

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10835

研究課題名(和文) 脳内レニン・アンジオテンシン系保護軸活性化による脳保護作用の解明

研究課題名(英文) Effect of protective arm of the renin-angiotensin system on ischemic brain damage

研究代表者

岩波 純 (Iwanami, Jun)

愛媛大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：90624792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：アンジオテンシンII2型(AT2)受容体刺激は臓器保護効果を持つことが知られているが、その細胞内C末端に結合するAT2受容体関連タンパク質(ATIP)の脳保護における影響については明らかにされていない。そこでATIP過剰発現(ATIP-Tg)マウスを用いて、脳梗塞モデルを作成、脳障害への影響について検討した。脳梗塞巣の大きさは野生型マウスとATIP-Tgで有意差は認められなかったが、AT2受容体刺激薬を投与することで減少する梗塞巣の大きさはATIP-Tgで増強していたことから、脳血管障害時のAT2受容体刺激にATIPが重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

レニン・アンジオテンシン系のProtective armであるAT2受容体やACE2/Ang(1-7)/Mas系は臓器保護作用が報告されており、その活性化が注目され創薬研究として注目されている。本研究はATIPを分子標的とした独創的な研究でもあり、脳血管障害において、脳梗塞だけでなく、認知症など、さらに将来的には高血圧、糖尿病の病態解明、診断・治療の臨床医学の発展にも寄与する夢のある研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Accumulating evidences and previous our research suggest that angiotensin II type 2 receptor(AT2R) stimulation could contribute to protection against ischemic brain damage. However, the effect of ATIP (AT2R interacting protein) on ischemic brain damage is still unclear. Therefore, we investigated the effects of the ATIP on focal cerebral ischemia using ATIP-transgenic (ATIP-Tg) mice. There was no significant difference in ischemic size between WT and ATIP-Tg mice. Treatment with AT2R agonist decreased ischemic size in both strains. Interestingly, this protective effect of AT2R agonist was more marked in ATIP-Tg compared with WT mice. In CBF of core region of ischemic area, there were no significant differences among all groups. However, the reduction of CBF in penumbra region just after MCA occlusion was attenuated in ATIP-Tg mice with AT2R agonist administration. These results suggested that ATIP could enhance the cerebral protective effects of AT2R stimulation after ischemia.

研究分野：生化学

キーワード：レニン・アンジオテンシン系 アンジオテンシンII2型受容体 脳血管障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

レニン・アンジオテンシン (RA) 系の亢進は高血圧や糖尿病などの生活習慣病の発症・進展に関与していることが報告されている。それら生活習慣病の進展が発症の引き金となる脳血管障害は RA 系を制御することで軽減することが考えられる。また、RA 系の亢進自体が脳血管障害の拡大にも深く関わっていることが知られてきている。この古典的 RA 系である ACE/アンジオテンシン II/アンジオテンシン II 型 (AT1) 受容体軸に拮抗する、もう一つの受容体である 2 型 (AT2) 受容体の活性化は臓器保護効果を持つことを明らかにしてきた。我々は AT2 受容体欠損マウスに中大脳動脈閉塞術で脳傷害を起こすことで脳梗塞巣が野生型マウスに比べて拡大すること、これは脳血流量の減少、酸化ストレス、炎症性サイトカインの増加によることを明らかにし、AT2 受容体刺激が脳傷害時に保護的に作用することを報告してきた。さらに最近開発された AT2 受容体刺激薬である Compound21 (C21) を脳傷害後のマウスに投与すると脳血流量の増加、酸化ストレス、炎症を抑制が認められ、脳梗塞巣を減少すること、脳機能においても血管性認知症モデルに C21 を前投与することで、その後の認知機能低下を予防することを報告してきた。我々はこの様な AT2 受容体の多機能な作用を説明するのに、AT2 受容体の C-末端に特異的に結合するシグナル伝達機能調節物質 ATIP が核内転写調節因子としても作用することで臓器保護作用を示すと考えたが、脳障害時 ATIP の影響については明らかにされていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では RA 系の“Protective arm”について、特に AT2 受容体-ATIP の脳保護効果を中心に臓器保護作用の新たなメカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

