

特集：腎とレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系

腎の ACE2-Ang(1-7)-Mas 受容体

吉田英昭 島本和明

はじめに

レニン・アンジオテンシン系(RAS)の生理活性をもたらす中心的な役割を担っているのは、言うまでもなくアンジオテンシン II (Ang II)である。前駆物質である 10 個のアミノ酸から成るアンジオテンシン I (Ang I) (1-10)が、アンジオテンシン変換酵素(ACE)により 8 個のアミノ酸から成る Ang II (1-8)が作られるが、アミノペプチダーゼなどにより 1 位のアミノ酸から順に切断されて、Ang III (2-8), Ang IV (3-8)と代謝されていく。一方で、反対側のアミノ酸から切断されたペプチドが Ang(1-7)である。Ang(1-7)の生体における意義については、1990 年前後から多く報告されるようになり、従来の RA 系に拮抗するように、血管拡張や臓器保護的に作用する可能性が示唆されていた。産生系や特異的受容体などの詳細が不明で大きな問題を残していたが、2000 年に Ang(1-7)の産生酵素である ACE2 のクローニング^{1,2)}がなされ、2003 年に内因性 Ang(1-7)が Mas 受容体のリガンドであることが発見された³⁾。これらの発見から、ACE2-Ang(1-7)-Mas 系が再び脚光を浴びるようになった。研究の中心は心血管系への作用や病態進展への関与であったが、最近、腎臓においても研究が進んできており、本稿ではそれぞれの病態におけるこの系の意義について概説する。

腎での Ang(1-7)の産生と ACE2 の局在

本誌「腎と RAAS オーバービュー—腎障害、高血圧への関与—」論文の図に示す通り(88 頁)、血管内皮細胞においては Ang(1-7)はいくつかの経路で産生されるが、最も主要な経路は Ang II から ACE2 により産生されるものであ

る。したがって Ang(1-7)の産生調節は ACE2 の活性によるところが大きく、ACE と ACE2 の活性のバランスが重要である。また、ACE2 は腎臓に、特に近位尿細管(brush border)に多く発現しており、ここでは ACE や AT1 受容体、Ang(1-7)などといった RA 系のコンポーネントが同じ部位に局在している^{4~7)}。その他 ACE2 は、糸球体の足細胞や腎の血管にも存在している。Ang(1-7)が産生される経路として、近位尿細管の brush-border membrane や細胞内に存在する neprilysin(NEP), thimet oligopeptidase(TOP), prolyl oligopeptidase(POP)といった酵素により Ang I から生成される。ラットの単離尿細管を用いた検討⁷⁾では、ACE2 依存的に Ang I から Ang(1-7)の生成が認められた一方で、Ang II を投与しても Ang(1-7)が増加せず、ヒツジの近位尿細管での ACE2 は Ang I から Ang(1-7)は生成されない⁸⁾など相反する報告がある。手技的な問題や種差などが原因として考えられるが、近位尿細管での Ang(1-7)の生成において、Ang I からの non ACE2 経路と ACE2 経路、Ang II からの ACE2 経路のいずれが重要であるかについて、今後、検討される余地がある。

腎の Ang(1-7)受容体-Mas 受容体の局在

Mas 受容体は 1986 年に初めて protooncogene として同定され、同時に 7 回膜貫通型の G 蛋白受容体であったため Ang II に対する受容体と考えられていた。2003 年に Santos ら³⁾は、Mas 受容体に Ang(1-7)結合部位が存在することを示し、Mas 受容体欠損マウスを用いて、Ang(1-7)に対する結合や血管拡張などといった反応の消失から、Mas 受容体が Ang(1-7)の受容体であることを証明した。マウスやラットの検討では、Mas 受容体の mRNA は腎皮質に豊富に存在し、近位尿細管や輸入細動脈にも存在する。ヒト培養近位尿細管細胞とメサンギウム細胞にも Mas 受容体が存在することが報告されている⁹⁾。また、この受容体は

