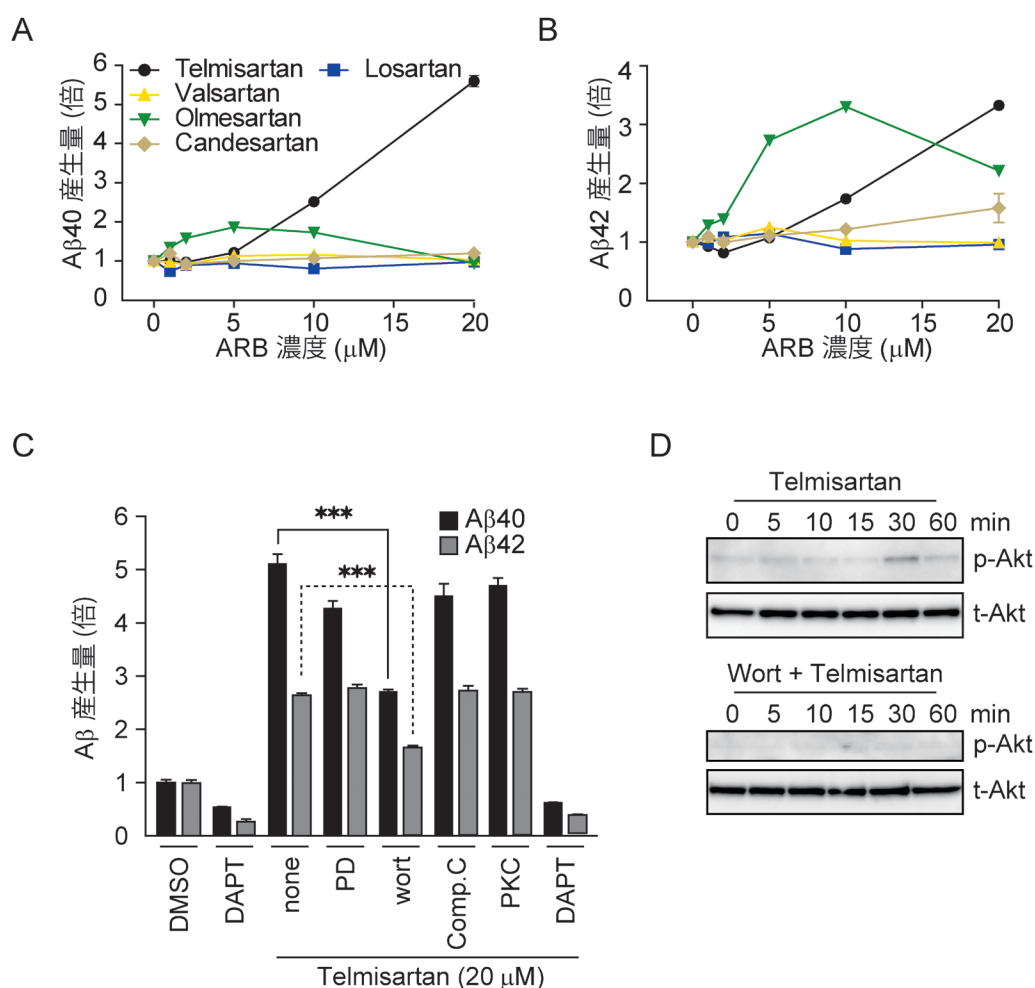


図1 telmisartanのAβ産生増強作用

(A, B) 各種ARBをAPP発現線維芽細胞に添加し、72時間後に培地中のAβ40およびAβ42をELISAで検出した。この結果、telmisartanとolmesartanは、Aβ産生増強作用を示した。(C) APP発現線維芽細胞にγセクレターゼ阻害剤やキナーゼ阻害剤を添加した後、telmisartanのAβ産生増強作用を解析した。PI3キナーゼ阻害剤のwortmanninによりtelmisartanのAβ産生増強作用が抑制された。*** $P < 0.001$ 。(D) APP発現線維芽細胞にtelmisartanを添加し、Aktのリン酸をウェスタンブロットで検出した。telmisartanはAktのリン酸化を促進し、この作用がwortmanninに阻害された。DMSO: dimethyl sulfoxide. DAPT: *N*-[*N*-(3,5-difluorophenyl)-*L*-alanine]-*S*-phenylglycine *t*-butyl ester, γセクレターゼ阻害剤。PD: PD98059, MAPキナーゼ阻害剤。wort: wortmannin, PI3キナーゼ阻害剤。Comp. C: compound C, AMP活性化キナーゼ阻害剤。PKC: タンパク質キナーゼC阻害剤。

