

学内グラント 報告書

平成21-22年度 学内グラント終了時報告書

プロレニン受容体の新たな機能

研究代表者 千本松 孝明(医学部 薬理学)

要旨

プロレニン受容体((pro)renin receptor: (P)RR)は、2002年に発見されたレニンアンジオテンシンシステム(RAS)の1因子である。(P)RRは、レニンの非活性前駆体プロレニンに結合し、非蛋白融解的にプロレニンをレニン活性化させる作用を有すると考えられている。プロレニン血中濃度は、レニンに比して約10倍高く、(P)RRによるプロレニンのレニン活性化は、組織(局所)RASのレニン供給源として重要な機能の1つであると考えられる。他方、(P)RRとプロレニンの結合は、細胞内情報伝達も誘導する。これはRAS非依存的な作用である。我々は、(P)RRが受容体ではなく、細胞内小器官で切断を受け、細胞外に分泌されることを発見した。分泌された(P)RRは、プロレニンに結合し、レニン活性化する。しかし分泌された場合、細胞内情報伝達は誘導されない。

RASの最終活性産物であるアンジオテンシンII(Ang II)は、腎臓傍糸球体細胞からのみ分泌されるレニンにより、angiotensinogenからAng Iに変換され、更にアンジオテンシン変換酵素(ACE)により、Ang IIに変換され、特異的受容体(タイプ1(AT₁受容体))に結合し、昇圧作用、細胞の増殖、肥大、分化等の生理活性を生じる。このシステムの過剰活性化が病態を形成する為、RAS抑制薬は、多くの大規模臨床試験において、極めて高い有効性を示し、RASが心血管系の機能調節、疾患形成に重要な因子であることを証明している。ところが、RASの律速酵素であるレニンに関しては不明な点が残されていた。血漿レニン活性が低いにもかかわらずRAS抑制薬が著効を示す患者さんは決して珍しくはない。すなわち、血漿レニン活性は必ずしも病態と相関せず、このことはシステムの説明とは明らかに矛盾する(Figure 1)。そのため組織(局所)RASという概念が生じるが、レニンは腎臓傍糸球体細胞からのみ産生されるので長い間各組織でのレニンの供給メカニズムは不明のままであった。

レニンは、アスパラギン酸プロテアーゼに属する酵素で、アンジオテンシノーゲンからAng Iへの変換をつかさどるレニンアンジオテンシンシステムの律速酵素である。プロレニンはN-末に43アミノ酸からなるプロセグメントを有するレニンの前駆体で、プロセグメントがレニン活性中心を覆っているためプロレニンは非活性前駆体である(Figure 2)¹⁾。レニンは腎臓傍糸球体細胞からのみ分泌されるが、プロレニンは腎臓以外にも副腎、網膜、胎盤、子宮、睪丸、顎下腺でも産生され、血中濃度はレニンのそれに比して約10倍高い²⁾。しかしプロレニンは血中ではレニンに変換されることはなく、非活性体のままであると考えられていたが、2002年に発見された(P)RRによりレニン活性を有することがわかった³⁾。

Human (P)RRは350個のアミノ酸からなる分子量約39 kDaの膜蛋白質でプロレニンのプロセグメントのハンドリング領域に結合する(Figure 3A)³⁾。するとプロレニンの立体構造が変化し、プロドメインの覆いがはずれ、酵素活性中心が露出しアンジオテンシノーゲンが入り込むことが可能となり酵素活性を生じる。これがプロレニンの(P)RRによる非蛋白融解的レニン活性化である(Figure 3A)⁴⁾。すなわち、プロレニンは(P)RRとの結合によりレニン酵素活性を獲得し、Ang II産生を誘導する。このメカニズムは、組織レニンアンジオテンシンシステムにおけるレニン活性の供給源として重要な機能の1つであると考えられている。

プロレニンと(P)RRの結合はプロレニンの酵素活性を誘導すると同時に、(P)RRの細胞内情報伝達を誘導する(Figure 3A)。プロレニンが(P)RRに結合すると、アゴニスティックに作用し、(P)RRの細胞質領域を介して細胞内シグナルが誘導されると考えられている。MAPキナーゼの1つであるERK1/2のリン酸化が促進され、TGF- β 1、PAI-1の活性上昇により炎症が惹起され、線維化亢進などの病態が促進される⁵⁾。さらにプロレニン-(P)RRを介したサイクロオキシゲナーゼ2(COX-2)のアップレギュレーションも報告されている⁶⁾。ところが、我々は

