

令和 3 年 8 月 23 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09596

研究課題名(和文) インスリン抵抗性におけるERK2を介した臓器・血管連関の検討

研究課題名(英文) Vascular/organ association via ERK2 in insulin resistance

研究代表者

難波 貴之 (Takayuki, Namba)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・病院 内科・助教)

研究者番号：90726499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：Metabolic Syndrome (Mets) は代謝複合病であり、インスリン抵抗性(IR)と血管内皮障害(ED)から心血管病となる。インスリンシグナルの主要分子：ERK2の血管内皮細胞特異的欠損マウス(EE2K0)に肥満食を与えてIRやEDへの関与を検討した。EE2K0ではNO合成が亢進して血管内皮機能が改善して高血圧が抑制された。EE2K0ではIR、脂肪肝も著明に改善した。血管内皮ERK2の下流にThromboxan Receptor (TPR)を同定した。TPR阻害剤を肥満マウスに投与し、EE2K0類似の改善を認めた。血管内皮ERK2/TXA2経路はMetsの新規治療標的と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

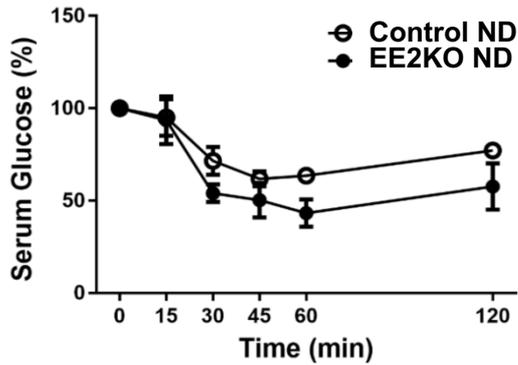
Metabolic Syndrome (Mets) は心臓血管病最大の危険因子である。その治療は運動、食事療法であり心血管病の特異的治療は未だ存在しない。患者さんは最終的には心筋梗塞、脳卒中などの血管病で亡くなる方が多いために、その血管病に対する特異的治療の開発は学術的にも、医学・社会的にも大きな意義がある。マウスMetsモデルの血管ではNO作用が減弱しており、その原因として血管内皮ERK2/TXA2経路を同定した。血管特異的にこの経路を阻害することはMets血管病の新規治療につながる重要な治験と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Metabolic Syndrome (Mets) is a complex disease which is characterized with insulin resistance (IR) and vascular endothelial dysfunction (ED) leading to cardiovascular diseases. The ERK2 is the major molecule of insulin signal system. We created endothelial cell-specific deficient mice (EE2K0) and fed with high fat diet to create obese and IR model of mice. The aim of this study was to elucidate the involvement of endothelial ERK2 with IR and complications of Mets and seek the novel drug target. In EE2K0, NO synthesis was enhanced, vascular endothelial function was improved, and hypertension was suppressed. In EE2K0, IR and fatty liver were also significantly improved. A Thromboxane Receptor (TPR) was identified as the downstream of the vascular endothelial ERK2. A TPR inhibitor was administered to obese mice, and improvement similar to EE2K0 was observed. The vascular endothelial ERK2 / TXA2 pathway was considered as a novel therapeutic target for Mets.

研究分野：循環器学 血管生物学 病態生化学

キーワード：インスリン メタボリックシンドローム 2型糖尿病 ERK2 一酸化窒素 血管内皮機能

A



B

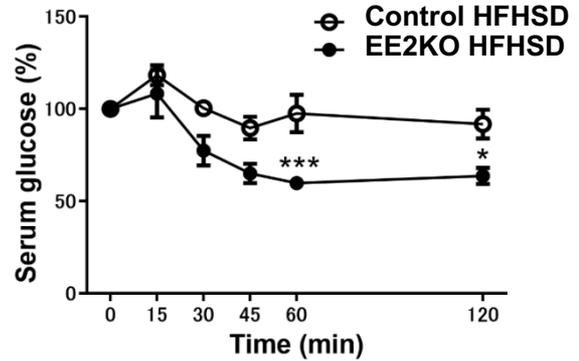


図 1. ITT によるインスリン感受性

A : Control-ND 群及び EE2KO-ND 群の ITT における血清グルコース濃度 (n=6-7)

B : Control-HFHSD 群及び EE2KO-HFHSD 群の ITT における血清グルコース濃度 (n=7) 同量のインスリンを使用したにもかかわらず、EE2KO-HFHSD 群のインスリン感受性の低下は Control-HFHSD 群より軽微であった。データは平均値±標準誤差で示した。

