

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：34512

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790098

研究課題名(和文) 網羅的生理活性ペプチド群改善を目指した新たな糖尿病合併症治療戦略の検証

研究課題名(英文) The investigation of peptidase inhibition toward diabetic nephropathy and cardiomyopathy

研究代表者

中山 和彦 (Nakayama, Kazuhiko)

神戸薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：70584738

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：エンドセリン変換酵素(ECE)のこれまでに知られていない作用機序を介しての病態改善効果の検証を目的に、我々は糖尿病性心筋症・腎症、糖尿病下肢虚血といったマウスモデルを使用し、本酵素抑制が病気の進行を抑制する事を証明した。その作用機序は、ECEがエンドセリン以外にもブラジキニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチドなどといった様々な代謝候補物質に作用し、広範囲な作用機序を介して血管拡張作用や抗炎症作用をもたらしている事を肺・血中・腎臓・心臓でこれらのペプチドを定量する事により証明した。本研究は糖尿病合併症に対する新しい治療法開発に大きく貢献すると思われる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the novel therapeutic mechanism of endothelin converting enzyme (ECE) inhibition toward diabetic concomitant diseases like nephropathy, cardiomyopathy, and limb ischemia by using genetically modified mice. Although ECE was known as synthetic enzyme for endothelin-1, this time, we proved the the potentiating vasodilative peptide as bradykinin, and also anti-inflammatory peptide as calcitonin gene related peptide by inhibiting their degradation. This study is the first investigation to confirm the new mechanism of ECE inhibition in diabetic complication.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬理学

キーワード：エンドセリン変換酵素 糖尿病性腎症 糖尿病性心筋症

## 1. 研究開始当初の背景

エンドセリン変換酵素(ECE)はエンドセリン-1の合成酵素として知られているが、アンギオテンシン変換酵素(ACE)、中性メタロプロテアーゼ(NEP)と同じ Zinc metalloprotease family に属する酵素であり、特に NEP とのアミノ酸相同性が高く、エンドセリンの前駆物質である BigET-1 以外に多くの血管作動性ペプチドを代謝する能力を持っている事が確認されている。しかしながら、その病態学的な影響は依然評価されたことはない。

## 2. 研究の目的

心血管疾患の病態進展に重要な役割を果すエンドセリン(ET)系、ブラジキニン(BK)系、利尿ペプチド(NP)系、レニンアンギオテンシン(RA)系、アドレノメデュリン(ADM)系といった代表的な血管作動性ペプチド群に対するエンドセリン変換酵素(ECE)の影響を評価し、ECE 阻害薬の臨床応用に向けた病態改善作用を様々な病態モデルで確認する。

## 3. 研究の方法

ECE-1 欠損マウスを使用し、糖尿病性心筋症・腎症モデル、低酸素誘発性肺高血圧モデル、プレオマイシン誘発性肺線維症モデル、糖尿病下肢虚血モデルといった様々な病態モデルで、病態改善作用を観察し、代謝候補物質である血管作動性ペプチド群を定量し、ECE の生理学的・病態学的存在意義を明らかにする。

## 4. 研究成果

ECE-1 欠損マウスの表現型解析にて、これまでに肺高血圧モデルで肺高血圧発症抑制作用を確認し、その機序として血管拡張物質であるブラジキニンの肺組織濃度の上昇を確認し、さらに肺高血圧患者の臨床検体においてもブラジキニン血中濃度測定を行った所、肺高血圧の重症度とブラジキニン血中濃度が有意に相関する事を確認し、臨床患者の結果と動物実験での結果が一致する事を証明し、学会発表を行った。

またプレオマイシン誘発性肺線維症モデルにおいも、有意に野生型に比較して肺線維症への進行を抑制できる事が確認され、カルシトニン遺伝子関連ペプチド CGRP の分解抑制により欠損マウスで著明な肺組織中での CGRP 上昇が認められた。CGRP の抗炎症・線維化作用賦活が病態改善に寄与したことを分子生物学的手法で証明し、論文発表を行った。

さらに糖尿病性腎症モデルで野生型マウスに比べ蛋白尿抑制効果を確認し、肺線維症モデルと同様に腎組織中 CGRP の上昇を欠損マウスで確認すると共に、SubstanceP の上昇作用も確認し、学会発表した。