10 週齢の雄性 ATIP-Tg および同腹仔 (野生型) の総頸動脈から中大脳動脈の起始部までマイクロフィラメント (太さ 0.2 mm) を挿入し、固定することで中大脳動脈閉塞モデルを作成した。中大脳動脈閉塞術から 24 時間後、脳サンプルを採取し、梗塞巣の大きさの検討を行った。これらのマウスでの AT2 受容体刺激薬 (C21: 10 µg/kg/day 腹腔内投与) の効果を検討するために、中大脳動脈閉塞術の 2 週間前 (8 週齢の時点) から投与を開始し、10 週齢で脳梗塞モデルを作成して、脳障害時における AT2 受容体刺激による ATIP の増強作用について検討した。脳血流量は、脳梗塞モデル作成の前後の変化をレーザー Doppler 血流計で検討した。24 時間後の mRNA の発現は real-time RT-PCR 法にて検討した。

4. 研究成果

10 週齢の体重は ATIP-Tg で野生型マウスに比べて減少していたが、C21 の影響は野生型、ATIP-Tg で共に認められなかった。収縮期血圧は全ての群で差はなかった。

MCAO24 時間後における脳梗塞サイズは、ATIP-Tg と WT で有意差は認められなかったが、ATIP-Tg で減少傾向があった (図 1)。これらのマウスに C21 を投与することで、両マウス共に脳梗塞サイズは無投与群に比べて有意に改善していた。さらにこの C21 による改善効果は WT に比べて ATIP-Tg で増強していた。脳梗塞モデル作成 24 時間後の神経学的症状からも同様の結果が得られた。

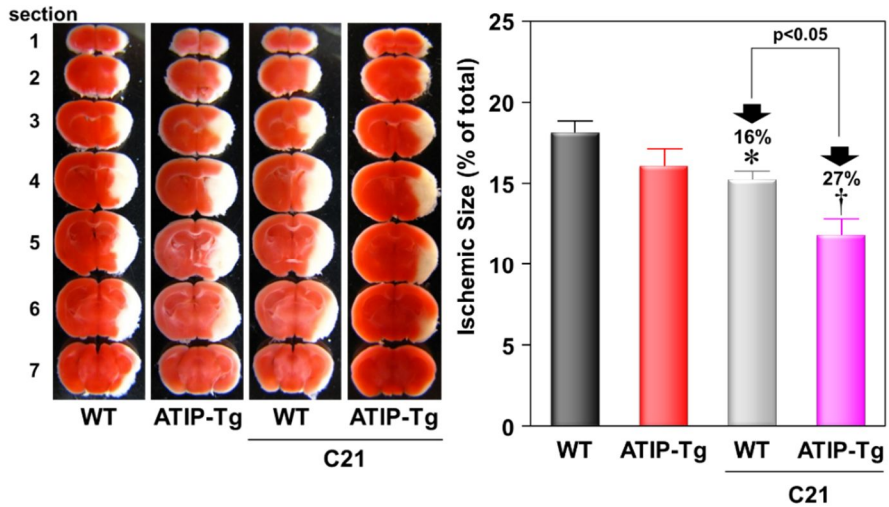


図 1. 脳梗塞巣への影響

MCAO 後の脳血流量の減少は、中大脳動脈中心部では全ての群で有意差は認められなかった (図 2)。周辺部では WT-C21 投与群で MCAO 直後の血流減少に変化はなかったが、24 時間後の血流量が増加していた。一方、ATIP-Tg-C21 投与群では MCAO 直後の脳血流量の減少が軽減しており、24 時間後では WT-C21 投与群と有意差はなかった。