* $P < 0.05$ 、*** $P < 0.001$ vs Control-HFHSD 群。

A

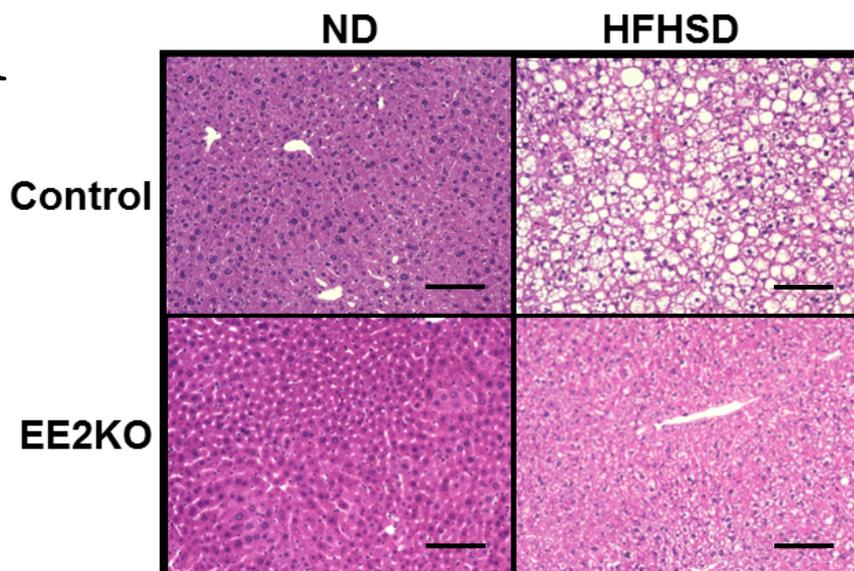


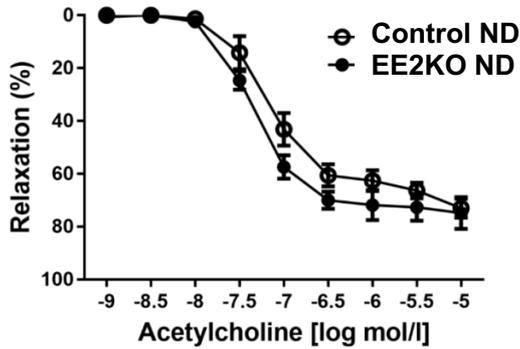
図 2

肝臓の病理組織学的評価

A : 肝臓のヘマトキシリン・エオジン染色 EE2KO-HFHSD で軽微であった。

Scale bars: 100 μ m

A



B

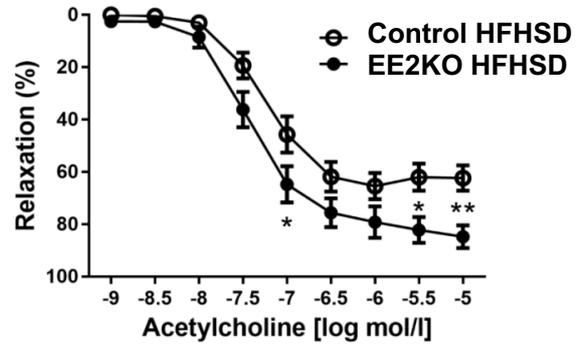


図3 内皮依存性及び内皮非依存性血管拡張反応

A : ACh による ND 群の内皮依存性血管拡張反応 (n=5-7)

B : ACh による HFHSD 群の内皮依存性血管拡張反応 (n=7-10)