糖尿病性心筋症モデル、糖尿病性下肢虚血

モデルでも同様に病態改善効果を確認しており、現在その機序解析を進めている所である。

## 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6件)

中山和彦、江本憲明、エンドセリン受容体拮抗薬の臨床研究と今後の課題、心臓、45(12):1503-1511, 2013

Hung Tran Van, Noriaki Emoto, Nicolas Vignon-Zellweger, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Yoko Suzuki, Ken-ichi Hirata, Inhibition of vascular endothelial growth factor receptor under hypoxia causes severe, human-like pulmonary arterial hypertension in mice: Potential roles of interleukin-6 and endothelin. Life Sci 2014 (in press Jan 8. pii: S0024-3205(14)00010-1.)

Hartopo AB, Emoto N, Vignon-Zellweger N, Suzuki Y, Yagi K, Nakayama K, Hirata K., Endothelin-converting enzyme-1 gene ablation attenuates pulmonary fibrosis via CGRP-cAMP/EPAC1 pathway. Am J Respir Cell Mol Biol. 2013, 48, 465-76

Taniguchi Y, Emoto N, Miyagawa K, Nakayama K, Kinutani H, Tanaka H, Shinke T, Hirata K. I Noninvasive and Simple Assessment of Cardiac Output and Pulmonary Vascular Resistance With Whole-Body Impedance Cardiography Is Useful for Monitoring Patients With Pulmonary Hypertension. Circulation Journal 2013, 77, 2383-2389

Nakayama K, Emoto N, Suzuki Y, Vignon-Zellweger N, Yagi K, Hirata K. Physiological relevance of hydrolysis of atrial natriuretic Peptide by endothelin-converting enzyme-1. Kobe J Med Sci. 2012, 58, E12-18

Adiarto S, Heiden S, Vignon-Zellweger N, Nakayama K, Yagi K, Yanagisawa M, Emoto N. ET-1 from endothelial cells is required for complete angiotensin II-induced cardiac fibrosis and hypertrophy. Life Science, 2012, 15, 651-657

Arfian N, Emoto N, Vignon-Zellweger N, Nakayama K, Yagi K, Hirata K. ET-1 deletion from endothelial cells protects the kidney during the extension phase of ischemia/reperfusion injury. Biochem Biophys Res Commun. 2012, 425, 443-449

〔学会発表〕(計 17 件)

Kazuhiko Nakayama, Noriaki Emoto, Yu Taniguchi, Hiroto Kinutani, Yoko Suzuki, Toshiro Shinke, Ken-ichi Hirata Impaired right heart function predicts the inefficacy of oral pulmonary vasodilators in the patients with pulmonary hypertension. 第 77 回日本循環器学会総会 2013 年 3 月 横浜

中山 和彦, Anggoro B. Hartopo, 鈴木 陽子, Sunu Budhi Raharjo, 江本 憲昭 肺高血圧・肺線維症に対する新たなエンドセリン研究-エンドセリン変換酵素阻害の可能性- 第 2 回日本肺循環学会学術集会 2013 年 6 月 東京で招待講演

中山 和彦, 江本 憲昭, 谷口 悠, 絹谷 洋人, 鈴木 陽子, 新家 俊郎, 平田 健一 Focusing right heart function for predicting the oral medical efficacy in pulmonary hypertension 第 2 回日本肺循環学会学術集会 2013 年 6 月 東京

谷口 悠, 江本 憲昭, 絹谷 洋人, 中山 和彦, 新家 俊郎, 平田 健一 肺動脈性肺高血圧症患者に対するエンドセリン受容体拮抗薬および PDE5 阻害剤追加併用療法の長期効果の検討 第 2 回日本肺循環学会学術集会 2013 年 6 月 東京

