

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22893

研究課題名（和文）血管周囲脂肪組織の褐色化制御を介した新たな動脈硬化治療戦略の構築

研究課題名（英文）Therapeutic strategy for atherosclerosis via the regulation of perivascular adipose tissue browning

研究代表者

安達 裕助（Adachi, Yusuke）

東京大学・医学部附属病院・特任研究員

研究者番号：40834198

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）：血管の周囲には血管周囲脂肪組織が存在していることが知られているが、血管周囲脂肪組織の血管リモデリングへの直接的な作用は十分に分かっていない。今回の研究により、血管傷害後の血管周囲脂肪組織で褐色化という現象が起こり、褐色化した血管周囲脂肪組織はニューレグリン4の分泌を介してマクロファージを抗炎症型へ分極させることで過剰な炎症を抑制し、病的な血管リモデリングを抑制していることが分かった。これらの知見は、動脈硬化の新たな治療標的を明らかにするものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究によって、生体に備わっているストレス応答機構としての血管周囲脂肪の褐色化という現象を見出すことができた。褐色化した血管周囲脂肪組織は抗炎症アディポカインの分泌を介して血管炎症を鎮静化させ、病的な血管リモデリングを抑制している。この内因性のストレス応答機構を外部から賦活化することで、新たな動脈硬化治療法に繋がる可能性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：Perivascular adipose tissue (PVAT) exists around blood vessels, but the direct effects of PVAT on vascular remodeling are not well understood. The present study showed that browning of PVAT occurs after vascular injury and suppresses excessive inflammation and pathological vascular remodeling by inhibiting macrophage polarization to the inflammatory type via secretion of NRG4. These findings identify a new therapeutic target for atherosclerosis.

研究分野：血管生物学

キーワード：動脈硬化

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 血管周囲脂肪組織

動脈硬化の病態は、Ross の傷害反応説として知られるように、「血管の内側から外側へ向かう炎症の結果」と考えられてきたが<sup>1</sup>、近年「動脈の外側から内側へ向かう炎症の影響」も注目されてきている<sup>2</sup>。脳動脈等の一部の例外を除き、径 100  $\mu\text{m}$  以上の動脈と静脈は、脂肪組織に被覆されている、あるいは脂肪組織と接していることが知られている。外膜と周囲脂肪組織との間には厳密な境界は存在していないが、血管周囲脂肪組織(perivascular adipose tissue; PVAT) は、「血管の周りに存在している脂肪組織」と定義され、以前より、例えば冠動脈については心外膜脂肪組織、大動脈に関しては大動脈周囲脂肪組織などとしてその存在および機能が報告されてきた。かつて、PVAT の役割は血管の機械的、代謝的、温度的な支持に留まると考えられてきたが、PVAT の血管への直接的な作用に注目が置かれるようになってきている。

### (2) 褐色脂肪と白色脂肪の褐色化

哺乳類においては、脂肪組織はその機能および形態的な特徴から、白色脂肪と褐色脂肪の 2 種類に大きく分類される。白色脂肪は主にエネルギーをトリグリセリドの形で細胞内に貯蔵し、必要時には遊離脂肪酸の形で血液中へ供給する役割を果たしているのに対し、褐色脂肪は脱共役タンパク質(uncoupling protein 1; UCP1) を介した熱産生が主たる役割となっている。さらに、白色脂肪は、カテコラミン刺激や低温への曝露によってベージュ脂肪と呼ばれる形態学的には褐色脂肪に類似した、UCP1 を高発現した脂肪へと変化することが知られており、この現象は「褐色化」と呼ばれている<sup>3</sup>。褐色化を制御している分子としては、PR domain-containing 16 (PRDM16) が知られている。PRDM16 は CCAAT enhancer binding protein beta (CEBPB) と複合体を形成し、褐色脂肪細胞あるいはベージュ脂肪細胞へと誘導する発生運命を決定する役割を担っている。