ACh 投与による内皮依存性血管拡張反応では、ND 群では差を認めなかったが、EE2KO-HFHSD 群では血管拡張能は良好であった。

A

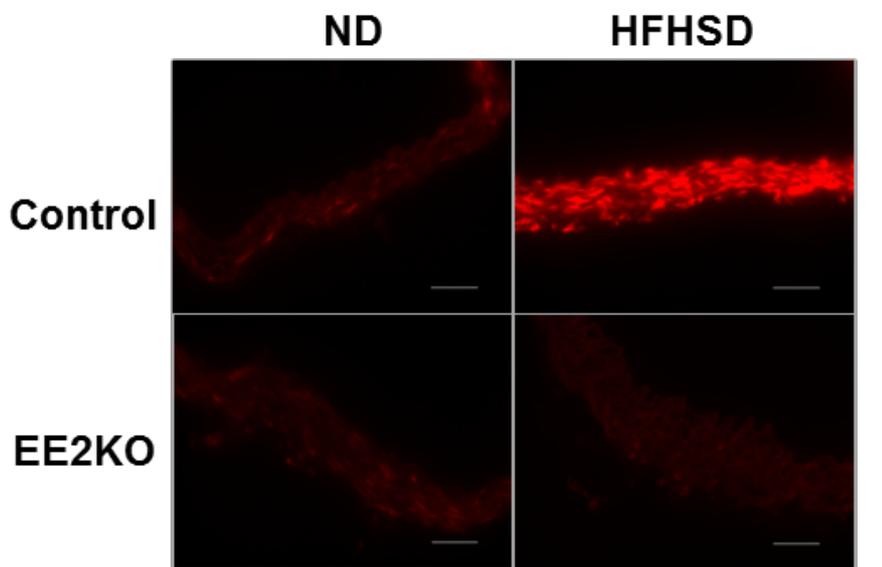


図4. 血管におけるスーパーオキサイド産生

Scale bars: 50 μ m

A : 血管の DHE 染色

B : 血管の DHE 染色の蛍光強度 (n=3-8)

Control-HFHSD 群では Control-ND 群と比較して DHE 染色の蛍光強度は高値であったが、EE2KO-HFHSD 群では EE2KO-ND 群と差を認めなかった。データは平均値±標準誤差で示した。***P<0.001 vs Control-HFHSD 群。

