

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09572

研究課題名（和文）オメンチンを標的とした心血管病の治療開発

研究課題名（英文）The potential of omentin as therapeutic agents for cardiovascular disease.

研究代表者

柴田 玲（Shibata, Rei）

名古屋大学・医学系研究科・特任教授

研究者番号：70343689

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：肥満症を中心とした代謝異常や心血管病の病態には、オメンチンをはじめとした種々のアディポカインの産生異常が関わっている。我々は本研究の中で、オメンチン過剰発現マウス等を用いたアプローチで、オメンチンが虚血下において直接的な心保護効果を有することを見出した。またその機序としてAMPKシグナル伝達経路が関与している可能性が明らかとなった。これらの所見は、オメンチンを標的とした新たな心血管病治療の開発につながると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会の到来により、心臓疾患の患者数は顕著に増加しているのみならず、死亡率も非常に高い。まだまだ新たな治療法が求められている現状である。今回我々は、オメンチンが虚血下において直接的な心保護効果を有することをマウス及びミニブタを用いた検討にて見出している。これらの所見は、オメンチンを標的とした新たな心血管病治療の開発につながると考えている。

研究成果の概要（英文）：Adipose tissue functions as an endocrine organ by secreting adipokines that can directly affect nearby or remote organs. Omentin is an adipokine whose concentration is down-regulated in subjects with obesity-related disorders. In our study, we have shown that transgenic mice expressing the human omentin gene in fat tissue mice exhibit a significant decrease in mortality and improvement of cardiac function following myocardial infarction. Adipose-derived omentin prevents pathological cardiac remodeling after chronic ischemia, suggesting that omentin represents a potential therapeutic molecule for the treatment of ischemic heart disease.

研究分野：循環器内科学

キーワード：オメンチン 心筋梗塞 リモデリング

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 脂肪組織は単にエネルギーを備蓄する臓器であると認識されてきたが、近年の研究により、アディポカインと総称される生理活性物質を分泌する内分泌臓器であることが明らかとなっている。現在では、アディポネクチンやレプチン、TNF- α をはじめとする数多くのアディポカインと病態との関連が明らかにされてきた。内臓脂肪蓄積状態では、生活習慣病を引き起こす様々なアディポカインの産生が増加し、一方で、アディポネクチンなどの生活習慣病に防御的に作用するアディポカインの産生は低下する。このようなアディポカインの分泌異常が、生活習慣病やそれに伴う心血管病の発症に、中心的役割を果たしていると考えられる。研究代表者らはこれまで、アディポネクチンの心血管病の役割に関して報告してきた (*Nat Med.* 2004, *Nat Med.* 2005, *Hypertension.* 2009, *Circ:Cardiovasc Interv.* 2010, *JBC.* 2011, *JAHA.* 2013)。

(2) 同時に、研究代表者らは機能未知であるアディポカインの同定と機能解析に関わる研究プログラムを開始し、ヒト内臓脂肪に高発現しているクローンを見だし解析した。その結果、このクローンは分泌蛋白をコードするレクチンの一種である「オメンチン」と同一であった。そこで、オメンチンの機能解析に着手した。日本人健常成人男性でオメンチン血中濃度の測定を行ったところ、メタボリックシンドロームの構成因子の数が多いほどオメンチン血中濃度が減少していた (*Diabetol Metab Syndr.* 2012)。また、オメンチンの血中濃度は動脈硬化のサロゲートマーカーである頸動脈内中膜複合体厚度と逆相関関係を示していた (*Hypertens Res.* 2011)。冠動脈疾患患者で、血中オメンチン濃度を測定したところ、血中オメンチン濃度は健常者と比較して、冠動脈疾患患者にて有意に低下していた (*Atherosclerosis.* 2011)。このように低オメンチン血症は、動脈硬化をはじめとした心血管病患者におけるリスクファクターである可能性が示唆された。

(3) 研究代表者らは、aP2 プロモーターを用いた脂肪組織特異的なヒトオメンチン過剰発現マウス作成し、心血管病におけるオメンチンの役割に関して検討を行った。ヒトオメンチン過剰発現マウスでは、コントロールマウスと比し血管傷害後の新生内膜増生が有意に抑制されていた (*FASEB J.* 2015)。動脈硬化モデルであるアポリポ蛋白 E 欠損マウスと交配させ、アポリポ蛋白 E 欠損オメンチントランスジェニックマウス (apoE-KO/OMT-Tg マウス) を作成したところ、オメンチンの過剰発現は、アポ E 欠損マウスの動脈硬化巣の形成を有意に抑制した (*Cardiovasc Res.* 2015)。また、虚血性心疾患とオメンチンの関連を検討した。マウス冠動脈に虚血再灌流傷害を作成し、再灌流後 24 時間の心筋梗塞サイズの評価を行ったところ、オメンチンの過剰発現は、心筋梗塞サイズの縮小効果を認めた (*J Am Coll Cardiol.* 2015)。このように、オメンチン補充療法は、心血管病、特に虚血性心疾患の新たな治療法につながる可能性があることが示唆される。

