

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：22701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23974

研究課題名(和文) 中枢神経系における受容体結合性因子の病態生理学的意義

研究課題名(英文) Pathophysiologic significance of the receptor binding protein in the central nervous system

研究代表者

金口 翔(KINGUCHI, Sho)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：30846986

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：レニン-アンジオテンシン系(R-A系)が認知機能障害に関与している可能性がある。そして、1型アンジオテンシンII受容体(AT1受容体)結合性低分子蛋白(AT1 receptor-associated protein; ATRAP)は、『AT1受容体情報伝達系の病的刺激による過剰活性化に拮抗する内在性抑制分子』として認知機能を低下を改善させる可能性がある。近年、高血圧や糖尿病などの生活習慣病を有する人は認知機能の低下を招きやすいことが明らかにされている。本研究では、高血圧モデルにおける中枢神経系でのR-A系の発現調節およびATRAPの病態生理学的意義について検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中枢神経におけるR-A系の過剰活性化が、認知症の発症・進展に関わる可能性がある。だが、R-A系は生体内の恒常性維持を担う重要な生理的調節系でもある。この恒常的生理機能維持を担うR-A系の生理的情報伝達系活性への遮断を回避し、同受容体系の病的な過剰活性化のみを選択的に抑制することが重要である。研究代表者らは、ATRAPが生理的なAT1受容体情報伝達系活性に影響を与えずに病的な過剰活性化のみを選択的に阻害するという機能上の大きな利点をもつ可能性を報告してきた。本研究はATRAPの認知症改善機能に着目し、その機能上の独自性から従来のR-A系阻害とは異なる観点の重要な成果が得られる可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：Renin-angiotensin system (RAS) could be associated with cognitive dysfunction. Angiotensin II type 1 receptor (AT1R)-associated protein (ATRAP) may function as an endogenous inhibitor that suppresses AT1R hyperactivation and improve cognitive dysfunction. Recently, cognitive function is easy to decrease in patients with hypertension, or diabetes. The purpose of this study is to investigate expression of RAS components and pathophysiologic significance of ATRAP in central nervous system using hypertension model animal.

研究分野：腎臓，高血圧

キーワード：ATRAP レニン-アンジオテンシン系 認知症 高血圧 糖尿病

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病や高血圧などの生活習慣病を有する人は認知機能の低下を招きやすいことから、心血管系疾患の発症・進展に関わるレニン-アンジオテンシン系(R-A系)が認知機能障害にも深く関与している可能性が考えられた。

アンジオテンシン II (AngII) と認知機能との関連性については、短期間の AngII 刺激は認知機能改善に有効であるが、慢性的な AngII 刺激は認知機能を低下させる可能性が示唆されている (Inaba S, et al. Hypertension 53: 356, 2009)。また、890 例の剖検脳の検討から、1 型アンジオテンシン II 受容体 (AT1 受容体) 遮断薬 (ARB) 服用者では、アミロイド蛋白 (A $\beta$ ) の凝集などのアルツハイマー病に関連した病理学的変化が抑制されていることも明らかにされており、長期的な AT1 受容体シグナルの抑制は認知機能改善に有用である可能性がある (Hajjar I, et al. Arch Neurol. 69: 1632-1638, 2012)。さらに、AT1 受容体の活性化は神経変性のシグナルカスケードに存在するリン酸化タウを促進すること、AT1 受容体遮断によってもたらされる 2 型 AngII 受容体 (AT2 受容体) 刺激が神経保護作用を示して認知機能を回復させることなどが明らかにされている (Jing F, et al. J Cereb Blood Flow Metab 32: 248, 2012)。したがって、中枢神経組織局所での AT1 受容体情報伝達系を効率的に抑制することは認知症治療において重要なポイントである可能性がある。

AT1 受容体結合性低分子蛋白 (AT1 receptor-associated protein; ATRAP) は、『AT1 受容体情報伝達系の病的刺激による過剰活性化に拮抗する内在性抑制分子』として認知機能低下を改善させる可能性が考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究では、「脳局所での ATRAP の発現あるいは活性が、認知症の発症・進展に関与し、ATRAP の発現制御により認知症を制御できる」との仮説をたて、ATRAP と認知症との関連について、認知症モデル動物を用いた脳 ATRAP の発現調節、脳特異的 ATRAP 高発現による認知機能への影響を検討し、ATRAP の認知症における病態生理学的意義の解明を目的とした。

