

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月20日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500656

研究課題名（和文） 新規肥満モデルが血圧上昇をきたすメカニズムの解明と高血圧の予防・治療への応用

研究課題名（英文） The mechanism for blood pressure elevation in newly developed obesity mouse and the application for the prevention and treatment of hypertension

研究代表者

酒井 俊 (SAKAI SATOSHI)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：30282362

研究成果の概要（和文）：酸化ストレス関連分子 sequestosome1 / A170 の全身性遺伝子欠損 (KO) マウスを作製した。KO は過食による肥満と耐糖能障害を有し、レプチン抵抗性を示した。非拘束下に血圧・脈拍数・運動活性をテレメトリーにより評価した。野生型に比べ KO では、休眠期の血圧低下・脈拍数低下が减弱し、non-dipper 型高血圧パターンの血圧変動を示すことが明らかになった。KO の尿中カテコラミン一日排泄量が有意に大であり、交感神経活性増加が血圧上昇に結びついていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We generated conventional knockout mice (KO) of sequestosome1/A170, the molecule related to oxidative stress. KO exhibited the phenotype of obesity and impaired glucose tolerance due to hyperphagia and leptin resistance. We evaluated hemodynamics by telemetry system under no restrictions. During resting time, blood pressure (BP) and pulse rate was higher in KO compared to wild type (WT) though it did not differ during active time, indicating that KO shows the BP pattern of non-dipper type of hypertension. The urine amount of excreted catecholamine was significantly higher in KO than WT, suggesting that increase of the sympathetic nerve activity contributes to the BP elevation in KO.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：循環器内科学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：肥満・高血圧・SQSTM1

1. 研究開始当初の背景

我が国の高血圧に基づく脳血管・心血管疾患による死亡数は、悪性新生物による死亡数に次いで多く、その病態解明と予防・治療法の改善が求められている。その成因の一つに、中枢神経系の興奮による末梢交感神経系活性の亢進が関与していることが明らかになりつ

つある。交感神経中枢である延髄吻側腹外側領域 (rostral ventrolateral medulla, RVLM) は、食欲中枢と関連の深い視床下部から神経投射を受けており、RVLM ニューロン (神経細胞) の電気活動亢進は、脊髄中間外側核を介し、そこから遠心性に出て行く末梢交感神経の活動を亢進させる。そして、心臓・細

動脈・腎などに作用し血管収縮・血圧上昇・循環血漿量の増加をもたらす。

申請者らは、SQSTM1 をマウスマクロファージから酸化ストレスで誘導される細胞質のタンパク (A170) として見出した (Ishii 他、1996 年)。

心血管疾患の基盤病態であるメタボリック症候群は、肥満を背景として高中性脂肪血症・耐糖能異常・高血圧等を有する病態であり、肥満と血圧上昇との関連性については末梢交感神経活性の亢進が指摘されている。肥満の外的主要因は過食によるエネルギーの過剰摂取である。肥満マウスとして知られている ob/ob マウスと db/db マウスは、摂食抑制因子レプチンの欠損あるいはその受容体欠損による摂食抑制システムの崩壊によるものである。レプチンは、脂肪組織から分泌され、視床下部の摂食中枢に働き摂食行動を制御している。一方、レプチンは交感神経活性を高め血圧を上昇させるとされているが、肥満における交感神経活性亢進との関連性についてその詳細は不明である。

申請者らは生体内における SQSTM1 の生理機能を明らかにするために、KO マウスを作製し表現型を解析している。SQSTM1 KO マウスには TNF α や NGF のシグナルには全く異常が見られなかった。しかし意外なことに、KO マウスは過食を起因とする肥満症を呈した。