AT1 受容体とヘテロオリゴマー形成することにより、Ang II の作用を阻害する可能性や、AT2 受容体とも相互作用を持つ可能性も示唆されている。

Ang(1-7)、ACE2 の腎臓での生理作用

Ang(1-7) は腎臓では血中に比較して高濃度に存在し、本体内性高血圧患者では尿中排泄量が減少していることから、腎臓でも血圧調節に関与している可能性が示唆されている。血管内皮細胞では Ang(1-7) は、NO やブラジキニン、プロスタグランジンなどの産生を増加させることで血管拡張や臓器保護的に作用することが数多く報告されている。しかしながら、腎臓の血行動態に果たす役割については必ずしも一定の結果が得られておらず、いまだ十分に理解されたとは言えない。van der Wouden らは¹⁰⁾単離した腎動脈を用いて、正常状態での Ang(1-7) の血管への作用は認めなかったが、Ang II による血管収縮を有意に抑制したことを報告している。しかし、*in vivo* の検討では、ラットに Ang II 投与による輸入・輸出細動脈の血管収縮(麻酔下)、腎血流の低下(非麻酔下)に対する Ang(1-7) の効果はみられなかった。一方で、WKY ラットや SHR ラットに Ang(1-7) を持続投与すると腎血流が増加し Ang II による昇圧反応を抑制したとする報告^{11,12)}もある。ACE2 ノックアウトマウス利用は Ang(1-7) の機能を観察するうえで有効な手段と思われるが、ジェネティックバックグラウンドや作製方法によって多少結果が異なっている。C57BL/6 を用いて作製した ACE2 ノックアウトマウスの検討では、Crackower ら¹³⁾のグループは、ノックアウトマウスの血圧上昇はみられなかった一方で、同じマウスを用いた Gurley ら¹⁴⁾の報告ではわずかに血圧の上昇がみられていた。いずれの検討でも腎内の Ang II 濃度は上昇しており、後者の検討では Ang II に対する昇圧反応が亢進していた。また、別の ACE2 ノックアウトマウスを用いた検討¹⁵⁾では、晩期に糸球体硬化とアルブミン尿の増加が観察され、Ang II 受容体拮抗薬(ARB)により改善することが観察されている。多少血圧に対する反応は異なるものの、ノックアウトマウスを用いた検討では、腎臓内の ACE2 は Ang II を分解することで ACE に拮抗するように保護的に作用している可能性がある。また、C57BL/6 を用いた Mas 遺伝子のノックアウトマウス¹⁶⁾で、Na 貯留、糸球体濾過量の増大、微量アルブミン尿の出現と腎の線維化が観察された。また、腎の AT1 受容体やそのシグナルを増強することも示され、Mas 受容体の機能不全は、Ang(1-7) の作用不足に加え、AT1 受容体との相互作用から

高血圧や腎障害を惹起する可能性がある。

Koka ら¹⁷⁾は、正常血圧者と高血圧患者の心筋組織と腎組織を用いて検討しているが、正常血圧者では免疫組織染色および mRNA 発現量で評価した結果 ACE2 は ACE よりも多く、高血圧患者では ACE が増加している一方で、ACE2 が有意に減少していることを示した。また高血圧患者の腎組織では、正常血圧者に比較して、MAP キナーゼ(MAPK)の p38 と ERK1/2 の活性が有意に増加していた。ヒト培養尿細管細胞(HK-2)を用いた検討で、Ang II の投与によって同様な観察結果が得られ、これには AT1 受容体を介しており、AT2 受容体は介していないことが示されている。このように、ヒトにおいても Ang(1-7)-ACE2 系は亢進した Ang II の作用に拮抗するように血圧調節に関与している可能性が高い。

尿細管輸送に対する Ang(1-7) の作用についても多くの検討がなされているが、Mas 受容体が AT1、AT2 受容体も巻き込んで作用していることが示されている。しかしながら、近位尿細管一つとっても Na 利尿を増強するあるいは逆に抑制するという結果があり、一定の結論に至ってはいない。実験動物の違い、*in vitro*、*in vivo* など状況によって結果が異なり解釈を難しくしているが、少なくとも何らかの関与はしているようで、今後の研究の発展が望まれる。