2. 研究の目的

本研究目的は、オメンチンによる虚血性心疾患制御機構の解明と大動物を用いたオメンチン治療の前臨床実験を行うことで、オメンチンを標的とした新たな心血管病治療を開発することにある。具体的には、(1) マウス心筋梗塞モデルを用いて、心筋梗塞後の心リモデリングにおけるオメンチンの役割を検討する。(2) オメンチンの心臓構成細胞 (心筋細胞、心筋線維芽細胞、マクロファージ) に対する作用とシグナル伝達経路の解明を行う。(3) ブタ心筋虚血再灌流傷害モデルを作成し、オメンチン蛋白の冠動脈内投与による急性心筋梗塞治療効果を検討する。(4) オメンチン濃度を上昇させる生活習慣病治療薬の探索をおこない、オメンチンを介した心血管保護作用の有無を検討する。

3. 研究の方法

(1) 心リモデリングに対するオメンチンの作用解明

オメンチンの慢性虚血心における役割は明らかでない。そこで、野生型マウス及びオメンチン過剰発現マウスに対し、左冠動脈結紮を行うことにより、慢性心筋梗塞モデルを作成する。心筋梗塞後の心リモデリングにおけるオメンチンの役割を検討していく。

(2) 心臓構成細胞に対するオメンチンの作用とシグナル伝達機構の解明

心臓構成細胞（心筋細胞、心筋線維芽細胞、マクロファージ）の培養系を用いて、リコンビナントオメンチン蛋白の添加後に細胞の表現型（炎症性反応など）とシグナル伝達経路を明らかにする。

(3) ブタ心筋虚血再灌流傷害モデルを用いたオメンチンの効果検討

ミニブタを用いて、オメンチン投与の急性心筋梗塞に対する治療効果を検討する前臨床実験を行う。ブタ心筋に対して虚血再灌流傷害をおこない心筋梗塞病変を作製する。オメンチン蛋白の冠動脈内投与による急性心筋梗塞治療効果を検討する。

(4) 各種薬剤によるオメンチン産生、分泌活性化を介した新たな心血管病治療戦略の検討

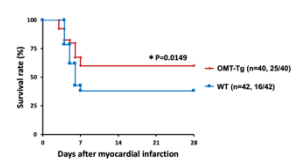
生活習慣病治療薬からオメンチン濃度を上昇させる薬剤の探索をおこない、薬剤のオメンチンを介した心血管保護作用の有無を検討する。

4. 研究成果

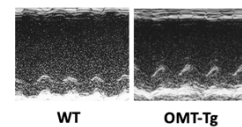
(1) 心リモデリングに対するオメンチンの作用解明

AP2 プロモーターを用いてヒトオメンチンが脂肪組織に過剰発現するトランスジェニック (OMT-Tg) マウスを作成。冠動脈を結紮し、心筋梗塞モデルを作成したところ、OMT-Tg マウスは、野生型 (WT) マウスと比較して死亡率が有意に低かった (図 1)。4 週間後の心機能や血圧、臓器重量、組織学的変化等を評価したところ、WT マウスと比較して OMT-Tg マウスでは、梗塞サイズに有意差を認めなかったが、左室腔の拡大が抑制され、HW/BW 及び LW/BW の上昇、血圧低下を抑制していた。WT マウスで見られる心筋梗塞後の左室収縮末期径および拡張末期径の増大、収縮能低下も、OMT-Tg マウスで抑制していた (図 2)。また、心筋梗塞巣遠位部では、OMT-Tg マウスは WT マウスと比較して心筋線維化が有意に減少しており、collagen I および III の発現も低下していた。WT マウスで見られる心筋梗塞巣境界域の毛細血管床の低下は、OMT-Tg マウス群で有意に抑制されており、心筋梗塞巣遠位部の WT マウスで見られる心筋サイズの増大も、OMT-Tg マウス群で抑制されていた。心肥大/心不全の指標である ANF や BNP の発現も減少していた (図 3)。また、野生型マウスと比較して OMT-Tg 群では、心筋梗塞巣遠位部のアポトーシスが抑制されていた。このようにオメンチンは、心リモデリングにおいて保護的効果を有していると考えられた。

