

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790950

研究課題名(和文) アンジオテンシン受容体結合因子による高血圧治療の開発

研究課題名(英文) Development of the high blood pressure medical treatment by angiotensin receptor binding molecule

研究代表者

涌井 広道 (Wakui, Hiromichi)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：10587330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、腎尿細管ATRAPの生体での機能的役割に着目し、腎尿細管ATRAP高発現マウスを用いて、血圧調節における腎尿細管ATRAPの機能的意義について検討した。その結果、腎尿細管で高発現しているATRAPは、生理的なAT1受容体情報伝達系活性には影響を与えずに、病的刺激下に生じるAT1受容体系の過剰活性化を抑制することで、高血圧の発症を抑制する新規システムとして機能していることを明らかにした。さらに、血管平滑筋ATRAP高発現マウスを用いた検討結果から、血管におけるATRAPが、病的刺激下で生じる組織局所の酸化ストレスを抑制し、動脈硬化を抑制する機能を担うことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We paid our attention to the functional role of renal tubule ATRAP in vivo, and, using renal tubule ATRAP overexpression transgenic mice, we examined functional role of renal tubule ATRAP in blood pressure regulation in response to pathologic stimulation. As a result, while ATRAP, with a high endogenous expression in renal tubules, preserves baseline physiological AT1R signaling activity, it would suppress pathological overactivation of AT1R signaling under pathological conditions. Furthermore, using vascular ATRAP overexpression transgenic mouse, we demonstrated that vascular ATRAP can suppress oxidative stress at local tissue sites and inhibit arteriosclerosis under pathological conditions.

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：レニンアンジオテンシン 受容体 高血圧 動脈硬化 尿細管

1. 研究開始当初の背景

レニン-アンジオテンシン系の生理活性物質アンジオテンシンII (AngII) は主要な受容体であるAT1 受容体に作用して下流の情報伝達系を活性化することにより、高血圧および、心不全、動脈硬化、腎障害などの高血圧関連臓器障害の発症・進展に深くかかわっており、この系により効率的な抑制によりこれら疾患の予防および治療効果の向上を図ることは重要な課題である。ATRAP (Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein)は、AT1 受容体に直接結合してその機能を調節している可能性が高い分子としてクローニングされた。ATRAP の機能および病態生理学意義は不明な点が多いが、研究代表者らは、ATRAP が細胞レベルにおいてはAT1 受容体の internalization を促進して細胞表面のAT1 受容体を減少させることにより、AT1 受容体を介する心肥大反応や血管平滑筋細胞の動脈硬化反応を抑制しうることを、生体レベルにおいては心筋細胞におけるATRAP発現量の増加がAngIIを介した心肥大を抑制することなどを報告してきた。

2. 研究の目的

生体において、内在性 ATRAP は腎において高発現であり、特に尿細管において高発現である。本研究では、尿細管における ATRAP の機能に着目し、血圧調節との関連性について検討を行った。また、同様に内在性 ATRAP 発現レベルが高い血管平滑筋において、ATRAP 発現の増加が AngII による動脈硬化反応を抑制しうるかどうかを検討した。

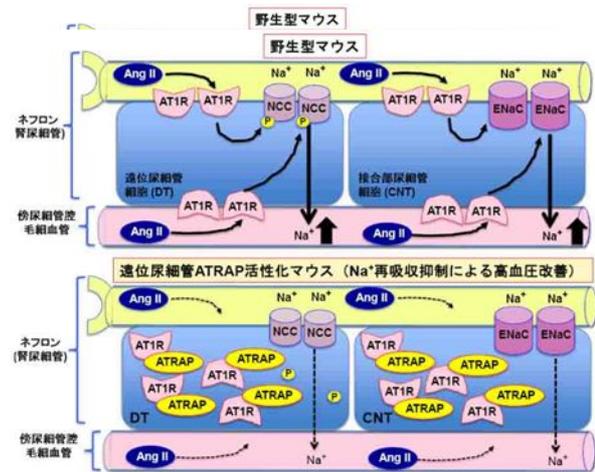
3. 研究の方法

腎臓 ATRAP 高発現マウス(腎 TG マウス)および血管平滑筋 ATRAP 高発現マウス(血管 TG マウス)を作製した。野生型 C57BL/6 マウス(WT マウス)および腎 TG マウスに osmotic pump を用いて AngII を皮下持続投与し、負荷前と AngII 負荷期間における血圧および脈拍を radiotelemetry 法で測定した。AngII 投与中、metabolic cage を用いて、体重、食餌摂取量、飲水量および尿量を計測した。また、腎臓における電解質トランスポーターの発現を western blot 法で評価した。野生型マウスおよび血管 TG マウスに AngII を慢性持続投与し、2 週間後、大動脈を摘出して、大動脈の壁肥厚、過酸化物質の指標である 4-HNE 組織免疫染色、NADPH oxidase コンポーネント発現量、MAPK リン酸化などを評価した。

