

# 心臓ホルモンの特異性を応用した生活習慣病の画期的治療法開発

国立循環器病研究センター研究所 生化学部  
情報伝達研究室長 徳留 健

(共同研究者)

国立循環器病研究センター研究所 生化学部 部長 宮里 幹也  
国立循環器病研究センター名誉研究所 所長 寒川 賢治

## はじめに

生活習慣病とは、「食習慣、運動習慣等の生活習慣が、その発症・進行に関与する疾患群」のことであり、肥満・糖尿病・高血圧等が含まれる。生活習慣病の合併症には、心筋梗塞・脳卒中・糖尿病性腎症などがあり、これらに罹患した患者の生命予後やQOLは著しく低下する。一方、共同研究者である寒川 賢治 国立循環器病研究センター名誉研究所長らは、血管拡張作用や利尿作用を有する心房性・脳性ナトリウム利尿ペプチド (Atrial Natriuretic Peptide (ANP)・Brain Natriuretic Peptide (BNP)) を発見した。

近年、欧米でANP・BNPの分解酵素阻害薬が慢性心不全治療薬として認可され、今年(2020年)日本でも承認された。さらに最近我々は、ANP・BNPの共通受容体であるGuanylyl Cyclase-A (GC-A) の遺伝子欠損マウスが、普通食投与下において野生型マウスに比べ肥満傾向を示すことを発見した。そこで我々はANP・BNPを応用した生活習慣病の治療法開発を念頭に置いた実験を行った。

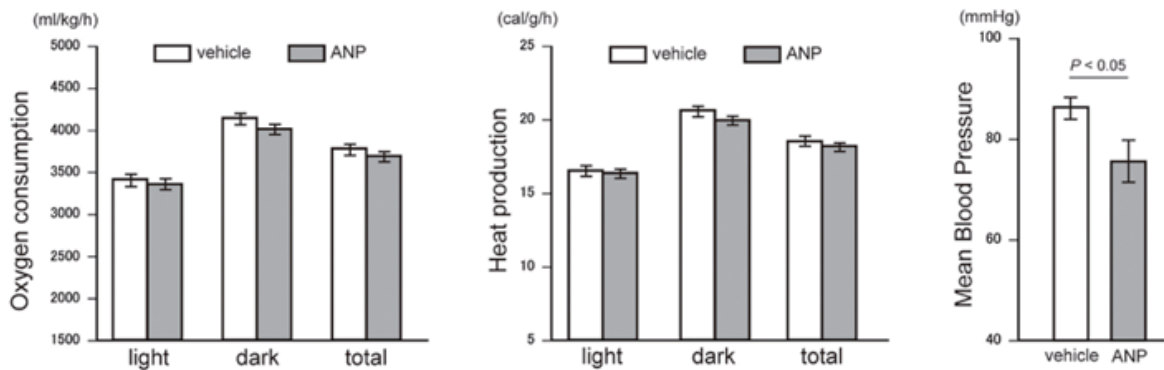
## 結 果

### 1) 短期間のANP投与が代謝に及ぼす影響に関する検討

申請書に記載したように、まず野生型マウス (C57BL/J) に浸透圧ポンプでANPを短期間投与することにより、酸素消費量・熱産生量・血圧が変化するか否か検討した。今回は10終齢オスC57BL/Jマウスに、頸静脈カテーテルを装着した浸透圧ポンプを用いてラットANPを0.2  $\mu$ g/kg/minで投与し、vehicle群には生食を投与した。投与開始7日後より、マウスを小動物総合モニタリングシステム内で飼育して5日間データを採取した。結果を次の図1に示す。

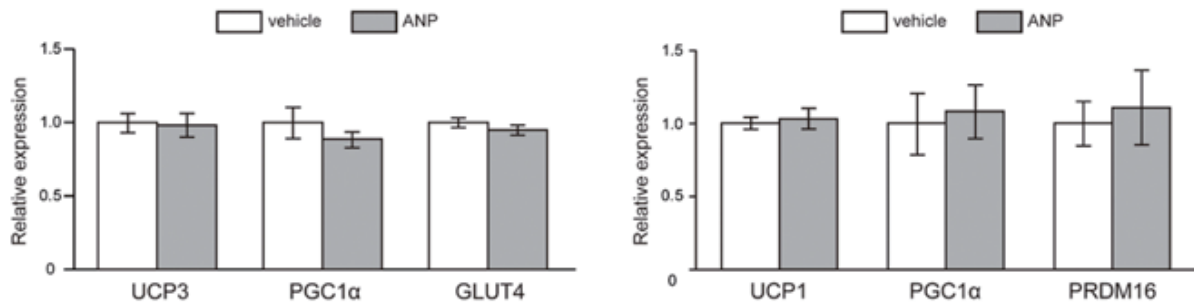
Oxygen consumption (酸素消費量)・Heat production (熱産生量) は、明期 (light) と暗期 (dark)、および全期間の平均 (total) に分けて算出したが、vehicle群とANP群に統計学的有意差は認めなかった。一方血圧はモニタリング終了後にtail-cuff法で測定したが、平均血圧はANP群で有意に低下していた。

