

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19390255  
 研究課題名（和文） メタボエイジングの分子機構と抗加齢医療応用に対する  
 心血管内分泌代謝学的アプローチ  
 研究課題名（英文） Cardiovascular endocrinological approach  
 for elucidation of the molecular mechanism of “Metabo-aging”  
 研究代表者  
 伊藤 裕（Itoh Hiroshi）  
 慶應義塾大学・医学部・教授  
 研究者番号 40252457

## 研究成果の概要：

本研究ではメタボリックシンドロームとその合併症を、エネルギー代謝状態の変化に伴う加齢現象すなわちメタボエイジングとして捉え、代謝性疾患から循環器疾患に至る一連の疾患群の分子機構ならびに心血管ホルモンの意義に関して検討を続けた。本年度までに (1) 血管ホルモンによるミトコンドリア制御と代謝調節 (2) ADMA による NO 産生阻害の循環器疾患発症における意義 (3) 長寿制御因子 Sirt1 の腎疾患発症における意義 (4) プロレニン受容体を介したシグナル伝達経路の循環器疾患発症における意義 (5) アンジオテンシン II レセプターブロック薬による高血圧の退縮 に関して新たな知見を得た。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
2008 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：メタボリックシンドローム、エイジング、心血管ホルモン、NO、cGMP  
 ナトリウム利尿ペプチド、アンジオテンシン、ミトコンドリア

## 1. 研究開始当初の背景

21世紀の内科医療においては、悪性疾患とともに、糖尿病や高血圧症など生活習慣病の重積であるメタボリックシンドロームを基盤にした代謝性疾患から循環器疾患への一連の疾患群が、2大疾患を形成すると考えられる。申請者は、生活習慣病の“重積”のみならず、その成因と発症の順序、すなわち、生活習慣病の“流れ”、および心血管合併症の発症に至る生活習慣病の“連鎖”を把握する概念として“メタボリックドミノ”という考え方を示している。メタボリックドミノにおいては、脂肪細胞から分泌されるアディポカインや、心臓や血管壁から分泌される心血

管ホルモンの分泌障害が病態形成において重要であると考えられている。

申請者は、血液を通すパイプあるいはエネルギーを蓄積する場とのみ考えられてきた血管や脂肪組織が、新しい内分泌臓器であることを明らかにし、新規血管ホルモン、アディポサイトカインのトランスレーショナルリサーチを実践してきた。最近ではナトリウム利尿作用を有する血管拡張ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド(NP)が障害内皮再生さらに血管再生を促進することを見いだし(図2)閉塞性動脈硬化症患者に ANP を投与し極めて良好な治療効果を得ている

さらに最近になり申請者はエネルギー代

謝制御さらには寿命制御に心血管ホルモンが関与する可能性を見出した。すなわち申請者らが自ら開発した種々のNP系過剰発現マウスでは、脂肪分解亢進が認められ、高脂肪食による肥満が抑制されさらに脂肪肝進展も阻害されて、インスリン抵抗性改善効果が認められることを明らかにした。また、これらマウスの寿命が対照マウスに比較して延長すること、NAD依存性デアセチラーゼである長寿制御因子Sirt1発現が亢進することを発見した。そこでメタボリックシンドロームとその合併症を、エネルギー代謝状態の変化に伴う加齢現象すなわちメタボエイジングとして捉え、代謝性疾患から循環器疾患に至る一連の疾患群の分子機構ならびに心血管ホルモンの意義に関して検討する本研究を着想した。

## 2. 研究の目的

申請者は、代謝動態の変化に伴う加齢現象を“メタボエイジング”と呼ぶ。本研究では、メタボリックシンドロームとその合併症を、骨格筋、脂肪組織、肝臓、心血管系のメタボエイジングの結果生じる疾患として捉え、その分子機構ならびに心血管ホルモンの関与を解明し、抗加齢的予防医学的なメタボリックシンドローム新規治療法の開発を目指す。すなわち、心血管ホルモンの代謝制御因子、抗加齢因子としての意義を解明し、慶應義塾大学が本邦におけるその研究をリードしている最新のメタボロミクス技術等のオミクス技術を駆使して代謝動態の解析を行い、新たな治療法を見出す。さらには心血管ホルモンのメタボエイジングへの効果をもとに、メタボリックシンドローム患者へ心血管ホルモンの投与を行いその臨床効果を検証する。

