

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18590992  
 研究課題名（和文） 脂肪細胞分化とインスリン抵抗性におけるアンジオテンシン受容体サブタイプの重要性  
 研究課題名（英文） Important Role of Angiotensin Receptor Subtype in Adipocyte Differentiation and Insulin Resistance  
 研究代表者  
 岩井 将 (IWA I MASARU)  
 愛媛大学・大学院医学系研究科・准教授  
 研究者番号：00184854

## 研究成果の概要：

本研究において、脂肪組織に対するアンジオテンシンⅡ受容体サブタイプの役割について、我々の用いた動脈硬化モデルマウスにおいて、AT1受容体刺激が、糖取り込み低下をはじめ、脂肪重量増加、脂肪細胞大型化、脂肪細胞分化抑制、血中脂質上昇などの変化を引き起こすのに対し、もう一つの主要サブタイプであるAT2受容体刺激は、糖取り込み増加、脂肪細胞分化促進、脂肪細胞小型化、脂肪細胞重量低下、血中脂質低下などAT1受容体に拮抗的に働くことが示された。これらの結果から、将来AT2受容体アゴニストがメタボリック症候群の治療に新たな一面を切り開く可能性がある。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,800,000	0	1,800,000
2007年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	480,000	3,880,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：血管病態学

## 1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病とよばれる糖尿病をはじめとする代謝疾患と循環器疾患がほぼ同様のメカニズムで発症するというメタボリックシンドロームの考え方が提唱され、治療法・治療方針の観点から非常に注目されている。

最近、動脈硬化や高血圧また脳卒中といった循環器系疾患が、高脂血症ばかりでなく、糖尿病状態にみられるインスリン抵抗性にも密接に関係しており、現在、しかし、このような考え方は主に臨床統計の結果から推察されているものであり、基礎的研究の裏づけが必要とされている。脂肪組織は、現在では脂質代謝調節に関与するホルモン

を分泌する内分泌臓器として知られている。脂質代謝調節や脂肪細胞分化には、インスリンとともにレニン-アンジオテンシン系も重要な調節因子として作用する可能性がある。

しかし、循環器系の主要調節因子であるアンジオテンシン II が脂肪細胞の分化や機能調節に与える影響については、これまであまり研究されていない。

## 2. 研究の目的

本研究においては、インスリン抵抗性に関わるアンジオテンシン II の役割を、特に脂肪組織の機能不全という観点から検討するものであり、脂肪細胞分化が脂肪組織及び全身のインスリン抵抗性に関与し、これにアンジオテンシン II 受容体刺激が深く関わることを証明し、さらに受容体サブタイプ の役割を、受容体遺伝子欠損マウスを用いて *in vivo* 及び *in vitro* の実験系を用いて証明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

マウス：脂質代謝異常モデルとして、アポリポ蛋白 E 欠損 (ApoEKO) マウスおよびさらに AT1a 受容体欠損 (AT1a/ApoEKO) マウスと AT2 受容体欠損 (AT2/ApoEKO) マウスを用い、また糖代謝異常モデルとして KK-Ay マウスを用いた。AT1 受容体ブロッカー投与の効果も検討した。耐糖能異常は経口糖負荷試験を行い測定した。脂肪組織重量と脂肪細胞サイズを組織学的に検討した。脂肪細胞分化マーカーとして、アディポネクチン、PPAR $\gamma$ 、C/EBP の組織発現をリアルタイム PCR で測定した。酸化ストレスマーカーとして脂肪組織のスーパーオキシド産生、NADPH オキシダーゼ活性を測定した。

## 4. 研究成果

動脈硬化モデルの ApoEKO マウスは、正常マウスに比して、白色脂肪重量増加、脂肪細胞サイズ増加、炎症反応因子の増加、脂肪分化マーカーの低下が認められた。同様の変化は、2型糖尿病モデルの KK-Ay マウスにおいても認められた。このような脂肪組織の変化は、AT1a 受容体を欠損した AT1a/ApoEKO マウスでは、正常近くに回復しており、逆に AT2/ApoEKO マウスではかえって増悪していた。このことから、AT2 受容体刺激は AT1 受容体刺激に対して拮抗的に作用すると考えられる。

