

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17575

研究課題名(和文)白血球・免疫細胞における受容体結合因子の病態生理学的意義

研究課題名(英文) Pathophysiological significance of angiotensin receptor-binding protein in leucocytes and immune cells

研究代表者

畷田 一司 (UNEDA, Kazushi)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：90780370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：全身性ATRAPノックアウトマウスを用いて、ストレプトゾトシン誘発性糖尿病マウスを作製したところ、野生型糖尿病マウスに比べて、尿細管間質マクロファージの極性変化(M1マクロファージの増加、M2マクロファージの減少)とともに糖尿病性糸球体障害の増悪を認めた。一方、野生型マウスおよび全身性ATRAPノックアウトマウス骨髄由来細胞のM2マクロファージへの分化能は同等であった。さらに、全身性ATRAPノックアウト糖尿病マウスに、野生型および全身性ATRAPノックアウトマウス骨髄由来M2マクロファージを養子移植したところ、糖尿病性糸球体障害の改善を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎症に対するレニン-アンジオテンシン(RA)系阻害の腎保護効果の新たなメカニズムとして、腎尿細管RA系の過剰な活性化が、マクロファージの極性変化を介して糸球体障害を増悪させるという腎尿細管-マクロファージ-糸球体連関の存在を新たに示した。糖尿病性腎症において既存薬によるRA系の過度な抑制は、むしろ副作用が増えることが報告されているため、RA系の生理的シグナルには悪影響を与えずに、臓器障害と関連したシグナルのみ選択的に抑制できるATRAP-M2マクロファージ軸が、糖尿病性腎症の新たな治療標的となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：ATRAP deficient mice exhibited an exacerbation of streptozotocin-induced diabetic glomerular injury compared to wild-type control mice. These phenomena were accompanied by decreased expression of CD206, a marker of alternatively activated and tissue-reparative M2 macrophages, in the kidney tubulointerstitium. There were no significant differences in the expression levels of M2 macrophage-related genes and CD206 in IL-10<sup>-/-</sup>; and TGF-β<sup>-/-</sup>; incubated bone marrow-derived macrophages from wild-type mice and ATRAP deficient mice. Additionally, adoptive transfer of M2-polarized macrophages into diabetic ATRAP-knockout mice ameliorated the glomerular injury. These results indicate that ATRAP-M2 macrophages axis is a therapeutic target for diabetic kidney diseases.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：レニン・アンジオテンシン系 ATRAP 1型アンジオテンシン受容体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

組織局所のレニン-アンジオテンシン(RA)系,特に1型アンジオテンシン受容体(AT1受容体)の過剰な活性化は,生活習慣病および関連臓器障害の発症・進展に關与する.一方,RA系自体は生物の進化の過程で獲得されたもので,生体内の水・電解質代謝や循環系の恒常性維持,および臓器発生・分化にとって重要な生理的調節系である.心血管病高リスク患者や蛋白尿合併2型糖尿病・慢性腎臓病患者を対象とした複数の大規模臨床試験ではARBとACE阻害薬の併用治療や,ARBあるいはACE阻害薬とレニン阻害薬との併用治療などの強力なR-A系阻害は心血管病や腎機能障害などの予後改善には無効であり,逆に腎障害,高K血症,低血圧などの有害事象を増加させることが報告されている(Parving HH, et al. N Engl J Med 367: 2204-2213, 2012; Fried LF, et al. N Engl J Med 369: 1892-1903, 2013).したがって,臓器の発生・形態形成や恒常的生理機能維持を担うAT1受容体系の生理的情報伝達系活性の遮断を回避しつつ,同受容体系の病的な過剰活性化のみを選択的に効率的かつ安全に抑制することが重要と考えられる.研究代表者らの予備的研究結果から,ATRAPはAT1受容体の生理的情報伝達系には悪影響を与えずに,病的刺激の持続によるAT1受容体下流の臓器障害と関連した情報伝達系の過剰活性化に対してのみ選択的な抑制作用を発揮できるという機能上の大きな利点をもつ可能性が高い(Curr Pharm Des 19: 3043-3048, 2013).

