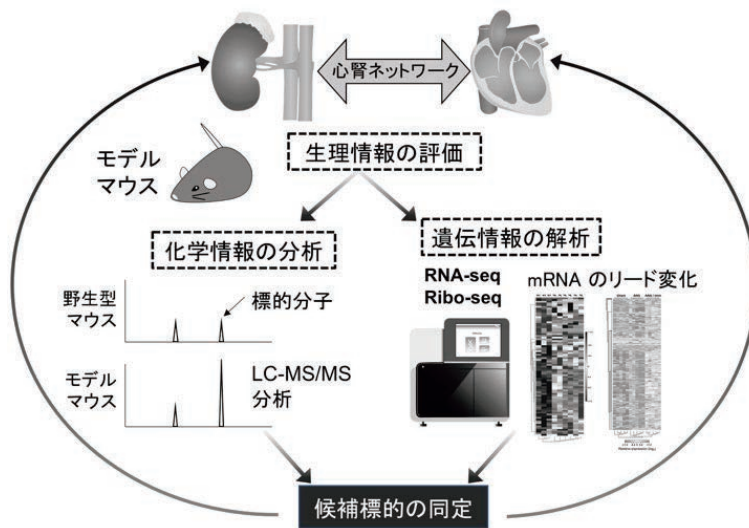


代謝ダイナミクス

「遺伝情報から読み解く心腎機能」

心臓・血管・腎臓の臓器間ネットワークには、細胞に信号を伝達する「化学情報」として、ホルモンや代謝物質などが働いている。例えば、昇圧ホルモン・アンジオテンシン II、アミン類（カテコールアミン等）、メチルアミノ酸誘導体、一酸化窒素（NO）や活性酸素種（ROS）などは生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。2019年度に我々は、心臓と腎臓の機能低下が相互に影響を及ぼす高血圧誘導性の心腎連関の改善にヒスタミン受容体に対するアゴニストが有効であることなど、新しいモデルマウスの作製・解析から得られる「生理情報」の変動の意義について、変化する心臓・腎臓の「遺伝情報」を定量的に解析することで明らかにしてきた。

The cardiovascular (heart and kidney) interorgan network contains chemical information that transmits signals to cells, and such as hormones and metabolic and other substances are acting to regulate the homeostasis of our body. For example, angiotensin II, amines (e.g., catecholamines), methyl amino acid derivatives, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) are used to maintain biological homeostasis. In 2019, we have found that an agonist for a histamine receptor is effective in improving the hypertension-induced cardiorenal damages and revealed the significance of the changes in physiological information obtained from new mouse models by a combination of quantitative and comprehensive analyses of genetic information.



心腎ネットワーク研究のコンセプト



2019年度 深水研究室集合写真

プロジェクトメンバー

教授
深水 昭吉

講師・助教
石田 純治
大徳 浩照
金 俊達
加香 孝一郎 (生命環境系)

生命環境科学研究科
博士後期課程

権 哲源
安藝 杏梨
藤高 啓右
矢野 秀法
齊藤 航
岡村 浩
陸 偉哲 (HBP)

博士前期課程

中島 実咲
中原 大輔
田原 早央莉
林 岳宏
霍 思全
室町 直人 (フロンティア医科学)

生物資源学類

岸川 奈那
染谷 百香
中村 夏奈子
春木 陽香理
森 遙佳
姚 遠 (G30)
談 韋倫 (G30)
張 文瑜 (Japan Expert)

秘書
飯島 美穂
川崎 結子

研究概要

【心腎不全モデルマウスの遺伝情報解析による抗炎症作用の同定】

心不全などの心血管疾患や、慢性腎臓病による腎不全は主要な死因の一つである。「心腎連関」(図1)は、心臓血管病患者では高率に腎機能障害を併発し、心臓血管病患者にとって慢性腎臓病併発が最も強力な予後不良因子であることが疫学的に認められたことや、慢性腎臓病患者は心不全に代表される心臓血管病を高率に合併することなど、心臓血管病と腎臓病は密接に関与して相互に影響しあうことから認識された概念である。治療へのアプローチや心腎病態