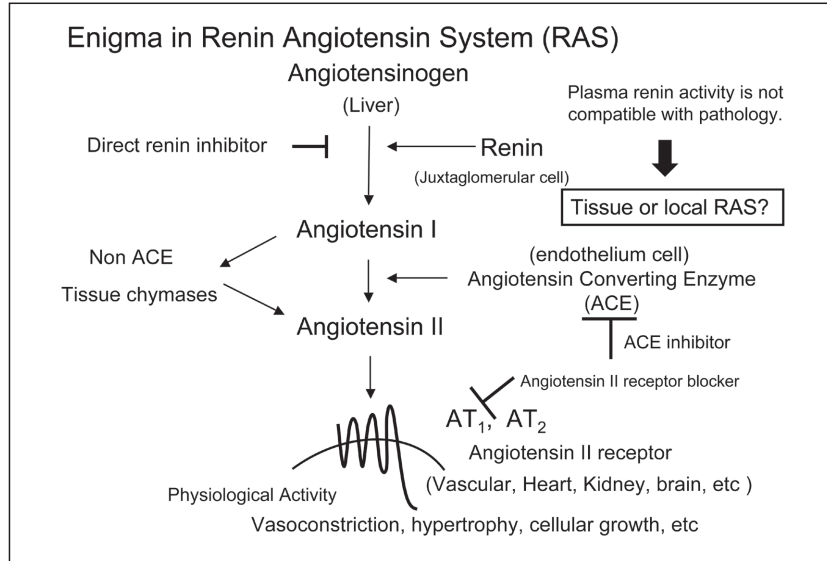


Figure 1.

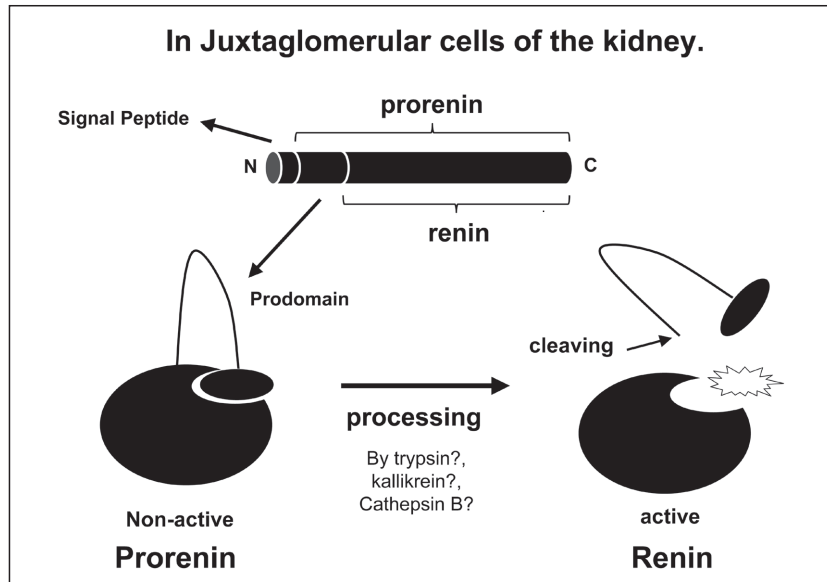


Figure 2.

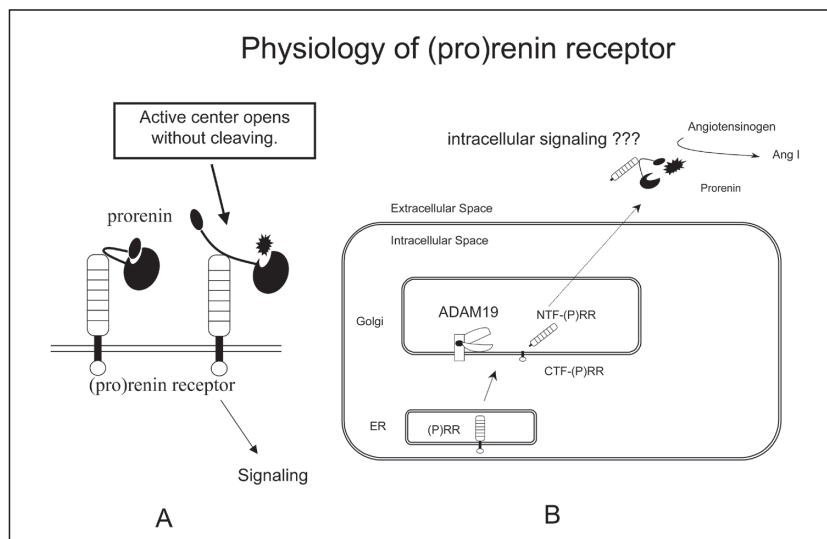


Figure 3.

