

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：22701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20890

研究課題名（和文）マクロファージにおける受容体結合因子に着目した心腎連関制御

研究課題名（英文）Treatment for cardiorenal syndrome focusing on receptor-binding factors in macrophages

研究代表者

鈴木 徹（SUZUKI, Toru）

横浜市立大学・附属病院・指導診療医

研究者番号：40963442

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：骨髄ATRAPノックアウトキメラマウスを作製し、高脂肪食負荷を行ったところ、骨髄野生型キメラマウスと比較して肥満が有意に抑制された。骨髄ATRAPノックアウトキメラマウスでは、高脂肪食負荷による耐糖能障害やインスリン抵抗性の改善が認められた。また、骨髄ATRAPノックアウトキメラマウスの脂肪細胞において、M2(CD206+)マクロファージが有意に減少していた。さらに、脂肪組織中のTGF-βシグナリング系も骨髄ATRAPノックアウトキメラマウスにおいて抑制されていた。骨髄ATRAPノックアウトキメラマウスの単球においてM2マクロファージへの極性転換の抑制に関連する遺伝子群の発現増加を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、内臓脂肪型肥満の発症・進展に免疫細胞ATRAPが重要な役割を果たしていることを明らかとした。また、骨髄・免疫細胞中のATRAPの発現は、内臓脂肪型肥満のバイオマーカーやサロゲートマーカーとして応用できる可能性が期待される。さらに、免疫細胞ATRAPの発現制御は内臓脂肪型肥満の新たな治療標的となる可能性もあり、将来的には新規の肥満症治療の開発につながることも期待される。

研究成果の概要（英文）：We conducted bone marrow transplantation to generate two types of chimeric mice: bone marrow wild-type chimeric (BM-WT) and bone marrow ATRAP knockout chimeric (BM-KO) mice. These chimeric mice were provided an high-fat diet (HFD) to induce visceral obesity. BM-KO mice had significantly reduced obesity induced by HFD compared to BM-WT mice. In addition, BM-KO mice on the HFD showed significant improvements in white adipose tissue metabolism, inflammation, glucose tolerance, and insulin resistance, compared with BM-WT mice on the HFD. Detailed analysis of white adipose tissue revealed significant suppression of HFD-induced activation of transforming growth factor-beta signaling via amelioration of CD206+ (M2) macrophage accumulation in the adipose tissue of BM-KO mice. Finally, transcriptome analysis of monocytes indicated the possibility of genetic changes, such as the enhancement of interferon-β response at the monocyte level, affecting macrophage differentiation in BM-KO mice.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ATRAP 脂肪細胞 免疫細胞 マクロファージ 代謝障害 内臓脂肪型肥満

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

組織局所のレニン-アンジオテンシン(R-A)系,特に1型アンジオテンシン受容体(AT1受容体)の過剰な活性化は,心腎連関症候群の発症・進展に關与する。一方,R-A系自体は生物の進化の過程で獲得されたもので,生体内の水・電解質代謝や循環系の恒常性維持,および臓器発生・分化にとって重要な生理的調節系である。心血管病高リスク患者や蛋白尿合併2型糖尿病・慢性腎臓病患者を対象とした複数の大規模臨床試験では,ARBとACE阻害薬の併用治療や,ARBあるいはACE阻害薬とレニン阻害薬との併用治療などの強力なR-A系阻害は心血管病や腎機能障害などの予後改善には無効であり,逆に腎障害,高K血症などの有害事象を増加させることが報告されている(N Engl J Med 367:2204-2213, 2012; N Engl J Med 369:1892-1903, 2013)。臓器の発生・形態形成や恒常的生理機能維持を担うAT1受容体系の生理的情報伝達系活性の遮断を回避しつつ,同受容体系の病的な過剰活性化のみを選択的に効率的かつ安全に抑制することが重要と考えられる。

現在までの予備的研究結果から,ATRAPはAT1受容体の生理的情報伝達系には悪影響を与えずに,病的刺激の持続によるAT1受容体下流の臓器障害と關連した情報伝達系の過剰活性化に対してのみ選択的な抑制作用を発揮できるという機能上の大きな利点をもつ可能性が高い(Hypertens Res 45:32-39, 2022)。また,近年,心腎連関症候群の免疫学的機序として,マクロファージを介した臓器間ネットワークの關与が報告されている(Nat Med 23: 611-622, 2017)。

### 2. 研究の目的

本研究では,心腎連関モデル動物,発生工学的手法および骨髄移植により作製した組織特異的ATRAP発現制御動物およびヒト組織などを用いて,心腎連関症候群の発症・進展におけるマクロファージATRAPの病態生理学的意義を生体レベルで明らかにする。これまでの研究成果から,ATRAPは,現在臨床使用されているARBなどのR-A系阻害薬とは分子機序が異なり,定常的状态の同受容体情報伝達系活性には影響を与えずに,病的刺激によるAT1受容体の過剰活性化を選択的に抑制する可能性が示されている。今回ヒト白血球・免疫細胞でのATRAP発現レベルと,心臓・腎障害の重症度や臨床指標との關連を検討することにより,その早期診断法や新規治療法の発見につながる可能性について検討した。