## 3. 研究の方法

### (1) 血管ホルモンによるミトコンドリア制御と代謝調節

血管ホルモンによるミトコンドリア制御を明らかにする目的で、培養骨格筋細胞C2C12にNPのセカンドメッセンジャーであるcGMPを添加し、48時間後にミトコンドリア量、ミトコンドリアROS産生、ATP産生を定量し、ミトコンドリア制御に関与する遺伝子群の発現変化を評価した。培養骨格筋細胞ミトコンドリアにおけるアンジオテンシンII(AII)の作用も同様に評価した。浸透圧ポンプを用いてマウスにAII持続投与を一週間行い、耐糖能やエネルギー代謝を評価し、骨格筋におけるミトコンドリアの変化を検討した。

### (2) ADMAによるNO産生阻害の心血管系疾患

### 発症における意義

内因性NO産生酵素阻害剤であるADMAの代謝酵素DDAHの生体における意義を明らかにする目的で、DDAHtypeII過剰発現トランスジェニックマウスを作成し、AII持続投与による冠動脈リモデリングを評価した。

### (3) 長寿制御因子Sirt1の腎疾患発症における意義

腎尿細管細胞においてNAD依存性デアセチラーゼである長寿制御因子Sirt1の阻害や過剰発現を行い、活性酸素種除去ならびにアポトーシスにおけるSirt1の意義を検討した。

### (4) プロレニン受容体を介したシグナル伝達経路の心血管系疾患発症における意義

プロレニン受容体を介したシグナル伝達の意義を検討する目的で、培養平滑筋細胞においてsiRNAを用いてプロレニン受容体を阻害して、合成プロレニンによる分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ(MAPK; ERK)活性化を評価した。

### (5) アンジオテンシンIIレセプター阻害剤(ARB)パルス療法による高血圧の退縮

自然発症高血圧ラットに高用量のARBやCa阻害薬をパルス投与し、高血圧の退縮と腎動脈リモデリングへの効果を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 血管ホルモンによるミトコンドリア制御と代謝調節

血管弛緩、ナトリウム利尿作用を有するナトリウム利尿ペプチドがcGMPカスケードを介してエネルギー産生の首座であるミトコンドリア機能を亢進させ、酸素消費を促進させると同時に活性酸素産生を抑制することを培養筋細胞を用いて見出した。また、代表的な血管収縮ホルモンであるAIIが脂質燃焼を抑制することで、インスリン抵抗性を惹起することを生体において示した。AII投与マウス骨格筋と培養筋細胞の双方において、AIIがミトコンドリアを減少させ、活性酸素種の産生を増加させることを明らかにした。

### (2) ADMAによるNO産生阻害の心血管系疾患発症における意義

内因性NO産生酵素阻害剤であるADMAの代謝酵素DDAHtypeII過剰発現トランスジェニックマウスを用いて、ADMAがAIIによる血管障害において重要であることを明らかにした。さらにADMAがインスリン分泌に対しても抑制的に作用し耐糖能障害を引き起こすことを見出した。

### (3) 長寿制御因子Sirt1の腎疾患発症における意義

Sirt1が腎尿細管細胞において活性酸素産

生制御に係るカタラーゼ発現を調節することでアポトーシスならびに細胞の生存に関与することを明らかにした。

(4) プロレニン受容体を介したシグナル伝達経路の心血管系疾患発症における意義

レニン前駆体であるプロレニンを血管平滑筋細胞に添加したところ、プロレニン受容体を介して MAPK が活性化され細胞分裂を促進することを明らかにし、レニンによる動脈硬化症進展に、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系活性化のみならず、プロレニン受容体を介したシグナル伝達経路も重要である可能性を示した。

(5) ARB パルス療法による高血圧の退縮

高血圧自然発症ラットを用いて、高血圧発症早期にレニンアンジオテンシン系を阻害することにより高血圧を退縮させることができることを明らかにし、組織学的検討とマイクロアレイ法によりその機序として、アンジオテンシン II による microvascular remodeling が重要であることを示した。

## 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 20 件) すべて査読有り

1. Ichihara A, Sakoda M, Kurauchi Mito A, Narita T, Kinouchi K, Itoh H.

Drug discovery for overcoming chronic kidney disease (CKD): new therapy for CKD by a (pro)renin-receptor blocking decoy peptide.

