

綜

説

不全心における心臓リモデリングの抑制

— Small G 蛋白, Rac1 を標的とした治療の可能性 —

伊藤正洋

新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器学分野

The Role of Rac1 in Cardiac Remodeling

Masahiro Ito

Division of Cardiology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

要 旨

心臓では様々な刺激に対し、心筋細胞肥大、間質線維化、各種細胞のアポトーシス等のリモデリングが起こってくる。心臓に不利に働くリモデリングを抑制することは、不全心に対する治療となりうる。本研究では Small G 蛋白のひとつである Rac1 に注目し、その心臓リモデリングに対する役割について検討を行った。

Key words: remodeling, heart failure, small G protein, Rac1

はじめに

慢性心不全は、＜慢性の心筋傷害により心臓のポンプ機能が低下し、末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血液量を絶対的また相対的に拍出できない状態＞と定義される¹⁾。臨床的には、＜安静時もしくは労作時に息切れや倦怠感などの症状や浮腫などがあり、かつ心機能不全の客観的証拠がある状態＞であり、心筋梗塞、高血圧、弁膜症、心筋症など全ての器質的心疾患が至る末期

像である (図 1A)。心臓は様々な原因の負荷により、収縮機能が損なわれると、その構造、形態、質を変化させることでポンプ機能を維持しようとする。しかし、負荷が過剰、または長年にわたると適応が破綻し心機能障害、心不全を引き起こす¹⁾。この心不全の進展に関与する、心筋の構築、機能変化を＜リモデリング＞という用語で包括している。リモデリングの原因としては、圧負荷、容量負荷などの機械ストレス、さらに酸化ストレス、サイトカイン、神経体液性因子等がそのトリガー

Reprint requests to: Masahiro Ito
First Department of Internal Medicine
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757
新潟大学大学院医歯学総合研究科 (循環器学分野)
伊藤正洋

