

学位論文要旨

アディポサイトカイン chemerin による中枢制御を介した高血圧症
の新たな病態機序解明

Elucidation of a novel pathological mechanism of hypertension
through a central nervous control by adipocytokine chemerin

北里大学大学院獣医学系研究科

獣医学専攻 博士課程

山本 篤範

Atsunori YAMAMOTO

指導教授 山脇 英之

脳内には心拍出量や血管収縮の調節を介して血圧を制御する心血管運動中枢が存在する。解剖学的に心血管運動中枢は延髄吻側腹外側野に存在し、全身血圧制御に重要な他の神経核として脳弓下器官、終板器官及び視床下部室傍核(paraventricular nucleus: PVN)などがある。近年、中枢性血圧制御と高血圧症の関連が注目されている。Chemerinはchemokine-like receptor 1 (CMKLR1)を介して炎症性反応等に関与するアディポサイトカインである。当研究室はchemerinが末梢の血管平滑筋細胞における増殖・遊走能の亢進と収縮の増強を介してマウスにおいて昇圧作用を示すことを明らかにした。しかしながら、脳内のchemerin/CMKLR1が全身血圧に及ぼす影響は全く検討されていない。本研究は脳内におけるchemerin/CMKLR1がラット全身血圧と高血圧症の病態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

1. ヒト chemerin-9 急性脳室内投与が全身血圧に及ぼす影響とメカニズム

近年、ヒト全長 chemerin (chemerin157S)がラット視床下部において摂食に関する遺伝子発現を調節するなど、chemerin の中枢における役割がいくつか報告されている。当研究室はこれまでマウス全長 chemerin (chemerin156S)の末梢投与がマウスの全身血圧を上昇させることを明らかにした。第一章では、ヒト全長 chemerin の活性断片であるヒト chemerin-9 (chemerin157S の C 末端側 9 個のアミノ酸からなるペプチド)の急性脳室内投与が全身血圧に及ぼす影響とメカニズムを検討した。正常血圧の Wistar ラットに CMKLR1 small interfering RNA (siRNA)または control (Cont) siRNA の脳室内投与を行い、3 日後にヒト chemerin-9 を急性脳室内投与し、観血的に全身

血圧を測定した。Cont siRNA 投与ラットにおいてヒト chemerin-9 急性脳室内投与により平均血圧の有意な上昇が確認されたが、CMKLR1 siRNA はこれを抑制した。さらに CMKLR siRNA は PVN における CMKLR1 タンパク質発現を抑制した。また、Cont siRNA 投与ラットにおいてヒト chemerin-9 急性脳室内投与は交感神経活性の指標である血清中 adrenaline 濃度を上昇させたが、CMKLR1 siRNA はこれを抑制した。最後に α_1 adrenaline 受容体遮断薬である prazosin の静脈内投与はヒト chemerin-9 急性脳室内投与による昇圧作用を抑制することを確認した。以上の結果から、ヒト chemerin-9 は Wistar ラットの PVN において CMKLR1 を介して交感神経を活性化することで昇圧作用を示すことが初めて明らかになった (*Pflugers Arch.* 2020)。

2. Chemerin C 末端断片の急性脳室内投与が全身血圧に及ぼす影響

Chemerin は非活性型の prochemerin として分泌され、C 末端が切断されることで活性型 chemerin となる。さらに、切断される部位によって活性が異なることが *in vitro* (遊走能やカルシウム動態で評価)で明らかにされている。しかしながら、chemerin 切断産物の生体内での活性は全く検討されていない。第二章では、chemerin C 末端断片の急性脳室内投与が全身血圧に及ぼす影響を検討した。最初にラット chemerin-9 (ラット chemerin157S の C 末端側 9 個のアミノ酸からなるペプチド)の急性脳室内投与を行い、観血的に全身血圧を測定したが、平均血圧に影響を及ぼさなかった。次にマウス chemerin-9 (マウス chemerin156S の C 末端側 9 個のアミノ酸からなるペプチド)の急性脳室内投与を行ったところ、2-4 分後をピークとして平均血圧を有意に上昇させた。一方、マウス chemerin-8 及び-7 (マウス

chemerin-9 の C 末端側のアミノ酸を 1 つまたは 2 つ削ったペプチド) の急性脳室内投与は平均血圧に影響を及ぼさなかった。以上より、chemerin は C 末端の切断部位により全身血圧に及ぼす影響が異なることが初めて明らかになった。また、マウス chemerin-9 の急性脳室内投与による昇圧作用は、ヒト chemerin による昇圧作用より小さいものであった。よって chemerin 断片の活性には種差があり、N 末端のアミノ酸配列 (Y¹⁴⁹F¹⁵⁰ in ヒト chemerin-9 vs. F¹⁴⁸L¹⁴⁹ in マウス chemerin-9 vs. F¹⁴⁹F¹⁵⁰ in ラット chemerin-9) も活性に重要であることが示唆された (*J. Vet. Med Sci.* 2022)。

3. 本態性高血圧症モデルラットの脳内における chemerin/CMKLR1 が全身血圧に及ぼす影響

Spontaneously hypertensive rat (SHR) は高血圧症に関する研究で頻繁に使用される本態性高血圧症の実験モデルである。第一章において、正常血圧の Wistar ラットにおいてヒト chemerin-9 の急性脳室内投与は全身血圧を上昇させることを明らかにしたが、本態性高血圧症モデルラット脳内の chemerin/CMKLR1 が全身血圧に及ぼす影響は全く検討されていない。そこで第三章では、SHR の脳内における chemerin/CMKLR1 が全身血圧に及ぼす影響を検討した。最初に CMKLR1 siRNA を脳室内投与し、3 日間収縮期血圧及び心拍数を非観血的に測定した。CMKLR1 siRNA 投与により SHR の収縮期血圧は Cont siRNA 投与と比較して有意に低下したが (1-3 日間)、心拍数は変化しなかった。さらに、SHR の PVN における CMKLR1 タンパク質発現は WKY と比較して亢進しており、CMKLR1 siRNA はこれを抑制した。最後に脳室周囲、PVN、血漿、脂肪組織及び脳脊髄液中の chemerin タンパク質発現を検討したが、SHR と WKY の間で差は

なかった。以上より、SHRのPVNにおけるCMKLR1タンパク質発現の亢進が全身血圧の上昇に関与することが初めて明らかになった (*Int. J. Mol. Sci.* 2021)。

本研究は、中枢において chemerin は PVN に発現する CMKLR1 に作用し交感神経活性の亢進を介して全身血圧を上昇させ、本態性高血圧症の病態にも少なくとも部分的には関与するという新たな機構を提示した。今後、さらに中枢性血圧制御機構に着目して詳細なメカニズム解明を行うことで、脳内の chemerin/CMKLR1 を標的とした高血圧症の新規治療薬の開発に繋がることが期待される。