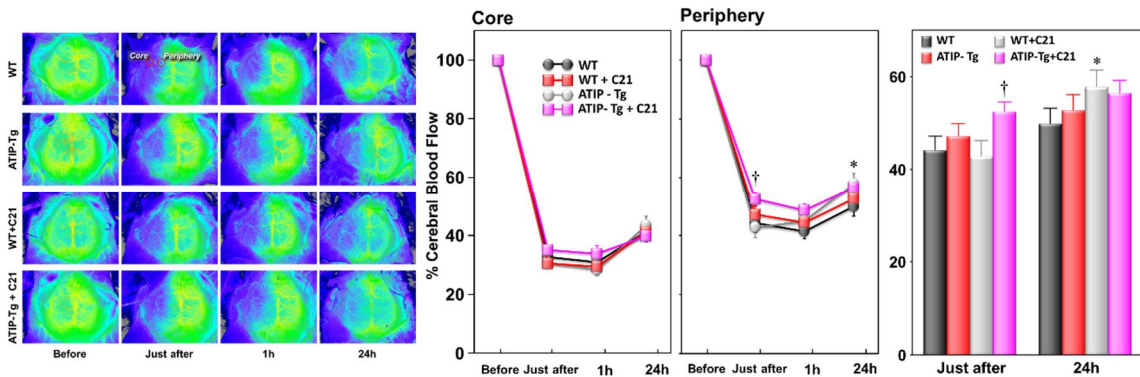


図 2. 閉塞後の脳表層血流量の変化

この閉塞直後の血流量改善に着目し、Collateral circulation の発達について ACA と MCA および PCA と MCA の吻合数を測定した (図 3)。ATIP-Tg に C21 を投与することでその数が増加する傾向が認められた。

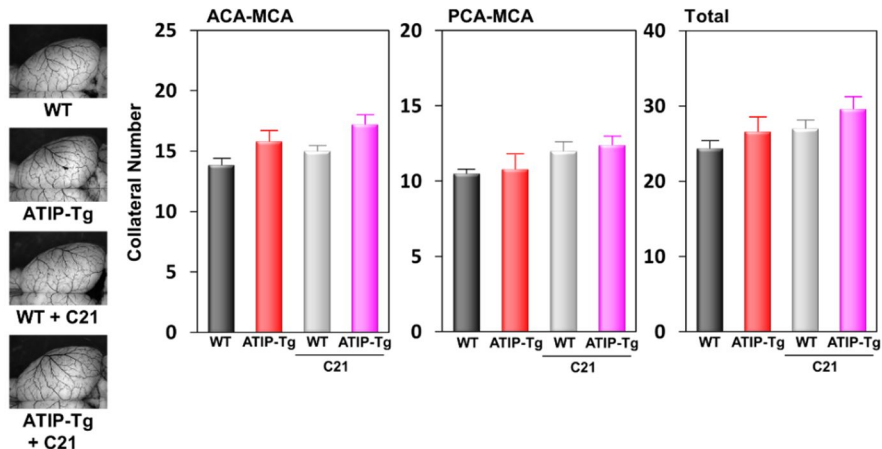


図 3. 閉塞前の Collateral Circulation

閉塞後 24 時間での大脳皮質での mRNA の発現を検討した。TNF- α 、MCP-1 mRNA の発現は非梗塞側に比べ梗塞側で増加しており、C21 を投与することで減少傾向が認められた(図 4)。また、AT2 受容体刺激による神経保護で作用する MMS2 の発現は ATIP-Tg の梗塞側で増加していた。

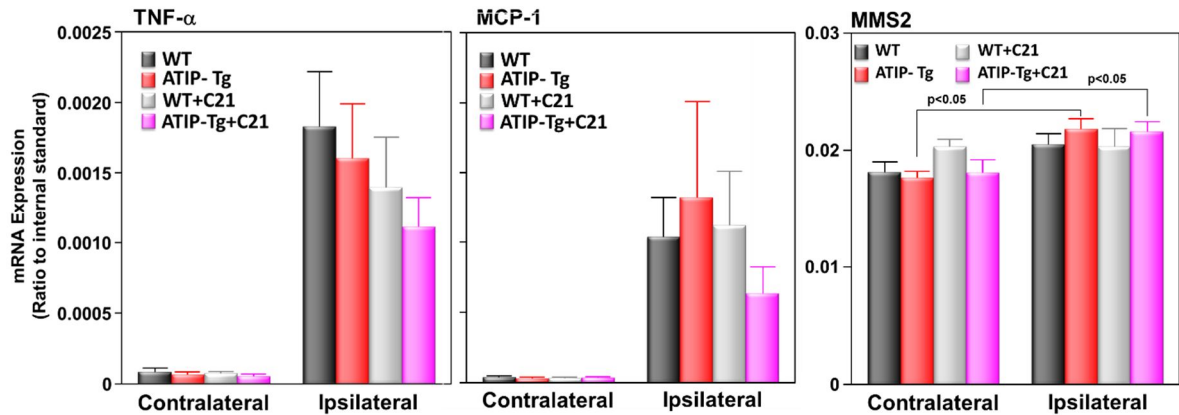


図 4.