図1: 野生型マウスにANPを浸透圧ポンプで投与した際の代謝・血圧データ



次に血圧測定を終えたマウスから骨格筋・褐色脂肪組織を採取し、RNAを抽出してcDNA合成を行い、代謝関連遺伝子発現検討を定量PCRにて行った。結果を下の図2に示すが、骨格筋におけるUCP3・PGC1 $\alpha$ ・GLUT4および褐色脂肪組織におけるUCP1・PGC1 $\alpha$ ・PRDM16の発現レベルに、vehicle群とANP群間で統計学的有意差は認めなかった。

図2: 野生型マウスにANPを浸透圧ポンプで投与した際のmRNA発現データ



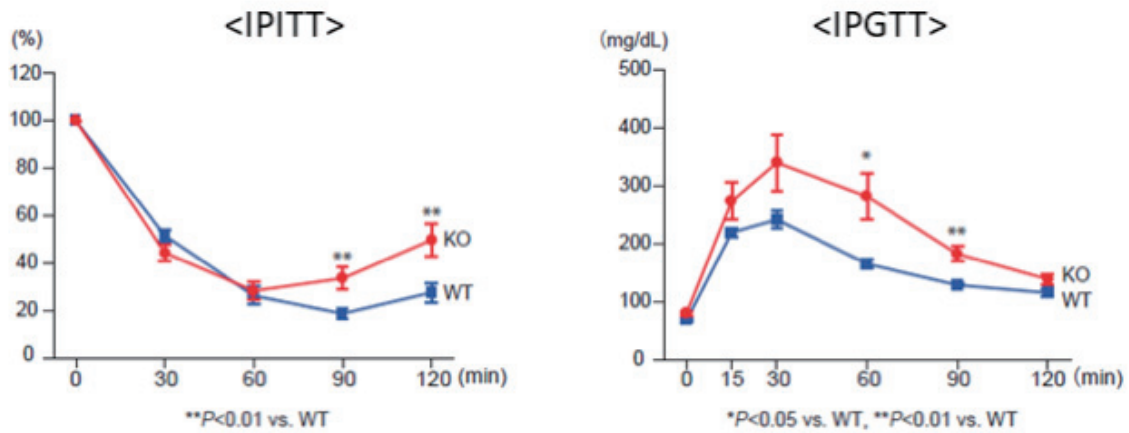
以上の結果は、健常マウスに短期間ANPを投与すると血圧は下がるが、代謝への影響はほとんど無いことを示唆する。

## 2) GC-A欠損マウスを用いた検討

我々は予備検討で、野生型マウス (WT) に比べ、GC-A完全欠損マウス (KO) では酸素消費量・熱産生量が優位に低下していることを見出した。このことは慢性的な内因性ANP・BNPの作用消失が代謝機能の低下をもたらすことを示唆する。そこで我々は追加検討として普通食投与下における耐糖能評価 (IPITT・IPGTT) を行い、結果をWTとGC-A-KO間で比較検討した。次の図3に結果を示す。

図3に示すように、KOではIPITT・IPGTTのいずれにおいても、WTと比較して耐糖能異常を認めた。

図3：WT・GC-A欠損マウスの普通食投与下における耐糖能評価データ

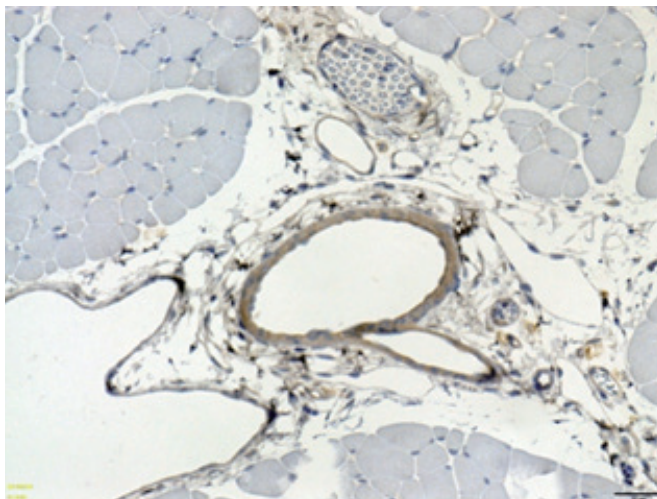


では生体内のどの細胞・組織におけるGC-Aシグナルの消失が、KOマウスにおける代謝機能低下という表現型に強く寄与しているのだろうか？

近年米国のCollinsらは、ANP・BNPが脂肪細胞に作用して熱産生関連遺伝子の発現を増加させることを報告した (*J. Clin. Invest*, 2012)。