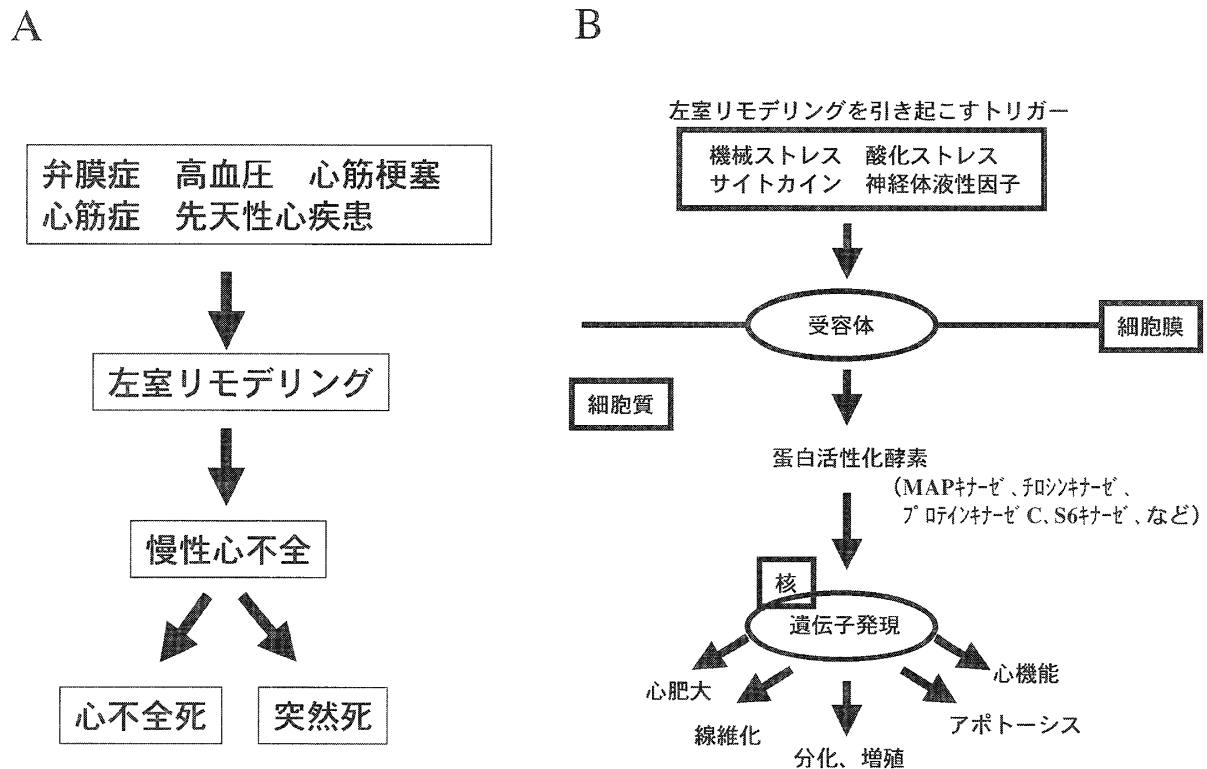


図1

A：左室リモデリングと心不全の関係
B：左室リモデリングの細胞内情報伝達

として関与し、心筋細胞、非心筋細胞（線維芽細胞、血管細胞）、あるいは間質マトリクスの質的、量的な変化を起こす（図1B）²⁾³⁾。慢性心不全症例ではリモデリングが進行するほど心機能の低下、予後の悪化を認め、心臓のリモデリングを抑制することは重要な課題である。

リモデリングの原因となる細胞外の情報から細胞内情報伝達系への変換は、細胞膜表面にある受容体と下流のGTP結合蛋白質に代表される⁴⁾。この分子群は、リン酸化、脱リン酸化、分子のコンフォメーションの変化、分子間結合により、情報の増幅、収束を行っている。細胞内情報伝達系は細胞の増殖、分化、遊走、アポトーシスを誘導し、細胞の運命を決定する重要な機構である。G蛋白（グアニンヌクレオチド結合蛋白質の略称）とはGTPとGDPに結合できる蛋白質の総称である。Small G蛋白（低分子量G蛋白）は様々な

細胞内シグナル伝達系において分子スイッチとして機能している、分子量が20-30kDaの比較的小さな単量体のG蛋白の総称である。Rac1はSmall G蛋白のRhoファミリーに属し、主にアクチン細胞骨格の制御を介して、細胞接着、細胞運動、細胞増殖等を制御していると考えられているが、不明な点も多い⁵⁾⁶⁾。本稿は心臓リモデリングにおけるRac1の役割について、我々の知見を中心に述べる。

Rac1 と心臓

Finkelらのグループが、1998年に低酸素、再還流障害による心筋細胞死にRac1が関与していること⁷⁾、さらにRac1が心筋細胞肥大にも重要な役割を担っていることを明らかにした⁸⁾。さらにSussmanらは心筋特異的にRac1を過剰発現させ

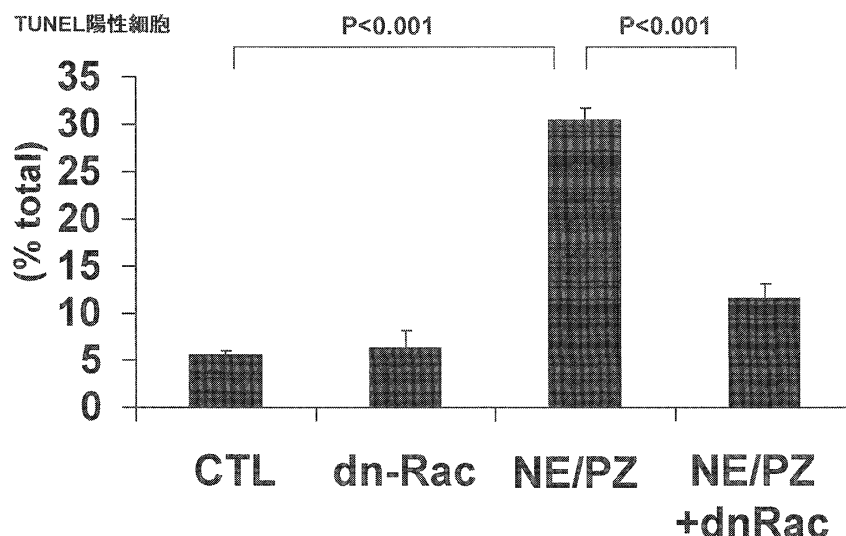


図2 β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシスに対する Rac1 の役割

Rac1 の機能をなくした細胞では、 β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシスが抑制された。

CTL: コントロール, dn-Rac: dominant negative Rac (Rac1 の機能をなくした細胞), NE/PZ: ノルエピネフリン/プラゾシン (β 受容体刺激)