2. 研究の目的

- ① SQSTM1-KO マウスにおける肥満が誘導する血圧上昇はいかにして生じるのか？ 摂食調節因子であるレプチンは交感神経系を活性化させることが知られている。肥満に認められるレプチン抵抗性と血圧上昇とはいかなる関連性があるのかを、SQSTM1 KO マウスの血圧動態について、種々の週齢のマウスを用いて精査し、KO マウスの病態を特徴づける。特に、レプチンによる血圧中枢の活性化と末梢交感神経系の活性亢進との関連について検討する。
- ② SQSTM1-KO マウスは、肥満を抑制すれば血圧上昇を抑制できるのか？ 摂食量を制限して肥満を抑制した場合、血圧上昇が抑制されるのか否かを検討する。
- ③ SQSTM1-KO マウスは、降圧薬の効果判定に有用なモデルとなるのか？ 将来の臨床応用を考え、肥満による血圧上昇に対しどのようなタイプの降圧薬が有効なのかを検討するとともに、このモデルが未開発の降圧薬の効果判定に有用であることを明らかにする。
- ④ SQSTM1 KO マウスが呈する過食・肥満・血圧上昇は中枢依存性なのか？ 中枢特異的に SQSTM1 を欠損させたマウス (コンディショナル KO マウス) を作製

し、これが全身 KO マウスと同様の表現型となるかを解析することで明確な答えを出すことができる。

3. 研究の方法

- ① SQSTM1-KO マウスにおける血圧動態を、テレメトリー装置を体内に植え込み、非拘束下にて測定し、活動期と休眠期における血圧を測定した。また、脳室内にレプチンを投与し、摂食行動の抑制が認められるかを検討した。また、交感神経活性の指標として、尿中カテコラミンの排泄量を測定した。
- ② 一日当たりの摂食量を制限し、体重増加および血圧に変動が生じるかを検討した。
- ③ 肥満による血圧上昇に対して、種々の降圧薬を投与し、降圧効果を観察した。降圧薬としては、サイアザイド系利尿薬・Ca チャンネル遮断薬・アンジオテンシン II 受容体遮断薬を用い、テレメトリーシステムにて血圧変動を測定した。
- ④ 中枢神経特異的に SQSTM1 を欠損させたマウス (コンディショナル KO マウス) を作製し、これが全身 KO マウスと同様の表現型となるかを解析した。

4. 研究成果

- ① SQSTM1-KO マウスにおける肥満は、過食によるものであった。KO の摂食量は週齢とともに増加していた。食欲抑制作用を有するレプチンを脳室内に投与すると、野生型マウスでは摂食量の低下が認められたのに対し、KO では、摂食量の低下は認められなかった。テレメトリーシステムを用い、野生型と体重に差が認められない時期から有意に体重増加が認められる時期にかけて血圧・脈拍数・運動活性を非拘束下で測定した。KO と野生型の間には、1 日の中でも休眠期と活動期に差が認められることが明らかとなった。すなわち、活動期には、KO と野生型との間で血圧・脈拍数の差が認められないのに対し、休眠期には KO にて有意に血圧が高く脈拍数も多いことが明らかになった。一方、マウスの活動量は KO と野生型に差は認められなかった。更に、1 日の尿中カテコラミン排泄量を測定したところ、KO マウスにて有意にアドレナリン・ノルアドレナリン排泄量が多いことが明らかとなった。以上の結果は、SQSTM1-KO は、休眠期に血圧が低下しない non-dipper 型に類似した血圧上昇パターンを示し、そこには、交感神経活性の増加が関与していることが示唆された。
- ② SQSTM1-KO マウスに対し、摂食量を 1 日

3g に制限したところ、体重増加が野生型と同程度であることが明らかになった。テレメトリーシステムによる血圧測定は、器機の準備が出来なかったため、施行できなかった。体重増加を抑制した場合の血圧増加反応が抑制されるかは、興味を持たれるところである。

- ③ SQSTM1-KO マウスを用いての既存降圧薬による血圧測定も②と同様の理由で施行できなかった。
- ④ 中枢神経特異的に SQSTM1 が欠損するコンディショナル KO マウスを作製した。全身性の SQSTM1-KO マウスと同様に、過食に伴う肥満を表現型として有していた。このマウスにおけるテレメトリーシステムを用いた実験も、上述と同様の理由で施行できなかった。

