

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 22 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591106

研究課題名(和文)血管内皮機能と血圧制御における脂肪酸結合タンパクの役割解明

研究課題名(英文)Elucidation of role of fatty acid-binding protein in vascular endothelial function and blood pressure control

研究代表者

古橋 真人(Furuhashi, Masato)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：20563852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪酸結合タンパク4(FABP4)は脂肪細胞とマクロファージに存在し、メタボリックシンドロームの成因に深く関わる。今回、分泌型FABP4および血管内皮の異所性FABP4と血圧との関連について検討した。正常血圧者に比べ高血圧患者で血中FABP4濃度は有意に高値で、アンジオテンシンII受容体拮抗薬の投与によりFABP4濃度が有意に低下した。高血圧モデルの検討ではFABP4欠損マウスは野生型に比べて有意に血圧が低値であった。さらに、血管内皮細胞におけるFABP4の発現は炎症マーカーの上昇と関連していた。FABP4は高血圧治療の新たなターゲットになる可能性が示唆され、今後のさらなる検討が期待される。

研究成果の概要(英文)：Fatty acid-binding protein 4 is expressed in both adipocytes and macrophages and plays an important role in many aspects of metabolic syndrome. Here we investigated the role of secreted form and ectopic expression of FABP4 on blood pressure regulation. Serum FABP4 level was significantly higher in essential hypertensives than in normotensives. Serum FABP4 level was positively and independently correlated with blood pressure and insulin resistance. Angiotensin II receptor blockers significantly decreased FABP4 level in hypertensives. FABP4-deficient mice protected from blood pressure elevation. Expression of FABP4 was related to increased inflammatory markers. Further understanding of role of FABP4 on blood pressure and endothelial function will enable the development of new therapeutic strategies for hypertension.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：脂肪酸結合タンパク 血管内皮 血圧

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞や脳卒中の原因である動脈硬化は、生命予後を決定する最も重要な病態の一つである。その成因としてインスリン抵抗性を基点とした肥満、高血圧、糖尿病、脂質異常症などの危険因子の集積(いわゆるメタボリックシンドローム)が発症基盤となることが疫学的検討から明らかにされてきている。しかしながら、この危険因子の集積の詳細な機序は十分には解明されておらず、効果的な予防あるいは治療戦略は確立されていないのが現状である。

1993年、Hotamisligilらは遺伝性肥満動物の脂肪組織の解析から、炎症性サイトカインであるTNF- α が脂肪細胞から産生され、これが肥満に伴うインスリン抵抗性に関与することを明らかにした(Science 1993)。現在では広くコンセンサスを得られている知見ではあるが、脂肪組織が内分泌臓器であるというまさにパラダイムシフトとなる重要な報告となった。最近では、TNF- α のみならず様々な脂肪細胞由来の生理活性物質(アディポカイン)や飽和脂肪酸などの脂質がc-Jun N-terminal kinase (JNK)やinhibitor of kappa kinase (IKK)の活性化を介して、炎症反応を増強したり、インスリン抵抗性を惹起することが示されている。細胞外からのみならず、細胞内においても酸化ストレス(ROS)や小胞体ストレス(ER stress)、さらにはある種の脂肪酸結合タンパク(Fatty Acid-Binding Protein: FABP)がJNKやIKKを活性化することが報告されている。

FABPは長鎖脂肪酸やエイコサノイドのような疎水性リガンドと結合する約130個のアミノ酸から構成される分子量約14-15 kDaの可溶性タンパク質で、脂質シャペロンファミリーのひとつである。これまでに少なくとも9つのアイソフォームが同定されている(Furuhashi M, et al. *Nat Rev Drug Discov* 2008)。一般に*in vitro*の検討からFABPは細胞内への脂肪酸の取り込みや酸化能および脂肪酸の細胞内輸送の促進に関与すると推測されているが、それぞれのアイソフォームの生体内での機能は明らかにされていなかった。近年のノックアウトおよびトランスジェニックモデルの検討から、FABPの生体内での機能が明らかにされつつあり、その中でもFABP4(A-FABP/aP2)は最も検討されているFABPの一つである。

2. 研究の目的

FABP4は脂肪細胞に非常に高発現しており、脂肪組織における全可溶性タンパクの1-数%を占める。この他FABP4がマクロファージにも発現(脂肪細胞の約1/10,000)していることが確認されている。FABP4欠損マウスを用いた検討から、FABP4はメタボリックシンドロームにおいて重要な役割を果たしていることが示されている。FABP4の欠損により、遺伝および高脂肪食由来の肥満モデルで

