

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21390286

研究課題名（和文）セルメタボリズムの心血管内分泌代謝学的解析とメタボリックシンドローム包括医療応用

研究課題名（英文）Regulation of cell-metabolism by cardiovascular hormones and the comprehensive application to metabolic syndrome.

研究代表者

伊藤 裕 (ITOHI HIROSHI)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：40252457

研究成果の概要（和文）：申請者はこれまで、心血管ホルモンの動脈硬化性疾患における病態生理的意義の検討を続けてきた。本研究では、ナトリウム利尿ペプチドやアンジオテンシンIIなど心血管ホルモンの細胞代謝における意義を検討した。本研究により、細胞骨格を制御し血管トーンを調節することが本質的役割である心血管ホルモンが、ミトコンドリア、ペルオキシソームなどの細胞内小器官をも制御する、細胞代謝調節因子であることが示された。

研究成果の概要（英文）：Cardiovascular hormones control cytoskeletal structure in vascular smooth muscle cells and regulate vascular tonus. The present study revealed the regulation of cell-metabolism by cardiovascular hormones via modulation of intracellular organelles. The findings suggest comprehensive application of vascular hormones from the metabolic syndrome to cardiovascular diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2010年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2011年度	2,600,000	780,000	3,380,000
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：内分泌学、抗加齢医学、細胞代謝、心血管ホルモン、メタボリックシンドローム、FOXO1、胆汁酸、iPS細胞、

## 1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまで、心血管ホルモンの動脈硬化性疾患における病態生理的意義とその治療に関するトランスレーショナルリサーチを一貫して研究し最近では、メタボリックシンドロームの上流因子であるエネルギー代謝への心血管ホルモンの直接作用を見出した。

## 2. 研究の目的

本研究ではメタボリックシンドロームの成因、病態生理および合併症の病態をそれらの

過程に関与するさまざまな細胞群の代謝（セルメタボリズム）変調という新しい観点から捉え、その流れにおける心血管ホルモンの関与に焦点をあて、新たな治療オプションを探索することをその目的とする。

## 3. 研究の方法

ナトリウム利尿ペプチド(NP)、アンジオテンシン II(AngII)などの心血管ホルモンならびに、その下流因子として作用する cGMP 依存性蛋白キナーゼ(cGK)や FoxO1, SIRT1,

ROCK の細胞代謝における意義を検討した。また、メタボリックシンドロームとその合併症の発症に、ペロキシソーム、オートファゴソーム等の細胞内オルガネラの変調(オルガネロパシー)が関与し、その結果として細胞代謝異常が生じる可能性に焦点をあて、その過程における心血管ホルモンの意義を検討した。

#### 4. 研究成果

cGKを全身で過剰発現するTgマウスは標準食においても体重が減少して耐糖能良好であり、呼吸ガス分析では酸素消費と脂質燃焼の亢進を認めた[雑誌論文⑨]。電子顕微鏡を用いた観察ではcGK-Tgマウス骨格筋において、巨大なミトコンドリアを高密度で認めた。マクロファージ特異的恒常活性型FoxO1トランスジェニックマウスを高脂肪食下で観察したところ、同マウスではインスリン抵抗性が認められ、脂肪組織のstromal vascular fraction (SVF)での遺伝子発現にコントロールマウスとの差が確認された。アンジオテンシンII受容体拮抗剤(ARB)の大量投与で、高血圧を退行させることを見出した[⑧]。申請者がヒトES細胞ならびにiPS細胞からの誘導に成功した血管内皮細胞[⑦]と、より成熟した成人血管内皮細胞の細胞代謝をマイクロアレイなどのオミクス解析を駆使して比較したところ、両者ではいくつかの遺伝子発現が異なり、その一つが老化抑制遺伝子Sirt1であった[⑥]。Sirt1が高発現であるヒトES細胞由来内皮細胞にSirt1のsiRNAを投与してSirt1を抑制すると、両者の細胞増殖能・内皮欠損回復能・管腔構造構築能の差は消失し、Sirt1阻害薬であるSirtinolを用いた実験でも同様の結果が得られた。