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 15 件)

1. Sakai S, Kimura T, Wang Z, Shimojo N, Maruyama H, Homma S, Kuga K, Yamaguchi I, Aonuma K, Miyauchi T. Endothelin-1-induced cardiomyocyte hypertrophy is partly regulated by transcription factor II-F interacting C-terminal domain phosphatase of RNA polymerase II. *Life Sci.* 2012;91:572-7. 査読有
2. Miyauchi Y, Sakai S, Maeda S, Shimojo N, Watanabe S, Homma S, Kuga K, Aonuma K, Miyauchi T. Increased plasma levels of big-endothelin-2 and big-endothelin-3 in patients with end-stage renal disease. *Life Sci.* 2012;91:729-32. 査読有
3. Tajiri K, Imanaka-Yoshida K, Matsubara A, Tsujimura Y, Hiroe M, Naka T, Shimojo N, Sakai S, Aonuma K, Yasutomi Y. Suppressor of cytokine signaling 1 DNA administration inhibits inflammatory and pathogenic responses in autoimmune myocarditis. *J Immunol.* 2012;189:2043-53. 査読有
4. Sato A, Hiroe M, Akiyama D, Hikita H, Nozato T, Hoshi T, Kimura T, Wang Z, Sakai S, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Aonuma K. Prognostic value of serum tenascin-C levels on long-term outcome after acute myocardial infarction. *J Card Fail.* 2012;18:480-6. 査読有
5. Okada K, Warabi E, Sugimoto H, Horie M, Tokushige K, Ueda T, Harada N, Taguchi K, Hashimoto E, Itoh K, Ishii T, Utsunomiya H, Yamamoto M, Shoda J. Nrf2 inhibits hepatic iron accumulation and counteracts oxidative stress-induced liver injury in nutritional steatohepatitis. *J Gastroenterol.* 2012;47:924-35.
6. Ishii T, Warabi E, Yanagawa T. Novel roles of peroxiredoxins in inflammation, cancer and innate immunity. *J Clin Biochem Nutr.* 2012;50:91-105. 査読有
7. Tajiri K, Maruyama H, Sato A, Shimojo N, Endo M, Aihara H, Kawano S, Watanabe S, Sakai S, Aonuma K. Prediction of Chronic Renal Insufficiency after Coronary Angiography by an Early Increase in Oxidative Stress and Decrease in Glomerular Filtration Rate. *Circ J* 2011; 75: 437-442. 査読有
8. Hoshino T, Tabuchi K, Nishimura B, Tanaka S, Nakayama M, Ishii T, Warabi E, Yanagawa T, Shimizu R, Yamamoto M, Hara A. Protective role of Nrf2 in age-related hearing loss and gentamicin ototoxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;415:94-8. 査読有
9. Kikuchi N, Ishii Y, Morishima Y, Yageta Y, Haraguchi N, Yamadori T, Masuko H, Sakamoto T, Yanagawa T, Warabi E, Ishii T, Hizawa N. Aggravation of bleomycin-induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice lacking peroxiredoxin I. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2011;45:600-9. 査読有
10. Sugimoto R, Warabi E, Katayanagi S, Sakai S, Uwayama J, Yanagawa T, Watanabe A, Harada H, Kitamura K, Noguchi N, Yoshida H, Siow RC, Mann GE, Ishii T. Enhanced neointimal hyperplasia and carotid artery remodelling in sequestosome 1 deficient mice. *J Cell Mol Med.* 2010;14:1546-54. 査読有
11. Tabuchi K, Oikawa K, Hoshino T, Nishimura B, Hayashi K, Yanagawa T, Warabi E, Ishii T, Tanaka S, Hara A. Cochlear protection from acoustic injury by inhibitors of p38 mitogen-activated protein kinase and sequestosome 1 stress protein. *Neuroscience.* 2010;166:665-70. 査読有
12. Sugimoto H, Okada K, Shoda J, Warabi E, Ishige K, Ueda T, Taguchi K, Yanagawa T, Nakahara A, Hyodo I, Ishii T, Yamamoto M. Deletion of nuclear factor-E2-related factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010;298:G283-94. 査読有
13. Tobari H, Arimoto T, Shimojo N, Yuhara K, Noda H, Yamagishi K, Iso H. Physician-pharmacist cooperation program

