

平成 21 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890062

研究課題名（和文）SARS レセプター-ACE2 による ARDS/急性肺傷害の治療研究

研究課題名（英文）Dissecting the molecular mechanisms for SARS receptor ACE2-mediated lung protection in ARDS/acute lung injury.

研究代表者 久場 敬司 (KUBA KEIJI)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：10451915

研究成果の概要：

新規 ACE ファミリー分子であるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) はアンジオテンシン II を分解してレニン-アンジオテンシン系を負に調節し、心血管機能の制御などに関与する一方で、SARS (重症急性呼吸器症候群) ウイルスの受容体であるとともに、急性肺傷害において肺保護作用を発揮する。しかしながら、その肺保護作用の分子細胞メカニズムは不明であった。本研究課題において、私たちは ACE2 の発現が酸化ストレスにより制御されることを見出し、遺伝子改変マウスを用いた解析からアンジオテンシンを介したマクロファージの活性化が重要であることを明らかにした。さらに酸化ストレスによる酸化リン脂質の産生を介した自然免疫シグナルの過剰な活性化が、SARS のみならず高病原性 H5N1 インフルエンザによる ARDS/急性肺傷害の病態発症に重要であることを見出した。実際に SARS などに加えて幅広い原因による ARDS/急性肺傷害の患者検体の肺病理組織においても酸化リン脂質の産生が認められた (Cell, 2008)。これらの成果は、SARS、急性肺傷害の治療のみならず幅広い疾患の病態解明、新しい治療法の開発に貢献することが期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,320,000	0	1,320,000
2008 年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：病態医化学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：アンジオテンシン、ACE2、Apelin、SARS、ARDS、急性肺傷害、酸化ストレス、Toll-like receptor 4、自然免疫、酸化リン脂質、高病原性インフルエンザ

1. 研究開始当初の背景

2003 年、SARS (重症急性呼吸器症候群) は、約 8000 人の感染者、約 800 人の死者を出し、社会的、経済的な打撃を与えた。SARS は高

熱と重篤な呼吸器症状 (ARDS/急性肺傷害) を発症する呼吸器感染症で、新種の SARS コロナウイルスが病因である。本研究者が見出した SARS レセプター、アンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) は、アンジオテンシン II

を基質としてアンジオテンシン 1-7 に変換してレニン-アンジオテンシン系を負に調節することにより、心機能の制御、心不全、あるいは糖尿病性腎症の病態に関与する。本研究者らはそれまでに SARS から ARDS を発症、重症化する過程において、SARS レセプター、アンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) の発現抑制、レニン-アンジオテンシン系のシグナル亢進が重要であることを明らかにしてきた。さらに ACE2 が ARDS において肺保護因子として機能することを見出してきた。

2. 研究の目的

SARS による ARDS 発症、重症化の病態解明ならびに ACE2 を用いた新しい ARDS/急性肺傷害の治療法の開発を研究目的とした。

3. 研究の方法

In vitro 培養系で、ACE2 発現細胞を用いて SARS Spike 蛋白処理による ACE2 の発現抑制について生化学的な検討を行った。次に *in vivo* において AT1 レセプター(アンジオテンシン II のレセプター)のノックアウトマウスを用いて骨髄移植キメラマウス (bone marrow chimera mouse) を作製して、ARDS モデルで解析することにより、アンジオテンシン II のシグナルが入る細胞、すなわち ARDS 重症化の責任細胞について検討した。さらに ACE2 の新規ターゲット分子である Apelin の ACE2 の肺保護作用への関与を Apelin 遺伝子改変マウスを作製して検討した。

4. 研究成果

私達はとりわけ ACE2 発現抑制の分子機構に着目して解析を行い、*in vitro* 培養上皮細胞を用いた実験などから ACE2 の発現抑制には細胞内への内在化のみならず酸化ストレスを介した shedding が重要であることを明らかにした。*in vivo* において AT1 レセプター(アンジオテンシン II のレセプター)のノックアウトマウスを用いて骨髄移植キメラマウス (bone marrow chimera mouse) を作製して、塩酸誘導の ARDS モデルで解析することにより、アンジオテンシン II のシグナルが入る細胞、すなわち ARDS 重症化の責任細胞が、血球系由来のマクロファージであることを明らかにした。ACE2 の新規ターゲットである心血管作動性ペプチド、Apelin に着目して機能解析を行った。Apelin のレセプターは、AT1 レセプターと相同性の高い APJ であるが、その生理的機能は長らく不明であった。そこで、Apelin 遺伝子欠損マウスを作製し、呼吸

器ならびに循環器疾患モデルで解析を行ったところ、Apelin は、加齢や心不全の際に心機能の恒常性を維持するのに重要な機能を担うことが見出された(Circ Res 2007)。興味深いことに Apelin 遺伝子欠損マウスと ACE2 欠損マウスが非常に似通った心臓の表現型を示し、Apelin-APJ シグナルがレニン-アンジオテンシン系を負に調節することを見出した (未発表データ)。すなわち、ACE2 を介した Apelin-APJ 経路とレニン-アンジオテンシン系との新しい相互作用があることがわかった。また、一方で申請者らは最近、H5N1 鳥インフルエンザによる ARDS/急性肺傷害の増悪化において肺胞上皮細胞における酸化ストレスを介したマクロファージの Toll-like receptor 4 (TLR4)-TRIF-TRAF6 の過剰な活性化、炎症反応の誘導が重要であることを見出した(Cell 2008)。重要なことにこの Toll-like receptor 4 の過剰な活性化にレニン-アンジオテンシン系が関与していることをごく最近見出しつつある。これらの成果は、SARS、急性肺傷害の治療のみならず幅広い疾患の病態解明、新しい治療法の開発に貢献することが期待される。