たマウスでは、心拡大、心機能低下を来し致死的になる群と、心筋肥大を来たす群の2つの異なる表現形を呈し、これは Rac1 の発現量の差によるものであろうことを報告した⁹⁾。これらの報告から、心臓の発達、リモデリングに Rac1 が重要な役割を担っていることが示唆される。

Rac1 と心筋細胞アポトーシス

Finkel, Sussman らのグループの報告より、Rac1 が心筋細胞アポトーシスに関与している可能性が示唆された。心筋細胞アポトーシスは心不全の発症、進行に関与しており、その抑制は心臓リモデリングの治療になりうる¹⁰⁾。心不全状態では交感神経系が活性化し、心臓局所ではカテコラミンの過剰刺激が起こっていると考えられる。Colucci らは、 β 受容体刺激により心筋細胞にアポトーシスが引き起こされ、その機序として、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、ミトコンドリアを介するシグナル伝達路が重要な役割を果たすこ

とを報告してきた¹¹⁾¹²⁾。細胞内シグナル伝達において、Rac1 は JNK の上流にあると報告されている。そこで、我々は β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシスへの Rac1 の関与について検討を試みた。ノルエピネフリンと α 受容体遮断薬である prazosin の併用により、 β 受容体刺激を行い、成体ラット培養心筋細胞にアポトーシスを誘導した。その結果、 β 受容体刺激により、心筋細胞では Rac1 が活性化されることを我々は明らかにした。Rac1 の活性化を抑制すると、 β 受容体刺激による TUNEL 陽性細胞 (心筋細胞アポトーシス) は抑制され、さらに β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシス関連経路である、JNK の活性化、cytochrome C の細胞質への放出、caspase-3 活性化は減少した (図2)。これらの結果から、 β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシスには Rac1 が重要な役割を果たすことが明らかになった (図3)¹³⁾。

近年、HMG-CoA 阻害薬、スタチンの心臓に対する有益な作用が多く報告されている。スタチンはコレステロール生合成経路の律速段階である

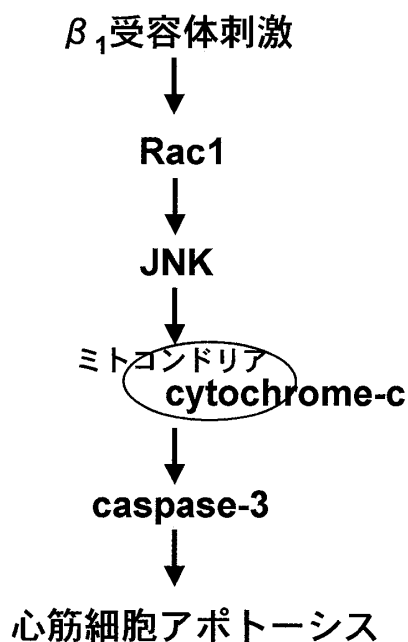


図3 β 受容体から心筋細胞アポトーシスにいたる細胞内情報伝達路

HMG-CoA還元酵素を阻害する、高コレステロール血症治療薬である。スタチンによる、虚血性、非虚血性心不全の心機能、予後改善の報告が近年報告され、その一部はコレステロール低下作用と独立しており、スタチンの pleiotropic effect と言われている¹⁴⁾。すなわちスタチンは、コレステロール低下作用とは独立して細胞内シグナルに直接作用し、多彩な細胞機能を修飾する作用がある¹⁵⁾。コレステロール合成において、その各種中間代謝産物は翻訳後修飾により、Rac1の活性化を促進する。スタチンはこの経路を阻害することで、中間代謝産物産生を抑制し、Rac1の活性化を抑える。そこで、我々は、スタチンがRac1を抑制することで、 β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシスを抑えるか、検討を行った。成体ラット培養心筋細胞を用い、 β 受容体刺激によりアポトーシスを誘導した。低用量のスタチン前投与により、 β 受容体刺激によるRac1活性化、心筋細胞アポトーシスは抑制された。さらに、スタチンの前投与は β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシス関連

経路である、JNKの活性化、cytochrome Cの細胞質への放出、caspase-3活性化の減少を伴っていた。以上の結果は、スタチンがRac1の活性化を抑えることで β 受容体刺激による心筋細胞アポトーシスを抑制することを示しており、スタチンの心臓に対する新たな pleiotropic effect、と考えられた¹³⁾。