4. 研究成果

詳細な解析の結果、作製した腎 TG マウスでは、導入した ATRAP 蛋白は特に遠位尿細管で高い発現レベルを認めた。興味深いことに、腎 TG マウスはベースラインの血圧は WT マウスと同等であったが、AngII 慢性持続投与時

には、ナトリウムバランスの減少とともに、血圧上昇が抑制された。さらに、腎 TG マウスでは、AngII を介した腎での NCC の活性化および ENaC 発現の増加が抑制された。



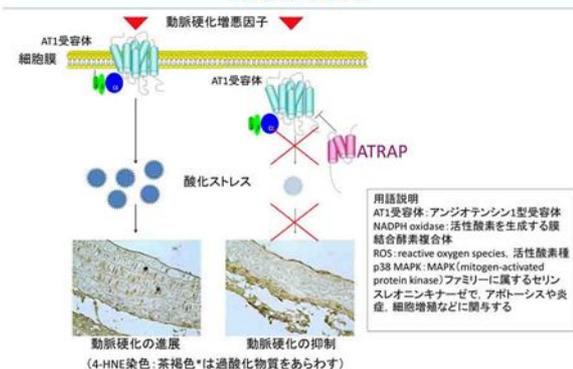
尿細管におけるATRAP発現量の増加は、尿細管レニン-アンジオテンシン系/ナトリウムトランスポーター/尿中ナトリウム排泄を抑制し、アンジオテンシンIIによってもたらされる病的な血圧上昇を抑制する。
(編集部コメントより抜粋改定。Hypertension. 2013;61:1150-1152.)

解説：
野生型マウス(上図)では、アンジオテンシンIIがAT1受容体に結合することによってNa⁺-Cl⁻共輸送体(NCC)のリン酸化やアミロライド感受性ナトリウムチャンネルのサブユニット(αENaC)発現量の増加が生じる。この系の過剰な活性化により過剰なナトリウム再吸収が生じて高血圧が発症する。
遠位尿細管ATRAP高発現マウス(下図)では、ATRAPによりAT1受容体の持続的なinternalizationが促進され、アンジオテンシンIIを介した過剰なNCCのリン酸化やαENaC発現量の増加が抑制される。したがって病的なAT1受容体活性化による過剰なナトリウム再吸収が是正され、高血圧の発症が抑制される。

一方、血管 TG マウスでは、AngII による血圧上昇は WT マウスと同等であるにもかかわらず AngII を介した NOX4 発現の増加 p38MAPK リン酸化 - 4HNE 産生が抑制され、動脈硬化反応が抑制された。

以上により、腎尿細管で高発現している ATRAP は、生理的な AT1 受容体情報伝達系活性には影響を与えずに、病的刺激下に生じる AT1 受容体系の過剰活性化を抑制し、腎尿細管電解質トランスポーター/尿中ナトリウム排泄系の制御を通じて高血圧の発症を抑制している可能性が示唆された。また、血管平滑筋における ATRAP は、病的刺激による局所酸化ストレスの増大および動脈硬化反応に対して拮抗的に作用していると考えられた。

血管におけるATRAPは酸化ストレス(NADPH oxidase-ROS-p38MAPK経路)を抑制し、動脈硬化を抑制する



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 13 件)

Maeda A, Wakui H (13 名中 3 番目), et al. Ohsawa M, Azushima K, Uneda K, Kobayashi R, Tsurumi-Ikeya Y, Kanaoka T, Dejima T, Haku S, Yamashita A, Umemura S. Effects of Ang II Receptor Blocker, Irbesartan, on Adipose Tissue Function in Mice with Metabolic Disorders. *Int J Mol Sci*. 27;11(6):646-51, 2014. DOI: 10.7150/ijms.8577. (査読有)

Wakui H (13 名中 1 番目), et al. Activation of angiotensin II type 1 receptor associated protein exerts an inhibitory effect on vascular hypertrophy and oxidative stress in angiotensin II-mediated hypertension. *Cardiovasc Res*. 100(3):511-9, 2013. DOI:10.1093/cvr/cvt225. (査読有)

Azushima K, Wakui H (13 名中 3 番目), et al. Beneficial Metabolic Modulation of Bofu-tsu-shosan, an Oriental Herbal Medicine, on a Mouse Model of Human Metabolic Disorders with Visceral Obesity. *PLoS One*. 8(10):e75560, 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0075560. (査読有)

