

令和元年6月13日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09794

研究課題名(和文)変異KCNJ5マウスを用いた原発性アルドステロン症発症機構の解明

研究課題名(英文)The novel mechanism of KCNJ5 transgenic mice.

研究代表者

中島 康代(Nakajima, Yasuyo)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70707017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：高血圧症の10%とも言われる原発性アルドステロン症は、本態性高血圧と比較し心脳血管障害の合併が高率である。近年その原因遺伝子としてKCNJ5遺伝子変異が報告されたが、その詳細メカニズムは解明されていない。そこで我々はKCNJ5変異を遺伝子導入したマウスモデルなどを作成し、原発性アルドステロン症の発症機構の解明を開始した。変異KCNJ5マウスは、これまで明らかな副腎の過形成や腫瘍化は認められていないが、アルドステロン合成酵素の過剰産生が確認された。今後はさらに詳細な検討を続け、原発性アルドステロン症の診断・治療への応用を目指したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原発性アルドステロン症の原因遺伝子としてKCNJ5変異が発見されたが、その臨床応用が可能となるような病態解明はほとんどされていない。今回我々が作成した疾患モデルの詳細な検討により、将来の診断や治療への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Primary aldosteronism (PAs) is more strongly associated with cardiovascular complications and organ damage. Furthermore, approximately 10% of patients diagnosed with essential hypertension also have PA. We and others recently reported a very high frequency of somatic mutations in the KCNJ5 gene in PAs, but the detailed mechanism has not been evaluated. Therefore, we created a KCNJ5 mutant mouse model, and started to evaluate the onset mechanism of primary aldosteronism. The mutant KCNJ5 mice have not been found to have adrenal hyperplasia or tumorigenesis, but over expression of aldosterone synthetase was confirmed. In the future, we will continue to study in more detail and aim for the application to diagnosis and treatment of primary aldosteronism.

研究分野：内分泌学

キーワード：原発性アルドステロン症 疾患モデル動物

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦における死因の約 1/3 は心脳血管障害が占め、65 歳以上の寝たきりの症例の 40% は脳卒中である。そして脳卒中の最大の危険因子は高血圧症である。したがって、高血圧症の原因の解明と対策は国民の健康推進に急務の課題である。しかし、我が国の高血圧症の罹患者はおよそ 4500 万人と考えられているが、ほとんどは本態性とされ原因が不明であった。

一方、この数年の世界の多くの疫学的研究により、これまで本態性高血圧症(EHT)とされてきた症例の約 10%は、従来は比較的稀な内分泌疾患とされていた副腎疾患の原発性アルドステロン症(PA)であることが明らかとなった。すなわち本邦においては約 450 万人の PA の罹患者が推定され、特に治療抵抗性の高血圧の 30-40%を占めると考えられている。

特筆すべきは私たちの研究を含めた多くの研究により、PA は EHT と比較し、明らかに心脳血管障害の合併が高率であることが判明している(Nakajima et.al.: JCEM 2011 96: 2512-2518)。さらに、この高率な心脳血管障害の合併は、血圧をコントロールしても防げず、高アルドステロン血症そのものが極めて強い危険因子であることも判明している。したがって、PA を早期に発見し、適切に治療することは、単純に血圧を改善するばかりでなく、特に日本人に多い脳卒中の予防に直接結びつくことは明らかである。

さらに私たちは、多数例の PA での詳細な解析により、もう一つの副腎のホルモンであるコルチゾールの分泌を少しでも伴っていると心脳血管障害の危険はさらに高まることを報告した (Nakajima et.al.: JCEM 2011 96: 2512-2518)。

PA は、1955 年に Conn により最初に記載された疾患で、副腎から自立的なアルドステロンの過剰産生がおこる結果、水とナトリウム貯留による高血圧症と低カリウム血症などの症状を呈する病態である。PA の病型としては、欧米においては、約 70% が副腎の両側性の過形成によるいわゆる特発性アルドステロン症 (Idiopathic adrenal hyperplasia, IHA) であり、約 30% が副腎に腺腫が発生しアルドステロンが産生されるアルドステロン産生腺腫 (Aldosterone-producing adenoma, APA) によるものである。ところが我が国の原発性アルドステロン症は、この頻度が逆転しており、APA が約 70% で IHA が約 30% という特徴がある。しかし、これが人種差なのか塩分の摂取などの環境因子によるものか不明である。

