

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月4日現在

機関番号：34517

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08563

研究課題名(和文) 血管周囲脂肪組織の機能障害はメタボリックシンドロームを増悪する

研究課題名(英文) Dysfunction of perivascular adipose tissue exacerbates metabolic syndrome

研究代表者

籠田 智美 (KAGOTA, Satomi)

武庫川女子大学・薬学部・准教授

研究者番号：00291807

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：メタボリックシンドローム(MetS)は、虚血性疾患のリスクが重複する病態である。虚血性疾患の発症要因の1つに血管抵抗性亢進がある。血管周囲脂肪組織(PVAT)が血管抵抗性調節に寄与することが知られている。本研究では、MetSラット腸間膜動脈PVATは、apelinを産生・放出し血管内皮細胞NO産生を高めて動脈拡張を生じる、PVATによる動脈拡張増強効果の発現は酸化ストレスが高い状態で惹起される、AT1受容体が関与する、PVAT効果の消失は臓器機能障害を引き起こす可能性があることを見出した。以上、PVAT機能の破綻防止がMetSに伴う虚血性疾患発症予防に対する一戦略となることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、多臓器間クロストークの視点で「メタボリックシンドロームにおける血管周囲脂肪組織(PVAT)と動脈との機能連関」を意識し、「動脈に拡張障害が生じるとPVATが補足的に働き緊張性を保持している」こと、「PVATのバックアップ機能の破綻は臓器の循環障害を招くこと」を立証した点である。本研究の成果は、PVATがメタボリックシンドロームに伴う虚血性臓器障害の発症・進展を抑制するための「新たな標的因子となる」ことを示しており、メタボリックシンドロームの予防・治療法に新しい視点を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：Metabolic syndrome synergistically increases the risk of cardiovascular disease. Perivascular adipose tissue (PVAT) are involved in the regulation of vascular resistance. This study demonstrated that mesenteric arterial PVAT of SHRSP.ZF rats with metabolic syndrome produces and releases apelin and induces arterial dilation by enhancing vascular endothelial nitric oxide production. It was also found that the enhancing effect of PVAT on arterial dilation was seen under conditions of oxidative stress probably via AT1 receptor activation and that the disappearance of PVAT effect may cause organ dysfunction. In conclusion, this research indicates that preservation of PVAT complementary function is a strategy for preventing the onset of cardiovascular disease associated with metabolic syndrome.

研究分野：薬理学

キーワード：血管周囲脂肪組織 血管弛緩反応 メタボリックシンドローム アペリン

1. 研究開始当初の背景

(1) メタボリックシンドロームにおける動脈拡張機能変化

- メタボリックシンドロームは、心血管病や糖尿病の重要な予防ターゲットである^①

我が国のメタボリックシンドローム及びその予備軍は、40-74歳男性の約半数と推定されている。内臓脂肪型肥満を基盤とするメタボリックシンドロームは、糖代謝・脂質代謝異常、血圧高値など、虚血性疾患の危険因子が重複することにより、心血管病や糖尿病の発症リスクが相乗的に増加する病態である。

- 血管内皮細胞の機能低下は虚血性疾患の発症・進展の引き金となる^{②③}

メタボリックシンドロームに伴い生じる虚血性臓器障害は、動脈の攣縮や狭窄がその発症の引き金となる。これまでの検討から、動脈硬化や糖尿病では血管内皮細胞由来の一酸化窒素 (NO) に対する動脈拡張能が低下すること、さらに NO は抗動脈硬化作用をもつことから、NO を中心とする血管内皮細胞の機能低下が動脈硬化を基盤とする疾患の発症や進展に重要な役割を果たしていると考えられている。

(2) 血管周囲脂肪組織 (PVAT) が及ぼす動脈拡張機能への影響

- 血管周囲に蓄積した脂肪組織である PVAT は、血管抵抗性異常の発現に関与している^{④⑤}

これまでの疫学調査から、内臓脂肪の減少は心血管疾患発症の抑制に繋がることがわかっている。脂肪細胞は種々のアディポカインを産生し、肥満に伴い生じる疾患の発症に関与している。例えば、心臓周囲脂肪細胞の慢性炎症は動脈硬化の進展を促すリスクとなる、心筋梗塞や冠動脈疾患患者の心臓周囲脂肪は、冠動脈プラーク形成に寄与すると報告された。さらに最近、PVAT が血管緊張性を修飾することがわかってきた (肥満患者の PVAT は血管収縮抑制効果が弱い、PVAT は血管を収縮させる等)。