代表的な血管拡張ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド(NP)の下流で発現が亢進する長寿遺伝子SIRT1を、エネルギー消費の盛んな部位である近位尿細管特異的に過剰発現したマウスを作成した。近位尿細管特異的SIRT1過剰発現で、急性腎障害による尿細管細胞のアポトーシスが抑制され腎保護作用が見られること、SIRT1がペルオキシソームの数と機能を維持し、活性酸素の発生を抑制することによりこの作用がもたらされることを報告した(図1)[⑤]。血管収縮ホルモンであるアンジオテンシンII(AngII)の活性化に関与する因子であるプロレニンの受容体である(プロ)レニン受容体((pro)renin receptor: PRR)を心臓特異的に欠損したマウス、心筋特異的PRRノックアウトマウスの作成に成功した。このマウスを解析すると、生後早期

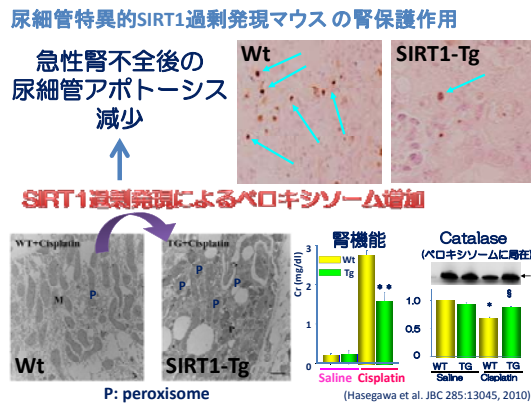
に心不全で致死であり、心筋ではオートファジー不全による多数のオートファゴソームの空胞変性が認められた。このことからPRRは細胞内液胞の酸性環境維持に必須の分子であることが明らかにされた(図2)[④]。

NPやAngIIの血管平滑筋における標的分子であり、血管トーン制御のキーファクターとなる低分子量GタンパクRhoとその下流分子ROCKの脂肪細胞における意義を検討した。脂肪組織特異的にROCKを抑制したマウスを作成したところ、脂肪細胞由来のミトコンドリア活性化因子であるアディポネクチン血中濃度の上昇と、肥満への抵抗性ならびにインスリン感受性の改善が認められることを見出した。3T3-L1細胞を用いた更なる検討で、肥満を模倣するメカニカルストレッチ(ストレッチチャンバーによる細胞伸展刺激)がRho/ROCKシグナルを活性化し、脂質蓄積を促進することを見出した(図3)[③]。

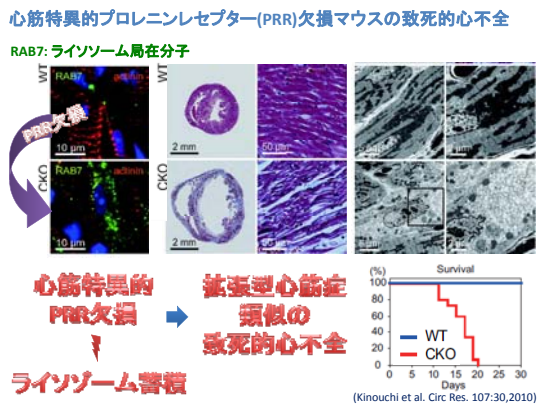
血管収縮ホルモンであるAngIIの活性化に関与する因子であるプロレニンの受容体である(プロ)レニン受容体((pro)renin receptor: PRR)を腎糸球体足細胞特異的に欠損したマウスを作成して腎機能を検討したところ、PRRを欠損したマウスでは足細胞でのライソソーム蓄積を伴う糸球体構造変化が生じ、PRRホモ欠損マウスでは生後30日程度で死亡する致死的腎不全を発症することを見出した[②]。胆汁酸受容体FXRアゴニストは胆汁酸プールを減少させ、エネルギー代謝の低下と肥満発症を促進することを見出した[①]。