我々の検討でもGC-Aは脂肪組織に豊富に発現しており、マウス脂肪細胞をANPで刺激すると濃度依存性にANPのsecond messengerが増加したことから、脂肪細胞におけるGC-Aシグナルの消失がKOマウスにおける代謝機能低下の一因であることは十分考えられる。一方で我々は以前KOマウスにおいては、WTマウスに比べ優位に骨格筋血流が低下していること、今回ラット骨格筋組織においてGC-Aが血管、特に血管内皮に豊富に発現していることを見出した(ラット骨格筋GC-A免疫組織染色データを下図4に示す)。

図4：ラット骨格筋におけるGC-Aの免疫組織染色

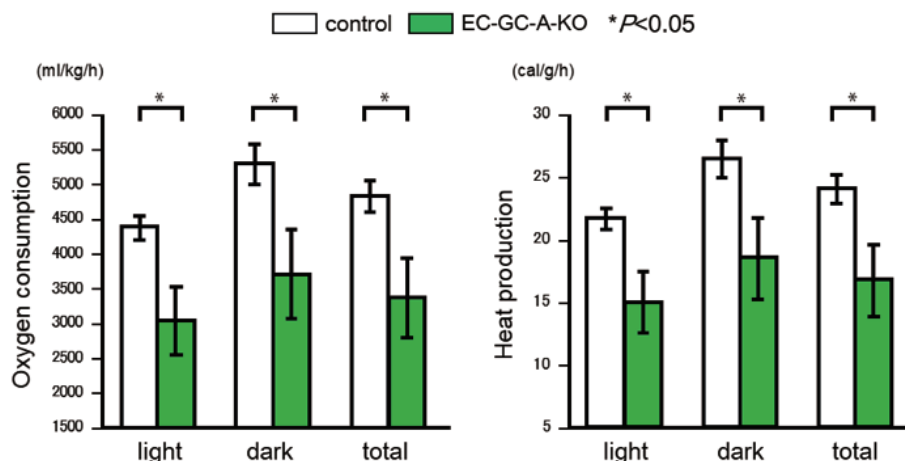


骨格筋血流低下は、骨格筋におけるインスリン分布低下を招き、細胞内糖取り込み低下・インスリン抵抗性の原因となることは容易に想像できる。実際、血管拡張因子であるNitric Oxideの産生酵素であるNOS3の欠損マウスは、インスリン抵抗性・酸素消費量低下を示すことが報告されている (*Circulation*, 2001 *Diabetes*, 2007)。

そこで次に我々は血管内皮特異的GC-A欠損マウスにおける酸素消費量・熱産生量を測定し、対照マウスとの間で比較検討を行った。次の図5に結果を示す。

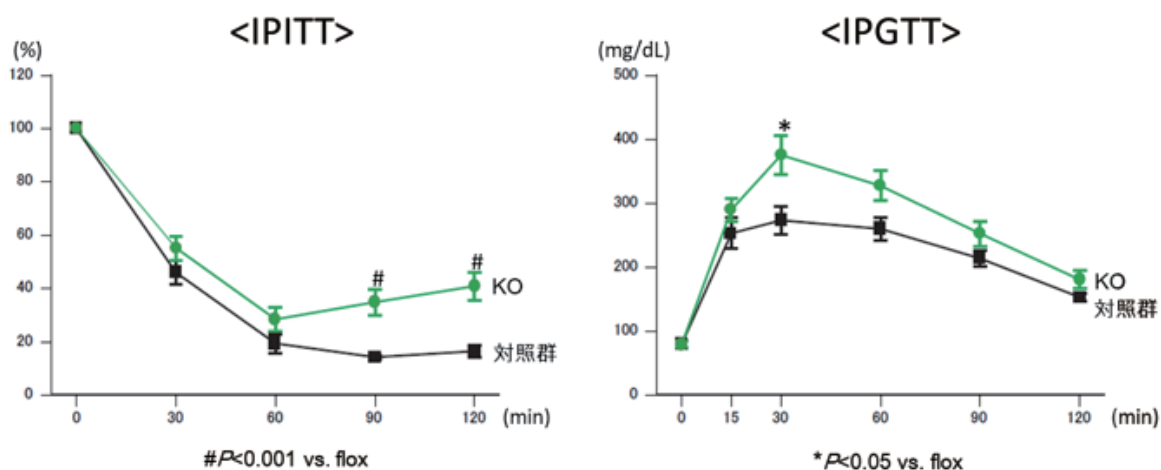
この結果は、血管内皮GC-Aシグナル欠損が、GC-A完全欠損マウスにおける代謝機能低下に寄与していることを示唆する。