- 私はメタボリックシンドロームにおける PVAT 機能は変動することをみいだしている^⑥。

メタボリックシンドロームモデル (SHRSPZF) ラットの腸間膜動脈を用いて、PVAT の存在の有無による血管緊張性変化を検討し、NO に対する動脈拡張障害が発症し始める時期 (20 週齢) には、減弱した血管弛緩反応を補足するように PVAT が弛緩反応を増強する (図 1 中央) こと、しかしメタボリックシンドローム状態が続く (30 週齢) と、PVAT のバックアップ機能が破綻する (図 1 右図) ことを見出した。一方、このような PVAT 効果は、動脈の拡張能が正常な時期 (10 週齢) では観察されないこと (図 1 左図)、正常対象ラット (WKY) ではみられないことを明らかにしている。

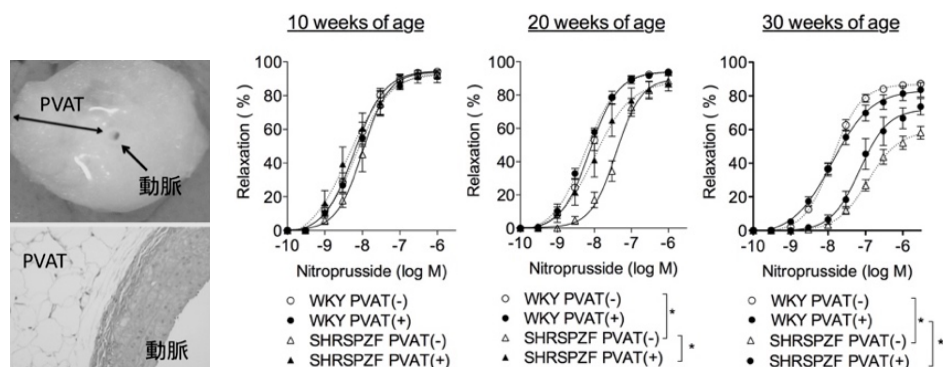


図1 SHRSPZF ラット腸間膜動脈周囲の脂肪組織 (PVAT) と PVAT による動脈拡張効果の週齢による違い ^{⑥⑦}

(3) 未だ未解決な点

これまでの研究により、PVAT が血管抵抗性調節に関与することは明らかであるが、以下の点については、未だ不明である。

- PVAT の血管緊張性調節に関わる因子は何か、またその血管拡張機序は何か
- PVAT の血管拡張作用の発現または消失に関与する因子は何か
- PVAT の機能破綻は組織や臓器の機能破綻を誘発するか

2. 研究の目的

メタボリックシンドロームにおいて動脈の攣縮や狭窄が引き金となる虚血性臓器障害の発症に、動脈周囲脂肪組織（PVAT）が関与する可能性は高く、そのメカニズムの詳細を知ることは、予防・治療法に新しい視点を提供し、医薬品開発の一助となることが期待できる。そこで本研究では、「動脈と PVAT との機能連関」を証明し、PVAT による血管抵抗性調節が新たな標的となることを示したいと考えた。すなわち、これまでの知見から立てた仮説は「PVAT の機能不全はメタボリックシンドロームに伴い好発する虚血性疾患の発症の要因となる」である。すなわち、メタボリックシンドロームにおける PVAT は、動脈の拡張機能障害を感知すると、脂肪組織由来の血管弛緩因子を産生・放出し、動脈拡張障害を補足するバックアップ機構として働き、緊張性維持に寄与している。しかし、メタボリックシンドローム状態に曝され続けると、PVAT のバックアップ機能が破綻をきたし、その結果、動脈拡張障害が露呈することとなり、組織への循環障害が誘起される。このことは、組織・臓器の機能不全（虚血性臓器障害等の発症）に繋がると考えられる。そこで本研究では、以下の点を明らかとし、我々の仮説を証明する。