Rac1と心房リモデリング

近年、心筋肥大、心筋細胞アポトーシス、間質線維化などの、心房における構造的リモデリングが、心臓病発症の原因として、特に心房細動の発症に重要な役割を持つことが明らかにされつつある¹⁶⁾。心房リモデリングの誘因の一つとして、高血圧症があり、心房細動の増加をもたらす。大規模臨床研究において、アンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACEI)やアンジオテンシン1受容体拮抗薬(ARB)は、心不全ならびに高血圧患者における心房細動の新規発症を抑制することが報告された¹⁷⁾¹⁸⁾。動物実験においても、ACEIならびにARBは、心房リモデリング抑制を介し、心房細動の発症を予防することが示されている¹⁹⁾²⁰⁾。ARBによる心房リモデリング抑制の機序については、左室の血行力学の改善、心房の伸展の抑制などが考えられているが、いまだ不明な点が多い²¹⁾。近年、酸化ストレスが心血管の生理学、病態生理学において重要な役割を果たしていることが明らかにされてきている³⁾²²⁾。活性酸素種は心臓のリモデリングに対して、二次性伝達物質としてのシグナル分子として、あるいは直接心筋細胞を障害することで関与していると考えられている²³⁾²⁴⁾。アンジオテンシンII刺激は活性酸素種を産生し、主な発生源としてNADPHオキシダーゼが考えられている²⁵⁾。Small G蛋白のひとつであるRac1はNADPHオキシダーゼを構成するコンポーネントであり、Rac1の活性はNADPHオキシダーゼの活性と相関する。そこで我々は、高血圧モデルラットにおいて、ARBの心房リモデリングに対する効果、その機序に関する検討を行った。

6週齢の高血圧自然発症ラット(SHR)を未治

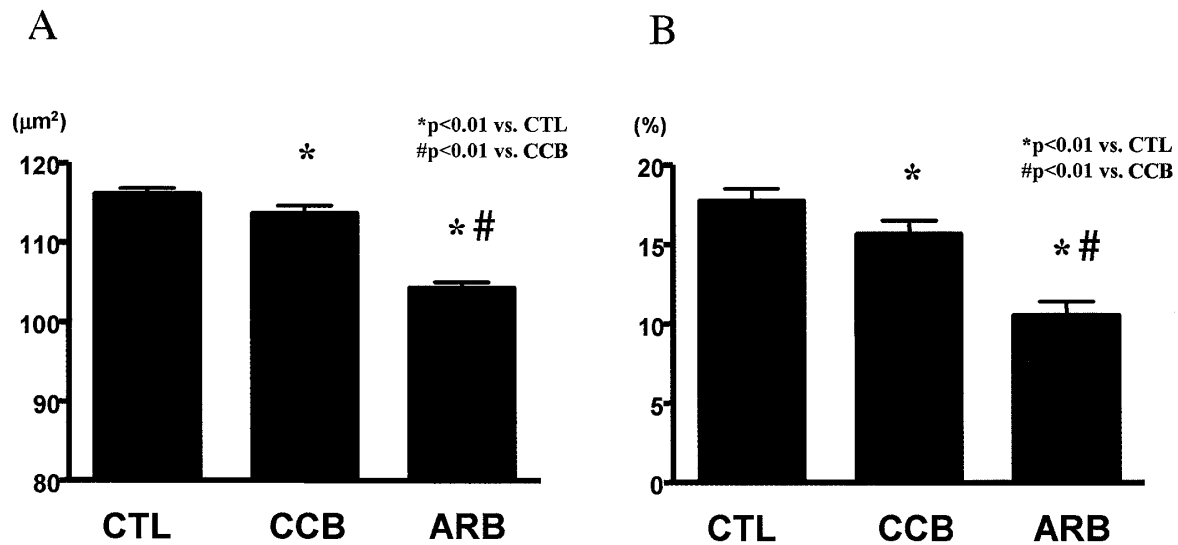


図 4

A：心筋細胞肥大に対する CCB, ARB の効果

CCB 群と ARB 群は左房心筋細胞の肥大を CTL 群と比較し有意に抑制した。さらに ARB 群は CCB 群と比し、有意に左房心筋細胞の肥大を抑制した。* $p < 0.01$ vs CTL 群 # $p < 0.01$ vs CCB 群