図5：対照マウス・血管内皮特異的GC-A欠損マウスの代謝データ



さらに我々は内皮特異的GC-A欠損マウスにおいても、耐糖能評価(IPITT・IPGTT)を行い、結果を対照群との間で比較検討した。以下の図6に結果を示す。

図6：対照マウス・血管内皮特異的GC-A欠損マウスの耐糖能評価データ



上図6に示すように、KOではIPITT・IPGTTのいずれにおいても対照群と比較して耐糖能異常を認めた。この結果は、GC-A完全欠損マウスの耐糖能異常が、内皮GC-Aの欠損によってもたらされることを示す。

## 考 察

昨今、ANP・BNPの代謝に及ぼす影響が注目されており、関連論文が発表されているが、その多くはANP・BNPの脂肪細胞に及ぼす影響に焦点を当てている。我々の検討でも脂肪組織・褐色脂肪組織とも、ANP・BNPの共通受容体であるGC-Aは豊富に発現しており、脂肪組織GC-Aシグナルが個体の代謝に何らかの影響を及ぼす可能性は十分考えられる。しかしながら、健常野生型オスマウスにANPを投与しても、個体としての代謝機能・褐色脂

肪組織における代謝関連遺伝子発現レベルに変化は認めなかった。ANP・BNPの血中濃度は心不全で顕著に増加することから、心不全病態においてはANPが個体の代謝に影響を及ぼす可能性は考えられる。この点は今後検討する必要がある。

一方、GC-A完全欠損マウスでは内因性ANP・BNPの作用が慢性的に欠如しており、これまでに高血圧・心肥大等を呈することが明らかにされた。我々は先行研究でGC-A完全欠損マウスが肥満傾向を呈すること、酸素消費量・熱産生量が野生型マウスに比べ優位に低下していることを見出した。今回の検討で、軽度の耐糖能障害も有することが明らかになった。これらの研究結果は、長期的に内因性ANP・BNPの作用が欠損することが代謝機能低下を来すことを示す。さらに我々はANP・BNPの本質的な生理作用が血管拡張作用を介した臓器血流維持にあること、ANP・BNPの共通受容体であるGC-Aが血管内皮に豊富に発現していることに注目し、血管内皮特異的GC-A欠損マウスの代謝機能解析を行った。その結果、血管内皮特異的GC-A欠損マウスではGC-A完全欠損マウスと同様に酸素消費量・熱産生量といった代謝指標が対照マウスに比べ優位に低下していること、さらに軽度の耐糖能異常を認めることを見出した。この結果は、長期的な血管内皮GC-Aシグナル欠損が、個体の代謝機能低下をもたらすことを示す。

## 要 約

心臓ホルモン (ANP・BNP) の特異性を応用した生活習慣病の画期的治療法開発を目指した研究を行った。短期間ANPを健常野生型マウスに投与しても、代謝パラメータは著変しなかったが、血管内皮特異的にANP・BNPの共通受容体を欠損させたマウスでは、普通食投与下でも酸素消費量・熱産生量低下、耐糖能低下を認めた。血管内皮GC-Aの長期的な活性化は、生活習慣病の治療標的として有望であると考えられる。

## 文 献

1. Otani K, **Tokudome T\***, Kamiya CA, Mao Y, Nishimura H, Hasegawa T, Arai Y, Kaneko M, Shioi G, Ishida J, Fukamizu A, Osaki T, Nagai-Okatani C, Minamino N, Ensho T, Hino J, Murata S, Takegami M, Nishimura K, Kishimoto I, Miyazato M, Harada-Shiba M, Yoshimatsu J, Nakao K, Ikeda T, Kangawa K. Deficiency of cardiac natriuretic peptide signaling promotes peripartum cardiomyopathy-like remodeling in the mouse heart. *Circulation*. 141 (7) :571-588; 2020. (Otani and Tokudome are co-first author) .

## 謝 辞

本研究の実施に際し、研究助成を頂きました公益財団法人大和証券ヘルス財団に深く感謝致します。