の患者は、アルツハイマー病の発症リスクが低くなることも報告されている⁹⁾。しかし、これらのARBの作用が、Aβ産生・代謝へ影響を与えるのか否か、その分子機序を含め不明である。筆者らは、ARBがAβ産生を抑制するのではないかと予想したが、興味深いことに、ARBが種類によってAβ産生を促進する作用を持つことが明らかとなった(図1)。筆者らは、まず、活性型ARBであるtelmisartanとvalsartanが、Aβ産生において異なる作用を持つことを示した。valsartanはAβ産生に影響を示さないが、telmisartanはAβ40とAβ42の産生をそれぞれ約6倍、3倍に増強した。また、非活性型のlosartan, candesartanおよびolmesartanのうち、olmesartanのみがAβ産生促進作用を示し、特

にAβ42の産生を約3倍増強した(表1)。筆者らはさらに、AT1のシグナル伝達系を阻害剤を用いてスクリーニングし、telmisartanのAβ産生増強作用がPI3キナーゼの阻害剤wortmanninにより顕著に阻害されることを見いだした。また、PI3キナーゼ下流のAktのリン酸化もtelmisartan処理により増強されることも明らかとなった(図1)。これらのシグナル活性化は、アンギオテンシンIIとその受容体AT1のシグナル伝達に類似している。また、AT1aの欠損細胞では、telmisartanがAβ産生の増強作用を示さなかった。これらの結果は、telmisartanやolmesartanがAT1と結合し、PI3キナーゼおよびAktのリン酸化を介してAβ産生を促進することを示唆した。本研究で使用したARBとAT1との

表1 ARBのA β 産生促進作用およびAT1との親和性

ARB	活性型/非活性型	A β 産生促進作用	AT1との親和性
telmisartan	活性型	あり	++++
olmesartan	非活性型	あり	+++
candesartan	非活性型	なし	++
valsartan	活性型	なし	+
losartan	非活性型	なし	+

結合の強さは、telmisartan>olmesartan>candesartan>valsartan \geq losartanの順に報告されており（表1）、ARBとAT1との強い結合がアンギオテンシンIIシグナルを抑制できる一方、AT1の一部のシグナル伝達を活性化する可能性が示唆される¹⁰⁾。

3. AT1とA β 産生

最近の研究によると、アンギオテンシンIIは、学習能力と記憶を阻害することが明らかにされている。Ducheminらは、マウスの皮下に浸透性ポンプによりアンギオテンシンIIを慢性的に投与し、高血圧や空間記憶障害を生じたことを報告した¹¹⁾。また、Totaらによると、ラットの脳室に急性にアンギオテンシンIIを注射したところ、やはり記憶障害を観察している。アンギオテンシンIIの投与に伴い、脳血流およびアセチルコリンの減少や酸化ストレスの増加などが確認された¹²⁾。一方、我々の結果から、telmisartanのAT1刺激によりA β 産生が増強され、脳内のA β 沈着がAT1により制御されている可能性が示唆された。

そこで、筆者らは、まず、アンギオテンシンIIがA β 産生を促進するか否かを検討した。telmisartanのA β 産生増強作用より弱い、アンギオテンシンIIにも確かにA β 40およびA β 42の産生増強作用がみられた（図2A）。マウスでは、AT1aとAT1bの2種類の遺伝子アイソフォームがあり、アンギオテンシンIIのシグナル伝達は、ほとんどAT1aを介している。次に、筆者らは、AT1aがA β の産生・沈着にどのように影響を与えるのかを検討するため、AT1a欠損のアルツハイマー病モデルマウスを作製し、A β 沈着の変化を検討した。thioflavin-S染色の結果、AT1a欠損マウスは脳内におけるA β 沈着が明らかに減少している（図2B）。thioflavin-Sは、コンパクトなアミロイド沈着の β シート構造に結合し、アミロイドを可視化している。筆者らが使用したアルツハイマー病モデルマウスでは、沈着したA β のほとんどがA β 42であり、A β 40はごく少量しか検出されないため、これらのコンパクトなアミロイドはA β 42の沈着と考えられる。A β 42の免疫染色の結果、やはりA β 42の沈着がAT1a欠損マウスでは明らかに減少して