B：間質線維化に対する CCB, ARB の効果

CCB 群と ARB 群は左房間質の線維化を CTL 群と比較し有意に抑制した。さらに ARB 群は CCB 群と比し、有意に左房間質線維化を抑制した。* $p < 0.01$ vs CTL 群 # $p < 0.01$ vs CCB 群

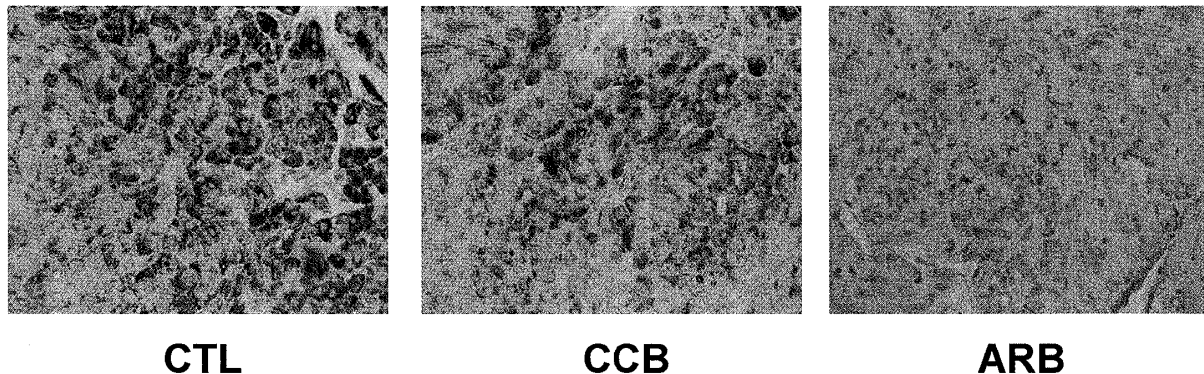
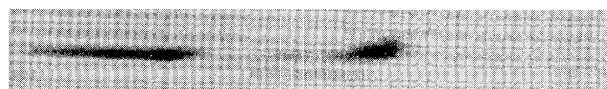


図 5 左房における 3-nitrotyrosine 染色. ARB 投与群では、酸化ストレスのマーカーのひとつである 3-nitrotyrosine 染色が抑制された。

療のコントロール群 (CTL), アゼルニジピン (カルシウムチャンネル拮抗薬, CCB) での治療群, オルメサルタン (ARB) での治療群の 3 群に分け, 各 8 週間治療を行った。治療後の血圧は CCB 群, ARB 群で CTL 群に比し有意に低下したが, CCB, ARB 群間では差を認めなかった。心房

組織の検討では, CCB 群, ARB 群は CTL 群に比し心筋細胞肥大の抑制, 間質線維化の抑制を認め, さらにその効果は CCB 群に比し ARB 群で有意に大きかった (図 4A, B)。つまり, SHR において, 同程度の降圧作用が得られた場合でも, ARB 治療群は CCB 治療群に比し, より左房リモデリング



CTL CCB ARB

図6 左房における Rac1 活性. ARB 投与群では Rac1 の活性が抑制された.

を抑制していた. その機序の検討として, 酸化ストレスマーカーのひとつである 3-nitrotyrosine 染色を行い検討したところ, ARB 群で CTL 群, CCB 群に比し, 有意に染色性の低下を認めた (図5). さらに ARB 群では CTL 群, CCB 群と比し, Rac1 の活性が抑制されていた (図6). 以上より, ARB は CCB に比し, 高血圧における心房リモデリングの抑制に効果的であり, その作用の一部は降圧作用と独立しており, Rac1 の活性低下による, 酸化ストレス抑制による機序が示唆された (図7). 心房リモデリングの抑制は, 心房細動発症の基盤を抑えるという, 機序の上流での治療, いわゆる <upstream therapy> といわれるものである. 本研究の結果から, 高血圧患者において, Rac1 を標的とした治療が心房リモデリング抑制につながるものと考えられた.

おわりに

様々な薬の心臓に対する有益な作用が, 臨床研究で明らかにされている. 近年, 特に報告が多いのはスタチン, ARB, ACEI の心保護作用であろう. これらに共通する標的として Rac1 が存在していることは非常に興味深い. 本研究からも, Small G 蛋白のひとつである Rac1 が心臓リモデリングに重要な役割を果たしており, その抑制が各種心疾患治療の標的になりうる可能性が示唆された.