インスリン抵抗性が改善し、動脈硬化モデルではプラーク形成が予防されることが示されている。我々は、製薬会社との共同研究でaP2特異的阻害薬を開発し、マウスにおいてこの阻害薬が糖尿病および動脈硬化を改善させることを明らかにし、新規カテゴリーの治療薬となりうることを示した(Furuhashi M, et al. *Nature* 2007)。

脂肪細胞にはもう一つFABP5(E-FABP/mal1)が存在する。発現量はFABP4の1/100と少なく、FABP4欠損マウスにおいては代償的に増加し、相補的な役割を担っている。また、FABP4同様マクロファージにも発現していることが確認されている。FABP5欠損マウスは程度がマイルドではあるがFABP4欠損マウスと同様にインスリン感受性が亢進している。我々は、FABP4とFABP5のダブルノックアウトマウスが劇的なインスリン感受性の増加と動脈硬化抑制を呈することを報告した(Furuhashi M, et al. *Nat Rev Drug Discov* 2008; Furuhashi M, et al. *J Clin Invest* 2008; Maeda K, et al. *Cell Metab* 2005)。

最近、分泌シグナルペプチドを有さないもののFABP4が脂肪細胞から分泌されることが示された。さらには脂肪細胞/マクロファージ以外に末梢毛細血管や傷害血管の血管内皮に異所性に発現する可能性が示唆された。しかしながら、それらの生理学的役割や意義については不明なままである。本研究の目的は、分泌型FABP4および異所性FABP4が血管内皮機能や血圧とどのように関連しているかを検討することである。

3. 研究の方法

- (1) 臨床のサンプル(本態性高血圧患者)や当教室で35年以上継続している疫学調査(端野・壮警町研究)を用いて、血中FABP4濃度と血圧との関連について検討する。さらに、アンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)を含む各種薬剤投与前後での血中FABP4濃度の変化を検討する。
- (2) アンジオテンシンII負荷高血圧モデルと高食塩食負荷モデルを野生型およびFABP4欠損マウスで作成して、血圧の変動を観察する。さらに心エコーで心機能を評価する。分離した動脈血管を用いて、血管内皮依存性拡張物質としてアセチルコリンあるいは血管内皮非依存性拡張物質であるニトロプリドを投与し、血管拡張能を評価する。
- (3) 野生型およびFABP4欠損マウスから分離培養した血管内皮細胞やFABP4を過剰発現させたヒト動脈血管内皮細胞やHUVECを用いて、炎症マーカー、血管作動性物質、酸化ストレスマーカーおよびインスリンシグナルを検討する。

4. 研究成果

- (1) 血清FABP4濃度は正常血圧者に比べ無治療の本態性高血圧患者で有意に高値であ

った。FABP4 濃度は有意に年齢、BMI、血圧、中性脂肪値と正に、グルコースクランプで測定したインスリン感受性の指標 M 値と負に相関した。重回帰分析では、年齢、性別、BMI、中性脂肪値で補正しても M 値および血圧が独立した FABP4 濃度の説明変数であった。また、一般住民の無治療者での解析からも FABP4 濃度と血圧の関連を確認した。さらに、降圧薬である ARB の投与により、FABP4 濃度が低下する事を見いだした。

- (2) FABP4 欠損マウスは野生型マウスに比べて、アンジオテンシン II 負荷高血圧モデルおよび高食塩食負荷モデルで血圧が有意に低値であった。現在、分離した動脈血管を用いて血管拡張能を検討中である。
- (3) FABP4 欠損マウス由来血管内皮細胞は野生型マウス由来の細胞に比べて、炎症マーカーの低下が認められた。FABP4 を過剰発現させたヒト動脈血管内皮細胞や HUVEC では逆に炎症マーカーが認められた。現在 eNOS のリン酸化やインスリンシグナルについて検討中である。

今回の検討から、FABP4 は高血圧治療の新たなターゲットになる可能性が強く示唆され、今後のさらなる検討が期待される。

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 32 件)