### 2. 研究の目的

本研究では,AT1受容体への直接結合因子であるATRAP(AT1 receptor-associated protein)について,生活習慣病モデル動物,ATRAP遺伝子改変動物などを用いて,生活習慣病関連臓器障害の発症・進展における白血球・免疫細胞でのATRAPの病態生理学的意義を生体レベルで明らかにし,ATRAPに着目した新規分子標的治療開発に向けた多面的な基礎的知見を得ることを目指して実施した.

### 3. 研究の方法

全身性ATRAPノックアウトマウスにストレプトゾトシンを投与して,ATRAP欠損糖尿病マウスを作製し,野生型糖尿病マウスと血圧,血糖,腎障害を比較検討した.

近位尿細管特異的ATRAPノックアウトにストレプトゾトシンを投与して,近位尿細管特異的ATRAP欠損糖尿病マウスを作製し,野生型糖尿病マウスと尿細管間質でのM2マクロファージ発現を比較検討した.

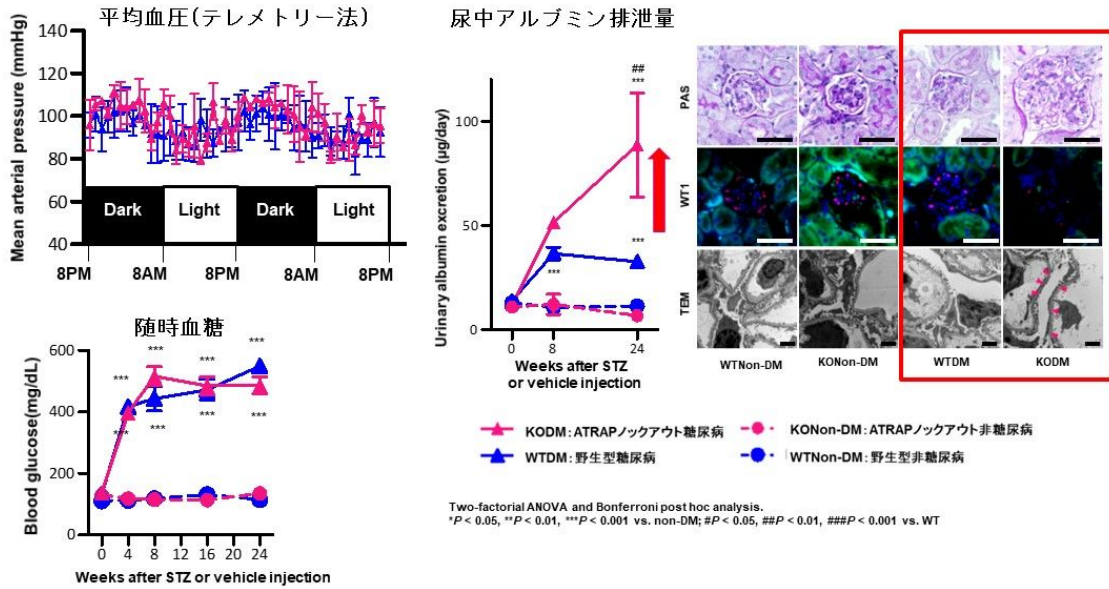
全身性ATRAPノックアウトマウスおよび野生型マウスの骨髄由来のマクロファージに,TGF- $\beta$ およびIL-10を投与し,M2マクロファージへの分化能を比較検討した.

全身性ATRAPノックアウト糖尿病マウスおよび野生型糖尿病マウスに,野生型および全身性ATRAPノックアウトマウス骨髄由来M2マクロファージを養子移植し,血圧,血糖,腎障害を比較検討した.

