

機関番号：22701
 研究種目：研究活動スタート支援
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21890211
 研究課題名（和文） アンジオテンシン受容体に直接結合する低分子蛋白による心肥大抑制作用についての検討
 研究課題名（英文） Important Role of Angiotensin Receptor Binding Protein in Cardiac Hypertrophy
 研究代表者
 重永 豊一郎 (SHIGENAGA ATSUCHIRO)
 横浜市立大学・附属病院・助教
 研究者番号：40549903

研究成果の概要（和文）：

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 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、心肥大、心不全、動脈硬化、腎障害などの心血管系疾患や社会的脅威となりつつある生活習慣病・メタボリック症候群の発症・進展に深くかかわっている。研究代表者らは、この AT1 受容体への新規結合因子 ATRAP (Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein) を世界で初めて報告した。本研究では、発生工学的手法による心臓特異的 ATRAP 高発現マウスおよび ATRAP 欠損マウスを用いて、ATRAP の新規心肥大抑制因子としての可能性について生体レベルで明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We generated transgenic mice expressing ATRAP specifically in cardiomyocytes under control of the α -myosin heavy chain promoter. In cardiac-specific ATRAP transgenic mice, the development of cardiac hypertrophy, activation of p38 mitogen-activated protein kinase, and expression of hypertrophy-related genes in the context of angiotensin II treatment were completely suppressed, in spite of there being no significant difference in blood pressure on radiotelemetry between the transgenic mice and littermate control mice. These results demonstrate that cardiomyocyte-specific overexpression of ATRAP in vivo abolishes the cardiac hypertrophy provoked by chronic angiotensin II infusion, thereby suggesting ATRAP to be a novel therapeutic target in cardiac hypertrophy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,020,000	306,000	1,326,000
2010 年度	920,000	276,000	1,196,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,940,000	582,000	2,522,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード： 高血圧学

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 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、心肥大、心不全、動脈硬化、腎障害などの心血管病および腎不全の発症・進展に深くかかわっており、この系の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高齢化社会を迎えつつある日本にとって重要である。申請者の所属する研究室では、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新規因子の遺伝子クローニングに成功し、これを ATRAP (Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein) と名付けた(1, 2)。ATRAP の機能および病態生理学意義については不明な点が多いが、申請者らはすでに、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可能性を明らかにしている。

2. 研究の目的

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 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、心肥大、心不全、動脈硬化、腎障害などの心血管系疾患や社会的脅威となりつつある生活習慣病・メタボリック症候群の発症・進展に深くかかわっている。研究代表者らは、この AT1 受容体への新規結合因子 ATRAP (Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein) を世界で初めて報告した。本研究では、AT1 受容体への新規結合因子 ATRAP (Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein) についての『心臓における ATRAP /AT1 受容体の発現量比の上昇 → 心筋での ATRAP 発現・活性亢進による心 AT1 受容体情報伝達系活性の抑制 → 心肥大・心不全の抑制』という仮説のもとに、発生工学的的手法による心臓特異的 ATRAP 高発現マウスを用いて、ATRAP の新規心肥大抑制因子としての意義について検討した。

3. 研究の方法

(1) 病態モデル動物での ATRAP の機能解析：研究代表者らは、組織 AT1 受容体発現量 /ATRAP 発現量を組織局所での AT1 受容体情報伝達系活性度として捉えることにより、組織レニン-アンジオテンシン系活性の新しい指標として有用である可能性を提唱している。この『心血管系における ATRAP 発現量 /AT1 受容体発現量の上昇 → 心血管系での ATRAP 発現亢進による AT1 受容体情報伝達系活性の抑制 → 心血管系疾患の抑制 (図 2)』とい

う仮説を実証するために、平成 21 年度は、主にまず病態モデル動物における組織 ATRAP 発現調節と AT1 受容体発現との関連について検討する。

(2) 心臓特異的 ATRAP 高発現トランスジェニックマウスの作製と機能解析：研究代表者は、すでに ATRAP cDNA 遺伝子を心臓特異的プロモーター (α MHC promoter) の下流に連結させて心臓特異的 ATRAP 高発現トランスジェニックマウスを作製している (図 3)。この心臓特異的 ATRAP 高発現トランスジェニックマウスにおいては、AT1 受容体情報伝達系の抑制のために正常マウスと比較して心血管病変が改善すると予想される。まず、この心臓特異的 ATRAP 高発現トランスジェニックマウスの心臓の組織学的検討、生存率曲線、血圧などの循環動態解析を行い、表現型について検討する。そして心臓特異的な ATRAP の機能亢進が実際に心病変を基礎状態および心肥大負荷時 (アンジオテンシン II 負荷、大動脈縮窄モデルなど) において軽減させるか否かについて検討する。