- PVAT による動脈拡張作用に関与する因子とそのメカニズムを明らかにする（計画1）
- PVAT の動脈拡張増強効果が時期により変動する要因は何かを明らかにする（計画2）
- PVAT の効果の消失は虚血性臓器障害を誘発するかを明らかにする（計画3）

3. 研究の方法

(1) 計画1：PVAT による動脈拡張作用に関与する因子とそのメカニズムを明らかにする

- PVAT の効果が認められる 20 週齢前後の SHRSP.ZF ラット腸間膜動脈より、PVAT を動脈にできるだけ密接させた Bio-assay 標本を作成し、PVAT の効果が再現できるかを確認する。
- Bio-assay 標本を用いて、正常動物の PVAT とモデル動物の動脈、週齢の異なるモデル動物の PVAT 等、PVAT と動脈の組み合わせを変えて効果に違いが生じるか検討する。
- 血管拡張作用のあるアディポカインである vaspin、visfatin、omentin、apelin による効果を PVAT と比較する。またその産生の有無、産生量を確認する。
- PVAT の血管拡張作用が、内皮細胞除去、NO 合成酵素阻害薬またはグアニル酸シクラーゼ阻害薬の処置による変化するか検討する。
- 他のメタボリックシンドロームモデル（OLETF ラット及び Zucker fatty ラット）との違いを検討する。

(2) 計画2：PVAT の動脈拡張増強効果が時期により変動する要因は何かを明らかにする

- 週齢の異なる SHRSP.ZF ラットの腸間膜動脈 PVAT を用いて、メタボリックシンドロームの曝露期間による PVAT の性質の違いを探索する。マイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子変動を探索する。
- 降圧薬・高脂血症薬・抗酸化薬等を投与した場合、PVAT の効果が変化するかを調べる。

(3) 計画3：PVAT の効果の消失は虚血性臓器障害を誘発するかを明らかにする

- 腎動脈や胸部大動脈 PVAT においても腸間膜動脈と同様の PVAT 効果が観察されるかを検討する。
- PVAT の機能変化と尿タンパク変化との関連を調べる。

4. 研究成果

(1) PVAT による動脈拡張作用に関与する因子とのメカニズム（計画1）

SHRSP.ZF ラット腸間膜動脈の PVAT を動脈標本にできるだけ密接させた Bio-assay 標本を作成し、PVAT の効果が再現できるかを検討した。その結果、20 週齢 SHRSP.ZF ラットから抽出した PVAT では、その効果が再現できた^①。さらに、Bio-assay 標本を用いて検討し、30 週齢 SHRSP.ZF ラットと正常対象 WKY から抽出した PVAT では、PVAT の弛緩反応増強効果は再現できなかった^①。これらのことから、PVAT 由来の拡散性の因子が関与すること、その産生はメタボの時期によって変動することが明らかとなった。

一方、SHRSP.ZF ラット腸間膜動脈の PVAT による弛緩増強効果は、内皮細胞除去及び NO 合成酵素阻

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

害薬処置により効果が消失することから、血管内皮 NO 産生を介して拡張することを明らかにした^⑩。さらに、vaspin、visfatin 及び omentin には血管弛緩反応増強効果は見られなかったが、apelin は弛緩反応増強効果があること（図 2 左）、PVAT 中の apelin mRNA 量の増減（図 2 右）と PVAT 効果の変動に相関が認められた^⑩。

以上のことから、メタボリックシンドロームにおいて、PVAT は apelin を産生・放出し、血管内皮 NO 産生を介して血管拡張能を増強すること、また、週齢に伴い生じる PVAT 効果の変動は apelin 量の変動に伴い生じることが示唆された。なお、これら研究成果の一部は、学術雑誌に投稿し、受理された^{⑩ ⑪}。