以上の結果から、ATIP は AT2 受容体刺激による脳保護効果を増強していることが示唆された。また、これらの結果は、従来の RA 系の制御、つまり ACE/AngII/AT1 受容体軸の抑制だけでなく、保護軸である AT2 受容体亢進、さらに ATIP の活性化による臓器保護の有効性を明らかにするもので、今後の予防・治療法の開発に繋がるものである。

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 1件）

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 5件）

1 . 発表者名 Jun Iwanami, Masaki Mogi, Xiao-Li Wang, Kana Tsukuda, Akinori Higaki, Moe Kawakami, Masanori Kukida, Hiroto Nakaoka, Toshifumi Yamauchi, Hui-Yu Bai, Bao-Shuai Shan, Li-Juan Min, Masatsugu Horiuchi
2 . 発表標題 AT2 receptor-interacting protein enhances protective effect of AT2 receptor stimulation in ischemic brain damage
3 . 学会等名 International STROKE Conference 2018 (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Jun Iwanami, Masaki Mogi, Kana Tsukuda, Akinori Higaki, Moe Kawakami, Masanori Kukida, Hiroto Nakaoka, Toshifumi Yamauchi, Hui-Yu Bai, Bao-Shuai Shan, Li-Juan Min, Masatsugu Horiuchi
2 . 発表標題 Chronic cerebral ischemic injury worsens vascular dysfunction
3 . 学会等名 AHA Council on Hypertension 2018 (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Jun Iwanami, Masaki Mogi, Kana Tsukuda, Akinori Higaki, Masanori Kukida, Hiroto Nakaoka, Hui-Yu Bai, Bao-Shuai Shan, Li-Juan Min, Masatsugu Horiuchi
2 . 発表標題 Chronic cerebral damage aggravates vascular remodeling in cuff-induced vascular injury mouse model
3 . 学会等名 International Stroke Conference2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Jun Iwanami, Masaki Mogi, Xiao-Li Wang, Kana Tsukuda, Akinori Higaki, Masanori Kukida, Hiroto Nakaoka, Toshifumi Yamauchi, Hui-Yu Bai, Bao-Shuai Shan, Li-Juan Min and Masatsugu Horiuchi
2 . 発表標題 AT2 receptor stimulation reduces ischemic brain damage through AT2 receptor-interacting protein signal
3 . 学会等名 AHA Council on Hypertension (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 岩波純、茂木正樹、佃架奈、檜垣彰典、莖田昌敬、山内俊史、白薺鈺、単宝帥、関莉娟、堀内正嗣
2. 発表標題 AT2受容体相互作用タンパク質過剰発現はAT2受容体刺激による脳保護作用を増強する
3. 学会等名 日本高血圧学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jun Iwanami, Masaki Mogi, Xiao-Li Wang, Kana Tsukuda, Akinori Higaki, Moe Kawakami, Masanori Kukida, Hiroto Nakaoka, Toshifumi Yamauchi, Hui-Yu Bai, Bao-Shuai Shan, Li-Juan Min and Masatsugu Horiuchi
2. 発表標題 AT2 receptor-interacting protein enhances protective effect of AT2 receptor stimulation in ischemic brain damage
3. 学会等名 International Stroke Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	堀内 正嗣 (Horiuchi Masatsugu) (40150338)	愛媛大学・医学系研究科・教授 (16301)	
研究分担者	茂木 正樹 (Mogi Masaki) (20363236)	愛媛大学・医学系研究科・教授 (16301)	
研究分担者	関 莉娟 (Min Li-Juan) (80726175)	愛媛大学・医学部附属病院・助教(病院教員) (16301)	