のメカニズムを理解する要素として、レニン-アンジオテンシン系、交感神経系、酸化ストレスや炎症などが挙げられているが、有用な病態モデル動物の開発や創薬標的の検証が進展していなかったため、心腎連関の根底にある分子の仕組みは明らかになっていなかった。

心不全の患者3人のうち1人に中等度以上の腎機能の低下が生じ、さらに、急性心不全で入院・治療を受けた患者の2~3割が急性腎障害を起こしている。このように“心腎連関症候群”の臨床的知見が蓄積され、心臓病と腎臓病の個別研究から臓器間ネットワーク研究へと展開する機が熟している中、本研究では、アンジオテンシン II (血圧上昇ホルモン) 投与 (A)、片腎摘出 (N)、食塩水負荷 (S) によって心機能低下や心肥大といった心不全を呈するマウス (ANS マウス) について、腎臓の機能変化を詳細に解析した。その結果、ANS マウスには心不全に加え、腎尿細管障害や糸球体の構造異常が認められ、タンパク尿を伴う慢性腎臓病の所見を示したことから、ANS マウスが心腎連関病態を解析する上で有用なモデルであることを明らかにした。

次いで、ANS マウスの血中成分を質量分析で解析したところ、有意な増加を示した低分子アミンとしてヒスタミンを同定した。ヒスタミンはアレルギーや炎症反応に関与することで知られているが、心腎連関での役割は未解明である。そこで、ANS マウスへのヒスタミン受容体の阻害剤投与や、遺伝的にヒスタミンを合成できないノックアウトマウスを利用してANSモデルを作出したところ、心腎病態が悪化することが判明した。一方で、ヒスタミン H3 受容体のアゴニスト (Imm) の投与で心臓と腎臓の病態が改善したことから、Imm がANS マウスの心臓と腎臓の機能障害に保護的に作用することを見出した。

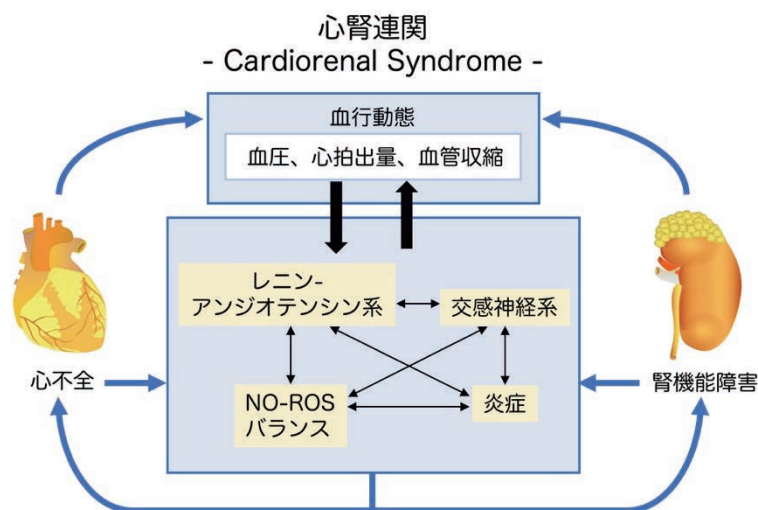


図1 心腎連関の概念図

さらに、次世代シーケンサーを用いた腎臓の網羅的遺伝情報解析から、ANS マウスで炎症関連遺伝子群の発現亢進を認め、実際に ANS マウスの血液中で炎症マーカータンパク質が増加していることを確認した。それらは Imm で抑制されたことから、Imm は ANS マウスに対して抗炎症作用を発揮することが明らかになった。ANS マウスと Imm を用いた本研究の結果は、心腎関連仲介因子としてのヒスタミンの役割や、Imm の抗炎症作用による心腎病態改善の可能性を示している。

本研究の成果について、認知機能障害やてんかん発作を標的として開発されたヒスタミン受容体のアゴニストに心腎関連の病態を改善するポテンシャルがあり、ドラッグリポジショニングへの発展の可能性を示した点が評価され、掲載雑誌 (Pro. Natl. Acad. Sci. USA) の COMMENTARY (117, 5550-5552, 2020) に取り上げられ論評された。