4. 研究成果

AT1 受容体系シグナルの活性化は、心肥大を惹起する主要な因子である。当研究室では AT1 受容体の C 末端に特異的に結合する低分子蛋白 ATRAP を単離同定し、心筋細胞や血管平滑筋細胞を用いた *in vitro* での検討結果から、ATRAP が AT1 受容体の constitutive な internalization を促進し、AngII を介した心肥大応答や動脈硬化反応を抑制することを明らかにした。そこで、*in vivo* において、心肥大における ATRAP の意義を明らかにするために、まず、AngII 投与が、野生種マウス (Wt) の心臓における内在性の ATRAP 発現量に与える影響について検討した。Wt を生食投与群、AngII 投与群、AngII+ARB 同時投与群の 3 群に分けて飼育し、左室における ATRAP および AT1 受容体発現量を検討した。次に、心臓特異的 ATRAP トランスジェニックマウス (Tg) を用いて、野生種のコントロールマウス (LC) および Tg に AngII を 2 週間投与した。Wt および LC の血圧を観血的に測定し、経胸壁心エコー検査を施行後、心臓を摘出し、心重量 /体重比および左室での心肥大関連遺伝子 (BNP, ANP) 発現量を定量的 PCR 法により評価した。さらに、両群のマウスにおいて、AngII 刺激による心肥大応答に重要とされる左室 MAPK のリン酸化を評価した。その結果、野生種マウスへの AngII 投与により、心肥大の進行とともに、左室における内在性 AT1 受容体発現量は変化しないにもかかわらず、内在性 ATRAP 発現量の有意な減少がみられた。しかし、ARB 投与によって、AngII を介した心肥大は抑制され、ATRAP 発現量の減少も回復した。また、Tg では、AngII 投与によるテレメ

トリーによる観血的測定血圧の上昇の程度はLCマウスと同等であったにもかかわらず、心重量/体重比の増加、心エコー検査による壁肥厚、心肥大関連遺伝子発現量の増加、および左室 p38 MAPK 活性化の完全な抑制が観察された。以上の結果から、in vivo において、AngII 投与による心肥大の進行に、左室 ATRAP 発現量の減少が関与している可能性が示唆された。さらに、心臓における ATRAP 発現量を持続的に増加させることにより、AngII を介した心肥大応答が完全に抑制されたことから、ATRAP が心肥大に対する新たな治療の分子標的となり得る可能性が明らかにされた。これらの研究成果について、第 32 回日本高血圧学会総会および Scientific Sessions 2010, AHA (Chicago, IL, USA) 口演発表をおこない、米国心臓病協会誌 Hypertension に編集部コメント付き論文として掲載受理された。

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 4 件)

1. Wakui H, Shigenaga A (他 18 名), Horiuchi M, Minamisawa S, Umemura S, et al.

Cardiac-specific activation of angiotensin II type 1 receptor-associated protein completely suppresses cardiac hypertrophy in chronic angiotensin II-infused mice. Hypertension. 55: 1157-1164, 2010. (査読有) (*Featured in Editorial Commentary: Hypertension. 55: 1086-1087, 2010).

2. Shigenaga A, (他 17 名) (corresponding author), Umemura S, et al. Effects of angiotensin II type 1 receptor blocker on blood pressure variability and cardiovascular remodeling in hypertensive patients on chronic peritoneal dialysis. Nephron Clin Pract. 112: c31-c40, 2009. (査読有)

3. Ozawa M, Shigenaga A, et al. (他 14 名) Identification of an increased short-term blood pressure variability on ambulatory blood pressure monitoring as a coronary risk factor in diabetic hypertensives. Clin Exp Hypertens. 31: 259-270, 2009.

4. Ozawa M, Tamura K, Shigenaga A, et al. (他 11 名) Blood pressure variability as well as blood pressure level is important for left ventricular hypertrophy and brachial-ankle pulse wave velocity in hypertensives. Clin Exp Hypertens. 31:

669-679, 2009.

[学会発表] (計 8 件)

1. Tamura K, Shigenaga A, et al. Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein Mediates a Novel Inhibitory Effect on Cardiac Hypertrophy In Vivo. Thomas Smith Memorial Lecture: Novel Regulators of Hypertrophy. Scientific Sessions 2010, American Heart Association (Chicago, Illinois, USA) November 13-17, 2010.

2. Shigenaga A, Uchino K, et al. (他 5 名) A case of stenting in popliteal arterial occlusion with critical limb ischemia. The 19th Annual Meeting of the Cardiovascular Intervention And Therapeutics, Sendai, 2010, Aug 22-24.

3. 重永豊一郎、内野和顕、梅村敏 (他 10 名) 重症心不全を呈したステロイド投与が著効したループス心筋炎の一例。第 216 回日本循環器学会関東甲信越地方会。東京、6月12日、2010

4. 重永豊一郎、内野和顕、梅村敏 (他 7 名) 冠動脈バイパス術後の急性冠症候群に対してグラフトを介した逆行性アプローチに血行再建し得た一例。第 36 回日本心血管インターベンション治療学会関東甲信越地方会。東京、5月8日、2010

5. 重永豊一郎、内野和顕、梅村敏 (他 6 名) 血管内治療と LDL 吸着療法の併用により創傷治癒が得られた重症下肢虚血の一例。第 2 回日本下肢救済・足柄学会学術集会。東京、4月24日、2010

6. 重永豊一郎、木村一雄、梅村敏 (他 6 名) 左冠動脈主幹部分岐部病変に Culotte Stenting で留置した Taxus ステントの shortening を認めた一例。第 35 回日本心血管インターベンション治療学会関東甲信越地方会。東京、10月31日、2009

7. 重永豊一郎、内野和顕 (他 3 名) 治療に難渋した膝窩動脈血栓性閉塞の一例。第 12 回神奈川 P T A 研究会。横浜、10月16日、2009

8. Shigenaga A, Umemura S, et al. (他 6 名) A case successful catheter directed thrombolysis for late stent thrombosis after a nitinol stent implantation to the iliac artery occlusion.

The 18th Annual Meeting of the Japanese
Association of Cardiovascular
Intervention and Therapeutics, Sapporo,
2009, June, 25-27.

[その他]

ホームページ等

http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/res/tamura_1005.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

重永豊一郎 (SHIGENAGA ATSUICHIRO)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：40549903

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

田村功一 (TAMURA KOUICHI)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：40285143