

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：87112

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09249

研究課題名(和文) 老化制御遺伝子BubR1による高血圧に対する革新的治療法の開発

研究課題名(英文) Potential novel antihypertensive therapy through BubR1 gene transfer for Hypertension

研究代表者

松本 拓也 (Matsumoto, Takuya)

独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター(臨床研究部)・独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター
臨床研究部・血管外科医長

研究者番号：20374168

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：BubR1低発現マウスでは、腎臓におけるAng 誘導性のAGTR1過剰発現が抑制されることで、血圧上昇も抑えられることがわかった。BubR1発現低下は、腎近位尿細管細胞では、Ang 刺激によるNox4発現上昇をも抑制した。この抑制効果は、Ang 投与後早期にみられた。また、腎線維化も、BubR1低発現マウスでは抑制された。これらの結果から、BubR1低発現マウスでは、主に腎臓におけるAng 応答が減弱化したことで血圧上昇が抑制されたことが示唆された。BubR1は腎臓におけるAGTR1発現を制御することで、Ang 誘導性血圧上昇に重要な働きを有すると考えられ、大動脈中膜肥厚の抑制も認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身性にBubR1発現を軽度低下させると、Ang II刺激による腎臓でのAGTR1過剰発現が抑制され、血圧上昇が軽減された。腎近位尿細管細胞におけるBubR1低発現の降圧効果は、AGTR1やNox4の過剰発現の抑制によるものである。腎特異的なBubR1発現低下は、AGTR1拮抗作用によって、高血圧発症や腎臓でのAGTR1過剰発現を抑制する新規治療方法となり得る。この治療法は、降圧療法として有用だけでなく、潜在的な心腎機能保護にもなり得る。Ang 誘導性の血圧上昇は、BubR1とNox4発現の上昇を介した腎臓におけるAGTR1の過剰発現によって引き起こされている。

研究成果の概要(英文)：A systemic mild BubR1 reduction repressed Ang II induced hypertension by attenuating AGTR1 overexpression in the kidneys. The hypotensive effect of BubR1 reduction in RPTCs occurred through a repression of the upregulations of AGTR1 and Nox4. Renal specific BubR1 reduction may be a promising new therapy for preventing the development of hypertension and AGTR1 overexpression in the kidneys by acting as an AGTR1 blocker. This would be useful not only as an antihypertensive therapy but potentially also as a means of protecting heart and kidney functions. Further studies are required to clarify the relationship between BubR1 and the Ang II-AGTR1 pathway. Ang II-induced hypertension is caused by AGTR1 overexpression in the kidneys via the upregulation of BubR1 and Nox4.

研究分野：血管外科

キーワード：高血圧 BubR1 老化 細胞周期遺伝子 レニン・アンジオテンシン

1. 研究開始当初の背景

“ヒトは、動脈とともに老いる; William Osler (1848-1919)”の格言のごとく老化は、心筋梗塞、脳卒中などの心血管イベントを高率に発症し致死的な疾患の要因となる。また高血圧は、更に血管イベントの発症率を増加させる。しかし、未だ老化と高血圧との詳細な分子機序の解明はなされていない。そこで老化に影響を与える遺伝子群の同定・解析・治療への応用および高血圧との関連の解明は急務である。我々は、細胞周期遺伝子 BubR1 の低下は、老化現象を起こし、血管系においても老化の原因になることを解明してきた。今回は、BubR1 遺伝子の低下が血圧にどのような影響を与えるかを検討する。

2. 研究の目的

血圧調整に関与する最も重要な生理活性ペプチドの 1 つが、レニン・アンジオテンシン系により産生されるアンジオテンシン II である。アンジオテンシン II は、アンジオテンシン受容体 (AT1R) に作用することで、血管収縮、アルドステロン遊離、細胞増殖・線維化させ末梢抵抗の増加、循環血液量の増加、血管肥厚により高血圧を惹起する。アンジオテンシン II により惹起される高血圧が、加齢に伴い低下する BubR1 の影響をどのように受けるかを検討することを目的とした。我々が独自に作製した BubR1 低発現マウスを用いることにより、in vitro に加え、in vivo で の血圧動態変化を観察し臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