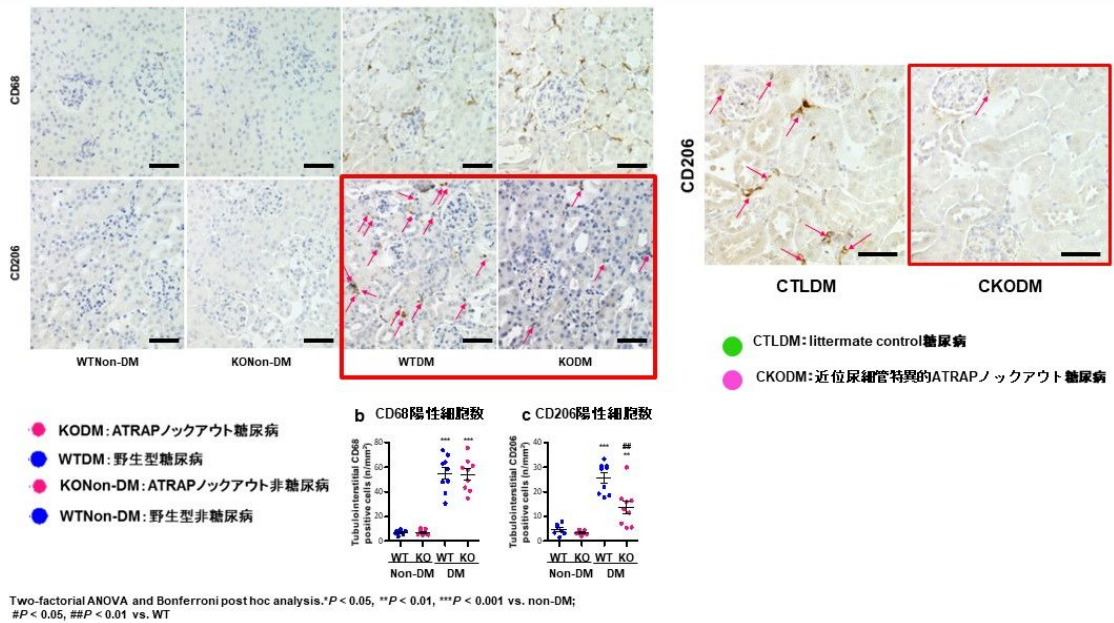
### 4. 研究成果

ATRAP欠損糖尿病マウス(KODM)は野生型糖尿病マウス(WTDM)と比較して,血圧や血糖値には明らかな差を認めなかったが,尿中アルブミン排泄量の増加,糸球体腫大および足突起脱落などの糸球体障害の増悪を認めた.KODMではWTDMとともに尿細管間質線維化は軽度で,両群間に明らかな差を認めなかった.KODMではWTDMに比べて,尿細管間質におけるM2マクロファージの発現減少を認めた.さらに,近位尿細管特異的ATRAP欠損糖尿病マウス(CKODM)においても,同腹仔対照野生型糖尿病マウス(CTLDM)と比較して,尿細管間質におけるM2マクロファージの発現減少を認めた.また,全身性ATRAPノックアウトマウスおよび野生型マウスの骨髄由来のマクロファージに対する,TGF- $\beta$ /IL-10誘導性M2マクロファージ分化には差を認めなかった.さらに,野生型および全身性ATRAPノックアウトマウス骨髄由来M2マクロファージを養子移植したところ,全身性ATRAPノックアウト糖尿病マウスの尿中アルブミン排泄量および糸球体障害は野生型糖尿病マウスと同等まで回復した.以上より,ATRAP-M2マクロファージ軸が,糖尿病性糸球体障害の治療標的となる可能性が示された.