### (3) 動脈硬化制御における PVAT の果たす機能

最近の医学研究により、ヒトの冠動脈周囲の PVAT が血管の炎症に反応して表現型の変化を示すことが報告されている<sup>4,5</sup>。これらの知見は、血管疾患と PVAT の表現型変化との関連を示唆するものであるが、その因果関係や機序は不明なままである。本研究では、マウスの血管傷害モデルを用いた分子生物学的手法に加えて、システム生物学的手法を用いた解析を行い、血管炎症とリモデリング制御における PVAT の役割を検討した。

## 2. 研究の目的

申請者は今回の研究に先立って施行した網羅的遺伝子発現解析(bulk RNA-seq)の結果、血管傷害後の PVAT で褐色脂肪関連の遺伝子発現が上昇することを見出し、血管傷害が PVAT の褐色化を起こすという仮説を立てた。本研究は上記の仮説を立証し、動脈硬化制御における PVAT 褐色化の意義を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

野生型マウスの大動脈にワイヤー擦過血管傷害を加え、血管傷害モデルを作製した。血管傷害後の血管周囲組織を採取し、リアルタイム PCR、ウエスタンブロット、免疫染色での評価を行った。褐色化の制御因子である Prdm16 を脂肪組織特異的にノックアウトしたマウスを作製し、血管傷害後の炎症と血管リモデリングの程度を評価した。また、 $\beta$  3 受容体刺激薬の局所投与によって PVAT の褐色化を促進した際に炎症とリモデリングがどのように変化するかを観察した。培養細胞を用いた実験では、PVAT 由来脂肪細胞を樹立し、マクロファージ細胞株との直接的な細胞間相互作用を確認した。褐色化した PVAT が分泌するアディポカインを同定するために、一細胞 RNA-seq を用いた解析を行った。ヒトでの血管傷害後の PVAT の形質変化を観察するため、ヒト大動脈解離検体を使用して解析を行った。

## 4. 研究成果

マウス血管傷害モデルおよびヒト大動脈解離組織検体を用いて、血管傷害後の PVAT において褐色化現象が起こることを確認した。次に、褐色化の制御因子である Prdm16 を脂肪組織特異的にノックアウトすると PVAT の炎症と血管リモデリングが増悪することを確認した。逆に、 $\beta$  3 受容体刺激薬の局所投与によって PVAT の褐色化を促進すると炎症とリモデリングが抑制されることが分かった。培養細胞を用いた実験では、褐色化を抑制した PVAT 由来脂肪細胞の培養上清はマクロファージ細胞株を炎症型に分極させた。一方、褐色化誘導した PVAT 由来脂肪細胞の培養上清はマクロファージ細胞株を抗炎症型に分極させた。一細胞 RNA-seq により、褐色化したマウス脂肪細胞から分泌されるアディポカインとして Nrg4 を同定し、Nrg4 をノックダウンすると褐色化

PVAT によるマクロファージの抗炎症型への分極作用が消失することを示した。

今回の研究により、血管傷害後の PVAT で褐色化という現象が起こり、褐色化した PVAT は NRG4 の分泌を介してマクロファージを抗炎症型へ分極させることで過剰な炎症を抑制し、病的な血管リモデリングを抑制していることが分かった。これらの知見は、動脈硬化の新たな治療標的を明らかにするものである。

#### 【引用文献】

1. Ross, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* **340**, 115-126 (1999).
2. Henrichot, E., *et al.* Production of chemokines by perivascular adipose tissue: a role in the pathogenesis of atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**, 2594-2599 (2005).
3. Wu, J., *et al.* Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* **150**, 366-376 (2012).
4. Antonopoulos, A.S., *et al.* Detecting human coronary inflammation by imaging perivascular fat. *Science Translational Medicine* **9**, eaal2658 (2017).
5. Oikonomou, E.K., *et al.* Non-invasive detection of coronary inflammation using computed tomography and prediction of residual cardiovascular risk (the CRISP CT study): a post-hoc analysis of prospective outcome data. *The Lancet* **392**, 929-939 (2018).