腎内 Ang(1-7)と細胞増殖調節

Ang(1-7) は腎の血行動態や尿細管輸送に関与している以外に、炎症や細胞増殖にも影響を及ぼしている可能性が報告されている。ラットの近位尿細管細胞では、Ang(1-7) は Mas 受容体刺激を介して、AT1 受容体刺激による増殖系の p38, ERK1/2, JNK のリン酸化を抑制することが明らかにされた¹⁸⁾。一方、メサングウム細胞に対する反応は逆で、AT1 受容体刺激による MAPK 系のリン酸化を増強させることが示されており⁹⁾、病態によって Ang(1-7) が腎障害に対して保護的にも促進的にも働く可能性がある(図)。

腎障害と Ang(1-7)、ACE2

5/6 腎摘など腎障害の実験動物モデルでは、Ang(1-7) や ACE2 の減少があったり、逆にこの系が代償的に増加していることが示されるなどさまざまであるが、いずれの結果からも、現在のところ ACE2 や Ang(1-7) は腎障害にかかわっていると思われる。ヒトの高血圧性腎障害患者においても同様な結果が得られているが、前述したように、腎臓

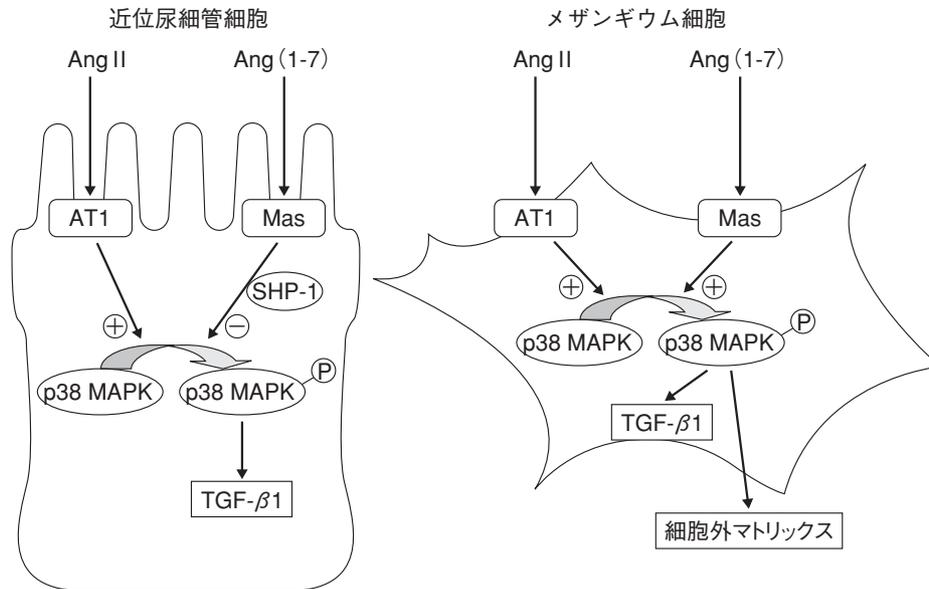


図 近位尿細管とメサンギウム細胞に対する Ang(1-7)の細胞増殖に対する反応

での組織によっては反応が異なる可能性があり、腎障害の病態も多彩であることを考えると、腎生検の組織などを含め詳細な検討が望まれる。

糖尿病性腎症では、腎内の RAS が亢進していることがヒト腎生検の結果からも明らかにされている。糖尿病性腎症においては、腎の ACE2 の蛋白や mRNA 量が減少していることが実験モデルやヒトの組織で示されている^{19~23}。ACE2 阻害薬の投与により、streptozotocin(STZ)による糖尿病マウスで、アルブミン尿の増加や糸球体の細胞外マトリックスが増大するなど腎障害が悪化した。腎内での血管や糸球体の ACE の発現が増加しており、ACE2 の抑制による Ang II の Ang(1-7)への代謝が抑制されることも相まって、Ang II 作用が増大する結果と考えられる²⁴。同じように、ACE2 ノックアウトマウスと 1 型糖尿病モデルのアキタマウスと交配させて作製したマウスでは、糖尿病マウスと比較するとアルブミン尿の増加と組織学的にも腎障害の増悪が観察され、これは、ARB(ロサルタン)の投与により抑制された²⁵。以上の結果から、糖尿病では ACE2 の作用が減弱し、Ang II の作用を増強するため腎障害が進展することが明らかとなった。しかし、これらの検討では、産生が抑制されたであろう Ang(1-7)自体の腎障害増悪に対する影響は評価できていない。Ang(1-7)の投与を STZ 誘導糖尿病ラットに行ったところ、尿蛋白の減少と血管のエンドセリンや Ang II などによる血管収縮反応増大が抑制されるなど、腎保護的であったという報告^{25,26}、一方、同じ STZ で誘導された糖尿病ラットに Ang(1-7)を慢性投

与すると、尿蛋白の増大と TGF-β1 mRNA の増大が生じるなど、逆に腎障害を促進させたとの報告²⁷がある。このように、Ang(1-7)の糖尿病性腎症に対する作用については、一定の結果が得られておらず、実験方法や Ang(1-7)の投与量などの違い、Mas 受容体以外に親和性は低いものの AT1 受容体や AT2 受容体に作用する可能性、あるいは前述した細胞によって異なる反応性が関係しているのかもしれない。

おわりに

腎臓における ACE2-Ang(1-7)-Mas 系について概説した。概ね従来の RA 系、特に ACE や Ang II の作用に拮抗するように作用しているようであるが、検討方法によっては臓器障害を促進する可能性もあり、この系は病態によってはもう少し複雑に他の要因とも関連し合って作用しているようである。まだまだ明らかにされていないことが多く、今後の展開に期待したい。

文献

1. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 2000 ; 87 : E1-9.
2. Topnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme.

- Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Bio Chem* 2000 ; 275 : 33238–33243.
3. Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinherio SV, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Lemos VS, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walter T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 8258–8263.
 4. Santos RA, Ferreira AJ, Simoes e Silva AC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7)-Mas axis. *Exp Physiol* 2008 ; 93 : 519–527.
 5. Soler MJ, Wysocki J, Battle D. Angiotensin-converting enzyme 2 and the kidney. *Exp Physiol* 2008 ; 93 : 549–556.
 6. Hamming I, Cooper ME, Haagmans BL, Hooper NM, Korstanje R, Osterhaus AD, Timens W, Turner AJ, Navis G, van Goor H. The emerging role of ACE2 in physiology and disease. *J Pathol* 2007 ; 212 : 1–11.
 7. Li N, Zimpelmann J, Cheng K, Wilkins JA, Burns KD. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1-7 by rat proximal tubules. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005 ; 288 : F353–362.
 8. Shaltout HA, Westwood BM, Averill DB, Ferrario CM, Figueroa JP, Diz DI, Rose JC, Chappell MC. Angiotensin metabolism in renal proximal tubules, urine, and serum of sheep : evidence for ACE2-dependent processing of angiotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007 ; 292 : F82–91.
 9. Zimpelmann J, Burns KD. Angiotensin-(1-7) activates growth-stimulatory pathways in human mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009 ; 296 : F337–346.
 10. Van der Wouden EA, Ochodnický P, van Dokkum RP, Roks AJ, Deelman LE, de Zeeuw D, Henning RH. The role of angiotensin(1-7) in renal vasculature of the rat. *J Hypertens* 2006 ; 24 : 1971–1978.
 11. Sampaio WO, Nascimento AA, Santos RA. Systemic and regional hemodynamic effects of angiotensin(1-7) in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003 ; 284 : H1985–1994.
 12. Dharmani M, Mustafa MR, Achike FI, Sim MK. Effects of angiotensin 1-7 on the actions of angiotensin II in the renal and mesenteric vasculature of hypertensive and streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2007 ; 561 : 144–150.
 13. Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga SE, Oliveira-dos-Santos AJ, da Costa J, Zhang L, Pei Y, Schole J, Ferrario CM, Manoukian AS, Chappell MC, Backs PH, Yagil Y, Penninger JM. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 2002 ; 417 : 822–828.
 14. Gurley SB, Allred A, Le TH, Griffiths R, Mao L, Philip N, Haystead TA, Donoghue M, Breitbart RE, Acton SL, Rockman HA, Coffman TM. Altered blood pressure responses and normal cardiac phenotype in ACE2-null mice. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 2218–2225.
 15. Oudit GY, Herzenberg AM, Kassiri Z, Wong D, Reich H, Khokha R, Crackower MA, Backx PH, Penninger JM, Scholey JW. Loss of angiotensin-converting enzyme-2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 2006 ; 168 : 1808–1820.