いた。さらに、AT1a欠損APPマウスの初代培養線維芽細胞では、A β 産生が著しく減少したことを見いだした（図2C）。このことは、A β 産生に関わる β セクレターゼ、あるいは γ セクレターゼ複合体の活性の変化を意味している。プレセリン1は、N末端フラグメント（N-terminal fragment：NTF）とC末端フラグメント（C-terminal fragment：CTF）に切断されてから γ セクレターゼの活性を持つようになり、 γ セクレターゼ複合体の中で中心的な役割を担っている。興味深いことに、AT1a欠損マウス脳内のプレセニン1の全長が増え、切断されたプレセニン1CTFが減少していることがわかった。それに伴い、 γ セクレターゼ複合体の構成分子のニカストリン（Nicastrin：NCT）、Aph-1およびPen-2のタンパク質量も減少した（図2D）。このことは、AT1欠損が γ セクレターゼ複合体の量を低下させ、A β 産生を阻害することを示唆するものである。筆者らは、これらの分子機序を詳しく検討した結果、telmisartanのシグナル伝達と同様にアンギオテンシンIIが、AT1、PI3K、Aktを介してプレセニン1の切断を促進し、さらに γ セクレターゼ複合体形成を促進することを明らかにした（図3）¹³⁾。最近の疫学研究によると、ARBがヒトのA β 沈着やtauタンパク質の量を減少させることが明らかにされている¹⁴⁾。これらの結果も、AT1欠損がA β 産生を抑制するという筆者らの結果とよく一致している。しかし、ARBは種類によってA β 産生を増強させるものもあり、さらに種類別にA β 沈着やアルツハイマー病の発症への影響を詳しく調査する必要があると思われる。

4. A β 産生に及ぼすGタンパク質共役型受容体の多彩な影響

これまでの研究では、さまざまなGタンパク質共役型受容体（GPCR）がアミロイド前駆体タンパク質の代謝やA β の産生に関わっていることが明らかにされている¹⁵⁾。まず、分泌型APPの産生に影響するGPCRが複数報告されている。分泌型アミロイド前駆体タンパク質は、 α セクレターゼにより切断されて産生され、A β の産生量と逆相関している。ムスカリン性アセチルコリン受容体のM1とM3の刺激が分泌型アミロイド前駆体タンパク質を増加させ、結果としてA β 産生を抑制することが報告されている。また、代謝型グルタミン酸受容体（metabotropic glutamate receptor：mGluR）は、アミロイド前駆体タンパク質の代謝に異なる作用を示している。グループIに属するmGluR1とmGluR5の刺激は、分泌型アミロイド前駆体タンパク質の産生およびA β 凝集抑制作用を持つA β 40の産生を促進している。一方、グループIIに属するmGluR2とmGluR3の刺激は、凝集性の高いA β 42を増加している。さらに、一部のセロトニン受容体（5-hydroxytryptamine