### 3. 研究の方法

- (1) まず、認知症と関係が深い高血圧に着目し、慢性的な AngII 刺激は認知機能を低下させる可能性が報告されていることから、アンジオテンシン依存性高血圧モデルをもちいて生体内における ATRAP の病態生理学的意義について検討することとした。そこで、まず中枢神経とともに血圧制御に重要な役割をはたす腎臓に着目し、近位尿細管特異的 ATRAP 欠損マウスを作成し、アンジオテンシン依存性高血圧における病態生理学的意義について検討した。
- (2) また、同じく認知症と関係が深い糖尿病に着目し、近位尿細管において sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) を阻害することで尿糖排泄を増加し、血糖降下作用を発揮する SGLT2 阻害薬を用いて、糖尿病患者を対象に臨床試験を行い、SGLT2 阻害薬の診察室外血圧改善効果やアルブミン尿減少効果を検討した。
- (3) 高血圧認知症モデル動物を用いて、中枢神経における R-A 系コンポーネントの発現調節および ATRAP の病態生理学的意義について検討した。  
高血圧認知症モデル動物として SHR (Spontaneously Hypertensive Rats)、コントロールとして WKY (Wistar Kyoto Rats) をもちいて、高血圧・認知症の発症・進展にともなう、中枢神経における ATRAP と AT1 受容体の発現調節を検討した。  
Wistar Rat に対して認知症促進刺激として Ang II を慢性持続投与し、中枢神経における ATRAP と AT1 受容体発現に与える影響を検討した。

### 4. 研究成果

- (1) 腎近位尿細管に発現特異性が高いと報告されている phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) プロモーターによる発現制御を利用して、Cre/loxP システムを用いて、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスを作成した。レーザーマイクロディセクション法で検討した結果、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスは野生型マウスと比較して、近位尿細管における ATRAP mRNA 発現量が約 80% 減少している一方、遠位尿細管における ATRAP mRNA 発現量は同等であった。野生型マウスと近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスにアンジオテンシン II (1000 ng/kg/min) 2 週間投与を行った結果、

テイルカフ法およびテレメトリーシステムによる測定で両群の血圧は同等であった。さらに、アンジオテンシン II 投与による心体重比の増加、アンジオテンシン II 投与中のナトリウムバランスも両群で同等であった。今回、腎近位尿細管における ATRAP の欠損はアンジオテンシン依存性高血圧を増悪させなかった。我々は過去に、全身性 ATRAP ノックアウトマウスではアンジオテンシン II を投与するとナトリウム再吸収が増加し、アンジオテンシン依存性高血圧が増悪することを報告している。一方で、腎尿細管 ATRAP トランジェニックマウスではアンジオテンシン II を投与した時のナトリウム再吸収の増加が抑制され、アンジオテンシン依存性高血圧が抑制されることも報告している。これらの報告で、アンジオテンシン II を投与した時の上皮性ナトリウムチャンネル (epithelial sodium channel; ENaC: 遠位尿細管系の主要なナトリウムチャンネル) の発現亢進が、全身性 ATRAP 欠損マウスでは野生型マウスと比較して増強していた。反対に、腎尿細管 ATRAP 高発現マウスでは野生型マウスと比較して、 $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$  cotransporter (NCC) や ENaC といった遠位尿細管系の主要なナトリウムチャンネルのアンジオテンシン II 投与による発現亢進が抑制されていた。しかし、近位尿細管系の主要なナトリウムチャンネルである sodium-proton antiporter 3 (NHE3) の発現は、アンジオテンシン II を投与した時、全身性 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウス、あるいは腎尿細管 ATRAP トランスジェニックマウスと野生型マウスで同等であった。今回の実験結果と我々の過去の報告を総合すると、アンジオテンシン依存性高血圧の病態形成に腎近位尿細管 ATRAP が果たす役割は小さく、腎 ATRAP は主に腎遠位尿細管 ATRAP を介したメカニズムによりアンジオテンシン依存性高血圧を抑制すると考えられた。(Kinguchi. S, et al. Effects of ATRAP in Renal Proximal Tubules on Angiotensin-Dependent Hypertension. *J Am Heart Assoc.* 8(8): e012395, 2019. doi: 10.1161/JAHA.119.012395. )

