

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03918

研究課題名(和文) アディポサイトカインによる脳-心-腎-血管連関調節を介した真の心血管病制御機構

研究課題名(英文) Mechanisms of adipocytokine control of cardiovascular diseases through the regulation of multi organ network

研究代表者

山脇 英之 (Yamawaki, Hideyuki)

北里大学・獣医学部・教授

研究者番号：60399607

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：内臓脂肪の蓄積を特徴とする肥満症は、心血管疾患の主要なリスク因子である。蓄積内臓脂肪と心血管疾患リスク上昇の因果関係を説明する新たな液性因子として脂肪組織から分泌されるアディポサイトカインが重要である。本研究は、血管を含む多臓器(心臓、脳、腎臓)に着目してアディポサイトカインによる肥満関連の心血管疾患の病態制御機構を検討することを主たる目的とした。結果、アディポサイトカインのケメリンが肺高血圧症(右心肥大を合併する)の病態に促進的に働くことを示唆する結果を得ると共に、中枢神経に作用して交感神経を活性化し全身血圧を制御すること、更に心収縮力と心拍動数に影響を及ぼすことを初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣の欧米化の結果、西洋の先進国だけでなく、我が国においても肥満による心血管疾患は増加の一途を辿り、医療費の増大や死亡率の増加など様々な問題の原因となっている。よって、疾患の新たな病態機序の解明に基づく新薬や新規治療法の開発は喫緊の課題である。本研究で明らかにしたアディポサイトカインによる血管を中心とした多臓器に対する作用を介した心血管疾患の新たな病態制御機構は肥満による循環器疾患の新規治療法開発の礎となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Visceral obesity is the major risk factor for cardiovascular diseases (CVD). Adipose tissue-derived cytokine (adipocytokine) links visceral obesity to pathogenesis of CVD. This study aimed to explore the adipocytokine regulatory mechanisms of CVD specifically focusing on blood vessels, heart, and brain. We for the first time revealed that (1) adipocytokine chemerin may mediate the development of pulmonary hypertension, (2) chemerin mediates systemic hypertension through the action on central nerves, (3) chemerin affects the contractility and beating of the heart.

研究分野：循環薬理学

キーワード：循環器疾患 アディポサイトカイン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

内臓脂肪の蓄積を特徴とする肥満症は、心血管疾患の主要なリスク因子である。本研究計画の代表者は蓄積内臓脂肪と心血管疾患リスク上昇の因果関係を説明する新たな液性因子として脂肪組織から分泌されるホルモン(アディポサイトカイン)が重要であると独自に着目・検討してきた。そしてこれまでに、アディポサイトカインが主に血管系に及ぼす影響を明らかにした。しかしながら、肥満による心血管疾患は血管系以外にも様々な臓器が影響を及ぼす多臓器性慢性疾患と捉えられることから、アディポサイトカインによる心血管疾患発症・予防機序の全体像は不明のままである。

### 2. 研究の目的

肥満による心血管疾患は様々な臓器が影響を及ぼす多臓器性慢性疾患と捉えられる。本研究計画は、「脂肪組織由来サイトカイン(アディポサイトカイン)による肥満関連の心血管疾患発症・予防メカニズムの全体像を解明する為に、その心臓、脳、腎臓に及ぼす影響及び血管を含む多臓器連関を介した病態制御機構を *in vitro* 細胞レベルで解析するとともに *in vivo* 病態モデル動物を用いて検証する」ことを主たる目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (*in vitro* 細胞レベルでの解析)

初代培養ラット肺動脈由来血管平滑筋細胞、初代培養ラット心臓線維芽細胞、初代培養新生仔ラット脳組織由来アストログリア細胞を用いてアディポサイトカインが機能・形態と細胞内シグナルに及ぼす影響を検討した。

#### (*ex vivo* 摘出組織レベルでの解析)

正常又は心血管疾患モデルラット摘出肺内肺動脈・腸間膜動脈・腎動脈、摘出心房組織の機能(収縮と拍動数)に及ぼす影響を薬理学的(マグヌス法)で検討するとともに、生化学的に細胞内シグナル活性化と発現解析を行った。

#### (*in vivo* 生体レベルでの解析)

正常及び病態モデルラット(肺動脈性肺高血圧ラット、自然発症高血圧ラット)を用いて循環パラメーターの解析を行った。また、組織を摘出、細胞を単離して上記 *in vitro*, *ex vivo* の解析に用いた。アディポサイトカインの中樞作用の検討の為に側脳室内投与を行った。