さらに、AT1 受容体ブロッカーの投与も、脂肪組織異常を回復させる効果があり、さらに耐糖能異常や組織のインスリン感受性を正常化させる効果があった。このような AT1

受容体、AT2 受容体を介した作用は、組織の酸化ストレスの増減と一致していた。これらの実験結果は、脂肪組織において AT1 受容体刺激と AT2 受容体刺激が相反的に働き、脂肪細胞の分化を通して、脂肪細胞の大型化、インスリン抵抗性の改善を引き起こすことを示唆しており、現在市販されている AT1 受容体ブロッカーに加えて、将来 AT2 受容体アゴニストが生み出され、生活習慣病の新たな治療戦略となることが期待される。

これらの研究成果は、以下に示した国内学会、国際学会で発表され、英文の専門誌に掲載された。2008年6月にドイツのベルリンで開催された国際高血圧学会では、学会賞の一つである Pfizer 賞を獲得した。

## 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 16 件)

1. Inaba S, Iwai M, Furuno M, Tomono Y, Kanno H, Senba I, Okayama H, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M. Continuous Activation of Renin-Angiotensin System Impairs Cognitive Function in Renin/Angiotensinogen Transgenic Mice. *Hypertension*, 2009; 53(2): 356-362. (査読有)
2. Inaba S, Iwai M, Tomono Y, Senba I, Furuno M, Kanno H, Okayama H, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M. Prevention of Vascular Injury by Combination of an AT1 Receptor Blocker, Olmesartan, with Various Calcium Antagonists. *Am J Hypertens*, 2009; 22(2):145-150. (査読有)
3. Inaba S, Iwai M, Tomono Y, Senba I, Furuno M, Kanno H, Okayama H, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M. Exaggeration of focal cerebral ischemia in transgenic mice carrying human renin and human angiotensinogen genes. *Stroke*. 2009; 40: 597-603. (査読有)
4. Iwanami J, Mogi M, Li J-M, Tsukuda K, Min L-J, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Horiuchi M. Deletion of angiotensin II type 2 receptor attenuates protective effects of bone marrow stromal cell treatment on ischemia reperfusion brain injury in mice. *Stroke*. 2008; 39: 22554-22559. (査読有)
5. Li JM, Mogi M, Iwanami J, Min LJ, Tsukuda K, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Horiuchi M. Temporary pretreatment with the angiotensin II type 1 receptor