(P)RRが膜蛋白ではなく、細胞外へ分泌されることを発見した⁷⁻⁸⁾。human(P)RR遺伝子のC-末に緑色蛍光タンパク質 (Enhanced Green Fluorescent Protein, EGFP) タグを付帯しCHO 細胞に恒常的に遺伝子導入したCHO 細胞-human(P)RRを作成したところ、細胞培養液中に切断されたN-末 (P)RRが、(P)RRの細胞外領域を認識する抗(プロ)レニン受容体抗体を用いたウエスタンブロット解析で検出された。内因性に(P)RRを発現する血管平滑筋細胞の培養液を用いても同様の結果が得られた。 Brefeldin A (BFA) というERからゴルジ体への細胞内輸送阻害薬を用いて(P)RRの細胞内局在を調べた結果、ERでは全長を有した(P)RRが局在し、ゴルジ体で(P)RRは切断されることが判明した⁷⁾。更に我々はゴルジ体における(P)RR切断酵素としてADAM (a disintegrin and metalloprotease) 19を同定した⁸⁾。(P)RRはシグナルペプチドを有し、分泌過程(exocytic pathway)に入る。その途中過程のゴルジ体で酵素により切断され膜貫通領域を失い、細胞膜に到達したN-末(P)RRは細胞膜に受容体として留まることはなく、細胞外へ分泌される。現在、この分泌型と受容体型(P)RRの区別する報告は存在しない。更に我々は、分泌型(P)RRが細胞外でプロレニンに結合し非蛋白融解的レニン活性を誘導することを報告した(Figure 3B)⁸⁾。分泌型(P)RRは細胞質領域を失っているため、プロレニンとの結合は細胞内情報伝達のトリガーとはならない。

終りに

我々は、(P)RRの新しい機能の1つとして分泌型(P)RRの存在を証明した。(P)RRはレニン・アンジオテンシンにおいて近年最も研究の進んだ領域の1つであるが、研究報告のあった生理機能すべてがコンセンサスを得ているわけではない。興味は尽きない。

謝 辞

このような発表の機会を頂き、山内俊雄学長、別所正美医学部長、医学研究センター 松下祥教授、同研究センター皆様に感謝申し上げます。

Reference

- 1) Wood JM, Stanton JL, Hofbauer KG. Inhibitors of renin as potential therapeutic agents. *J Enzyme Inhib* 1987;1:169-85.
- 2) Balakumar P, Jagadeesh G. Cardiovascular and renal pathologic implications of prorenin, renin, and the (pro)renin receptor: promising young players from the old renin-angiotensin-aldosterone system. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010;56:570-9.
- 3) Nguyen G, Delarue F, Burckle C, Bouzahir L, Giller T, Sraer JD. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *J Clin Invest* 2002;109:1417-27.
- 4) Ichihara A, Hayashi M, Kaneshiro Y, Suzuki F, Nakagawa T, Tada Y, et al. Inhibition of diabetic nephropathy by a decoy peptide corresponding to the "handle" region for nonproteolytic activation of prorenin. *J Clin Invest* 2004;114:1128-35.
- 5) Huang Y, Wongamorntham S, Kasting J, McQuillan D, Owens RT, Yu L, et al. Renin increases mesangial cell transforming growth factor-beta1 and matrix proteins through receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanisms. *Kidney Int* 2006;69:105-13.
- 6) Kaneshiro Y, Ichihara A, Takemitsu T, Sakoda M, Suzuki F, Nakagawa T, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in the renal cortex of human prorenin receptor gene-transgenic rats. *Kidney Int* 2006;70:641-6.
- 7) Senbonmatsu T, Iida S, Yoshikawa A, Aizaki Y, Xiao S, Nishimura S, Inagami T. New perspectives on secretion of (pro)renin receptor into extracellular space. *Front Biosci* 2010;1(2):1362-7.
- 8) Yoshikawa A, Aizaki Y, Kusano K, Kishi F, Susumu T, Iida S, Ishiura S, Nishimura S, Shichiri M, Senbonmatsu T. The (Pro)renin receptor is cleaved by ADAM19 in the Golgi leading to its secretion into extracellular space. *Hypertens Res* 2011.