これらの結果は心血管ホルモンが細胞代謝の調節を介してメタボリックシンドロームとその合併症の発症進展に関与することを示しており、その過程で心血管ホルモンによる細胞メカニカルストレスならびに細胞内オルガネラの制御が関与することを示唆している。すなわち、血管平滑筋の細胞骨格を制御して血管トーンを調節することが本質的役割である心血管ホルモンが、末梢組織のミトコンドリア、ペルオキシソーム、オートファゴソームなど細胞内小器官(オルガネラ(Organelle))を制御する(オルガネラリモデリング)ことで、メタボリックシンドロームとその合併症発症に関与する、エネルギー代謝調節因子であることが示された。今後の検討で、心血管ホルモンによる細胞骨格制御とオルガネラリモデリングの関連を解析し、その破綻によるエネルギー代謝の乱れが、肥満・糖尿病発症の原因となる可能性をさらに検討したい。

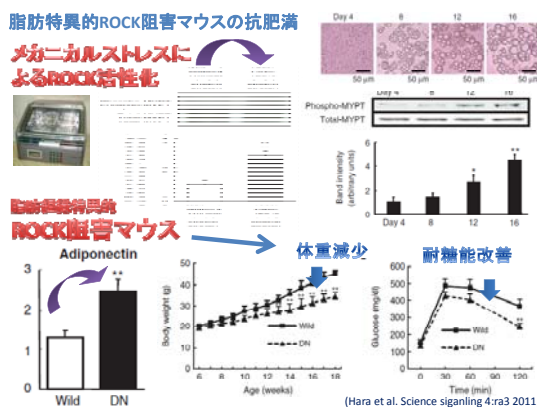
(図 1) 尿細管特異的 SIRT1 過剰発現マウスの腎保護作用



(図 2) 心筋特異的プロレニンレセプター (PRR) 欠損マウスの致死的心不全



(図 3) 脂肪特異的 ROCK 阻害マウスの抗肥満



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

① Watanabe M, Horai Y, Houten SM, Morimoto K, Sugizaki T, Arita E, Mataka C, Sato H, Tanigawara Y, Schoonjans K, H Itoh, Auwerx J. Lowering Bile Acid Pool Size with a Synthetic Farnesoid X Receptor (FXR) Agonist Induces Obesity and Diabetes through Reduced Energy Expenditure. J Bio Chem. 2011; 286(30): 26913-26920 査読有

② Oshima Y, Kinouchi K, Ichihara A, Sakoda M, Kurauchi-Mito A, Bokuda K, Narita T, Kurosawa H, Ge-Hong Sun-Wada, Wada Y, Yamada T, Takemoto M, Moin A. Saleem, Susan E. Quaggin, H Itoh. (Pro) renin receptor is essential for normal podocyte structure and function. Journal of the American Society of Nephrology 2011; 22(12):2203-12. 査読有

③ Hara Y, Wakino S, Tanabe Y, Saito M, Tokuyama H, Washida N, Tatematsu S, Yoshioka K, Homma K, Hasegawa K, Minakuchi H, Fujimura K, Hosoya K, Hayashi K, Nakayama K, H Itoh. Rho/Rho-kinase activity in adipocytes contributes to a vicious cycle in obesity that may involve mechanical stretch. Sci Signal. 2011; 4(157): ra3. 査読有

④ K Kinouchi, A Ichihara, M Sano, Ge-Hong Sun-Wada, Y Wada, A Kurauchi-Mito, K Bokuda, T Narita, Y Oshima, M Sakoda, Y Tamai, H Sato, K Fukuda, H Itoh. The (Pro)rennin Receptor/ATP6AP2 is Essential for Vascular H<sup>+</sup>-ATPase Assembly in Murine Cardiomyocytes. Circ Res. 2010; 107:30-34: 査読有