謝辞

本研究の一部は, 第19回新潟大学医学研究助成金(有任基金)の助成により行われました. 関係各位の皆

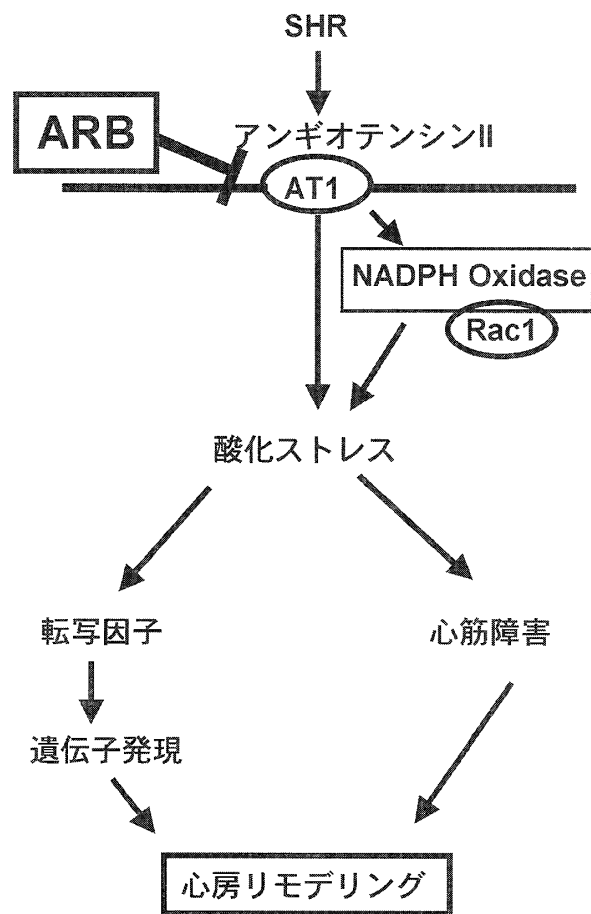


図7 ARB による心房リモデリングの抑制機序
AT1: アンジオテンシン II タイプ I 受容体

様に深謝いたします. 本研究は, 新潟大学第一内科, 岡村和気先生, 三間渉先生, 田中孔明先生との共同研究です. また, 本研究遂行にあたり, お力添えをいただきました新潟大学第一内科, 相澤義房教授, 新潟大学保健学科, 仲澤幹夫教授, 新潟大学第一内科, 小玉誠先生, 池主雅臣先生, 布施公一先生, に深謝いたします.

文 献

- 1) Colucci WS and Braunwald E: Pathophysiology of Heart Failure. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. (eds) Heart disease. 7th edn, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 509 - 538,