1. Ishimura S, Furuhashi M, et al. Circulating levels of fatty acid-binding protein family and metabolic phenotype in the general population. *PLoS ONE* 8: e81318, 2013 査読有 DOI: 10.1371/journal.pone.0081318
2. Cao H, Sekiya M, Ertunc ME, Burak MF, Mayers JR, White A, Inouye K, Rickey LM, Ercal BC, Furuhashi M, Tuncman G, Hotamisligil GS. Adipocyte lipid chaperone aP2 is a secreted adipokine regulating hepatic glucose production. *Cell Metab* 17: 768-778, 2013 査読有 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.04.012
3. 古橋真人. 脂肪酸結合タンパクファミリー. 肥満研究 19: 167-174, 2013 査読無
4. 古橋真人. メタボリックシンドロームにおける新規バイオマーカーとしての脂肪酸結合タンパクの可能性. *Ther Res* 34: 958-962, 2013 査読無
5. Ota H, Furuhashi M, et al. Elevation of fatty acid-binding protein 4 is predisposed by family history of hypertension and contributes to blood pressure elevation. *Am J Hypertens* 25: 1124-1130, 2012 査読有 DOI: 10.1038/ajh.2012.88
6. Furuhashi M, et al. Lipid chaperones in metabolic inflammation. *Int J Inflamm* 2011:

642612, 2011 査読有

DOI: 10.4061/2011/642612.

7. Furuhashi M, et al. Serum fatty acid-binding protein 4 is a predictor of cardiovascular events in end-stage renal disease. *PLoS ONE* 6: e27356, 2011 査読有 DOI: 10.1371/journal.pone.0027356
8. 古橋真人. 脂肪酸結合タンパクと小胞体ストレス応答. *Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌*: 91-97, 2011 査読無
9. 古橋真人. 慢性炎症における脂質シャペロンとトリポカイン. *血管医学* 53 51-58, 2011 査読無
10. 古橋真人. マクロファージの脂肪酸結合タンパク. *The Lipid* 22: 36-43, 2011 査読無
11. 古橋真人. 脂肪酸結合タンパク (A-FABP). *臨床検査* 55: 593-598, 2011 査読無
12. 古橋真人. 脂肪酸結合蛋白. *医学のあゆみ* 239: 305-306, 2011 査読無
13. 古橋真人, 他. 脂肪酸結合タンパクとメタボリックシンドローム・動脈硬化. *Angiology Frontier* 10: 287-295, 2011 査読無

[学会発表](計 55 件)

1. Ishimura S, Furuhashi M, et al. Circulating Levels of Fatty Acid-Binding Protein Family and Metabolic Phenotype in the General Population. 第 78 回日本循環器学会, 2014 (東京) Date: 2014.3.23
2. Mita T, Furuhashi M, et al. Elevation of Fatty Acid-Binding Protein 4 May Contribute to Left Ventricular Hypertrophy and Diastolic Dysfunction in a General Population. 第 78 回日本循環器学会, 2014 (東京) Date: 2014.3.22
3. 石村周太郎, 古橋真人, 他. 脂肪酸結合タンパク 4 の脂肪細胞からの分泌機構の検討. 第 34 回日本肥満学会, 2013 (東京) Date: 2013.11.11
4. 古橋真人. 日本高血圧学会学術賞受賞講演: 高血圧関連疾患におけるアディポカインの役割解明に関する臨床研究. 第 36 回日本高血圧学会, 2013 (大阪) Date: 2013.10.25
5. 伏屋敬博, 古橋真人, 他. 一般住民において血中脂肪酸結合タンパク 4 濃度の上昇は左室肥大ならびに拡張能障害と関連する. 第 36 回日本高血圧学会, 2013 (大阪) Date: 2013.10.24
6. Mita T, Furuhashi M, et al. Elevation of fatty acid-binding protein 4 is associated with left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in a general population. The 67th Annual Fall Conference and Scientific Sessions of the Council for High Blood Pressure Research. 2013, New Orleans, U.S.A. Date: 2013.9.12
7. 古橋真人, 他. 心血管・代謝疾患における脂肪酸結合タンパクの役割. 第 31 回内分泌代謝学サマーセミナー, 2013 (由布)