⑤ K. Hasegawa, S Wakino, K Yoshioka, S Tatematsu, Y Hara, H Minakuchi, K Sueyasu, N Washida, H Tokuyama, M Tzukerman, K Skorecki, K Hayashi, H Itoh. Kidney-specific Overexpression of Sirt1 Protects against Acute Kidney Injury by Retaining Peroxisome Function. J Biol Chem. 2010; 285(17): 13045-13056. 査読有

⑥ Homma K, Sone M, Taura D, Yamahara K, Suzuki Y, Takahashi K, Sonoyama T, Inuzuka M, Fukunaga Y, Tamura N, H Itoh, Yamanaka S, Nakao K. Sirt1 plays an important role in mediating greater

functionality of human ES/iPS-derived vascular endothelial cells.

Atherosclerosis. 2010; 212(1):42-7 査読有

- ⑦ Taura D, Sone M, Homma K, Oyamada N, Takahashi K, Tamura N, Yamanaka S, Nakao K. Induction and isolation of vascular cells from human induced pluripotent stem cells--brief report. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009 Jul;29(7):1100-3. 査読有
- ⑧ K. Ishiguro, K. Hayashi, H. Sasamura, Y. Sakamaki, H Itoh. "Pulse" treatment with high-dose angiotensin blocker reverses renal arteriolar hypertrophy and regresses hypertension Hypertension 2009 53: 83-89. 査読有
- ⑨ Miyashita K, Itoh H, Tsujimoto H, Tamura N, Fukunaga Y, Sone M, Yamahara K, Taura D, Inuzuka M, Sonoyama T, Nakao K. Natriuretic peptides/ cGMP/ cGMP- dependent protein kinase cascades promote muscle mitochondrial biogenesis and prevent obesity. Diabetes. 2009 58(12):2880-92. 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① 伊藤裕 高血圧の成因、病態、治療に関するパラダイムシフト 細胞内小器官とアンジオテンシン 細胞内代謝モジュレーターとしての意義 第 34 回日本高血圧学会(招待講演) 2011 年 11 月 25 日 宇都宮

[図書] (計 1 件)

- ① 宮下和季、伊藤裕 診断と治療社 最新内分泌代謝学 高血圧・血管と内分泌総論 2012 印刷中

[産業財産権]

- 出願状況 (計 1 件)  
名称：慢性腎臓病判定用血清マーカーおよびその検出方法、装置  
発明者：篠村裕之、林香、伊藤裕、末松誠、曾我朋義  
権利者：同上  
種類：特願  
番号：2009-206717 号  
出願年月日：平成 21 年 8 月 17 日  
国内外の別：国内

- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等 <http://www.keio-emn.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊藤 裕 (ITOH HIROSHI)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号：40252457

### (2) 研究分担者

中江 淳 (NAKAE JUN)  
慶應義塾大学・医学部・特任准教授  
研究者番号：00344573

渡辺 光博 (WATANABE MITSUHIRO)  
慶應義塾大学・医学部・特任准教授  
研究者番号：10450842

曾根 正勝 (SONE MASAKATSU)  
京都大学  
大学院医学研究科・助教  
研究者番号：40437207

### (3) 研究協力者

市原 淳弘 (ICHIHARA ATSUHIRO)  
東京女子医科大学  
医学部高血圧内内分泌内科・主任教授  
研究者番号：60203105

篠村 裕之 (SASAMURA HIROYUKI)  
慶應義塾大学・医学部・特任准教授  
研究者番号：00235293

柴田 洋孝 (SHIBATA HIROTAKA)  
慶應義塾大学・医学部・専任講師  
研究者番号：20245484

脇野 修 (WAKINO SHU)  
慶應義塾大学・医学部・専任講師  
研究者番号：50265823

宮下 和季 (MIYASHITA KAZUTOSHI)  
慶應義塾大学・医学部・特任講師  
研究者番号：50378759