20-24 週齢の BubR1 低発現マウス (BubR1L/L) と 20-24 週齢のコントロールマウス (BubR1 + / +) を用い a. アンジオテンシン (Ang) 投与: マウスの背部皮下に腹腔内麻酔下に Infusion pump を埋め込む。Ang 0.25 μ /hr で背部皮下持続投与を 7 日間行う。b. 血圧測定: マウスの尾に cuff を巻き付け (tail cuff)、tail pressure を測定する。測定機器は、CODA standard system (Hakubatec Lifescience Solutions Co.Ltd.) を使用する。測定は Ang II 投与直前 (day0)、24 時間後 (day1)、72 時間後 (day3)、144 時間後 (day6) に行う。c. 心拍出量を測定: 小動物用高周波超音波エコー (Vevo770) を用い心拍出量を測定する。d. マウス標本作製: BubR1 + / + マウス及び BubR1L/L マウスの大動脈壁、心臓、胸腺、精巣、腎臓を摘出する。摘出直前に生理食塩水及びホルマリンで全身灌流を行う。腎臓では、Sirius Red 染色で腎弓状動脈の中膜及び外膜層の線維化を評価する。心臓では、Masson Trichrome 染色を行い心筋膠原線維の定量及び心筋細胞、心筋層の肥大を評価する。大動脈では、EVG 染色を行い大動脈壁中膜の肥厚、弾性板、炎症細胞浸潤を評価する。e. アンジオテンシン受容体の発現評価; 組織免疫染色にて、腎臓における BubR1, アンジオテンシン受容体 (AT1R, AT2R) のアンジオテンシン 刺激あり、なしで評価する。f. In vitro での AT1R, AT2R の解析; 近位尿細管細胞 (hR PTC) を用い、BubR1 siRNA で低発現の影響を RT - qPCR を用い評価する。g. Western blotting: マウス大動脈、肝、腎、心、胸腺、精巣の BubR1、アンジオテンシン受容体、Nox4 のタンパク発現をみるため、Western blotting 定量を行う。解析: データ解析は JMP Pro 11、画像解析は Image J を用いて行う。

4. 研究成果

BubR1 低発現マウスでは、腎臓における Ang 誘導性の AGTR1 過剰発現が抑制されることで、血圧上昇も抑えられることがわかった。BubR1 発現低下は、腎近位尿細管細胞では、Ang 刺激による Nox 4 発現上昇をも抑制した。この抑制効果は、Ang

投与後早期にみられた。また、腎線維化も、BubR1 低発現マウスでは抑制された。これらの結果から、BubR1 低発現マウスでは、主に腎臓における Ang 応答が減弱化したことで血圧上昇が抑制されたことが示唆された。腎近位尿細管細胞における BubR1 低発現の降圧効果は、AGTR1 や Nox 4 の過剰発現の抑制によるものである。腎特異的な BubR1 発現低下は、AGTR1 拮抗作用によって、高血圧発症や腎臓での AGTR1 過剰発現を抑制する新規治療方法となり得る。この治療法は、降圧療法として有用だけでなく、潜在的な心腎機能保護にもなり得る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Aoyagi Yukihiko, Furuyama Tadashi, Inoue Kentaro, Matsuda Daisuke, Matsubara Yutaka, Okahara Arihide, Ago Tetsuro, Nakashima Yutaka, Mori Masaki, Matsumoto Takuya	4. 巻 8
2. 論文標題 Attenuation of Angiotensin II-Induced Hypertension in BubR1 Low Expression Mice Via Repression of Angiotensin II Receptor 1 Overexpression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e011911
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.118.011911	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	古山 正 (Furuyama Tadashi) (00419590)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	
研究分担者	森崎 浩一 (Morisaki Koichi) (30625801)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	

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
---------	---------