- for blood pressure control in patients with hypertension: a randomized-controlled trial. Am J Hypertens. 2010;23:1144-52. 査読有
14. Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Choi Y, Shimojo N, Ajisaka R, Tanaka H. Additive beneficial effects of lactotriptides intake with regular exercise on endothelium-dependent dilatation in postmenopausal women. Am J Hypertens. 2010;23:368-72. 査読有
15. Miyaki A, Maeda S, Yoshizawa M, Misono M, Sasai H, Shimojo N, Tanaka K, Ajisaka R. Is pentraxin 3 involved in obesity-induced decrease in arterial distensibility? J Atheroscler Thromb. 2010;17:278-84. 査読有

〔学会発表〕（計 6 件）

1. Ishii T, Warabi E, Sakai S, Yanagawa T. Roles of sequestosome1/p62 in prevention of obesity, hypertension and atherosclerosis. The 16th Society for Free Radical Research International Biennial Meeting. 2012.9.9 (London, UK)
2. Sakai S, Warabi E, Kimura T, Miyauchi T, Aonuma K, Ishii T: Protective Activity to Oxidative Stress is Attenuated in Development of Angiotensin II-Induced Cardiac Fibrosis and Dysfunction. The 16th Society for Free Radical Research International Biennial Meeting. 2012.9.8 (London, UK)
3. Sakai S, Homma S, Aonuma K, Miyauchi T: Cardiomyocyte hypertrophy induced by endothelin-1 is regulated by transcription factor II-F interacting C-terminal domain phosphatase (FCP1) of RNA polymerase II The 12th International Conference on Endothelin. 2011.9.14 (Cambridge, UK)
4. Warabi E, Sakai S, Suzuki E, Tomoo T, Yanagawa T, Mann GE, Ishii T: Non-dipper-like hypertension in sequestosome1/p62/A170 deficient mice in early phase of obesity Physiology. 2011.7.13 (Oxford, UK)
5. Warabi E, Sakai S, Yanagawa T, Harada H, Siow RCM, Mann GE, Ishii T: Deficiency of sequestosome1/p62/A170 in mice is associated with metabolic syndrome: (II) Enhanced neointimal hyperplasia and carotid artery remodeling. International Symposium on the Pathophysiology of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. 2010.5.1 (Salamanca, Spain)
6. Warabi E, Sakai S, Suzuki E, Tomoo T, Tomoike S, Enomoto Y, Harada H,

Yanagawa T, Mann GE, Ishii T: Deficiency of sequestosome1/p62/A170 in mice is associated with metabolic syndrome: (III) Non-dipper type hypertension. International Symposium on the Pathophysiology of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. 2010.5.1 (Salamanca, Spain)

〔図書〕（計 2 件）

1. 酒井 俊・河野 了・青沼和隆 副腎皮質ステロイド合併症としてみられる病態—高血圧— 小池隆夫、住田孝之編 「GUIDELINE 膠原病・リウマチ —治療ガイドラインをどう読むか— 第 2 版」 診断と治療社 164-171, 2010
2. 前田清司・宮内裕美・酒井 俊・宮内 卓 肺高血圧モデル 北 徹、堀内久徳、柳田素子、猪原匡史、富本秀和、並河 徹 編 「シリーズモデル動物利用マニュアル・疾患モデルの作製と利用-循環器疾患」 ANIMAL MODELS Life-Science Information Center 社 123-126, 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

酒井 俊 (SAKAI SATOSHI)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：30282362

(2) 研究分担者

石井 哲郎 (ISHII TETSURO)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：20111370

下條 信威 (SHIMOJO NOBUTAKE)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：20462210