アディポサイトカインはこれまでの研究結果を基に vaspin, omentin, chemerin (及び活性断片の chemerin-9)を使用した。

### 4. 研究成果

#### (2017年度の成果)

(1) アディポサイトカイン vaspin 投与が *in vivo* において肺高血圧症モデル動物の病態進展を抑制することを明らかにした。また、*in vitro* 培養細胞を用いた解析により、このメカニズムが vaspin の抗酸化作用によるマトリックスメタロプロテアーゼ活性化を介した肺動脈壁の線維化阻害であることを見出した、(2) アディポサイトカイン omentin の自然発症高血圧モデル動物に対する *in vivo* 長期間投与は、心血管において抗酸化作用や細胞内シグナル活性化及び線維化の抑制を介して高血圧症や心臓合併症の病態に少なくとも何らかの影響(抑制的に作用する)を及ぼすことが示唆された、(3) アディポサイトカイン chemerin が *in vitro* において心臓線維芽細胞の遊走能を亢進することを明らかにした。またこのメカニズムに少なくとも一部は活性酸素種産生及びそれに関連した細胞内シグナルの活性化が関与することが示唆された、(4) ラットにおける生理活性物質の長期間側脳室内投与の実験系及びデータ解析のセットアップを行った。以上の成果を学術集会・研究会で口頭発表するとともに一部を学術論文として公表した。

#### (2018年度の成果)

(1) アディポサイトカイン chemerin の活性断片である chemerin-9 の正常血圧ラット側脳室

内投与が急性に全身血圧を上昇させることを初めて示した。血清中カテコラミン濃度を HPLC 法により測定したところ、昇圧作用と相関してカテコラミン濃度の上昇が観察されたことから、chemerin-9 の交感神経活性促進による機序が示唆された。本研究結果を研究集会と国際学会で口頭発表した、(2) chemerin-9 の正常血圧ラット摘出肺内肺動脈における収縮作用は ERK, Akt シグナル経路の活性化には依らないが、細胞内カルシウム濃度の上昇と Rho キナーゼの活性化により誘導される可能性を薬理的に確認した。また、肺高血圧症モデルラットより摘出した肺内肺動脈において、chemerin-9 による収縮作用は増強することを見出した。この作用は chemerin 受容体の発現変化によることが示唆された。本研究結果を研究集会（口頭）と国際学会（ポスター）で発表した。

#### (2019 年度の成果)

(1) 上記 2018 年度の成果 (1) を基に更に研究を進めた結果、chemerin-9 が中枢に発現する chemerin 受容体 chemokine-like receptor (CMKLR)1 を介して交感神経を活性化し、全身性に昇圧作用を示す事を明らかにし、学会発表するとともに学術論文として公表した (*Pflugers Archiv-Eur J Physiol*, 2020)、(2) 上記 2018 年度の成果 (2) を基に更に研究を進めた結果、肺動脈性肺高血圧症モデルラット由来の摘出肺動脈において、chemerin-9 誘導性収縮作用が平滑筋における CMKLR1 発現の上昇により増強する事を初めて解明し、この成果を学会で発表するとともに学術論文として公表した (*Pflugers Archiv-Eur J Physiol*, 2020)、(3) chemerin-9 のラット摘出心房筋における作用解析の為の基礎的な検討を行い予備的なデータを取得した、(4) 新生仔ラット脳組織由来アストログリア細胞の初代培養法を確立した後、アディポサイトカインの処置実験を行い、予備的なデータを取得した、(5) 生体において腎交感神経活性を測定する方法のセットアップ、さらに腎血管周囲交感神経刺激による摘出血管の収縮測定方法のセットアップを実施した。