Maeda A, Wakui H (15 名中 3 番目), et al. Angiotensin Receptor-Binding Protein ATRAP/Agtrap Inhibits Metabolic Dysfunction With Visceral Obesity. *J Am Heart Assoc*. 2(4):e000312, 2013. DOI:10.1161/JAHA.113.000312. (査読有)

Wakui H (9 名中 1 番目), et al. Endovascular treatment of renal artery stenosis improves contralateral renal hypertrophy with nephrotic syndrome. *CEN Case Rep*. 3:53-55, 2014. DOI:10.1007/s13730-013-0085-y. (査読有)

Ohsawa M, Wakui H (13 名中 4 番目), et al. Addition of aliskiren to Angiotensin receptor blocker improves ambulatory blood pressure profile and cardiorenal function better than addition of benazepril in chronic kidney disease. *Int J Mol Sci*. 14(8):15361-75, 2013. DOI:10.3390/ijms140815361. (査読有)

Matsuda M, Wakui H (14 名中 3 番目), et al. Upstream Stimulatory Factors 1 and 2 Mediate The Transcription of Angiotensin II Binding and Inhibitory Protein. *J Biol Chem*. 288(26):19238-49, 2013. DOI:10.1074/jbc.M113.451054. (査読有)

Tamura K, Wakui H (16 名中 3 番目), et al. Therapeutic potential of low-density lipoprotein apheresis in the management of peripheral artery disease in patients with chronic kidney disease. *Ther Apher Dial*. 17(2):185-92, 2013. DOI:10.1111/j.1744-9987.2012.01149. (査読無)

Wakui H (17 名中 1 番目), et al. Enhanced Angiotensin Receptor-Associated Protein in Renal Tubule Suppresses Angiotensin-Dependent Hypertension. *Hypertension*. 61:1203-1210, 2013. DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00572. (Featured in Editorial Commentary: *Hypertension*. 61:1150-1152, 2013). (査読有)

Yanagi M, Wakui H (10 名中 4 番目), et al. The angiotensin II type 1 receptor blocker olmesartan preferentially improves nocturnal hypertension and proteinuria in chronic kidney disease. *Hypertens Res*. 36(3):262-9, 2013. DOI: 10.1038/hr.2012.184. (査読有)

Kanaoka T, Wakui H (17 名中 4 番目), et al. Effects of aliskiren-based therapy on ambulatory blood pressure profile, central hemodynamics, and arterial stiffness in nondiabetic mild to moderate hypertensive patients. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 14(8):522-9, 2012. DOI:10.1111/j.1751-7176.2012.00640. (査読有)

Kanaoka T, Wakui H (16 名中 6 番目), et al. Relationship of ambulatory blood pressure and the heart rate profile with renal function parameters in hypertensive patients with chronic kidney disease. *Clin Exp Hypertens*. 34(4):264-9, 2012. DOI:10.3109/10641963.2012.681082. (査読有)

Kobayashi Y, Wakui H (24 名中 12 番目), et al. Mice lacking hypertension candidate gene ATP2B1 in vascular smooth muscle cells show significant blood pressure elevation. *Hypertension*. 59:854-860, 2012. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.165068. (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

涌井広道: Enhanced Angiotensin Receptor-Associated Protein in Renal Tubule Suppresses Angiotensin-Dependent Hypertension. 第 36 回日本高血圧学会総会, 2013 年 10

月 24 日, 大阪, (Yong Investigator's Award 優秀賞受賞) .

Wakui H: Enhanced AT1

receptor-associated protein in renal tubule suppresses

angiotensin-mediated hypertension.

第 50 回ヨーロッパ腎臓・透析・移植学会, 2013 年 5 月 20 日, イスタンブール.

Wakui H: Enhanced AT1

receptor-associated protein in the distal nephron suppresses angiotensin dependent hypertension . 24th

Scientific Meeting of the International Society of Hypertension , 2012 年 10 月 1 日, Sydney .

涌井広道: 尿細管におけるアンジオテンシン受容体結合因子の発現量増加はアンジオテンシン II 依存性高血圧を抑制する . 第 35 回日本高血圧学会総会, 2012 年 9 月 20 日, 名古屋 .

涌井広道: 尿細管におけるアンジオテンシン受容体結合因子の発現量増加はアンジオテンシン II 依存性高血圧を抑制する . 第 3 回 Front-J 研究会, 2012 年 8 月 10 日, 品川, (優秀ポスター賞受賞) .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

涌井 広道 (WAKUI HIROMICHI)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号 : 10587330