

アンジオテンシン刺激によって引き起こされる $G_{12/13}$ と活性酸素を介した c-Jun NH₂-terminal kinase の活性化機構

西田 基宏¹, 田辺 思帆里², 丸山 芳子², 永松 裕一¹, 高河原 周一², 小林 弘幸¹, 佐藤 陽治³, 川西 徹³, 井上 隆司⁴, 長尾 拓³, ○黒瀬 等¹ (¹九大院薬,²東大院薬,³医薬品食品衛生研究所,⁴九大院医)

アンジオテンシン II 刺激による心肥大形成には、MAPK の活性化が重要な役割を果たしていると考えられている。そこで、ラット新生仔心室筋を用いてアンジオテンシン II 刺激による MAPK 活性化の機構を解析した。心室筋は通常のトランスフェクションに抵抗性であるため、① $G_{\alpha_{12}}/G_{\alpha_{13}}$ の機能を阻害するための p115RhoGEF の RGS ドメイン (p115-RGS)、② $G_{\alpha_q}/G_{\alpha_{11}}$ の機能を阻害するための GRK2 の RGS ドメイン (GRK2-RGS)、③ ドミナントネガティブ体の Rac1 (DN-Rac1)、④ 活性酸素を消去するペルオキシレドキシニン II (PrxII)、⑤ C3 毒素、⑥ $G\beta\gamma$ の機能を阻害する GRK2 のカルボキシル末端の 6 種のアデノウイルスを作製した。アンジオテンシン II で新生仔心室筋を刺激すると、ERK、JNK および p38 MAPK のいずれも活性化された。このうち、JNK および p38 MAPK の活性化が活性酸素依存性を示した。すなわち、JNK の活性化は PrxII と DN-Rac1 および N-アセチル-L-システイン (活性酸素を消去する低分子化合物) で阻害された。そこで、上に述べたアデノウイルスを用いアンジオテンシン II から JNK 活性化までの経路を解析したところ、アンジオテンシン (タイプ I) 受容体 → $G_{\alpha_{12}}/G_{\alpha_{13}}$ → Rho → Rho キナーゼ → Rac → 活性酸素 → JNK という経路が明らかになった。さらに、アンジオテンシン II 受容体と G_{12}/G_{13} の共役は、活性化された $G_{\alpha_{12}}/G_{\alpha_{13}}$ と選択的に結合するプロテインホスファターゼ-5 の TPR ドメインを用いた pull-down アッセイにより確認できた。また、アンジオテンシン II 受容体刺激による $G_{\alpha_{13}}$ 、Rac および JNK の活性化は、EGF 受容体チロシンキナーゼの阻害剤 AG1478 を加えても影響されなかった。したがって、EGF 受容体のトランスアクティベーションは関与せず、アンジオテンシン II 受容体が直接 $G_{12/13}$ を活性化し活性酸素の産生を介して JNK を活性化していることが明らかになった。