【受容体間の機能的相互作用による血管収縮機構の解明】

血圧の維持には、血管平滑筋細胞と血管内皮細胞による血管の収縮と弛緩の調節が重要である。本研究グループは、血管組織の平滑筋細胞と内皮細胞の両者に発現するホルモン受容体 APJ について、APJ が一酸化窒素の産生を介して血管を弛緩することを明らかにしてきた。一方で、APJ は血管を収縮させることが示唆されていたが、その作用の詳細については、不明な点が多く残されていた。

本研究では、血管平滑筋細胞にて APJ 遺伝子を過剰発現するマウス (SMA-APJ マウス) を作製し、血管の収縮機能を解析したところ、APJ リガンドであるアペリン (ペプチド) の刺激によって SMA-APJ マウスの血圧が上昇した。さらに、SPring-8 での *in vivo* (生体内) 血管イメージング解析から、アペリン刺激が SMA-APJ の血管を収縮させることを明らかとした。次いで、SMA-APJ マウスからの単離血管を用いた解析によって、APJ は $\alpha 1A$ アドレナリン受容体との同時刺激で、血管を強力に収縮すること、また、APJ と $\alpha 1A$ アドレナリン受容体がヘテロダイマーを形成することを見出した。

これまで知られていなかった APJ と $\alpha 1A$ アドレナリン受容体による血管平滑筋の収縮機構を明らかにし、ホルモン受容体 APJ による血管収縮には、 $\alpha 1A$ アドレナリン受容体との機能的な協調作用が重要であることを示した (図 2)。

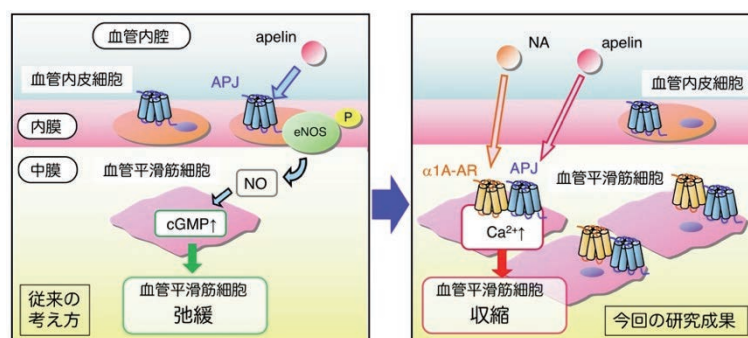
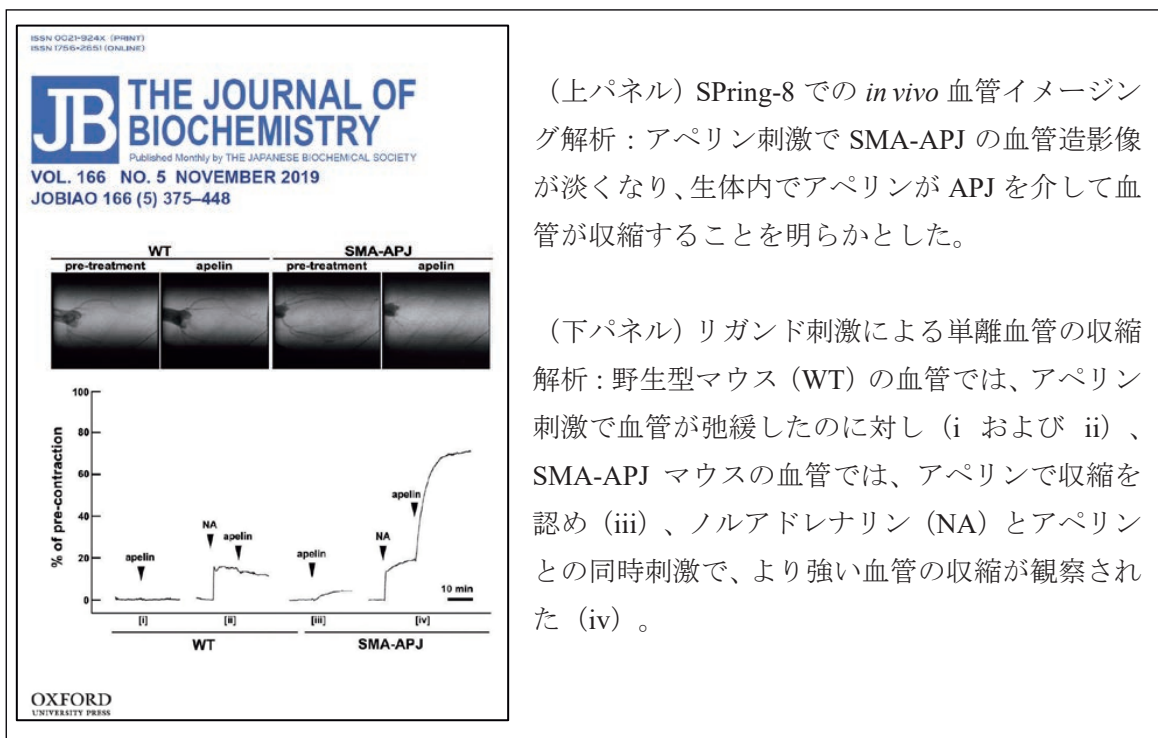