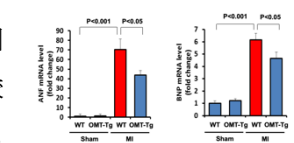
(図 1)



(図 2)

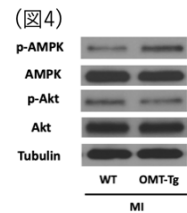


(図 3)



(2) 心臓構成細胞に対するオメンチンの作用とシグナル伝達機構の解明

上記 1. にて得られた心臓組織を用いて、心保護的に作用するリン酸化シグナルである AMPK および Akt のリン酸化をウエスタンブロット法にて評価したところ、OMT-Tg マウスでは WT マウスと比較して AMPK のリン酸化が亢進していた (図 4)。Akt のリン酸化は 2 群間で有意な差は認めなかった。

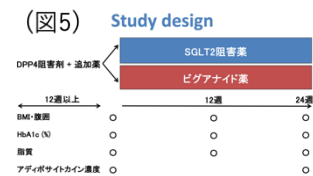


(3) ブタ心筋虚血再灌流傷害モデルを用いたオメンチンの効果検討

ブタ心筋組織に対して、人工的に心筋梗塞病変を作製し、オメンチン蛋白の冠動脈内投与の効果を検討。右ソケイ部よりバルーンカテーテルを挿入し左冠動脈血流を遮断、その間に、ワイヤルーメンを介して冠動脈よりオメンチン蛋白 (3 μ g/kg pig) を投与。血流遮断 4 5 分後に血流を再開、2 4 時間後に心臓摘出を行い、心筋梗塞サイズを測定。冠動脈内へのオメンチン投与は、心筋梗塞縮小効果を認めた。また、オメンチンの投与により心筋細胞のアポトーシスの減少と AMPK のリン酸化亢進も認めた。

(4) 各種薬剤によるオメンチン産生、分泌活性化を介した新たな心血管病治療戦略の検討

SGLT2 阻害薬は、腎臓の近位尿細管に作用し、尿に含まれる糖の再吸収をさせる SGLT2 を阻害することで尿中への糖排泄を促し血糖値を低下させる。その機序から、血糖降下作用のみならず、体重減少や血圧低下、腎機能の改善など様々な効果が期待されている。また、EMPA-REG OUTCOME 試験や CANVAS 試験によって、心血管イベント抑制効果が明らかにされており、SGLT2 阻害薬は心不全・心血管病予防を考慮した糖尿病治療薬として非常に期待されている。そこで、オメンチンのバイオマーカーとしての役割を検討するため、糖尿病患者を対象に、SGLT2 阻害薬治療開始前、治療開始 6 ヶ月後に、オメンチン血中濃度を測定した (図 5)。6 ヶ月間の観察期間中において、SGLT2 阻害薬投与下にて、血糖値や HbA1c 値の低下、腹囲、BMI の低下を認めた。血中オメンチン濃度は増加傾向を示したものの、有意差は認めなかった (n=8; p=0.211)。



