

**Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—
研究成果報告書(最終) <概要>**

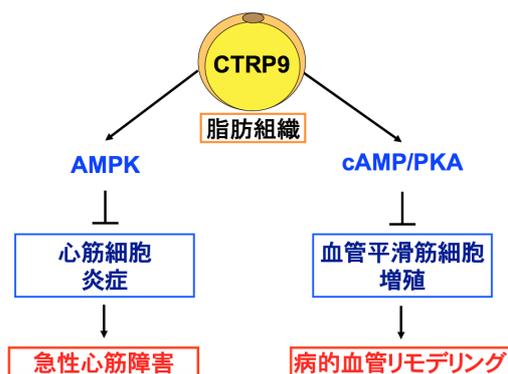
所 属	名古屋大学 循環器内科
氏 名	柴田 玲
研究テーマ	新規アディポサイトカイン「CTRP9」による血管病制御機構の解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

研究目的) 脂肪組織はアディポネクチンをはじめとする数多くのアディポサイトカインを分泌する内分泌臓器として知られている。申請者は、アディポネクチンの心血管病保護作用に関して検討してきた (*Nat Med.* 2004, *Nat Med.* 2005, *JCI.* 2007, *Hypertension.* 2010, *JBC.* 2011, *JAHA.* 2013 等)。同時に機能未知であるアディポサイトカインの同定と機能解析に関わる探索を行うなかで、マウス脂肪組織に高発現している C1q/TNF-related protein (CTRP)9 に着目した。CTRP9 はアディポネクチンパラログの一つであり、肥満状態で低下することが知られている。しかしながら、CTRP9 の心血管病に対する作用についてはほとんど知られていない。本研究では、CTRP9 に着目し、動脈硬化などの心血管病における意義を明らかとすることとした。

研究手法) (1) マウスワイヤー血管障害モデルを作成し、新生内膜増殖に対する CTRP9 の役割を検討。(2) マウス敗血症モデルを作成して炎症性サイトカインや心機能に対する影響を検討。(3) CTRP9 遺伝子欠損マウスを作成し心血管病への影響を検討。

研究成果) (1) CTRP9 の血管傷害後の新生内膜増殖に対する影響。 アデノウイルスを用いた CTRP9 の全身投与は、マウス血管傷害後の平滑筋細胞増殖抑制作用や内皮細胞脱落後の修復促進作用を示した。その結果、CTRP9 は、血管再狭窄の原因である内膜肥厚を有意に抑制した。培養平滑筋細胞を用いた検討では、CTRP9 の添加が、増殖因子刺激に伴う平滑筋細胞の増殖や ERK のリン酸化を抑制した。また、CTRP9 は用量依存性に平滑筋細胞における cAMP の産生を促進した。cAMP 阻害剤や PKA 阻害剤による前処置は、CTRP9 による平滑筋細胞増殖抑制作用やリン酸化 ERK の活性抑制作用を解除した。また、アディポネクチン遺伝子欠損マウスでも、CTRP9 は、血管傷害後の内膜肥厚を抑制した (*FASEB J.* 2013)。(2) 敗血症モデルにおける CTRP9 の炎症性サイトカインや心機能に対する影響。 LPS 投与 6 時間後の心エコーによる心機能評価にて、CTRP9 の投与が LPS で見られる心機能低下を改善した。また、LPS 投与後の心筋組織では TNF- α や IL-6 等の炎症性サイトカインの発現増強を減弱させた。培養心筋細胞を用いた検討では、LPS 刺激に伴う TNF- α や IL-6 の増加は、CTRP9 添加によって抑制された。また、CTRP9 の添加により、心筋細胞における AMPK のリン酸化が認められ、CTRP9 の炎症性サイトカイン抑制効果はドミナントネガティブ AMPK 処理にて解除された(投稿準備中)。(3) CTRP9 遺伝子欠損マウスの作成と心血管病への影響。 申請者は、CTRP9 遺伝子欠損 (CTRP9 KO) マウスを作製し得た。CTRP9 KO マウスのベースラインでの体重/血圧/心重量/空腹時血糖など、同週齢の野生型マウスと比較して差は認められなかった。CTRP9 KO マウスを用いた予備実験として、CTRP9 KO マウスに対して心筋虚血再灌流傷害と LPS 投与を行った。CTRP9 KO マウスでは、野生型マウスと比較して、心筋梗塞サイズが有為に増大、TNF- α や IL-6 等の炎症性サイトカインが有為に増加していた。また、LPS 投与で見られる心機能低下が増悪していた(投稿準備中)。以上の結果から、CTRP9 は、心血管病に保護的作用を有している可能性が高いことが示唆された(図)。今後、本研究にて作成し得た CTRP9 遺伝子欠損マウスでの更なる機能解析が継続され、CTRP9 の心血管系での発現作用調節機構が明らかになれば、肥満やそれに伴う循環器疾患の包括的理解と治療法の開発につながるものと考えられる。



**Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—
研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>**

所	属	名古屋大学 循環器内科
氏	名	柴田 玲

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Enomoto T, Uemura Y, Ogura Y, Yuasa D, Matsuo K, Nagata T, Oba T, Yasukawa H, Numaguchi Y, Sone T, Murohara T and Ouchi N. Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMPK- and Akt-dependent mechanisms. <i>J Am Coll Cardiol</i> . 2014 (Corresponding author) (査読有り) in press.
2	Tanigawa T, Shibata R, Ouchi N, Kondo K, Ishii M, Katahira N, Kambara T, Inoue Y, Takahashi R, Ikeda N, Kihara S, Ueda H and Murohara T. Adiponectin deficiency exacerbates age-related hearing impairment. <i>Cell Death Dis</i> . 2014;5:e1189 (Corresponding author) (査読有り).
3	Ohashi K, Shibata R, Murohara T and Ouchi N. Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. <i>Trends Endocrinol Metab</i> . 2014; (Corresponding author) (査読有り) in press.
4	Shimizu Y, Shibata R, Ishii M, Ohashi K, Kambara T, Uemura Y, Yuasa D, Kataoka Y, Kihara S, Murohara T and Ouchi N. Adiponectin-mediated modulation of lymphatic vessel formation and lymphedema. <i>J Am Heart Assoc</i> . 2013;2:e000438(Corresponding author) (査読有り).
5	Uemura Y, Shibata R, Ohashi K, Enomoto T, Kambara T, Yamamoto T, Ogura Y, Yuasa D, Joki Y, Matsuo K, Miyabe M, Kataoka Y, Murohara T and Ouchi N. Adipose-derived factor CTRP9 attenuates vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal formation. <i>FASEB J</i> . 2013;27:25-33(Corresponding author) (査読有り).
6	Kito T, Shibata R, Ishii M, Suzuki H, Himeno T, Kataoka Y, Yamamura Y, Yamamoto T, Nishio N, Ito S, Numaguchi Y, Tanigawa T, Yamashita JK, Ouchi N, Honda H, Isobe K and Murohara T. iPS cell sheets created by a novel magnetite tissue engineering method for reparative angiogenesis. <i>Sci Rep</i> . 2013;3:1418(Corresponding author) (査読有り).
7	Miyabe M, Ohashi K, Shibata R, Uemura Y, Ogura Y, Yuasa D, Kambara T, Kataoka Y, Yamamoto T, Matsuo K, Joki Y, Enomoto T, Hayakawa S, Hiramatsu-Ito M, Ito M, Van Den Hoff MJ, Walsh K, Murohara T and Ouchi N. Muscle-derived follistatin-like 1 functions to reduce neointimal formation after vascular injury. <i>Cardiovasc Res</i> . 2014; (査読有り). In press
8	Ohashi K, Enomoto T, Joki Y, Shibata R, Ogura Y, Kataoka Y, Shimizu Y, Kambara T, Uemura Y, Yuasa D, Matsuo K, Hayakawa S, Hiramatsu-Ito M, Murohara T and Ouchi N. Neuron-derived neurotrophic factor functions as a novel modulator that enhances endothelial cell function and revascularization processes. <i>J Biol Chem</i> . 2014 ; (査読有り). in press
9	Yamamoto T, Shibata R, Ishii M, Kanemura N, Kito T, Suzuki H, Miyake H, Maeda K, Tanigawa T, Ouchi N and Murohara T. Therapeutic reendothelialization by induced pluripotent stem cells after vascular injury--brief report. <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i> . 2013;33:2218-21 (Corresponding author) (査読有り).
10	Cheng XW, Kikuchi R, Ishii H, Yoshikawa D, Hu L, Takahashi R, Shibata R, Ikeda N, Kuzuya M, Okumura K and Murohara T. Circulating cathepsin K as a potential novel biomarker of coronary artery disease. <i>Atherosclerosis</i> . 2013;228:211-6 (査読有り).

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2014年6月	第14回日本抗加齢医学会総会、柴田玲、炎症と再生におけるアディポサイトカインの役割(シンポジウム)。
2	2014年3月	第13回日本再生医療学会総会、柴田玲、幹細胞を用いた心血管病治療法の開発(シンポジウム)。
3	2013年11月	第17回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、柴田玲、アディポサイトカインによる心血管リモデリング制御機構の解明と治療への応用に関する研究(高峰譲吉研究奨励賞)。
4	2013年9月	第21回日本血管生物医学会学術集会、柴田玲、iPS細胞を用いた血管病治療法の開発(シンポジウム)。
	2012年9月	第35回日本高血圧学会総会、柴田玲、血管障害とアンチエイジング(シンポジウム)。
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2014年11月	The Scientific Sessions of American Heart Association, Kanbara and Shibata, C1q/TNF-related protein 9 modulates acute myocardial injury, Chicago, USA.
2		
3		
4		