- blocker, valsartan, prevents ischemic brain damage through an increase in capillary density. *Stroke*. 2008; 39: 2029-2036. (査読有)
6. Mogi M, Li J-M, Tsukuda K, Iwanami J, Min L-J, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Horiuchi M. Telmisartan prevented cognitive decline partly due to PPAR-gamma activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 375: 446-449. (査読有)
  7. Iwai M, Inaba S, Tomono Y, Kanno H, Iwanami J, Mogi M, Horiuchi M. Attenuation of focal brain ischemia by telmisartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Hypertens Res*. 2008; 31:161-168. (査読有)
  8. Mogi M, Walsh K, Iwai M, Horiuchi M. Akt-FOXO3a signaling affects human endothelial progenitor cell differentiation. *Hypertens Res*. 2008; 31:153-159. (査読有)
  9. Tsukuda K, Mogi M, Li JM, Iwanami J, Min LJ, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Horiuchi M. Diabetes-associated cognitive impairment is improved by a calcium channel blocker, nifedipine. *Hypertension*. 2008; 51:528-533. (査読有)
  10. Tomono Y, Iwai M, Inaba S, Mogi M, Horiuchi M. Blockade of AT(1) Receptor Improves Adipocyte Differentiation in Atherosclerotic and Diabetic Models. *Am J Hypertens*. 2008; 21:206-212. (査読有)
  11. Mogi M, Tsukuda K, Li JM, Iwanami J, Min LJ, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Horiuchi M. Inhibition of cognitive decline in mice fed a high-salt and cholesterol diet by the angiotensin receptor blocker, olmesartan. *Neuropharmacology*. 2007; 53:899-905. (査読有)
  12. Tsukuda K, Mogi M, Li JM, Iwanami J, Min LJ, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Horiuchi M. Amelioration of Cognitive Impairment in the Type-2 Diabetic Mouse by the Angiotensin II Type-1 Receptor Blocker Candesartan. *Hypertension*. 2007; 50:1099-1105. (査読有)
  13. Gao X, Iwai M, Inaba S, Tomono Y, Kanno H, Mogi M, Horiuchi M. Attenuation of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression Via Inhibition of Nuclear Factor-kappaB Activity in Inflammatory Vascular Injury. *Am J Hypertens*. 2007; 20:1170-1175. (査読有)
  14. Min LJ, Mogi M, Iwanami J, Li JM, Sakata A, Fujita T, Tsukuda K, Iwai M, Horiuchi M. Cross-talk between aldosterone and angiotensin II in vascular smooth muscle cell senescence. *Cardiovasc Res*. 2007; 76:506-516. (査読有)
  15. Iwanami J, Mogi M, Okamoto S, Gao X-Y, Li J-M, Min L-J, Ide A, Tsukuda K, Iwai M, Horiuchi M. Pretreatment with eplerenone reduces stroke volume in mouse middle cerebral artery occlusion model. *European Journal of Pharmacology*. 2007; 566:153-159. (査読有)
  16. Iwai M, Chen R, Imura Y, Horiuchi M. TAK-536, a New AT1 Receptor Blocker, Improves Glucose Intolerance and Adipocyte Differentiation. *Am J Hypertens*. 2007; 20:579-586. (査読有)
- [学会発表] (計 19 件)
1. Inaba S, Iwai M, Tomono Y, Kannno H, Senba I, Furuno M, Okayama H, Mogi M., Higaki J, Horiuchi M: Comparison of the protective effects of combination of various calcium channel blockers and an AT1 receptor blocker, olmesartan, on inflammatory vascular injury in mice. 18th Scientific meeting International Society of Hypertension 2008 (June 19), Berlin, Germany.
  2. Mogi M, J-M Min, Iwanami J, Sakata A, Fujita T, Tsukuda K, Iwai M, Horiuchi M: Deletion of angiotensin II type 2 receptor signaling increased vascular senescence with inhibition of methyl methanesulfonate sensitive2. (18th Scientific meeting International Society of Hypertension) 2008 (June 19), Berlin, Germany.
  3. Mogi M, Kawajiri M, Tsukuda K, Iwanami J, J-M Min, Sakata A, Fujita T, Iwai M, Miki T, Kira J-I, Horiuchi M: Renin angiotensin system in cerebrospinal fluid of patients with neurodegenerative diseases. 18th Scientific meeting International Society of Hypertension 2008 (June 19), Berlin, Germany
  4. Inaba S, Iwai M, Furuno M, Tomono Y,