- ( 2 ) 糖尿病患者に SGLT2 阻害薬を投与することで、糖代謝指標の改善のみならず、家庭血圧関連指標が改善し、そのことが SGLT2 阻害薬の腎保護効果 (アルブミン尿減少効果) に関連している可能性が示唆された (Kinguchi. S, et al. Improved home BP profile with dapagliflozin is associated with amelioration of albuminuria in Japanese patients with diabetic nephropathy: the Yokohama add-on inhibitory efficacy of dapagliflozin on albuminuria in Japanese patients with type 2 diabetes study (Y-AIDA study). *Cardiovasc Diabetol.* 18(1): 110, 2019. doi: 10.1186/s12933-019-0912-3; Kinguchi. S, et al. Relationship between basal sodium intake and the effects of dapagliflozin in albuminuric diabetic kidney disease. *Sci Rep.* 11(1): 951, 2021. doi: 10.1038/s41598-020-79687-z. )

( 3 )

6 週齢において、SHR と WKY の血圧は同等であったが、12 週齢において SHR は WKY と比較して認知機能の低下とともに血圧の上昇を認めた。SHR では WKY に比べて、6 週齢、12 週齢いずれの時点でも脳弓下器官 (SFO)、室傍核 (PVN) における酸化ストレスが亢進し、同部位における ATRAP/AT1 受容体発現比が低下していた。

Wister Rat への AngII 慢性持続投与は、認知機能低下および血圧上昇とともに、PVN において酸化ストレスを増大させ、ATRAP/AT1 受容体発現比の低下を伴っていた。

以上より、高血圧認知症モデル動物 (SHR, アンジオテンシン依存性高血圧モデル) の中枢神経では、ATRAP/AT1R 発現比が低下しており、中枢神経における R-A 系過剰活性化に対する ATRAP による代償が不十分であることが、酸化ストレスを増大させ、高血圧関連認知機能障害に関わる可能性が示唆された (田中翔平, 金口翔ら。「中枢性血圧制御とアンジオテンシン受容体結合因子との関係についての検討」第 23 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 2019 年)。

## 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 3件）

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 -

1. 著者名 Kinguchi S, Wakui H, Ito Y, Kondo Y, Azushima K, Osada U, Yamakawa T, Iwamoto T, Yutoh J, Misumi T, Aoki K, Yasuda G, Yoshii T, Yamada T, Ono S, Shibasaki-Kurita T, Hosokawa S, Orime K, Hanaoka M, Sasaki H, Inazumi K, Yamada T, Kobayashi R, Ohki K, Haruhara K, Kobayashi Y, Yamanaka T, Terauchi Y, Tamura K	4. 巻 18
2. 論文標題 Improved home BP profile with dapagliflozin is associated with amelioration of albuminuria in Japanese patients with diabetic nephropathy: the Yokohama add-on inhibitory efficacy of dapagliflozin on albuminuria in Japanese patients with type 2 diabetes study (Y-AIDA study)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardiovascular Diabetology	6. 最初と最後の頁 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12933-019-0912-3	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, Ito Yuzuru, Kondo Yoshinobu, Azushima Kengo, Osada Uru, Yamakawa Tadashi, Iwamoto Tamio, Yutoh Jun, Misumi Toshihiro, Yasuda Gen, Yoshii Taishi, Haruhara Kotaro, Kobayashi Yusuke, Yamanaka Takeharu, Terauchi Yasuo, Tamura Kouichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Relationship between basal sodium intake and the effects of dapagliflozin in albuminuric diabetic kidney disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-79687-z	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中 翔平, 金口翔
2. 発表標題 中枢性血圧制御とアンジオテンシン受容体結合因子との関係についての検討
3. 学会等名 第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金口 翔
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
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 Sho Kinguchi
2. 発表標題 Dapagliflozin improved urinary albumin excretion as well as home blood pressure profile in Japanese type 2 diabetes mellitus patients with nephropathy: Yokohama Add-on Inhibitory efficacy of Dapagliflozin on Albuminuria in Japanese patients with type 2 diabetes study (Y-AIDA study)
3. 学会等名 The 62nd Annual Meeting of the Japanese Society of Nephrology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金口 翔
2. 発表標題 糖尿病性腎臓病に対するSGLT2阻害薬によるアルブミン尿減少効果における家庭血圧改善の重要性：Y-AIDA研究から
3. 学会等名 第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金口 翔
2. 発表標題 糖尿病性腎症に対するSGLT2阻害薬による腎保護効果における家庭血圧改善の重要性
3. 学会等名 第117回日本内科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金口 翔
2. 発表標題 食塩摂取量がDKDに対するSGLT2阻害薬のアルブミン尿と家庭血圧の改善効果に与える影響：Y-AIDA試験サブ解析
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020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
---------	---------