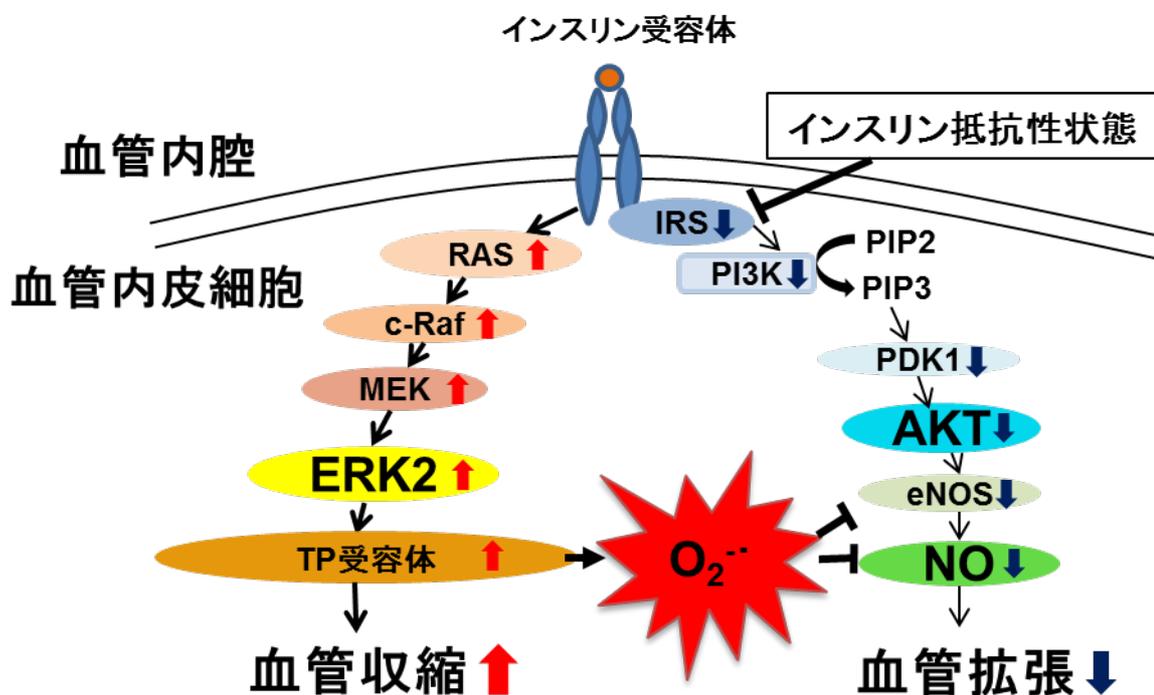


図 5. 本研究で明らかとなった肥満及びメタボリックシンドロームにおける血管内皮におけるインスリンシグナル伝達経路

AKT : プロテインキナーゼ B、eNOS : 血管内皮型一酸化窒素合成酵素

ERK2 : 細胞外シグナル調節キナーゼ 2、IRS : インスリン受容体基質

MEK : MAPK/ERK キナーゼ、NO : 一酸化窒素、 $O_2^{\cdot -}$: スーパーオキシド

PDK1 : ホスフォイノシチド依存性キナーゼ 1

PIP2 : ホスファチジルイノシトール 4, 5-ビスリン酸

PIP3 : ホスファチジルイノシトール 3, 4, 5-三リン酸

PI3K : ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ、RAS : RAS タンパク質

TP : トロンボキサンプロスタノイド

肥満及びメタボリックシンドロームにおいては、MEK/ERK2/TP 経路が亢進することで、スーパーオキシド産生が亢進した。スーパーオキシドは NO と反応することにより peroxynitrite となり、NO の生理活性を低下させた。また、peroxynitrite は eNOS を阻害し、NO 合成を阻害することで、NO の生理活性は低下し、内皮依存性血管拡張を抑制した。その結果、血管内皮障害、高血圧、インスリン抵抗性が増悪することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Namba Takayuki, Masaki Nobuyuki, Takase Bonpei, Adachi Takeshi	4. 巻 20
2. 論文標題 Arterial Stiffness Assessed by Cardio-Ankle Vascular Index	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3664 ~ 3664
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20153664	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 該当する
1. 著者名 Toya Takumi, Ito Kei, Kagami Kazuki, Osaki Ayumu, Sato Atsushi, Kimura Toyokazu, Horii Shunpei, Yasuda Risako, Namba Takayuki, Ido Yasuo, Nagatomo Yuji, Hayashi Katsumi, Masaki Nobuyuki, Yada Hiroataka, Adachi Takeshi	4. 巻 26
2. 論文標題 Impact of oxidative posttranslational modifications of SERCA2 on heart failure exacerbation in young patients with non-ischemic cardiomyopathy: A pilot study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IJC Heart & Vasculature	6. 最初と最後の頁 100437 ~ 100437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcha.2019.100437	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 該当する
1. 著者名 Toya Takumi, Nagatomo Yuji, Kagami Kazuki, Yukino Midori, Yasuda Risako, Namba Takayuki, Ido Yasuo, Kobayashi Shinichi, Masaki Nobuyuki, Yada Hiroataka, Kimura Fumihiko, Adachi Takeshi	4. 巻 35
2. 論文標題 Computed tomography-measured pulmonary artery to aorta ratio and EUTOS score for detecting dasatinib-induced pulmonary arterial hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The International Journal of Cardiovascular Imaging	6. 最初と最後の頁 1435 ~ 1442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10554-019-01548-2	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 該当する
1. 著者名 Horii Shunpei, Yada Hiroataka, Ito Kei, Osaki Ayumu, Sato Atsushi, Kimura Toyokazu, Yasuda Risako, Toya Takumi, Namba Takayuki, Masaki Nobuyuki, Adachi Takeshi	4. 巻 59
2. 論文標題 A Rare Case of Rush Progression of Purulent Pericarditis by <i>Escherichia coli</i> in a Patient with Malignant Lymphoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 655 ~ 659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.17-238	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 Toya Takumi, Nagatomo Yuji, Kagami Kazuki, Yukino Midori, Yasuda Risako, Namba Takayuki, Ido Yasuo, Kobayashi Shinichi, Masaki Nobuyuki, Yada Hirotaka, Kimura Fumihiko, Adachi Takeshi	4. 巻 In press
2. 論文標題 Computed tomography-measured pulmonary artery to aorta ratio and EUTOS score for detecting dasatinib-induced pulmonary arterial hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The International Journal of Cardiovascular Imaging	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10554-019-01548-2	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 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 2) 足立健 佐藤篤志、佐藤泰司、大崎歩、鏡和樹、難波貴之
2. 発表標題 肥満・糖尿病における血管内皮ERK2/TP Receptor経路を介した血管内皮障害
3. 学会等名 2020年 第49回日本心脈管作動性物質 久留米 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤篤志、佐藤泰司、遠藤昌吾、木村豊和、大崎歩、堀井俊平、伊藤桂、鏡和樹、難波貴之 足立健
2. 発表標題 高脂肪高シヨ糖食下における血管内皮ERK2/Thromboxane Receptor Pathwayがスーパーオキシド産生を介して与える血管内皮機能、インスリン抵抗性および脂肪肝への影響の検討
3. 学会等名 2019年第19回日本NO学会 YIA 優秀賞
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Namba, Toyokazu Kimura, Risako Yasuda, Takumi Toya, Yuji Nagatomo Nobuyuki Masaki, Hirotaka Yada, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Association of Hemodynamic Measurements Before Discharge with Lung Congestion.
3. 学会等名 第22回日本心不全学会 2019年 10月