図 2 受容体間相互作用による血管収縮

血管の収縮や狭窄の新しい仕組みを提唱する本論文の重要な図が、The Journal of Biochemistry の掲載号の表紙（下図）に採用された。



（上パネル）SPring-8 での *in vivo* 血管イメージング解析：アペリン刺激で SMA-APJ の血管造影像が淡くなり、生体内でアペリンが APJ を介して血管が収縮することを明らかとした。

（下パネル）リガンド刺激による単離血管の収縮解析：野生型マウス（WT）の血管では、アペリン刺激で血管が弛緩したのに対し（i および ii）、SMA-APJ マウスの血管では、アペリンで収縮を認め（iii）、ノルアドレナリン（NA）とアペリンとの同時刺激で、より強い血管の収縮が観察された（iv）。

【これからの展開】

化学情報・生理情報・遺伝情報の融合研究の開拓

心臓と腎臓は相互に生理機能をクロストークすることで恒常性維持に必須の役割を果たし、心腎病態の悪化は虚血性心疾患、脳梗塞や腎不全などの疾患リスクを高めるため、心腎連関の詳細な発症・制御機構の解明に向けて「心腎機能を連携システムとして捉える」ことが必要である。血管平滑筋の著しい収縮は、血管の狭窄の原因となり、虚血性心疾患や脳梗塞など、心血管疾患のリスクを高めるが、血管収縮の詳細な制御機構の解明は途上である。本研究で開発した SMA-APJ マウスは、正常な血管の収縮の制御の仕組みや、血管狭窄の発症メカニズムを探るための有用なモデル動物になると期待される。血管の内皮細胞と平滑筋細胞、また、心腎連関を含む組織間や臓器間の連携の研究は大きく発展する分野として注目されるが、生理学・薬理的・遺伝学的な解析に加え、遺伝子発現の全体像を把握するバイオインフォマティクスの情報とリンクさせながら「病態モデル動物の作製と評価」、「生理活性物質の分析探索」と「遺伝情報解析」を組合せる本研究のようなアプローチは、時空間的な病態進展機序の理解や治療法の開発のヒントとなる波及効果が期待できる。

近年、急速な少子高齢化が進む我が国にとって、高齢者の健康維持や疾病予防を実現す

る「健康寿命の延伸」は重要な課題である。昨年度に引き続き、加齢に伴い変化するメチル化の生理機能を理解するため、線虫の 246 個のメチル化酵素の siRNA ライブラリーの作製やノックダウン (KD) スクリーニングを行い、tRNA や rRNA のメチル化酵素を同定するなど、メチル化マシナリーと寿命延伸の関連性についても研究を進めている。マウスや線虫の動物モデルの作製と解析の視点から、老化や疾患の基本原理に関する化学情報、生理情報、遺伝情報から得られる智見を、横断的そして縦断的に深化、俯瞰して研究を進めることで、生体恒常性の基本原理の理解や、創薬・ドラッグリポジショニングへの応用に対して、今までにないヒントが得られるものと期待している。また、食品から摂取される栄養調節という側面からも新しい情報が提供できると考えている。今後も「代謝ダイナミクス」プロジェクトでは、線虫とマウスというモデル動物を活用しながら、生物の生存戦略の重要性を解き明かし、国民の健康維持に貢献していきたい。