J Pharmacol Sci. 2009 Jan;109(1):20-23.

2. Ishiguro K, Hayashi K, Sasamura H, Sakamaki Y, Itoh H.

"Pulse" treatment with high-dose angiotensin blocker reverses renal arteriolar hypertrophy and regresses hypertension.

Hypertension. 2009 Jan;53(1):83-89

3. Mitsuishi M, Miyashita K, Muraki A, Itoh H.

Angiotensin II Reduces Mitochondrial Content in Skeletal Muscle and Affects Glycemic Control.

Diabetes. 2009 Mar;58(3):710-717. Epub 2008 Dec 15

4. Oyamada N, Itoh H, Sone M, Yamahara K, Miyashita K, Kwijun P, Taura D, Inuzuka M, Sonoyama T, Tsujimoto H, Fukunaga Y, Tamura N, Nakao K.

Transplantation of vascular cells derived from human embryonic stem cells contributes to vascular regeneration after stroke in mice.

J Transl Med. 2008 Sep 30;6(1):54. [Epub ahead of print]

5. Ishiguro K, Sasamura H, Sakamaki Y, Hayashi K, Saruta T, Itoh H

Differential effects of transient treatment of spontaneously hypertensive rats with various antihypertensive agents on the subsequent development of diabetic nephropathy.

Nephron Exp Nephrol. 2008;109(1):e20-28. Epub 2008 May 28

6. Hasegawa K, Wakino S, Yoshioka K, Tatematsu S, Hara Y, Minakuchi H, Washida N, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H.

Sirt1 protects against oxidative stress-induced renal tubular cell apoptosis by the bidirectional regulation of catalase expression.

Biochem Biophys Res Commun. 2008 Jul 18;372(1):51-56. Epub 2008 May 15.

7. Oyamada N, Sone M, Miyashita K, Park K, Taura D, Inuzuka M, Sonoyama T, Tsujimoto H, Fukunaga Y, Tamura N, Itoh H, Nakao K. The role of mineralocorticoid receptor expression in brain remodeling after cerebral ischemia.

Endocrinology. 2008 Aug;149(8):3764-3777. Epub 2008 Apr 24.

8. Ichihara A, Sakoda M, Kurauchi Mito A, Kaneshiro Y, Itoh H.

Involvement of (pro)renin receptor in the glomerular filtration barrier.

J Mol Med. 2008 Jun;86(6):629-635. Epub 2008 Mar 12.

9. Yamahara K, Sone M, Itoh H, Yamashita JK, Yurugi Kobayashi T, Homma K, Chao TH, Miyashita K, Park K, Oyamada N, Sawada N, Taura D, Fukunaga Y, Tamura N, Nakao K. Augmentation of neovascularization in hindlimb ischemia by combined transplantation of human embryonic stem cells derived endothelial and mural cells.

PLoS ONE. 2008 Feb 27;3(2):e1666.

10. Mitsuishi M, Miyashita K, Itoh H. cGMP rescues mitochondrial dysfunction induced by glucose and insulin in myocytes.

Biochem Biophys Res Commun. 2008 Mar 21;367(4):840-845. Epub 2008 Jan 14.

11. Mihara A, Mori T, Aisa Y, Yamazaki R, Iketani O, Tanigawara Y, Ikeda Y, Okamoto S. Greater impact of oral fluconazole on drug interaction with intravenous calcineurin inhibitors as compared with intravenous fluconazole.

Eur J Clin Pharmacol. 64:89-91, 2008.

12. Park K, Itoh H, Yamahara K, Sone M, Miyashita K, Oyamada N, Sawada N, Taura D, Inuzuka M, Sonoyama T, Tsujimoto H, Fukunaga Y, Tamura N, Nakao K. Therapeutic potential of atrial natriuretic peptide administration on peripheral arterial diseases. Endocrinology. 2008 Feb;149(2):483-491. Epub 2007 Nov 8.