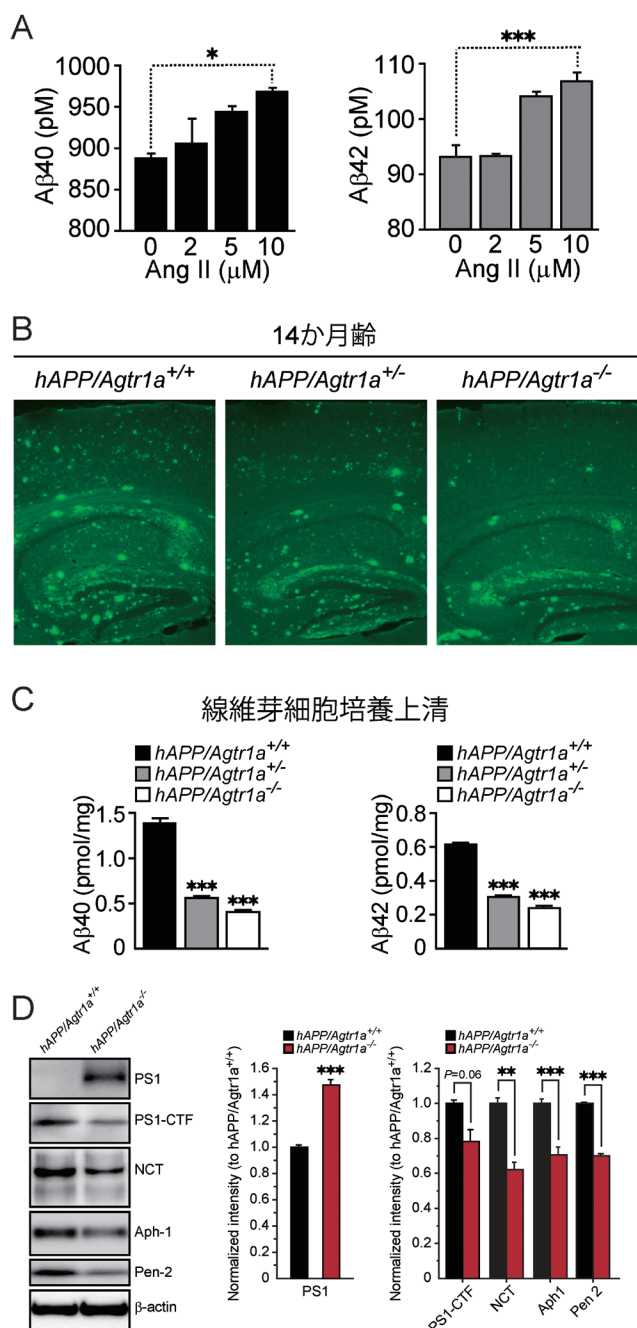


図2 AT1a欠損APPマウスにおけるAβ沈着の減少

(A) APP発現線維芽細胞にアンジオテンシンIIを添加し、72時間後に培地中のAβ40およびAβ42をELISAで検出した。アンジオテンシンIIは、Aβ産生を有意に増加した。 $*P<0.05$, $***P<0.001$ 。(B) 14か月齢のAT1a欠損APPマウスの脳切片をthioflavin-Sで染色した。その結果、AT1a欠損のAPPマウスでは、Aβ沈着が有意に減少していることが認められた。(C) AT1a欠損APPマウス胎仔の線維芽細胞を初代培養し、Aβの産生量をELISAで測定した。AT1a欠損の線維芽細胞では、Aβ40およびAβ42の産生が明らかに減少した。 $***P<0.001$ 。(D) APPマウスおよびAT1a欠損APPマウスの大脳皮質をホモジネートし、γセクレターゼ複合体の構成分子をウェスタンブロットで検出した。その結果、AT1a欠損APPマウス脳内におけるγセクレターゼ複合体構成分子のPS1-CTF、NCT、Aph-1およびPen-2が減少していることが明らかとなった。 $**P<0.01$, $***P<0.001$ 。

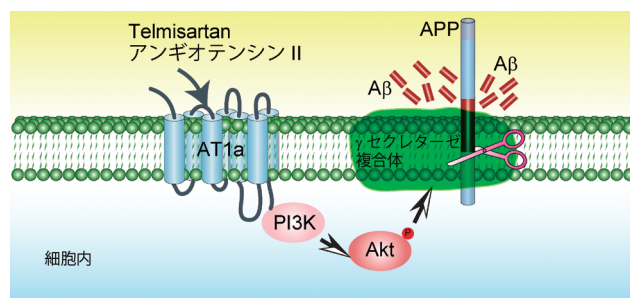


図3 AT1aの活性化によるAβ産生の促進

telmisartanやアンジオテンシンIIがAT1aと結合し、下流のPI3KとAktを活性化させることにより、Aβ産生を促進していることが明らかとなった。一方、AT1aの欠損によりγセクレターゼ複合体の形成が減り、Aβ産生および沈着が低下していることが判明した。

receptor: 5-HT₂Rと5-HT₄Rの活性化は、分泌型アミロイド前駆体タンパク質の増加およびAβ産生の減少をもたらしている。また、5-HT₆Rに結合する阻害剤は加齢ラットの記憶を改善する作用を示し、第II相臨床試験ではアルツハイマー病患者の認知能を改善する効果がみられた。この阻害剤の認知能改善の作用機序は、Aβ産生と無関係で、アセチルコリンの放出増強であると考えられている¹⁵⁾。