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 9 件)

① Camargo SM, Kuba K, et al.: Tissue-specific amino acid transporter partners ACE2 and Collectrin differentially interact with Hartnup mutations. *Gastroenterology*. 2008 Oct 29. [Epub ahead of print]. 査読有

② Imai Y, Kuba K, Penninger JM.: The discovery of angiotensin-converting enzyme 2 and its role in acute lung injury in mice. *Exp Physiol*. 2008 May;93(5):543-8. 査読有

③ Imai Y, Kuba K, et al.: Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell*. 2008 Apr 18;133(2):235-49. 査読有

④ Penninger J, Imai Y, Kuba K.: The discovery of ACE2 and its role in acute lung injury. *Exp*

Physiol. 2008 Mar 30. 査読有

⑤ Imai Y, **Kuba K**, Penninger JM.: [Lessons from SARS: a new potential therapy for acute respiratory distress syndrome (ARDS) with angiotensin converting enzyme 2 (ACE2)] *Masui*. 2008 Mar;57(3):302-10. 査読有

⑥ **Kuba K**, **Kimura A**, et al.: Impaired heart contractility in Apelin gene-deficient mice associated with aging and pressure overload. *Circ Res*. 2007 Aug 17;101(4):e32-42. 査読有

⑦ Imai Y, **Kuba K**, Penninger JM.: Angiotensin-converting enzyme 2 in acute respiratory distress syndrome. *Cell Mol Life Sci*. 2007 Aug;64(15):2006-12. 査読有

⑧ **久場敬司**、今井由美子、**木村彰方** ACE2 の疾患病態発症における役割。医学のあゆみ Vol 226, No. 11, 2008 査読無

⑨ 今井由美子、**久場敬司**、Penninger JM. Toll 様受容体 4-TRIF を介した過剰免疫は H5N1 インフルエンザウイルスによる呼吸不全を重症化させる。細胞工学。2008, 27(7):696-97
査読無

[学会発表] (計 14 件)

① **久場敬司** 第9回 東京アンジオテンシン研究会:「アンジオテンシン変換酵素2 (ACE2)によるARDS/急性肺傷害阻止のメカニズム」2008年12月13日、東京(経団連会館)

② **久場敬司** 11th Cardiovascular Genomics and Atherosclerosis Symposium: “Angiotensin converting enzyme 2 and its new substrate Apelin in heart diseases.” Seoul, Korea, 2008年11月1日

③ **久場敬司** 第12回 Molecular Cardiovascular conference: アンジオテンシン変換酵素(ACE2)と心血管機能制御 2008年9月5-7日北海道キロロ、ホテルピアノ2階「キロロボールルーム・大」

④ **久場敬司** 第13回アディポサイエンス研究会シンポジウム:新規生理活性物質アペリン遺伝子欠損マウスの心筋梗塞モデルにおける心機能障害の研究 2008年8月22

日 大阪

⑤ **久場敬司** 深水昭吉研究室、夏の研修旅行:研究三都物語、大阪、トロント、ウィーン 2008年7月27日 和光純薬湯河原研修所、大会議室

⑥ **久場敬司** 第6回宮崎生活習慣病研究会:アンジオテンシン変換酵素2(ACE2)の疾患病態発症における役割 2008年6月6日 宮崎観光ホテル、3階「緋耀の間」

⑦ **久場敬司** メタボリックリサーチフォーラム:急性肺傷害の炎症におけるSARSレセプターACE2の役割2008年3月15日 東京

⑧ **久場敬司** MTT International Symposium: “Angiotensin converting enzyme 2 and its new substrate, Apelin” 2008年3月7日 東京医科歯科大学、難治疾患研究所1階会議室

⑨ **久場敬司** 第4回宮崎サイエンスキャンプ:疾患病態発症におけるACE2(アンジオテンシン変換酵素2)の役割 2008年2月15日 ワールドコンベンションセンターサミット・宮崎

⑩ **久場敬司** 第8回アンジオテンシン研究会:「心機能維持におけるACE2の役割」2007年12月8日、東京、経団連会館ビル

⑪ **久場敬司** 第38回血管研究会:「SARSレセプターACE2によるARDS治療」(口頭発表)2007年11月22日、東京

⑫ **久場敬司** AHA Scientific Session 2007: “Endogenous Apelin maintains heart contractility in aging and pressure overload.” (口頭発表)2007年11月5-8日、米国オーランド

⑬ **久場敬司** 第11回 Molecular Cardiovascular Conference: 「Apelin plays a crucial role in maintaining heart contractility in aging and pressure overload.」(ポスター発表)2007年9月14-16日、北海道キロロ

⑭ **久場敬司** ATS International Conference 2007: “A critical role of Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in severe acute lung injury” (口頭発表)2007年5月19-22日、米国サンフランシスコ

[図書] (計 1 件)

①Kuba K, Imai Y, Penninger JM.: Severe acute respiratory distress syndrome. Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease edited by Florian Lang, Tübingen, *in press*

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久場 敬司 (KUBA KEIJI)
秋田大学・医学部・准教授
研究者番号：10451915

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

木村 彰方 (KIMURA AKINORI)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：60161551