(参考) 以上の研究は、2019 年度に筑波大学からプレスリリースされた。

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p202001280500.html>

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201910241400.html>

2019 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

M. Hashimoto, Y. Hirata, C. Yonekawa, K. Takeichi, A. Fukamizu, T. Nakagawa, and Y. Kizuka (2020)

Region-specific upregulation of HNK-1 glycan in the PRMT1-deficient brain. **Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.** 1864, 129509.

K. Noguchi, J. Ishida, J.D. Kim, N. Muromachi, H. Mizukami, W. Lu, T. Ishimaru, S. Kawasaki, S. Kaneko, J. Usui, K. Yamagata, and A. Fukamizu (2020)

Histamine receptor agonist alleviates severe cardiorenal damages by eliciting anti-inflammatory programming. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 117, 3150-3156.

K. Otani, T. Tokudome, C.A. Kamiya, Y. Mao, H. Nishimura, T. Hasegawa, Y. Arai, M. Kaneko, G. Shioi, J. Ishida, A. Fukamizu, T. Osaki, C. Nagai-Okatani, N. Minamino, T. Ensho, J. Hino, S. Murata, M. Takegami, K. Nishimura, I. Kishimoto, M. Miyazato, M. Harada-Shiba, J. Yoshimatsu, K. Nakao, T. Ikeda T, and K. Kangawa (2020)

Deficiency of cardiac natriuretic peptide signaling promotes peripartum cardiomyopathy-like remodeling in the mouse heart. **Circulation** 141, 571-588.

K. Nagano, C. Kwon, J. Ishida, T. Hashimoto, J.D. Kim, N. Kishikawa, M. Murao, K. Kimura, Y. Kasuya, S. Kimura, Y.C. Chen, H. Tsuchimochi, M. Shirai, J. Pearson, and A. Fukamizu (2019)
Cooperative action of APJ and α 1A-adrenergic receptor in vascular smooth muscle cells induces vasoconstriction. **J. Biochem.** 166, 383-392.

W. Lu, J.D. Kim, S. Tabara, C. Kwon, H. Mizukami, K. Kimura, and A. Fukamizu (2019)

The N-terminal sequence of murine PRMT5 variant 2 is required for Hsp70 interaction and CHIP ligase-mediated degradation. **Biochem. Biophys Res. Commun.** 514, 1185-1191.

H. Mizukami, J.D. Kim, S. Tabara, W. Lu, C. Kwon, M. Nakashima, and A. Fukamizu (2019)

KDM5D-mediated H3K4 demethylation is required for sexually dimorphic gene expression in mouse embryonic fibroblasts. **J. Biochem.** 165, 335-342.

総説

なし

学会発表等（国際学会*、招待講演**）

*、** 深水昭吉

“A Protein is Multilingual: New Metabolic Pathway of Phospholipid in the Brain”

2019 Gwanak Symposium IMBG Auditorium, Seoul National University (韓国) 2019年5月

*、** 深水昭吉

“Biochemical modification and protein functions linked to mitochondria: lysine acetylation and arginine methylation”

KSBMB International Conference ICC JEJU (韓国) 2019年6月

権哲源、中村夏奈子、田原早央莉、金俊達、石田純治、深水昭吉

“妊娠高血圧/ α 1A-AR-KO マウスの肥大心臓では、Hmgcs2 の発現が変化する”

2019年度日本生化学会関東支部例会 東京工業大学(神奈川) 2019年6月

林岳宏、大徳浩照、中島実咲、加香孝一郎、深水昭吉

“線虫ヒストンにおける新規ヒスチジンメチル基転移酵素の探索”

2019年度日本生化学会関東支部例会 東京工業大学(神奈川) 2019年6月

田原早央莉、金俊達、森遥佳、陸偉哲、深水昭吉

“PRMT8 が有するアルギニンメチル化活性の生物学的意義に関する研究”

2019年度日本生化学会関東支部例会 東京工業大学(神奈川) 2019年6月

野口和之、石田純治、室町直人、金俊達、加香孝一郎、山縣邦弘、深水昭吉

“心腎連関病態モデルマウスの確立と解析”

第62回 日本腎臓学会学術総会 名古屋国際会議場(愛知) 2019年6月

* Chulwon Kwon, Kanako Nakamura, Saori Tabara, Jun-Dal Kim, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu.