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Atsushi Sato, Yasushi Satoh, Shogo Endo, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Shunpei Horii, Kei Ito, Kazuki Kagami Takayuki Namba, Takeshi Adachi;
2 . 発表標題 Endothelial ERK2/Thromboxane Receptor Pathway Induced Endothelial Dysfunction, Insulin Resistance and Steatohepatosis through Superoxide with High Fat High Sucrose Diet.
3 . 学会等名 European Society of Cardiology 2019 Paris
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Atsushi Sato, Kei Ito, Kazuki Kagami, Ayumu Osaki, Takayuki Namba, Takeshi Adachi;
2 . 発表標題 High Fat High Sucrose Diet Induced Endothelial Dysfunction, Insulin Resistance and Steatohepatosis through Superoxide Production by ERK2/TP Receptor Pathway.
3 . 学会等名 3rd Japanese Circulation Society BCVR 2019, Tokyo YIA 優秀賞
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Atsushi Sato, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Shunpei Horii, Kei Ito, Takumi Tohya, Nobuyuki Masaki, Takayuki Namba Takeshi Adachi.
2 . 発表標題 Endothelial Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Induced Hypertension and Endothelial Dysfunction and Insulin Resistance in Obese
3 . 学会等名 82nd Japanese Circulation Society 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Ayumu Osaki, Atsushi Sato, Toyokazu Kimura, Kei Ito, Takumi Tohya, Yasuo Ido, Nobuyuki Masaki, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2 . 発表標題 Ectopic Fat Deposition with Organ Damages in Adipose Specific Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Deficient Mice with High Fat Diet
3 . 学会等名 82nd Japanese Circulation Society 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Masataka Mine, Nobuyuki Masaki, Tetsuya Hisada, Risako Yasuda, Takayuki Namba, Hirotaka Yada, Kenichi Hashimoto, Bonpei Takase, Takeshi Adachi
2 . 発表標題 Association between Total Cholesterol and Ratio of Direct to Total Bilirubin in Serum
3 . 学会等名 82nd Japanese Circulation Society 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Takumi Toya, Nobuyuki Masaki, Katsumi Hayashi, Atsushi Sato, Ayumu Osaki, Kei Ito, Shunpei Horii, Risako Yasuda, Yasuo Ido, Takayuki Namba, Yuji Nagatomo, Hirotaka Yada, Takeshi Adachi
2 . 発表標題 Histological Validation of Cardiac Magnetic Resonance T1 Mapping as an Indicator of Interstitial Myocardial Fibrosis in Non-Ischemic Cardiomyopathy Patients
3 . 学会等名 82nd Japanese Circulation Society 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Nobuyuki Masaki, Youhei Yamashita, Toshiyuki Yamada, Yasuo Ido, Risako Yasuda, Takumi Tohya, Takayuki Namba, Yuji Nagatomo, Hirotaka Yada, Kenichi Hashimoto, Bonpei Takase, Takeshi Adachi
2 . 発表標題 Increased Basal eNOS Activity in Freshly Isolated Endothelial Cells from Patients with Cardiovascular Disease
3 . 学会等名 82nd Japanese Circulation Society 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kei Ito, Hirotaka Yada, Shunpei Horii, Takumi Toya, Yasunaga Shiraishi, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Atsushi Sato, Risako Yasuda, Takayuki Namba, Yuji Nagatomo, Nobuyuki Masaki, Yasuo Ido, Bonpei Takase, Takeshi Adachi
2 . 発表標題 SERCA2 C674S heterozygote knock-in mice with angiotensin II infusion leads to QT prolongation and lethal ventricular arrhythmia due to impaired sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ handling
3 . 学会等名 European Society of Cardiology 2018 (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Kei Ito, Hirotaka Yada, Shunpei Horii, Takumi Toya, Yasunaga Shiraishi, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Atsushi Sato, Risako Yasuda, Takayuki Namba, Yuji Nagatomo, Nobuyuki Masaki, Yasuo Ido, Bonpei Takase, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Angiotensin II loading in SERCA2 C674S heterozygote knock-in mice leads to QT prolongation and lethal ventricular arrhythmia
3. 学会等名 日本不整脈学会総会YIA 最優秀賞
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayumu Osaki, Yasushi Satoh, Shogo Endo, Atsushi Sato, Toyokazu Kimura, Kei Ito, Takumi Toya, Yasuo Ido, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Adipose Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Protect From Ectopic Fat Depositions and Endothelial Dysfunction in Obesity