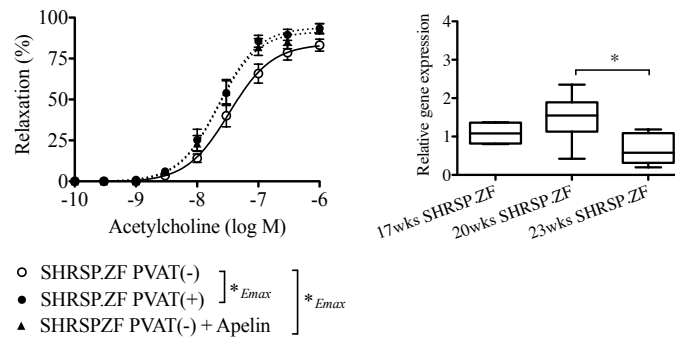


図2 動脈弛緩反応に及ぼすアペリンの効果（左）及びPVAT 中のアペリン mRNA 量の週齢による違い^⑩

左図：アペリンは20週齢 SHRSP.ZF ラットの腸間膜動脈 PVAT 無 (-) 標本の弛緩反応を PVAT 有 (+) 標本と同程度に増強した

右図：PVAT 効果が消失する週齢（23週齢）では PVAT 中のアペリン mRNA 発現量が減少していた

(2) PVAT の動脈拡張増強効果が時期により変動する要因は何か（計画 2）

始めに、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現変化の探索、すなわち、PVAT の補足効果が観察される 20 週齢とその効果が消失する 30 週齢とを比較、また、同週齢の正常対象 WKY とを比較した。その結果、変動遺伝子の中には、RAS 系や酸化ストレスに関連する酵素や受容体が含まれていた。そこで、AT1 受容体の関与を検討するため、ARB を SHRSP.ZF ラットに投与し、PVAT の効果が変動するかを検討した。その結果、ARB 投与により PVAT 効果の減弱は改善されないことを見出した。この結果は、逆に AT1 受容体の活性化が PVAT 効果の発現に関与することを裏付けているのかもしれない。脂肪組織の AT1 受容体レベルは apelin により減少する^⑩、apelin の効果は ACE2 により抑制される^{⑩等}の報告がある。RAS 系と apelin との関連性について、さらなる検討が必要である。

一方、血圧、脂質や糖代謝異常の程度が異なる他のモデル動物を用いて PVAT の効果に違いがあるかを比較した。その結果、メタボリックシンドロームの各要因の程度が SHRSP.ZF ラットに比べて低い OLETF ラット及び Zucker fatty ラットでは、PVAT の効果が弱いことを見出した。同じメタボリックシンドローム状態であっても、その病態の程度、特に、血圧及び酸化ストレスの程度によって PVAT の効果に違いが認められたことは、注目に値する。

以上のことから、SHRSP.ZF ラットの PVAT において観察される血管拡張能補足効果の発現には AT1 受容体が、減弱には血圧または酸化ストレスが関与すると考えられた。なお、これら研究成果の一部は、学術雑誌に投稿し、受理された^⑩。また、ARB 投与による検討結果について、現在投稿中である。

(3) PVAT の効果の消失は虚血性臓器障害を誘発するか（計画 3）

血管部位差について、SHRSP.ZF ラットを用いて検討し、腎動脈では PVAT による弛緩反応増強効果が認められるが、腸間膜動脈で見られる週齢より遅い週齢でのみ観察された。しかし、胸部大動脈では PVAT の効果は見られなかった。このように、血管部位によって PVAT 効果の発現時期が異なることは大変興味深い。次に、尿タンパクの週齢による変動を調べ、PVAT 機能の変動との関連性を考察した。その結果、腸間膜動脈 PVAT の効果が観察される 20 週齢頃には、酸化ストレス（TBARS 値、脂質過酸化の程度を示す）及び尿タンパクが高くなること、また、腎動脈 PVAT 効果が観察される一方で腸間膜動脈では効果が

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

消失する30週齢においてもこれらの値は高値を維持していた（図3）^⑮。

以上のことから、腸間膜動脈PVATの血管拡張増強効果は、血圧の変動ではなく酸化ストレスが高くなることでその効果が発現するようになると考えられる。一方、腎動脈PVATの血管拡張増強効果は、腎機能低下が発現している頃に観察されることから、腎機能低下を遅らせる等の保護的な効果があるのではないかと推察している。今後は、この仮説を証明すべく、さらなる検討をしていきたい。