PA の原因はこれまでまったく不明であったが、2011 年 2 月に米国の Choi らのグループから、APA のエクソーム解析により 22 名中 8 名 (約 35%) に K チャネル KCNJ5 (Kir 3.4, GIRK4) 遺伝子の体細胞変異があることが報告された (Science 331:768- 2011)。また同時に両側副腎過形成及び小児発症の重篤な高血圧を認める家族性アルドステロン症 型の家系に KCNJ5 胚細胞変異 (T158A) を発見した。

興味あることに、発見された変異は KCNJ5 の K イオンのフィルター部に関与する 151 番目のアミノ酸のグリシンからアルギニンへの置換 (p.G151R, c.451G>A) と 168 番目のロイシンからアルギニンへの置換 (p.L168R, c.503T>G) に集中し、極めて強いホットスポットを持つ。そして、これらの変異は機能獲得型の変異で、本来の K チャネルから Na イオンが流入するようになり、脱分極の後、電位依存性 Ca チャネルから持続的に Ca イオンが流入し、アルドステロンの合成そして細胞増殖がおこり腫瘍化に至ることが示唆された。

私たちは世界に先駆け、Choi らの報告を本邦の APA において追試した。すると驚いたことに、29 例の APA の内 20 例 (69.0%) と欧米における 2 倍以上の確率で KCNJ5 遺伝子変異を認めた。さらに、新たな変異 p.G151R, c.451G>C を発見し特許を取得した (特開 2013-172705) (Taguchi, et.al.: JCEM 2012 97:1311-1319)。その後の報告より、APA における KCNJ5 変異の頻度は欧米ではやはり約 35% とされているが、本邦では他施設からの報告でも KCNJ5 遺伝子変異はおよそ 70% 以上と私たちの発見を支持する報告が相次いでいる。欧米と比較し本邦の APA では KCNJ5 変異症例が極めて高率であるが、その原因が人種差か、本邦では欧米で多い IHA よりも APA が高率であるためか、他の環境要因なのか結論は出ていない。

その後も APA の約 7% に Na⁺/K⁺ATP アーゼ サブユニットをコードする *ATP1A1* 遺伝子と Ca²⁺ATP アーゼをコードする *ATP2B3* 遺伝子に体細胞変異があることや電位依存性 Ca²⁺チャネルをコードする *CACNA1D* 遺伝子に体細胞及び胚細胞変異があることも報告された。これまでの研究でこれらの変異による APA はいずれもアルドステロン合成経路に深く関与する細胞膜輸送系のシグナル伝達の異常を引き起こし、アルドステロンの過剰産生を引き起こす可能性が報告された。しかし PA における腫瘍化の機序は全く解明されていない。

2. 研究の目的

脳卒中の最大の危険因子は高血圧症であり、本邦での罹患者数は 4500 万人とされる。近年、高血圧症の約 10% はこれまで稀とされてきた原発性アルドステロン症 (PA) であることが明らかとなった。PA は本態性高血圧 (EHT) と比較し心脳血管障害の合併が高率である。PA の原因はこれまで不明であったが、私たちは 2011 年に本邦の PA の大多数であるアルドステロン産生腺腫の約 70% はカリウムチャネル KCNJ5 遺伝子の極めて強いホットスポットを持つ体細胞変異が原因であることを発見報告した。しかしその発症機構の詳細は未

だ不明である。本研究では、この変異 KCNJ5 を発現するモデルマウスや細胞を作成し、変異 KCNJ5 による PA 発症、特に全く解明されていない腫瘍化のメカニズムを解明し、新たな診断や治療法の開発の端緒とすることを目的とした。