このように、本研究課題においては、新規アディポカイン「オメンチン」をターゲットとした虚血性心疾患制御機構の解明を行い、さらには大動物 (ミニブタ) を用いた前臨床実験を行うことにより、オメンチンをターゲットとした新たな心血管病治療開発を実現させることになった。現在までに、オメンチンが虚血下において直接的な心保護効果を有することをマウス及びミニブタを用いた検討にて見出している。またその機序として AMPK シグナル伝達経路が関与している可能性が明らかとなった。これらの所見は、オメンチンを標的とした新たな心血管病治療の開発につながると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ohtsubo Toshio, Shibata Rei, Kai Hisashi, Okamoto Ryuji, Kumagai Eita, Kawano Hiroaki, Fujiwara Akira, Kitazono Takanari, Murohara Toyooki, Arima Hisatomi	4. 巻 42
2. 論文標題 Angiotensin-converting enzyme inhibitors versus angiotensin receptor blockers in hypertensive patients with myocardial infarction or heart failure: a systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 641 ~ 649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-018-0167-5	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 Ogawa Hayato, Ohashi Koji, Ito Masanori, Shibata Rei, Kanemura Noriyoshi, Yuasa Daisuke, Kambara Takahiro, Matsuo Kazuhiro, Hayakawa Satoko, Hiramatsu-Ito Mizuho, Otaka Naoya, Kawanishi Hiroshi, Yamaguchi Shukuro, Enomoto Takashi, Abe Takaya, Kaneko Mari, Takefuji Mikito, Murohara Toyooki, Ouchi Noriyuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Adipolin/CTRP12 protects against pathological vascular remodelling through suppression of smooth muscle cell growth and macrophage inflammatory response	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvz074	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 Otaka Naoya, Shibata Rei, Ohashi Koji, Uemura Yusuke, Kambara Takahiro, Enomoto Takashi, Ogawa Hayato, Ito Masanori, Kawanishi Hiroshi, Maruyama Sonomi, Joki Yusuke, Fujikawa Yusuke, Narita Shingo, Unno Kazumasa, Kawamoto Yoshiyuki, Murate Takashi, Murohara Toyooki, Ouchi Noriyuki	4. 巻 123
2. 論文標題 Myonectin Is an Exercise-Induced Myokine That Protects the Heart From Ischemia-Reperfusion Injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 1326 ~ 1338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.118.313777	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 Uemura Yusuke, Shibata Rei, Takemoto Kenji, Koyasu Masayoshi, Ishikawa Shinji, Murohara Toyooki, Watarai Masato	4. 巻 82
2. 論文標題 Prognostic Impact of the Preservation of Activities of Daily Living on Post-Discharge Outcomes in Patients With Acute Heart Failure	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 2793 ~ 2799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-18-0279	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 Piao Limei, Yu Chenglin, Xu Wenhui, Inoue Aiko, Shibata Rei, Li Xiang, Nan Yongshan, Zhao Guangxian, Wang Hailong, Meng Xiangkun, Lei Yanna, Goto Hiroki, Ouchi Noriyuki, Murohara Toyoaki, Kuzuya Masafumi, Cheng Xian Wu	4. 巻 267
2. 論文標題 Adiponectin/AdiopR1 signal inactivation contributes to impaired angiogenesis in mice of advanced age	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 150 ~ 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2018.05.089	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 Shibata R, Ouchi N, Ohashi K, Murohara T.	4. 巻 70
2. 論文標題 The role of adipokines in cardiovascular disease.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 329-334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2017.02.006.	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 Kanemura N, Shibata R, Ohashi K, Ogawa H, Hiramatsu-Ito M, Enomoto T, Yuasa D, Ito M, Hayakawa S, Otaka N, Murohara T, Ouchi N.	4. 巻 257
2. 論文標題 C1q/TNF-related protein 1 prevents neointimal formation after arterial injury.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Atherosclerosis.	6. 最初と最後の頁 138-145.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.atherosclerosis.2017.01.014.	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 Piao L, Zhao G, Zhu E, Inoue A, Shibata R, Lei Y, Hu L, Yu C, Yang G, Wu H, Xu W, Okumura K, Ouchi N, Murohara T, Kuzuya M, Cheng XW.	4. 巻 28
2. 論文標題 Chronic Psychological Stress Accelerates Vascular Senescence and Impairs Ischemia-Induced Neovascularization: The Role of Dipeptidyl Peptidase-4/Glucagon-Like Peptide-1-Adiponectin Axis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e006421.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 0.1161/JAHA.117.006421.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 柴田玲
2. 発表標題 心血管リモデリングにおけるCTRPファミリータンパク質の役割
3. 学会等名 第66回日本心臓病学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rei Shibata
2. 発表標題 The role of exercise-induced myokine, myonectin in cardiac ischemic injury
3. 学会等名 第35回国際心臓研究学会日本部会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柴田玲
2. 発表標題 重症虚血肢に対する新たな治療戦略
3. 学会等名 脳心血管抗加齢研究会2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rei Shibata
2. 発表標題 Diabetes, obesity, metabolic syndrome & aging population- Japan
3. 学会等名 Asian Pacific Society of Cardiology 2017（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Rei Shibata
2. 発表標題 Therapeutic angiogenesis for critical limb ischemia by implantation of adipose-derived regenerative cells
3. 学会等名 The 26th Annual Scientific Meeting of Indonesian Heart Association (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017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
研究分担者	大内 乗有 (Ouchi Noriyuki) (00595514)	名古屋大学・医学系研究科・寄附講座教授 (13901)	
研究分担者	室原 豊明 (Murohara Toyoaki) (90299503)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	