### 3. 研究の方法

野生型C57BL/6マウスに高脂肪食を3週間負荷して,免疫細胞(白血球)ATRAPの発現変化を検討した。

次に,9.5Gyの放射線照射を行った野生型C57BL/6マウスに,別の野生型および全身性ATRAPノックアウト(KO)マウスから抽出した骨髄を移植して,骨髄ATRAP KOキメラマウスおよび骨髄野生型キメラマウスを作成した。

移植後6週間の生着期間を経て,これらのマウスに通常食および高脂肪食を8週間負荷し,体重,内臓脂肪重量,インスリン抵抗性,脂肪組織の遺伝子発現,脂肪組織の蛋白発現および脂肪組織マクロファージについて解析を行った。

また,これらのマウスにおける単球の遺伝子発現変化についてもRNAシーケンス解析による網羅的解析を行った。

### 4. 研究成果

野生型マウスに対する3週間の高脂肪食負荷により,体重増加・内臓脂肪の増大とともに白血球中のATRAP発現が増加していることが明らかになった。一方,高脂肪食を8週間負荷した骨髄ATRAP KOキメラマウスでは骨髄野生型キメラマウスと比較し,体重増加および内臓脂肪(精巢上体白色脂肪)重量の増大が有意に抑制され,脂肪細胞面積も縮小していた。また,骨髄ATRAP KOキメラマウスでは,骨髄野生型キメラマウスと比較して高脂肪食負荷による耐糖能障害やインスリン抵抗性の改善が認められ,これらは骨髄ATRAP KOキメラマウスにおける脂肪細胞の肥大抑制,小型脂肪細胞数の増加,および脂肪組織GLUT-4やUCP-1など代謝・エネルギー消費の亢進に關連する蛋白発現の増加と關連していた。また,骨髄ATRAP KOキメラマウスでは骨髄野生型キメラマウスと比べて高脂肪食による脂肪組織マクロファージの増加が抑制されており,特にM2マクロファージが有意に減少していることが明らかになった。さらに,M2マクロファージの減少に關連して,脂肪組織中のTGF- $\beta$ シグナリング系も骨髄ATRAP KOキメラマウスにおいて抑制されていた。最後に,単球の網羅的解析によって骨髄ATRAP KOキメラマウスの単球では骨髄野生型キメラマウスと比較してM2マクロファージへの極性転換の抑制に關連する遺伝子群の発現増加を認めた。