3. 学会等名 91th American Heart Association, Scientific Session 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayumu Osaki, Atsushi Sato, Toyokazu Kimura, Shunpei Horii, Kei Ito, Takumi Toya, Yasuo Ido, Nobuyuki Masaki, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2. 発表標題 High Fat/ High Sucrose Diet Did Not Induce Endothelial Dysfunction but Impaired the Reduction of Vascular Tone with Adipose Tissue in Aortic Ring from Mice
3. 学会等名 91th American Heart Association, Scientific Session 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayumu Osaki, Yasushi Satoh, Shogo Endo, Atsushi Sato, Toyokazu Kimura, Kei Ito, Takumi Toya, Yasuo Ido, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Adipose Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Deficiency Impaired Endothelial Function and the Modulation of Vascular Tone with Adipose Tissue
3. 学会等名 91th American Heart Association, Scientific Session 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kei Ito, Hirotaka Yada, Shunpei Horii, Takumi Toya, Yasunaga Shiraishi, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Atsushi Sato, Risako Yasuda, Takayuki Namba, Yuji Nagatomo, Nobuyuki Masaki, Yasuo Ido, Bonpei Takase, Takeshi Adachi
2. 発表標題 SERCA2 C674S heterozygote knock-in mice leads to QT prolongation and lethal ventricular arrhythmia by catecholamine injection and hypertrophy with Angiotensin II.
3. 学会等名 91th American Heart Association, Scientific Session 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi Adachi, Atsushi Sato, Yasunaga Shiraishi, Ayumu Osaki, Toyokazu Kimura, Syunpei Horii, Kei Ito, Takumi Toya, Nobuyuki Masaki, Yasuo Ido
2. 発表標題 Pivotal roles of SOD1 in metabolism and vascular dysfunction in mice with obese.
3. 学会等名 日本循環器学会総会 (JCS) 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayumu Osaki, Atsushi Sato, Toyokazu Kimura, Shunpei Horii, Kei Ito, Takumi Toya, Nobuyuki Masaki, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Adipose Specific Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 suppresses Ectopic Fat and limit Organ Damage in Obese
3. 学会等名 日本循環器学会総会 (JCS) 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Atsushi Sato, Yasushi Satoh, Shogo Endo, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Shunpei Horii, Kei Ito, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Endothelial Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 induced Hypertension and Endothelial Dysfunction and Insulin Resistance in Obese
3. 学会等名 日本循環器学会総会 (JCS) 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Atsushi Sato, Yasushi Satoh, Endo XXXX, Toyokazu Kimura, Ayumu Osaki, Shunpei Horii, Kei Ito, Takayuki Namba, Takeshi Adachi
2. 発表標題 Endothelial Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Increases Blood Pressure and Induced Endothelial Dysfunction and Insulin Resistance in Mice with High Fat High Sucrose Diet
3. 学会等名 AHA Scientific Session 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Atsushi Sato, Yasunaga Shiraishi, Ayumu Osaki, Toyokazu Kimura, Takumi Toya, Risako Yasuda, Takayuki Namba, Hirotaka Yada, Nobuyuki Masaki, Takeshi Adachi
2. 発表標題 The mechanism of lean body in SOD1 deficient mice with High Fat High Sucrose Diet: The role of activated AMP-Activated Protein Kinase with Oxidative Stress.
3. 学会等名 AHA Scientific Session 2017 (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	眞崎 暢之 (Nobuyuki Masaki) (00364795)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・内科学・講師 (82406)	
研究分担者	佐藤 泰司 (Yasushi Sato) (10505267)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・生化学・教授 (82406)	
研究分担者	足立 健 (Takeshi Adachi) (50231931)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・内科学・教授 (82406)	

6. 研究組織（つづき）

	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	東谷 卓美 (Takumi Toya) (60781515)	防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・内科学・助教 (82406)	

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