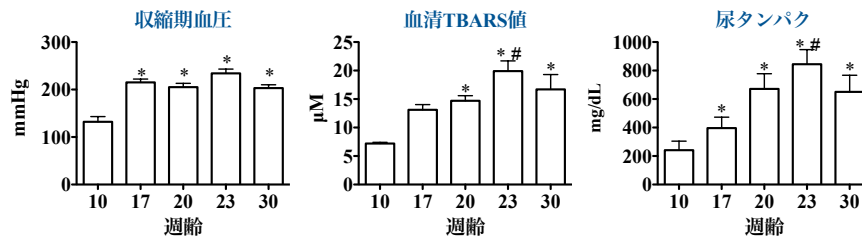


図3 SHRSP:ZF ラットの血圧、酸化ストレス（血清TBARS値）及び尿タンパクの週齢による違い^⑮

(4) 結語

本研究では、メタボリックシンドロームモデル SHRSP:ZF ラットを用いて、腸間膜動脈PVATの動脈拡張作用のメカニズムを明らかにした。すなわち、PVATはapelinを産生・放出し、血管内皮細胞に働きかけ、NO産生を高めることにより、動脈拡張作用を示すことを明らかにした（図4）。また、このPVATによる補足的な動脈拡張増強効果の発現は、血圧や酸化ストレスの度合いが高い状態で惹起されること、AT1受容体が関連していることを示唆した。さらに、メタボリックシンドローム後期に生じるPVATによる補足効果の消失は、血圧や酸化ストレスに曝露され続けることで障害され、その結果、臓器機能障害を引き起こす可能性を示唆した。以上のことから、PVAT機能の破綻が、メタボリックシンドロームに伴う虚血性疾患発症の成因の1つとなることを示した。今後は、PVAT機能の保持のためには、どのような薬物治療が効果的かについて考えていきたい。

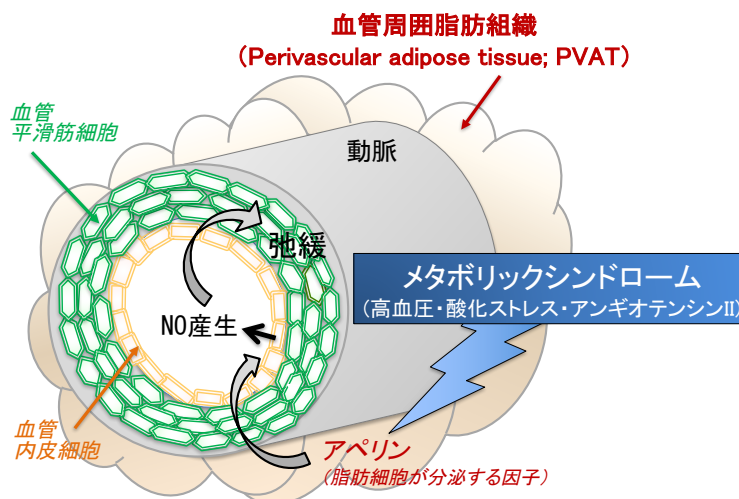


図4 動脈とPVATの機能連関 ～代償的動脈拡張増強効果～

<引用文献>

- ① 厚生労働省調査研究
- ② Raji L, et al., J Clin Hypertens. 2006; 8: 30.
- ③ Heitzer T, et al., Circulation. 2001; 104: 2673.
- ④ Rajendran P, et al., Int Biol Sci. 2013; 9: 1057.
- ⑤ Dondona P, et al., Circulation. 2005; 111: 1448.
- ⑥ Greif M, et al. Arthero Thromb Vasc Biol. 2009; 29: 781.
- ⑦ Szasz T, et al. Vasc Health Risk Management. 2013; 9: 105.
- ⑧ Li R, et al. Eur J Pharmacol. 2013; 698: 310.
- ⑨ Owen MK, et al. Circulation. 2013; 128: 9.
- ⑩ 籠田智美ら. 薬理学雑誌. 2015; 145: 59.
- ⑪ Kagota S, et al. Meth Syndr Relat Disord. 2017; 15: 233.
- ⑫ Kagota S, et al. Int J Mol Sci. 2018; 20: 106.
- ⑬ Sabry MM, et al., Arch Physiol Biochem. 2018; 22; 1.
- ⑭ Wang W, et al., Hypertens. 2016; 68: 365.
- ⑮ 籠田智美. SHR等疾患モデル共同研究会 News Letter. 2019: 60: 1.