3. 研究の方法

本邦の高血圧の 10%と想定される原発性アルドステロン症(PA)の原因である変異 KCNJ5 をターゲットとした種々の疾患モデルを作成し、PA の発症機構、特に全く解明されていない腫瘍化機構の解明を行う。将来的には確立した疾患モデルを利用し、変異 KCNJ5 を標的とした新たな診断法や治療法、予防法の開発への応用を目指す。変異 KCNJ5 疾患モデルとして、体細胞変異 KCNJ5 トランスジェニックマウス、胚細胞変異 KCNJ5 ノックインマウス並びに変異 KCNJ5 恒常的発現細胞株を作成する。作成されたモデルマウスなどを用いて、腫瘍発生機構ならびにアルドステロン過剰産生機構を cDNA マイクロアレイや RNA-seq を用いて明らかとする。マウスの解析により変異 KCNJ5 により特異的に誘導されるバイオマーカーが明らかとされれば、変異 KCNJ5 恒常的発現細胞株ヒト初代培養細胞を用い、バイオマーカーが誘導される機序について詳細に検討する。

4. 研究成果

体細胞変異 KCNJ5 トランスジェニックマウス、細胞変異 KCNJ5 ノックインマウス並びに変異 KCNJ5 恒常的発現細胞株を作成した。変異マウスの副腎では、アルドステロン合成酵素の CYP11B2 発現や野生型と比較し増加している可能性があり、今後機能解析を進める予定である。変異細胞株でも、CYP11B2 発現の増加を認めており、昨日解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Yoshioka M, Nakajima Y, Miyamoto T, Igarashi T, Sakamaki K, Akuzawa M, Ishida E, Horiguchi K, Yamada E, Saito T, Ozawa A, Shimomura Y, Kobayashi I, Andou Y, Shirabe K, Yamada M. Age-Dependent Progression of Renal Dysfunction After Adrenalectomy for Aldosterone-Producing Adenomas in Japan. J Endocr Soc. 2018 Dec 17;3(3):577-589. doi: 10.1210/js.2018-00260. eCollection 2019 Mar 1. 査読有り

2. Okamura T, Nakajima Y, Katano-Toki A, Horiguchi K, Matsumoto S, Yoshino S, Yamada E, Tomaru T, Ishii S, Saito T, Ozawa A, Shibusawa N, Satoh T, Okada S, Nagaoka R, Takada D, Horiguchi J, Oyama T, Yamada M. Characteristics of Japanese aldosterone-producing adenomas with KCNJ5 mutations. Endocr J. 2017 Jan 30;64(1):39-47. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0243. Epub 2016 Sep 28. 査読有り

〔学会発表〕(計 5 件)

1 アルドステロン産生腺腫における染色体コピー数多型解析

中島康代、Santosh Spokata、堀口和彦、吉岡誠之、岡村孝志、石田恵美、山田正信 第91回日本内分泌学会学術集会 2018年4月

2 原発性アルドステロン症は早期発見・早期治療が重要！

吉岡誠之、中島康代、阿久沢まさ子、岡村孝志、土岐明子、石田恵美、吉野聡、堀口和彦、松本俊一、石井角保、小澤厚志、洪沢信行、佐藤哲郎、下村洋之介、小林功、山田正信 第91回日本内分泌学会学術集会 2018年4月

3 本邦の原発性アルドステロン症における病態と原因解明

中島康代 (シンポジウム) 第 18 回日本内分泌学会関東甲信越支部集会 2017 年 9 月

4 アジアの KCNJ5 変異陽性アルドステロン産生腺腫は欧米と異なる特徴を示す

中島康代、岡村孝志、土岐明子、吉野聡、堀口和彦、松本俊一、登丸琢也、石井角保、小澤厚志、洪沢信行、佐藤哲郎、山田正信 第90回日本内分泌学会学術集会 2017年4月

5 各種コルチゾール産生腫瘍におけるGNAS遺伝子変異の検討

中島康代、岡村孝志、堀口和彦、松本俊一、登丸琢哉、石井角保、小澤厚志、渋谷信行、橋本貢士、佐藤哲郎、山田正信 第89回日本内分泌学会学術集会 2016年4月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。