13. Sone M, Itoh H, Yamahara K, Yamashita JK, Yurugi Kobayashi T, Nonoguchi A, Suzuki Y, Chao TH, Sawada N, Fukunaga Y, Miyashita K, Park K, Oyamada N, Sawada N, Taura D, Tamura N, Kondo Y, Nito S, Suemori H, Nakatsuji N, Nishikawa S, Nakao K. Pathway for differentiation of human embryonic stem cells to vascular cell components and their potential for vascular regeneration. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007 Oct;27(10):2127-2134. Epub 2007 Sep 13.

14. Sakoda M, Ichihara A, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Nakazato Y, Nabi AH, Nakagawa T, Suzuki F, Inagami T, Itoh H. (Pro)renin receptor-mediated activation of mitogen-activated protein kinases in human vascular smooth muscle cells. Hypertens Res. 2007 Nov;30(11):1139-1146.

15. Yoshino J, Monkawa T, Tsuji M, Inukai M, Itoh H, Hayashi M. Snail1 is involved in the renal epithelial-mesenchymal transition. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Oct 12;362(1):63-68. Epub 2007 Aug 3.

16. Noguchi M, Hosoda K, Fujikura J, Fujimoto M, Iwakura H, Tomita T, Ishii T, Arai N, Hirata M, Ebihara K, Masuzaki H, Itoh H, Narumiya S, Nakao K. Genetic and pharmacological inhibition of Rho-associated kinase II enhances adipogenesis. J Biol Chem. 2007 Oct 5;282(40):29574-29583. Epub 2007 Aug 6.

17. Hasegawa K, Wakino S, Tatematsu S, Yoshioka K, Homma K, Sugano N, Kimoto M, Hayashi K, Itoh H. Role of asymmetric dimethylarginine in vascular injury in transgenic mice overexpressing dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2. Circ Res. 2007 Jul 20;101(2):e2-10. Epub 2007 Jun 29.

18. Takahashi H, Ichihara A, Kaneshiro Y, Inomata K, Sakoda M, Takemitsu T, Nishiyama A, Itoh H.

Regression of nephropathy developed in diabetes by (Pro)renin receptor blockade. J Am Soc Nephrol. 2007 Jul;18(7):2054-2061. Epub 2007 May 30.

19. Kaneshiro Y, Ichihara A, Sakoda M, Takemitsu T, Nabi AH, Uddin MN, Nakagawa T, Nishiyama A, Suzuki F, Inagami T, Itoh H. Slowly progressive, angiotensin II-independent glomerulosclerosis in human (pro)renin receptor-transgenic rats. J Am Soc Nephrol. 2007 Jun;18(6):1789-1795. Epub 2007 May 9.

20. Boku N, Ohtsu A, Hyodo I, Shirao K, Miyata Y, Nakagawa K, Tamura T, Hatake K, Tanigawara Y. Phase II Study of Oxaliplatin in Japanese Patients with Metastatic Colorectal Cancer Refractory to Fluoropyrimidines. Jpn J Clin Oncol. 37:440-445, 2007.

〔産業財産権〕

出願状況（計2件）

[1]発明の名称：抗がん剤感受性判定マーカー

出願日：2008年1月31日

種類：特許

出願番号：特願2008-021123号

発明者：谷川原祐介・渡辺光博・有田恵理・西牟田章戸・山吉康子・松崎健・杉本伸二

権利者：学校法人慶應義塾、株式会社ヤクルト

国内・国外の別：国内

[2]発明の名称：抗がん剤感受性の判定方法

出願日：2008年1月31日

種類：特許

出願番号：特願2008-021124号

発明者：谷川原祐介・鈴木小夜・杉本伸二  
権利者：学校法人慶應義塾、株式会社ヤクルト

国内・国外の別：国内

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 裕 (Itoh Hiroshi)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号 40252457

(2)研究分担者

脇野 修 (Wakino Shu)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号 50265823

谷川原 祐介 (Tanigawara Yusuke)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号 30179832

細田 公則 (Hosoda Kiminori)  
京都大学・医学研究科・講師  
研究者番号 40271598

曾根 正勝 (Sone Masakatsu)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号 40437207

(3)連携研究者

なし