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 3 件）

① 籠田智美, メタボリックシンドロームにおける血管周囲脂肪の血管抵抗性調節機能の経時的変動 — SHRSP.Z-Lep^{rfa}/IzmDmcr ラットを用いた検討—, SHR 等疾患モデル共同研究会 News Letter, 2019; 60: 1-2. http://plaza.umin.ac.jp/~dmcra/newsletter/img/NewsLetter_No_060.pdf

② Satomi Kagota, Kana Maruyama-Fumoto, Saki Iwata, Miho Shimari, Shiori Koyanagi, Yayoi Shiokawa, John J. McGuire, Kazumasa Shinozuka. Perivascular adipose tissue-enhanced vasodilation in metabolic syndrome rats by HNO and apelin. International Journal of Molecular Sciences, 2018; 20 :106.

Doi:10.3390/ijms200101060

③ Satomi Kagota, Saki Iwata, Kana Maruyama, John J. McGuire, Kazumasa Shinozuka. Time-dependent differences in influence of perivascular adipose tissue on vasomotor functions in metabolic syndrome. Metabolic Syndrome and Related Disorders, 2017; 15 (5): 233-239.

Doi: 10.1089/met.2016.0146

〔学会発表〕（計 7 件）

① 籠田智美, 丸山加菜, 山田留衣, 島利美保, 塩川やよい, 篠塚和正. メタボリックシンドロームラットの腎動脈周囲脂肪組織は動脈拡張反応を増強する. 第92回日本薬理学会年会, 2019.3.15 (大阪)

② 島利美保, 籠田智美, 丸山加菜, 塩川やよい, 篠塚和正. アペリンはメタボリックシンドロームラットにおいて血管内皮の一酸化窒素生成経路活性化を介して血管弛緩を増強する. 第92回日本薬理学会年会, 2019.3.15 (大阪)

③ Satomi Kagota, Kana Maruyama, Miho Shimari, Yukari Fukunaga, Rui Yamada, Kazumasa Shinozuka. Compensatory effects of perivascular adipose tissue on vasodilation differ by vascular site and age in rats with metabolic syndrome. 8th International Congress of Pathophysiology 2018, 2018. 9. 5-8 (Bratislava, Slovakia)

④ Satomi Kagota, Miho Shimari, Kana Maruyama, Saki Iwata, Noriko Yoshikawa, Kazuki Nakamura, Kazumasa Shinozuka. Functional characteristics of perivascular adipose tissue on vasodilation in rats with metabolic syndrome. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018.7.1-6 (京都)

⑤ Satomi Kagota, Kana Maruyama, Shiori Koyanagi, Saki Iwata, Kazumasa Shinozuka. Deterioration of vasomotor regulation of perivascular adipose tissue at later stage of metabolic syndrome. Council on Hypertension 2017. 9. 15 (San Francisco, USA)

⑥ 籠田智美, 岩田紗季, 丸山加菜, 小柳志織, John J McGuire, 篠塚和正. メタボリックシンドロームにおける血管周囲脂肪組織の動脈拡張反応増大効果の機序. 第90回日本薬理学会年会, 2017.3.15-17 (長崎)

⑦ Satomi Kagota, Saki Iwata, Kana Maruyama, Shiori Koyanagi, Kazumasa Shinozuka. Effects of perivascular adipose tissue on vasodilation differ by the severity of metabolic disorders. International academy of Cardiology, Annual science sessions 2016, 21st world congress on Heart disease, 2016.8.1 (Boston, USA)

6. 研究組織

(1) 研究協力者

Dr. John J. McGuire (Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine & Dentistry, Western University, Canada)

Dr. Olga Pechanova, Dr. Martina Cebova, Dr. Sona Cacanyiova (Slovak Academy of Sciences, Slovak Republic)

※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者です。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要望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、研究者個人に帰属されます。