- Date: 2013.7.12
8. Furuhashi M, Miura T. Mini Symposium: Lipid chaperones in metabolic syndrome and atherosclerosis. The 30th Annual Meeting of the International Society of Heart Research Japanese Section. 2013, San Diego, U.S.A. Date: 2013.6.29
 9. 岡崎雄介, 田中希尚, 古橋真人, 他. 糸球体における異所性 FABP4 発現の意義. 第 56 回日本腎臓学会, 2013 (東京) Date: 2013.5.12
 10. Furuhashi M, et al. Local production of fatty acid-binding protein 4 in perivascular fat and macrophage leads to coronary atherosclerosis. Keystone Symposia. Metabolic Control of Inflammation and Immunity. 2013, Breckenridge, CO, U.S.A. Date: 2013.1.22
 11. Furuhashi M, et al. Symposium 5: Metabolic Syndrome and Obesity. Lipid Chaperones, Inflammation, and Metabolic Syndrome. 第 20 回日本血管生物医学学会, 2012 (徳島) Date: 2012.12.7
 12. 古橋真人. メタボリックシンドロームにおける慢性炎症と脂肪酸結合タンパクの役割解明. 第 16 回日本心血管内分泌代謝学会, 2012 (東京) (高峰譲吉研究奨励賞) Date: 2012.11.23
 13. Fuseya T, Furuhashi M, et al. Elevation of Fatty Acid-Binding Protein 4 is Predisposed by Family History of Hypertension and Contributes to Blood Pressure Elevation. American Heart Association. 2012, Los Angeles, CA, U.S.A. Date: 2012.11.7
 14. Furuhashi M, et al. Local Production of Fatty Acid-Binding Protein 4 Leads to Coronary Atherosclerosis. American Heart Association. 2012, Los Angeles, CA, U.S.A. Date: 2012.11.6
 15. Mita T, Furuhashi M, et al. Elevation of Serum Fatty Acid-Binding Protein 4 Level in Young Normotensive Men with a Family History of Hypertension. The 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 2012, Sydney, Australia. Date: 2012.10.1
 16. Fuseya T, Furuhashi M, et al. Elevation of Plasma Fatty Acid-Binding Protein 4 Level Contributes to Blood Pressure Elevation and Insulin Resistance in Essential Hypertension. The 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 2012, Sydney, Australia. Date: 2012.10.1
 17. Okazaki Y, Furuhashi M, et al. Serum FABP4 (A-FABP/aP2) and FABP5 (E-FABP/mal1) as Possible Biomarkers of Insulin Resistance and Coronary Atherosclerosis. The 24th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 2012, Sydney, Australia. Date: 2012.10.1
 18. Furuhashi M, et al. Symposium: Clinical Features and Treatment of Cardiovascular Disease with Diabetes Mellitus. Lipid chaperones in diabetes mellitus and cardiovascular disease. 第 76 回日本循環器学会, 2012 (福岡) Date: 2012.3.17
 19. Furuhashi M, et al. Local production of fatty acid-binding protein 4 leads to coronary atherosclerosis. Keystone Symposia. Genetic and Molecular Basis of Obesity and Body Weight Regulation. 2012, Santa Fe, NM, U.S.A. Date: 2012.1.30
 20. Furuhashi M, et al. Fatty acid-binding protein 4 is a novel predictor of cardiovascular events in end-stage renal disease. American Heart Association. 2011, Orlando, FL, U.S.A. Date: 2011.11.16
 21. Furuhashi M, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein (A-FABP/FABP4/aP2) as a possible prognostic predictor. 第 75 回日本循環器学会, 2011 (横浜) Date: 2011.8.4
 22. Furuhashi M, et al. ミートザエキスパート「慢性炎症と生活習慣病」Lipid chaperones, inflammation, and metabolic disease. 第 75 回日本循環器学会, 2011 (横浜) Date: 2011.8.3
 23. 古橋真人, 他. シンポジウム 18「糖尿病と動脈硬化 - From bench to bedside」: 糖尿病と動脈硬化における脂質シャペロンの役割. 第 54 回日本糖尿病学会, 2011 (札幌) Date: 2011.5.21
 24. 古橋真人, 他. シンポジウム 7「インスリン抵抗性のメカニズムと新しい治療戦略」: 脂肪酸結合タンパクとインスリン抵抗性. 第 54 回日本糖尿病学会, 2011(札幌) Date: 2011.5.20
 25. 古橋真人, 他. シンポジウム 3「代謝・循環ホットトピック」: 慢性炎症と代謝疾患における脂肪酸結合タンパク. 第 44 回日本心臓血管作動物質学会, 2011 (高松) Date: 2011.2.4
- 〔図書〕(計 2 件)
1. 古橋真人. メタボ時代の心血管疾患予防と管理. 3) 脂肪酸結合蛋白. a 脂肪酸結合蛋白ファミリーとその機能 (島本和明 編集) 診断と治療社: 67-74, 2013
 2. 石村周太郎, 古橋真人. メタボ時代の心血管疾患予防と管理. 3) 脂肪酸結合蛋白. b 脂肪酸結合蛋白とメタボリックシンドローム (島本和明 編集) 診断と治療社: 75-80, 2013
6. 研究組織
- (1)研究代表者
古橋 真人 (FURUHASHI, Masato)
札幌医科大学・循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座・助教
研究者番号: 20563852