 16. Pinherio SV, Ferreira AJ, Kitten GT, da Silveira KD, da Silveira DA, Santos SH, Gava E, Castro CH, Magalhaes JA, da Mota RK, Botelho-Santos GA, Bader M, Alenina N, Santos RA, Simoes e Silva AC. Genetic deletion of the angiotensin-(1-7) receptor Mas leads to glomerular hyperfiltration and microalbuminuria. *Kidney Int* 2009 ; 75 : 1184–1193.
 17. Koka V, Huang XR, Chung ACK, Wang W, Truong LD, Lan HY. Angiotensin II up-regulates angiotensin I-converting enzyme (ACE), but down-regulates ACE2 via the AT1-ERK/p38 MAP kinase pathway. *Am J Pathol* 2008 ; 172 : 1174–1183.
 18. Su Z, Zimpelmann J, Burns KD. Angiotensin-(1-7) inhibits angiotensin II-stimulated phosphorylation of MAP kinases in proximal tubular cells. *Kidney Int* 2006 ; 69 : 2212–2218.
 19. Tikellis C, Johnston CI, Forbes JM, Burns WC, Burrell LM, Risvanis J, Cooper ME. Characterization of renal angiotensin-converting enzyme 2 in diabetic nephropathy. *Hypertension* 2003 ; 41 : 392–397.
 20. Ye M, Wysocki J, William J, Soler MJ, Cokic I, Battle D. Glomerular localization and expression of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-converting enzyme : implications for albuminuria in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 3067–3075.
 21. Ye M, Wysocki J, Naaz P, Salabat MR, LaPointe MS, Battle D. Increased ACE 2 and decreased ACE protein in renal tubules from diabetic mice : a renoprotective combination? *Hypertension* 2004 ; 43 : 1120–1125.
 22. Mizuiri S, Hemmi H, Arita M, Ohashi Y, Tanaka Y, Miyagi M, Sakai K, Ishikawa Y, Shibuya K, Hase H, Aikawa A. Expression of ACE and ACE2 in individuals with diabetic kidney disease and healthy controls. *Am J Kidney Dis* 2008 ; 51 : 613–623.
 23. Reich HN, Oudit GY, Penninger JM, Scholey JW, Herzenberg AM. Decreased glomerular and tubular expression of ACE2 in patients with type 2 diabetes and kidney disease. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 1610–1616.
 24. Wong DW, Oudit GY, Reich H, Kassiri Z, Zhou J, Liu QC, Backx PH, Penninger JM, Herzenberg AM, Scholey JW. Loss of angiotensin-converting enzyme 3 (Ace2) accelerates diabetic kidney injury. *Am J Pathol* 2007 ; 171 : 438–451.
 25. Benter IF, Yousif MH, Dhaunsi GS, Kaur J, Chappell MC, Diz, DI. Angiotensin-(1-7) prevents activation of NAPDH oxidase and renal vascular dysfunction in diabetic hypertensive rats. *Am J Nephrol* 2008 ; 28 : 25–33.
 26. Benter IF, Yousif MH, Cojocel C, Al-Maghrebi M, Diz, DI. Angiotensin-(1-7) prevents diabetes-induced cardiovascular dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007 ; 292 : H666–672.
 27. Shao Y, He M, Zhou L, Yao T, Huang Y, Lu LM. Chronic angiotensin (1-7) injection accelerates STZ-induced diabetic renal injury. *Acta Pharmacol Sin* 2008 ; 29 : 829–837.