- 2005.
- 2) Colucci WS: Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure. *Am J Cardiol* 80 (11A): 15L - 25L, 1997.
 - 3) Sawyer DB, Siwik DA, Xiao L, Pimentel DR, Singh K and Colucci WS: Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. *J Mol Cell Cardiol* 34: 379 - 388, 2002.
 - 4) Hoshijima M and Chien KR: Mixed signals in heart failure: cancer rules. *J Clin Invest* 109: 849 - 855, 2002.
 - 5) Brown JH, Del Re DP and Sussman MA: The Rac and Rho hall of fame: a decade of hypertrophic signaling hits. *Circ Res* 98: 730 - 742, 2006.
 - 6) Clerk A and Sugden PH: Small guanine nucleotide - binding proteins and myocardial hypertrophy. *Circ Res* 86: 1019 - 1023, 2000.
 - 7) Kim KS, Takeda K, Sethi R, Pracyk JB, Tanaka K, Zhou YF, Yu ZX, Ferrans VJ, Bruder JT, Kovsdi I, Irani K, Goldschmidt - Clermont P and Finkel T: Protection from reoxygenation injury by inhibition of rac1. *J Clin Invest* 101: 1821 - 1826, 1998.
 - 8) Pracyk JB, Tanaka K, Hegland DD, Kim KS, Sethi R, Rovira II, Blazina DR, Lee L, Bruder JT, Kovsdi I, Goldshmidt - Clermont PJ, Irani K and Finkel T: A requirement for the rac1 GTPase in the signal transduction pathway leading to cardiac myocyte hypertrophy. *J Clin Invest* 102: 929 - 937, 1998.
 - 9) Sussman MA, Welch S, Walker A, Klevitsky R, Hewett TE, Price RL, Schaefer E and Yager K: Altered focal adhesion regulation correlates with cardiomyopathy in mice expressing constitutively active rac1. *J Clin Invest* 105: 875 - 886, 2000.
 - 10) Wencker D, Chandra M, Nguyen K, Miao W, Garantziotis S, Factor SM, Shirani H, Armstrong RC and Kitsis RN: A mechanistic role for cardiac myocyte apoptosis in heart failure. *J Clin Invest* 111: 1497 - 1504, 2003.
 - 11) Communal C, Singh K, Pimentel DR and Colucci WS: Norepinephrine stimulates apoptosis in adult rat ventricular myocytes by activation of the beta - adrenergic pathway. *Circulation* 98: 1329 - 1334, 1998.
 - 12) Remondino A, Kwon SH, Communal C, Pimentel DR, Sawyer DB, Singh K and Colucci WS: Beta - adrenergic receptor - stimulated apoptosis in cardiac myocytes is mediated by reactive oxygen species/c - Jun NH2 - terminal kinase - dependent activation of the mitochondrial pathway. *Circ Res* 92: 136 - 138, 2003.
 - 13) Ito M, Adachi T, Pimentel DR, Ido Y and Colucci WS: Statins inhibit beta - adrenergic receptor - stimulated apoptosis in adult rat ventricular myocytes via a Rac1 - dependent mechanism. *Circulation* 110: 412 - 418, 2004.
 - 14) Khush KK and Waters DD: Effects of statin therapy on the development and progression of heart failure: mechanisms and clinical trials. *J Card Fail* 12: 664 - 674, 2006.
 - 15) Takemoto M and Liao JK: Pleiotropic effects of 3 - hydroxy - 3 - methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1712 - 1719, 2001.
 - 16) Nattel S, Shiroshita - Takeshita A, Cardin S and Pelletier P: Mechanisms of atrial remodeling and clinical relevance. *Curr Opin Cardiol* 20: 21 - 25, 2005.
 - 17) Healey JS, Baranchuk A, Crystal E, Morillo CA, Garfinkle M, Yusuf S and Connolly SJ: Prevention of atrial fibrillation with angiotensin - converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta - analysis. *J Am Coll Cardiol* 45: 1832 - 1839, 2005.
 - 18) Pitt B, Segal R, Martinez FA, Meurers G, Cowley AJ, Thomas I, Deedwania PC, Ney DE, Snively DB and Chang PI: Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly Study, ELITE) *Lancet* 349: 747 - 752, 1997.
 - 19) Li D, Shinagawa K, Pang L, Leung TK, Cardin S, Wang Z and Nattel S: Effects of angiotensin - converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing - induced congestive heart failure. *Circulation* 104: 2608 - 2614, 2001.
 - 20) Kumagai K, Nakashima H, Urata H, Gondo N, Arakawa K and Saku K: Effects of angiotensin II

- type 1 receptor antagonist on electrical and structural remodeling in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 41: 2197 - 2204, 2003.
- 21) Ehrlich JR, Hohnloser SH and Nattel S: Role of angiotensin system and effects of its inhibition in atrial fibrillation: clinical and experimental evidence. *Eur Heart J* 27: 512 - 518, 2006.
- 22) Mihm MJ, Yu F, Carnes CA, Reiser PJ, McCarthy PM, Van Wagoner DR and Bauer JA: Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation* 104: 174 - 180, 2001.
- 23) Pimentel DR, Amin JK, Xiao L, Miller T, Viereck J, Oliver - Krasinski J, Baliga R, Wang J, Siwik DA, Singh K, Pagano P, Colucci WS and Sawyer DB: Reactive oxygen species mediate amplitude - dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes. *Circ Res* 89: 453 - 460, 2001.
- 24) Kwon SH, Pimentel DR, Remondino A, Sawyer DB and Colucci WS: H₂O₂ regulates cardiac myocyte phenotype via concentration - dependent activation of distinct kinase pathways. *J Mol Cell Cardiol* 35: 615 - 621, 2003.
- 25) Griendling KK and FitzGerald GA: Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 108: 1912 - 1916, 2003.
-