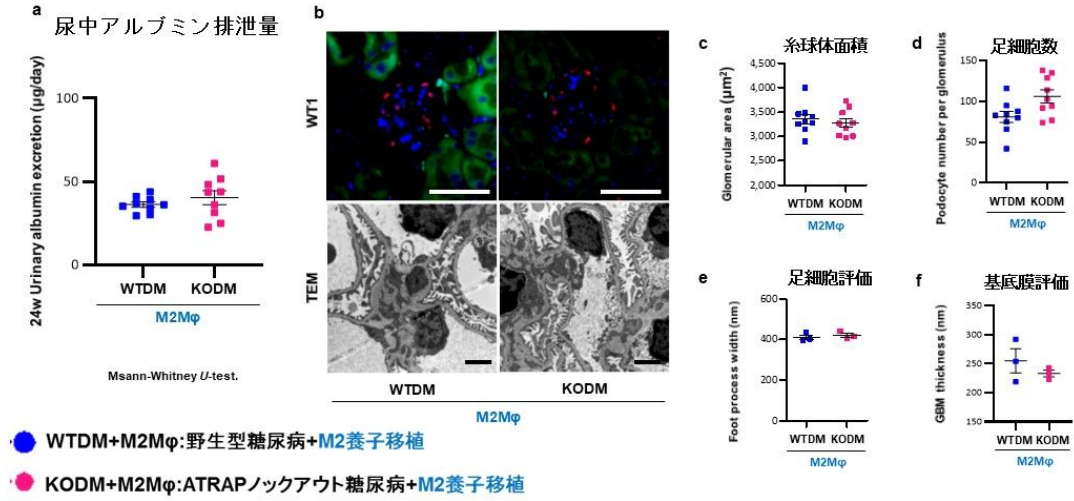
ATRAP欠損糖尿病マウス (KODM) は野生型糖尿病マウス (WTDM) と比較して尿中アルブミン排泄量の増加および著明な糸球体障害



KODMIはWTDMと比較してCD206陽性細胞(M2マクロファージ)の発現が減少  
これは、近位尿細管特異的ATRAP欠損糖尿病マウス (CKODM) でも観察



## M2Mφ養子移植によりKODMはWTDMと比較して 尿中アルブミン排泄量および糸球体障害が同等まで改善



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Wakui Hiromichi, Yamaji Takahiro, Azushima Kengo, Uneda Kazushi, et al	4. 巻 10
2. 論文標題 Effects of Rikkunshito treatment on renal fibrosis/inflammation and body weight reduction in a unilateral ureteral obstruction model in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-58214-0	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 -
1. 著者名 Yamaji Takahiro, Yamashita Akio, Wakui Hiromichi, Azushima Kengo, Uneda Kazushi, Fujikawa Yumiko, Haku Sona, Kobayashi Ryu, et al	4. 巻 9
2. 論文標題 Angiotensin II type 1 receptor-associated protein deficiency attenuates sirtuin1 expression in an immortalised human renal proximal tubule cell line	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52566-y	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 Azushima Kengo, Uneda Kazushi, Wakui Hiromichi, Ohki Kohji, Haruhara Kotaro, Kobayashi Ryu, Haku Sona, Kinguchi Sho, Yamaji Takahiro, Minegishi Shintaro, Ishigami Tomoaki, Yamashita Akio, Tamura Kouichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of rikkunshito on renal fibrosis and inflammation in angiotensin II-infused mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42657-1	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 -
1. 著者名 Kinguchi Sho, Wakui Hiromichi, Azushima Kengo, Haruhara Kotaro, Koguchi Tomoyuki, Ohki Kohji, Uneda Kazushi, Matsuda Miyuki, Haku Sona, Yamaji Takahiro, Yamada Takayuki, Kobayashi Ryu, Minegishi Shintaro, Ishigami Tomoaki, Yamashita Akio, Fujikawa Tetsuya, Tamura Kouichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of ATRAP in Renal Proximal Tubules on Angiotensin Dependent Hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e012395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.012395	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金口 翔, 涌井 広道, 小豆島 健護, 春原 浩太郎, 高口 知之, 大城 光二, 畝田 一司, 白 善雅, 山地 孝弘, 山田 貴之, 小林 竜, 石上 友章, 山下 暁朗, 藤川 哲也, 田村 功一
2. 発表標題 腎近位尿細管AT1受容体結合因子がアンジオテンシン依存性高血圧に及ぼす影響(Effects of AT1 Receptor-Associated Protein in Renal Proximal Tubules on Angiotensin II-Mediated Hypertension)
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畝田 一司, 小豆島 健護, 涌井 広道, 大城 光二, 春原 浩太郎, 小林 竜, 金口 翔, 山地 孝弘, 浦手 進吾, 田村 功一
2. 発表標題 漢方薬「六君子湯」による腎保護効果の検討
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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