- Kanno, H, Senba I, Okayama H, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M: Enlargement of ischemic brain damage associated with oxidative stress after middle cerebral artery occlusion in human renin/angiotensinogen transgenic mice. (18th Scientific meeting International Society of Hypertension) 2008 (June 18), Berlin, Germany.
5. Iwai M, Tomono Y, Inaba S, Kanno H, Senba I, Furuno M, Mogi M, Horiuchi M: Lack of AT2 receptor attenuated adipocyte differentiation and increased adipocyte size in white adipose tissue of atherosclerotic mice treated with high cholesterol diet. (18th Scientific meeting International Society of Hypertension) 2008 (June 15), Berlin, Germany. (Pfizer Award)
  6. Sakata A, Mogi M, Iwanami J, Tsukuda K, Li J-M, Min L-J, Fujita T, Iwai M, Ito M, Horiuchi M: Sex different effect of AT2 receptor signaling on brain ischemic injury and cognitive function. (18th Scientific meeting International Society of Hypertension) 2008 (June 14), Berlin, Germany.
  7. Tomono Y, Iwai M, Inaba S, Kanno H, Mogi M, Horiuchi M. Roles of AT2 receptor in adipose tissue function and differentiation in atherosclerosis: Study with gene-deficient mice treated with high cholesterol diet. 80th Scientific Sessions of American Heart Association, 2007 (November 6), Orlando, Florida, USA.
  8. Inaba S, Iwai M, Tomono Y, Kanno H, Okayama H, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M: Exaggeration of focal cerebral ischemia in transgenic mice carrying human renin and human angiotensinogen genes. (61st Annual High Blood Pressure Research) 2007 (September 28), Tucson AZ, USA
  9. Tsukuda K, Mogi M, Li J-M, Iwanami J, Min L-J, Fujita T, Sakata A, Iwai M, Horiuchi M: Diabetes-associated cognitive impairment is improved by a calcium channel blocker, nifedipine. (61st Annual High Blood Pressure Research) 2007 (September 27), Tucson AZ, USA
  10. Iwai M, Tomono Y, Tomochika H, Chen R, Inaba S, Mogi M, Horiuchi M: Deletion of angiotensin II type 1 receptor enhances adipocyte differentiation and inhibits atherogenesis in atherosclerotic mouse model. 79th Scientific Sessions of American Heart Association, 2006 (November 14), Chicago, Illinois, USA
  11. Okura T, Kurata M, Manabe S, Irita J, Enomoto D, Miyoshi K, Fukuoka T, Higaki J, Iwai M, Horiuchi M: Effectiveness of candesartan based combination therapy in essential hypertension. Ehime candesartan assessment trial (E-CAT). The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 18), Fukuoka, Japan
  12. Tomono Y, Iwai M, Chen R, Tomochika H, Mogi M, Horiuchi M: Effect of AT1 receptor blockade ameliorates adipose tissue inflammation and improves insulin resistance in type 2 diabetic KK-Ay mice. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 18), Fukuoka, Japan
  13. Iwanami J, Mogi M, Li J-M, Min L-J, Tsukuda K, Iwai M, Horiuchi M: Brain protective effect of bone marrow stromal cells is attenuated by inhibition of angiotensin II type 2 receptor signaling. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 18), Fukuoka, Japan
  14. Mogi M, Iwanami J, Li J-M, Min L-J, Tsukuda K, Iwai M, Horiuchi M: Knocking down of MMS2, a neuroprotective factor inhibits neural differentiation and impaired cognitive function after stroke. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 17), Fukuoka, Japan
  15. Gao X, Iwai M, Tomono Y, Chen R, Mogi M, Horiuchi M: Calcium channel blocker, nifedipine, inhibits MCP-1 expression in injured artery via inhibition of NF- $\kappa$ B. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 17), Fukuoka, Japan
  16. Chen R, Iwai M, Tomono Y, Gao X, Mogi M, Horiuchi M: Effect of combination of pravastatin and olmesartan on glucose intolerance in type 2 diabetic KK-Ay mice. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006

- (October 17), Fukuoka, Japan
17. Tuskuda K, Mogi M, Li J-M, Iwanami J, Min L-J, Chen R, Iwai M, Horiuchi M: Angiotensin II type 1 receptor blocker, candesartan ameliorates cognitive impairment in type-2 diabetes mice with improvement of insulin resistance. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 17), Fukuoka, Japan
  18. Min L-J, Mogi M, Li J-M, Iwanami J, Tuskuda K, Iwai M, Horiuchi M: Synergistic induction of vascular smooth muscle cell senescence by aldosterone and angiotensin II. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 16), Fukuoka, Japan
  19. Li J-M, Mogi M, Iwanami J, Min L-J, Tuskuda K, Iwai M, Horiuchi M: Complex formation and nuclear translocation of SHR-1 and novel AT2 receptor-interacting protein enhances MMS2 upregulation, resulting in neural. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2006 (October 16), Fukuoka, Japan

[図書] (計 3 件)

1. 岩井 将, 堀内 正嗣: ARBによる酸化ストレス抑制作用. 「The ARB ; Angiotensin II Receptor Blocker」堀内 正嗣編 メディカルレビュー社, 東京, pp. 103-108, 2006.
2. 岩井 将, 堀内 正嗣: 脳・認知機能. 「The ARB ; Angiotensin II Receptor Blocker」堀内 正嗣編 メディカルレビュー社, 東京, pp. 149-155, 2006.
3. 岩井 将, 堀内 正嗣: 性差医学におけるARB. 「The ARB ; Angiotensin II Receptor Blocker」堀内 正嗣編 メディカルレビュー社, 東京, pp. 444-449, 2006.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

岩井 将 (IWAI MASARU)

愛媛大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号 : 00184854

##### (2) 研究分担者

堀内 正嗣 (HORIGUCHI MASATSUGU)

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号 : 40150338

(3) 連携研究者  
該当なし