“The Role of α 1A-Adrenergic Receptor on Cardiac Function in Pregnancy-Associated Hypertensive Mice”

KMB2019. ICC JEJU(Korea) 2019年6月

加香孝一郎、石田純治、金俊達、室町直人、深水昭吉

“高血圧誘導性心不全モデルマウス(ANS マウス)におけるヒスタミンの定量”

第23回 活性アミンに関するワークショップ 学術総合センター(東京) 2019年8月

星川紗更、池本光志、有本光江、加香孝一郎、深水昭吉、繁森英幸

“アルツハイマー型認知症予防を指向したカフェオイルキナ酸の機能解明”

日本農芸化学会関東支部 2019年度大会 筑波大学(茨城) 2019年9月

福島寛乃、有本光江、加香孝一郎、深水昭吉、繁森英幸

“ブドウ種子由来ポリフェノールによるアミロイドポリペプチド凝集阻害”

日本農芸化学会関東支部 2019年度大会 筑波大学(茨城) 2019年9月

** 深水昭吉

“遺伝情報(転写-翻訳-代謝)から読み解く心腎連関モデルマウスからのアプローチ”

第一回健都国循研究所セミナー 国立開発法人国立循環器病研究センター(大阪) 2019年9月

深水昭吉

“生物種を超えたアルギニンメチル化酵素の機能的な重要性と多様性”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

権哲源、永野克将、金俊達、石田純治、深水昭吉

“血管平滑筋細胞のアペリン受容体が誘導する毛感攣縮の解析”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉

“ヒスタミン H3 受容体アゴニストの心腎病態での抗炎症遺伝子プログラミング”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

陸偉哲、金俊達、田原早央莉、権哲源、深水昭吉

“Hsp70/CHIPs による PRMT5 バリアン 2 の N 末端配列依存的な分解機構”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

石田純治、金俊達、霍思全、中島実咲、深水昭吉

“妊娠高血圧胎仔 FGR の遺伝子発現プロファイリング”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉

“ヒスタミン H3 受容体アゴニストの心腎病態での抗炎症遺伝子プログラミング”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

林岳宏、大徳浩照、中島実咲、田島達也、加香孝一郎、深水昭吉

“*In vivo* スクリーニング系による新規ヒスチジンメチル基転移酵素の探索”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

田原早央莉、金俊達、森遥佳、陸偉哲、深水昭吉

“PRMT8 が有する 2 つの酵素活性に対する特異的不活性マウスの作製と解析”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

権哲源、永野克将、金俊達、石田純治、深水昭吉

“血管平滑筋細胞のアペリン受容体が誘導する血管攣縮の解析”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜 (神奈川県) 2019 年 9 月

権哲源、中村 夏奈子、田原 早央莉、金 俊達、石田 純治、深水 昭吉

“妊娠高血圧モデルの肥大心を用いた網羅的遺伝子発現解析と $\alpha 1A$ -AR の役割の解明”

第 40 回日本妊娠高血圧学会学術集会 埼玉県県民健康センター (埼玉) 2019 年 9 月

野口 和之、石田 純治、山縣 邦弘、深水 昭吉

“H3 受容体アゴニストは抗炎症作用を介して心腎病態に保護的に作用する”

第 42 回日本高血圧学会総会 京王プラザホテル (東京) 2019 年 10 月

** 深水昭吉

“One protein with two activities, methyltransferase and lipase”

第 6 回 リトアニア-日本合同生命科学シンポジウム 帝京大学 霞が関キャンパス (東京)