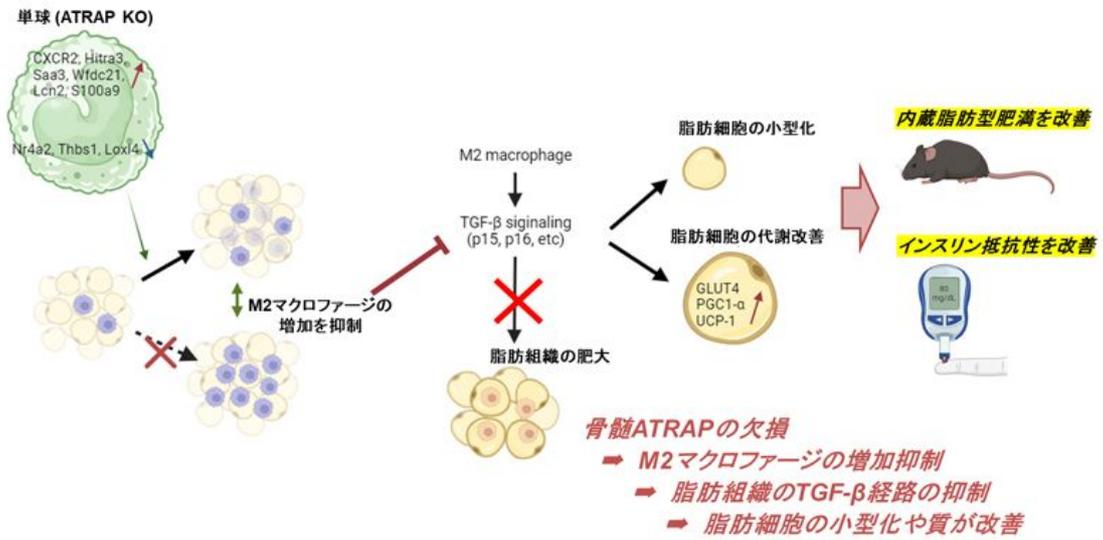


図 1：研究の概略図

骨髄 ATRAP KO キメラマウスでの単球における遺伝子発現変化が，脂肪組織中の M2 マクロファージを減少させ，最終的に内臓脂肪型肥満の軽減やインスリン抵抗性改善につながった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Abe Eriko, Yamashita Akio, Hirota Keigo, Yamaji Takahiro, Azushima Kengo, Urate Shingo, Suzuki Toru, Tanaka Shohei, Taguchi Shinya, Tsukamoto Shunichiro, Uehara Tatsuki, Wakui Hiromichi, Tamura Kouichi, Takahashi Hidehisa	4. 巻 12
2. 論文標題 Angiotensin II type-1 receptor-associated protein interacts with transferrin receptor-1 and promotes its internalization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17376-17376
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-22343-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haruhara Kotaro, Suzuki Toru, Wakui Hiromichi, Azushima Kengo, Kurotaki Daisuke, Kawase Wataru, Uneda Kazushi, Kobayashi Ryu, Ohki Kohji, Kinguchi Sho, Yamaji Takahiro, Kato Ikuma, Ohashi Kenichi, Yamashita Akio, Tamura Tomohiko, Tsuboi Nobuo, Yokoo Takashi, Tamura Kouichi	4. 巻 101
2. 論文標題 Deficiency of the kidney tubular angiotensin II type1 receptor-associated protein ATRAP exacerbates streptozotocin-induced diabetic glomerular injury via reducing protective macrophage polarization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 912 ~ 928
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2022.01.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Shohei, Wakui Hiromichi, Azushima Kengo, Tsukamoto Shunichiro, Yamaji Takahiro, Urate Shingo, Suzuki Toru, Abe Eriko, Taguchi Shinya, Yamada Takayuki, Kobayashi Ryu, Kanaoka Tomohiko, Kamimura Daisuke, Kinguchi Sho, Takiguchi Masahito, Funakoshi Kengo, Yamashita Akio, Ishigami Tomoaki, Tamura Kouichi	4. 巻 24
2. 論文標題 Effects of a High-Protein Diet on Kidney Injury under Conditions of Non-CKD or CKD in Mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7778 ~ 7778
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms24097778	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukamoto Shunichiro, Suzuki Toru, Wakui Hiromichi, Uehara Tatsuki, Ichikawa Juri, Okuda Hiroshi, Haruhara Kotaro, Azushima Kengo, Abe Eriko, Tanaka Shohei, Taguchi Shinya, Hirota Keigo, Kinguchi Sho, Yamashita Akio, Tamura Tomohiko, Tamura Kouichi	4. 巻 149
2. 論文標題 Angiotensin II type 1 receptor-associated protein in immune cells: a possible key factor in the pathogenesis of visceral obesity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Metabolism	6. 最初と最後の頁 155706 ~ 155706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.metabol.2023.155706	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taguchi Shinya, Azushima Kengo, Yamaji Takahiro, Suzuki Toru, Abe Eriko, Tanaka Shohei, Hirota Keigo, Tsukamoto Shunichiro, Morita Ryutaro, Kobayashi Ryu, Kinguchi Sho, Yamashita Akio, Wakui Hiromichi, Tamura Kouichi	4. 巻 47
2. 論文標題 Angiotensin II type 1 receptor-associated protein deletion combined with angiotensin II stimulation accelerates the development of diabetic kidney disease in mice on a C57BL/6 strain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 55 ~ 66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-023-01496-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukamoto Shunichiro, Wakui Hiromichi, Uehara Tatsuki, Shiba Yuka, Azushima Kengo, Abe Eriko, Tanaka Shohei, Taguchi Shinya, Hirota Keigo, Urate Shingo, Suzuki Toru, Yamada Takayuki, Kinguchi Sho, Yamashita Akio, Tamura Kouichi	4. 巻 3
2. 論文標題 Combination of sacubitril/valsartan and blockade of the PI3K pathway enhanced kidney protection in a mouse model of cardiorenal syndrome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Heart Journal Open	6. 最初と最後の頁 1 ~ 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ehjopen/oead098	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木徹, 松村賢治, 岩田究, 小村直弘, 川浦範之, 小西正紹, 岩橋徳明, 石上友章, 菅野晃靖, 日比潔
2. 発表標題 強皮症関連肺動脈性肺高血圧症に対するセレキシパグ単剤治療
3. 学会等名 第8回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木徹, 松村賢治, 中島理恵, 岩田究, 小村直弘, 川浦範之, 小西正紹, 岩橋徳明, 石上友章, 菅野晃靖, 日比潔
2. 発表標題 当院における運動負荷右心カテーテルの取り組みについて
3. 学会等名 第29回日本心臓リハビリテーション学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木徹, 春原浩太郎, 涌井広道, 小豆島健護, 小林竜, 金口翔, 坪井伸夫, 横尾隆, 田村功一
2. 発表標題 腎尿管RAS(renin-angiotensin system)の過剰活性化は尿管M2マクロファージ発現を低下させ、糖尿病性糸球体障害を惹起する
3. 学会等名 第45回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片山響, 鈴木徹, 相澤広太郎, 宮川秀一, 峯岸慎太郎, 小村直弘, 川浦範之, 小西正紹, 岩橋徳明, 石上友章, 菅野晃靖, 日比潔
2. 発表標題 エボプロステノール投与によるACTH単独欠損症に対してトレプロスチニルへの切り替えが有効であった1例
3. 学会等名 第270回日本循環器学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------