さらに、Aβ産生に直接関わっているβセクレターゼとγセクレターゼの活性を促進するGPCRが存在する。たとえば、δオピオイド受容体(δ-opioid receptor: DOR)はβセクレターゼやγセクレターゼの細胞内への移動を促進し、それらの活性を増強している。β₂アドレナリン受容体(β₂-adrenergic receptor: β₂-AR)およびGPCR3はγセクレターゼの活性を促進し、Aβ40およびAβ42の産生を増強している¹⁵⁾。これらの結果は、筆者らが報告したAT1の作用とよく一致している。GPCRを標的とする作動薬や拮抗薬は、薬品の中では最も大きい割合を占めている。既存のGPCR標的薬から、アルツハイマー病に対する治療・予防薬が見いだされる可能性が十分あると考えられる。AT1の阻害薬ARBの中から、降圧効果以外にAβ産生に対する、特にAβ42産生に対する抑制薬の発見が期待される。

謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究は、岩手医科大学薬学部神経科学講座で行われ、多くの実験は劉俊俊博士によって行われました。また、本研究の推進に際して多大な支援をいただきました岩手医科大学薬学部神経科学講座の駒野宏人教授および名古屋市立大学医学部病態生化学講座の道川誠教授に深く感謝を申し上げます。これらの研究は、科学研究費補助金、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業等の支援を受けて行われました。

文 献

- 1) Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D., & Jones, E. (2011) *Lancet*, **377**, 1019–1031.
- 2) Barnes, D.E. & Yaffe, K. (2011) *Lancet Neurol.*, **10**, 819–828.
- 3) Kennelly, S.P., Lawlor, B.A., & Kenny, R.A. (2009) *Ageing Res. Rev.*, **8**, 61–70.
- 4) Mayeux, R. & Stern, Y. (2012) *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, **2**, a006239.
- 5) Wright, J.W. & Harding, J.W. (2013) *Pflugers Arch.*, **465**, 133–151.
- 6) Wright, J.W., Kavas, L.H., & Harding, J.W. (2013) *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **4**, 158.
- 7) Wang, J., Ho, L., Chen, L., Zhao, Z., Zhao, W., Qian, X., Humala, N., Seror, I., Bartholomew, S., Rosendorff, C., & Pasinetti, G.M. (2007) *J. Clin. Invest.*, **117**, 3393–3402.
- 8) Danielyan, L., Klein, R., Hanson, L.R., Buadze, M., Schwab, M., Gleiter, C.H., & Frey, W.H. II. (2010) *Rejuvenation Res.*, **13**, 195–201.
- 9) Davies, N.M., Kehoe, P.G., Ben-Shlomo, Y., & Martin, R.M. (2011) *J. Alzheimers Dis.*, **26**, 699–708.
- 10) Liu, J., Liu, S., Tanabe, C., Maeda, T., Zou, K., & Komano, H. (2014) *Neurosci. Lett.*, **567**, 51–56.
- 11) Duchemin, S., Belanger, E., Wu, R., Ferland, G., & Girouard, H. (2013) *Physiol. Behav.*, **109**, 63–68.
- 12) Tota, S., Goel, R., Pachauri, S.D., Rajasekar, N., Najmi, A.K., Hanif, K., & Nath, C. (2013) *Psychopharmacology (Berl.)*, **226**, 357–369.
- 13) Liu, J., Liu, S., Matsumoto, Y., Murakami, S., Sugakawa, Y., Kami, A., Tanabe, C., Maeda, T., Michikawa, M., Komano, H., & Zou, K. (2015) *Sci. Rep.*, **5**, 12059.
- 14) Hajjar, I. & Levey, A. (2015) *JAMA Neurol.*, **72**, 1069–1070.
- 15) Thathiah, A. & De Strooper, B. (2011) *Nat. Rev. Neurosci.*, **12**, 73–87.

著者寸描

● 鄒 鶴 (ぞう くん)



岩手医科大学特任講師 (薬学部). 博士 (医学).

■略歴 1995年中国大連医科大学医学部卒業. 2001名古屋大学大学院医学研究科博士後期課程修了. 同年国立長寿医療センターリサーチ・レジデント. 03年米国スタンフォード大学医学部博士研究員. 04年国立長寿医療センター日本学術振興会特別研究員. 07年岩手医科大学薬学部

神経科学講座助手. 09年助教. 12年より現職.

■研究テーマと抱負 現在, レニン・アンギオテンシン系とアルツハイマー病発症との関連を研究している. アルツハイマー病の予防, 早期診断および治療法を開発したい.

■趣味 スポーツ観戦, アウトドア.