#### (2020 年度の成果)

(1) 上記 2019 年度の正常血圧ラットでの成果 (1) を基に更に研究を進め、高血圧症モデルラットの中枢（脳）における chemerin と chemerin 受容体の発現レベルの変化を明らかにし、特に chemerin 受容体の遺伝子ノックダウンが全身血圧に及ぼす影響（生体レベル）を明らかにして学会発表を行った、(2) 上記 2019 年度の成果 (3) を基に更に研究を進めた結果、chemerin-9 がラット摘出心房筋標本において収縮力（左心房）と心拍数（右心房）に及ぼす影響（急性作用）を見出し、そのメカニズムの一端を明らかにして学術集会で発表した、(3) 上記 2019 年度の成果 (4) を基に更に研究を進めた結果、新生仔ラット脳組織由来初代培養アストログリア細胞において、chemerin-9 がその増殖能・遊走能と炎症性反応に及ぼす影響（細胞レベル）の検討を行い、予備的なデータを得ることが出来た、(4) 生体ラットにおける代謝ケージを用いた利尿および飲水量測定実験のセットアップを行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Omori Ayaho, Goshima Makoto, Kakuda Chiharu, Kodama Tomoko, Otani Kosuke, Okada Muneyoshi, Yamawaki Hideyuki	4. 巻 472
2. 論文標題 Chemerin-9-induced contraction was enhanced through the upregulation of smooth muscle chemokine-like receptor 1 in isolated pulmonary artery of pulmonary arterial hypertensive rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pflügers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 335 ~ 342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-019-02345-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Atsunori, Matsumoto Kengo, Hori Kiko, Kameshima Satoshi, Yamaguchi Naoko, Okada Shoshiro, Okada Muneyoshi, Yamawaki Hideyuki	4. 巻 472
2. 論文標題 Acute intracerebroventricular injection of chemerin-9 increases systemic blood pressure through activating sympathetic nerves via CMKLR1 in brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pflügers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 673 ~ 681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-020-02391-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Yuzaburo, Kameshima Satoshi, Kakuda Chiharu, Okamura Yuta, Kodama Tomoko, Okada Muneyoshi, Yamawaki Hideyuki	4. 巻 469
2. 論文標題 Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pflügers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1425 ~ 1432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-017-2043-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yamamoto A, Yamaguchi N, Okada S, Otani K, Okada M, and Yamawaki H
2. 発表標題 Chemerin/CMKLR1 in the brain of spontaneously hypertensive rats mediates systemic hypertension
3. 学会等名 The 94th annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本篤範、松本拳悟、亀島聡、山口奈緒子、岡田尚志郎、岡田宗善、山脇英之
2. 発表標題 アディポサイトカインchemerin-9による中枢性血圧制御を介した本態性高血圧症の病態機序
3. 学会等名 第30回日本循環薬理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯田広人、兒玉朋子、大谷紘資、岡田宗善、山脇英之
2. 発表標題 Chemerin-9がラット摘出心房筋の収縮及び心拍数に及ぼす影響
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamamoto A, Matsumoto K, Kameshima S, Yamaguchi N, Okada S, Okada M, and Yamawaki H
2. 発表標題 Acute intracerebroventricular injection of chemerin-9 increases systemic blood pressure via CMKLR1 in rats
3. 学会等名 The 93rd annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Omori A, Kodama T, Goshima M, Kakuda C, Okada M, and Yamawaki H
2. 発表標題 Effects of chemerin-9 on contractility of isolated pulmonary artery from pulmonary artery hypertensive rat
3. 学会等名 The 93rd annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 山本篤範、松本拳悟、亀島聡、山口奈緒子、岡田尚志郎、岡田宗善、山脇英之
2. 発表標題 Chemerin-9急性脳室内投与によるラット全身血圧上昇のメカニズム
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 山本篤範、松本拳悟、亀島聡、山口奈緒子、岡田尚志郎、岡田宗善、山脇英之
2. 発表標題 アディポサイトカインchemerin-9のラット急性脳室内投与による昇圧作用の機序
3. 学会等名 第32回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 大森彩帆、兒玉朋子、五島真、角田千春、岡田宗善、山脇英之
2. 発表標題 正常及び肺高血圧症モデルラットの摘出肺動脈におけるアディポサイトカインchemerin-9の収縮作用
3. 学会等名 第32回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Matsumoto K, Kameshima S, Hori K, Okada M, and Yamawaki H.
2. 発表標題 The effects of acute intracerebroventricular injection of chemerin-9 on systemic blood pressure in rats.
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Goshima M, Kakuda C, Okada M, and Yamawaki H.
2. 発表標題 Chemerin-9-induced contraction of isolated pulmonary artery is enhanced in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rat.
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松本拳悟, 亀島聡, 堀貴子, 山口奈緒子, 岡田宗善, 山脇英之.
2. 発表標題 ラットの中枢性血圧制御に及ぼすchemerin-9の影響.
3. 学会等名 第31回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 五島真, 兒玉朋子, 角田 千春, 岡田 宗善, 山脇 英之.
2. 発表標題 モノクロタリン誘発ラット肺高血圧症モデル摘出肺動脈に及ぼすchemerin-9の影響.
3. 学会等名 第31回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤由紀乃, 亀島聡, 坂本雄三郎, 堀貴子, 兒玉朋子, 岡田宗善, 山脇英之
2. 発表標題 アディポサイトカインomentinが自然発症高血圧ラットの病態に及ぼす影響
3. 学会等名 第160回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀貴子, 亀島聡, 佐藤由紀乃, 兒玉朋子, 杉山真言, 上野俊治, 黒瀬陽平, 岡田宗善, 山脇英之
2. 発表標題 脳卒中易発性自然発症高血圧ラットSHRSP脳組織内HDAC4の役割
3. 学会等名 第160回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤由紀乃, 亀島聡, 坂本雄三郎, 堀貴子, 兒玉朋子, 岡田宗善, 山脇英之
2. 発表標題 アディポサイトカインomentinが自然発症高血圧ラットの高血圧と合併症の病態に及ぼす影響
3. 学会等名 第30回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀貴子, 亀島聡, 佐藤由紀乃, 兒玉朋子, 松本拳悟, 杉山真言, 上野俊治, 黒瀬陽平, 岡田宗善, 山脇英之
2. 発表標題 脳組織内HDAC4の高血圧症及び合併症における役割
3. 学会等名 第30回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 相良鮎美, 岡田宗善, 山脇英之
2. 発表標題 Chemerin活性断片chemerin-9はラット心線維芽細胞の遊走を促進する
3. 学会等名 第30回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北里大学獣医薬理学研究室ホームページ  
<http://www2.vmas.kitasato-u.ac.jp/pharmacology/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------