Sunu B. Raharjo, Noriaki Emoto, Yoga Yuniadi, Kazuhiko Nakayama, Ganesja M. Harimurti Role of Bradykinin and Endothelin-Converting Enzyme-1 in Pulmonary Hypertension International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Marc Iglarz, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto Absence of ETA receptors on podocytes is not antialbuminuric in diabetic mice International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Kazuhiko Nakayama, Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Yoko Suzuki, Takuya Okano, Kazuya Miyagawa, Keiko Yagi, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto Endothelin converting enzyme inhibition attenuates early albuminuria and late renal failure in streptozotocin induced diabetic mice International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Nur Arfi an, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Tran V. Hung, Hary S. Muliawan, Gahan Satwiko, Noriaki Emoto Endothelial Cells-derived Endothelin-1 Exaggerates Kidney Fibrosis Through ETAR Activation in Renal Interstitial Cells International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Hung Van Tran, Noriaki Emoto, Nicolas Vignon-Zellweger, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Yoko Suzuki, Ken-ichi Hirata Analysis of ET-1 system in mild and severe pulmonary arterial hypertension in mice International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Kazuya Miyagawa, Kazuhiko Nakayama, Yoko Suzuki, Yu Taniguchi, Hiroto Kinutani, Toshiro Shinke, Ken-ichi Hirata, Noriaki Emoto Serum Endothelin-1 and big endothelin-1 in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension can be markers to predict hemodynamics after balloon pulmonary angioplasty International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Naoki Yoshimura, Tomonori Higuma, Masaya Aoki, Yoshinori Doki, Hideyuki Nagkaoka, Keiichirou Ibuki, Sayaka Ozawa, Keiichi Hirono, Fukiko Ichida, Kazuhiko Nakayama, Takuya Okano, Noriaki Emoto Distinct expression of endothelin-1 and endothelin converting enzyme-1 in the lung of patients undergoing right heart bypass surgery : A preliminary study International conference of Endothelin (ET-13) 2013 年 9 月 東京

Kazuhiko Nakayama, Yoko Suzuki, Takuya Okano, Kazuya Miyagawa, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata, Noriaki Emoto The Potentiation of Calcitonin Gene-related Peptide Pathway by Suppressing Endothelin Converting Enzyme Attenuates Kidney Dysfunction in Type 1 Diabetic Mice. 第 78 回日本循環器学会総会 2014 年 3 月 東京

Muhammad G, N Emoto, K Nakayama, K Yagi, K Hirata Possible Involvement of Estrogen on Endothelin-1 Transgenic Mice in the Hypoxia Induced Pulmonary Arterial Hypertension Model 第 78 回日本循環器学会総会 2014 年 3 月 東京

Muliawan HS, Emoto N, Nakayama K, Yagi K, Hirata K Knockout of Endothelin-1 in Vascular Endothelial Cells Ameliorates Cardiac Remodelling induced by Cryoinfarction in Mice 第 78 回日本循環器学会総会 2014 年 3 月 東京

Muliawan HS, Nakayama K, Yagi K, Miyagawa K Suzuki Y, Satwiko MG, Nugroho DB, Jeffilano AB, Emoto N Endothelin-1 Derived Vascular Endothelial Cells Importance for Cardiac Remodeling Induced by Cryoinfarction 第 43 回日本心脈管作動物質学会 年会 2014 年 2 月 神戸

中山 和彦、亀田 真吾、中原 大介、鈴木 陽子、岡野 卓也、宮川 一也、八木 敬子、江本 憲昭、平田 健一 エンドセリン変換酵素阻害によるカルシトニン遺伝子関連ペプチド賦活を介した糖尿病性腎症進展抑制効果の検討 第 43 回日本心脈管作動物質学会 年会 2014 年 2 月 神戸

Muliawan HS, Emoto N, Nakayama K, Yagi K, Hirata K Role of Vascular Endothelial Cells Endothelin-1 in Cardiac Remodeling Induced by Cryoinfarction 10th Asia Pacific Congress of Hypertension (APCH2014) 2014 年 2 月 Philippines Cebu

〔その他〕

ホームページ等

神戸大学循環器内科 肺高血圧グループ

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/im1/doctor/activity/basic/acti-03.html>

にて当研究グループを紹介

神戸薬科大学 臨床薬学研究室

<http://www.kobepharma-u.ac.jp/~clinical/publications/index.html>

にて業績を紹介

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者 中山和彦

(Nakayama Kazuhiko)

神戸薬科大学 薬学部 助教

研究者番号：70584738