## 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 4件）

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Adachi Yusuke, Kiyosue Arihiro, Ando Jiro, Kawahara Takuya, Kodera Satoshi, Minatsuki Shun, Fujiwara Takayuki, Hara Hironori, Ueda Kazutaka, Sakakura Kenichi, Hatano Masaru, Harada Mutsuo, Takimoto Eiki, Akazawa Hiroshi, Morita Hiroyuki, Momomura Shin-ichi, Fujita Hideo, Komuro Issei, et al. | 4. 巻<br>11            |
| 2. 論文標題<br>Factors associated with left ventricular reverse remodelling after percutaneous coronary intervention in patients with left ventricular systolic dysfunction  | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>239-239 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41598-020-80491-y  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Toko Haruhiro, Morita Hiroyuki, Katakura Masanori, Hashimoto Michio, Ko Toshiyuki, Bujo Satoshi, Adachi Yusuke, Ueda Kazutaka, Murakami Haruka, Ishizuka Masato, Guo Jiaxi, Zhao Chunxia, Fujiwara Takayuki, Hara Hironori, Takeda Norifumi, Takimoto Eiki, Shido Osamu, Harada Mutsuo, Komuro Issei | 4. 巻<br>10                |
| 2. 論文標題<br>Omega-3 fatty acid prevents the development of heart failure by changing fatty acid composition in the heart  | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>15553-15553 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41598-020-72686-0  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Ueda Kazutaka, Adachi Yusuke, Liu Panyen, Fukuma Nobuaki, Takimoto Eiki         | 4. 巻<br>10            |
| 2. 論文標題<br>Regulatory Actions of Estrogen Receptor Signaling in the Cardiovascular System | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Frontiers in Endocrinology  | 6. 最初と最後の頁<br>909-909 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3389/fendo.2019.00909                                       | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名<br>Ueda Kazutaka, Fukuma Nobuaki, Adachi Yusuke, Numata Genri, Tokiwa Hiroyuki, Toyoda Masayuki, Otani Akira, Hashimoto Masaki, Liu Pang-Yen, Takimoto Eiki | 4. 巻<br>12                  |
| 2. 論文標題<br>Sex Differences and Regulatory Actions of Estrogen in Cardiovascular System   | 5. 発行年<br>2021年             |
| 3. 雑誌名<br>Frontiers in Physiology  | 6. 最初と最後の頁<br>738218-738218 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3389/fphys.2021.738218   | 査読の有無<br>有                  |
| オープンアクセス<br>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<br>-                   |

[学会発表] 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>安達 裕助  |
| 2. 発表標題<br>Pathophysiological role of browning of perivascular adipose tissue in the development of vascular remodeling |
| 3. 学会等名<br>第24回日本心血管内分泌代謝学会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|                                    |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>安達 裕助                   |
| 2. 発表標題<br>血管周囲脂肪組織の褐色化は血管の炎症を制御する |
| 3. 学会等名<br>第50回 日本心脈管作動物質学会        |
| 4. 発表年<br>2021年                    |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>安達 裕助  |
| 2. 発表標題<br>Beiging of perivascular adipose tissue regulates vascular inflammation: a study in mice and humans |
| 3. 学会等名<br>第69回 日本心臓病学会学術集会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>安達 裕助                          |
| 2. 発表標題<br>血管周囲脂肪組織の褐色化は血管の炎症とリモデリングを制御する |
| 3. 学会等名<br>第63回 日本脈管学会総会                  |
| 4. 発表年<br>2021年                           |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yusuke Adachi   |
| 2. 発表標題<br>Beiging of perivascular adipose tissue suppresses vascular inflammation |
| 3. 学会等名<br>第38回 国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会   |
| 4. 発表年<br>2021年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|
|         |         |