2019年10月

権哲源、永野克将、岸川奈那、石田純治、金俊達、深水昭吉
“血管平滑筋細胞のアペリン受容体と $\alpha 1A$ 受容体による協調的な血管収縮メカニズムの解析”
第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 神戸国際会議場(神戸) 2019年12月

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉
“心腎連関病態に対するヒスタミン H3 アゴニストの保護的作用と遺伝子発現プロファイリング”
第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 神戸国際会議場(神戸) 2019年12月

加香孝一郎、石田純治、金俊達、室町直人、深水昭吉
“高血圧誘導性心腎病態モデルマウス(ANS マウス)におけるヒスタミンの分析”
第22回 日本ヒスタミン学会 広島大学(広島)2020年2月

受賞

権 哲源 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)
2019年度 日本生化学会関東支部例会 優秀発表賞

権 哲源 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)
第92回 日本生化学会大会 若手優秀発表賞

Wataru Yokoyama, Keiko Hirota, Huahua Wan, Naoaki Sumi, Mai Miyata, Sho Araoi, Naoto Nomura,
Koichiro Kako, Akiyoshi Fukamizu
“rRNA adenine methylation requires T07A9.8 gene as *rram-1* in *Caenorhabditis elegans*”
第27回日本生化学会 JB 論文賞

陸 偉哲 (ヒューマンバイオロジー学位プログラム)
第92回 日本生化学会大会 若手優秀発表賞

室町直人(人間総合科学研究科 フロンティア医科学専攻)
Tsukuba Conference 2019 Outstanding Poster Award

権哲源 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)
2019年度 茗溪会賞受賞

アウトリーチ

深水昭吉
米軍子弟教育高大連携プロジェクト STEMinars 2019 (令和元年9月10-11日)

深水昭吉

高大連携事業 大学講義体験「寿命：病気と遺伝子 未来のバイオテクノロジー」 新潟県立佐渡中等教育学校（令和元年7月29日）

深水昭吉

出張講義「遺伝子が教えてくれる、人類の過去と未来」 静岡県立三島北高等学校（令和元年11月20日）

学会および社会的活動

深水昭吉

日本心血管代謝内分泌代謝学会・理事、日本生化学会・評議員と日本高血圧学会・評議員
東北大学 学際科学フロンティア研究所（運営協議会委員）

独立行政法人大学改革支援・学位授与機構（国立大学教育研究評価委員会専門委員）

筑波大学 医学医療系トランスボーダー医学研究センター（評価委員会委員）

公益財団法人 山口内分泌疾患研究振興財団（研究助成審査委員）

公益財団法人 日本応用酵素協会（選考委員）

公益財団法人 東京生化学研究会（選考委員）

公益財団法人 国際科学振興財団（兼任研究員）

一般社団法人 キヤノン財団研究助成（選考委員）

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

深水昭吉

研究種目名：基盤研究(A)

研究課題名：RNAメチル化を介した栄養情報と生物寿命

課題番号：17H01519

研究期間：2017年度～2020年度

深水昭吉

研究種目名：産学協同実用化開発事業（NexTEP）

研究課題名：炎症性腸疾患における新たなバイオマーカーの検討

研究期間：2014年度～2020年度

深水昭吉

研究種目名：共同研究費（宇部興産）

研究課題名：部材を用いる細胞培養に関する研究

研究期間：2014年度～2020年度

深水昭吉

研究種目名：奨励金・研究助成（内藤記念科学振興財団）

研究課題名：宇宙環境（微小重力）における心臓の応答機構と次世代への影響

研究期間：2019年度～2021年度

石田純治

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：アルギニンメチル化が担う胎児期の血管形成メカニズムか解明

課題番号：17K07131

研究期間：2017年度～2019年度

大徳浩照

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：アセチル CoA を接点としたグルコース代謝と FOXO1 アセチル化の制御機構の
解明

課題番号：17K08193

研究期間：2017年度～2019年度

金 俊達

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：一酵素・二活性（PRMT8）の生物学的意義の解明

課題番号：18K05429

研究期間：2018年度～2020年度

加香孝一郎

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：タンパク質アルギニンメチル化修飾の個体機能の解明

課題番号：17K01942

研究期間：2017年度～2020年度