

令和 2 年 7 月 11 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09736

研究課題名(和文)メカノ感知応答システムの分子基盤と高血圧におけるその変容の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the molecular basis of mechano-sensing and responding system and its alteration in hypertension

研究代表者

長瀬 美樹 (Nagase, Miki)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：60302733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、実験動物(ラット・マウス)、ヒト解剖体を用いた検討で、頸動脈洞とそこに分布する舌咽神経、迷走神経、頸部交感神経幹からの枝などの解剖学的基盤を明らかにした。メカノセンサー分子として、Piezo1, Piezo2, TRPV2の腎臓での発現レベル、発現部位を同定した。高血圧性腎障害モデルや急性腎障害モデルでは発現が著明に亢進し、組織障害に関わる部位・細胞で強く発現が誘導されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高血圧領域では昨今、血圧非依存性機序が着目され、メカノバイオロジー研究は遅れていた。本研究では、圧センサー分子Piezo1, Piezo2が高血圧性腎障害の病態に深く関与することが示され、今後の高血圧研究に新たな潮流をもたらすものと期待される。高血圧は多くの国民の健康にかかわる疾患であり、新規治療薬の開発は、医療費削減、健康長寿社会の実現など、社会に与えるインパクトは大きく、臨床的にも意義深い研究となる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I clarified the anatomical basis of examine the anatomical basis of the carotid sinus and the glossopharyngeal nerves, vagus nerves, branches from the cervical sympathetic nerve trunk, etc. using experimental animals (rats and mice) and human cadavers. I also demonstrated the expression levels and localization of Piezo1, Piezo2, and TRPV2, mechanosensor candidate molecules. I elucidated that the expression was remarkably enhanced in the hypertensive renal injury model and the acute renal injury model, and that the expression was strongly induced in the site/cell involved in the tissue injury.

研究分野：解剖学 腎・高血圧

キーワード：メカノバイオロジー メカノセンサー 高血圧 慢性腎臓病 急性腎障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高血圧は日本人の約 4300 万人 (3 人に 1 人) が罹患する common disease で、加齢とともに増加し (70 歳代では有病率 80%以上)、人口の高齢化に伴い今後さらなる増加が予想される (高血圧治療ガイドライン 2014)。高血圧が心筋梗塞や脳卒中、腎不全、動脈硬化、認知症などの主要な危険因子であることが数々の疫学研究で実証されており、血圧管理はこうした合併症を未然に防ぐために必須である。厚生労働省「平成 26 年度国民医療費の概況」によれば、高血圧性疾患に対する年間医療費は 1 兆 8890 億円にのぼる。血圧制御メカニズムの解明と、病態に基づく革新的治療法の開発は、多くの高血圧患者にとって生命予後改善に有用で、また医療経済的にも喫緊の課題である。

生体の組織はたえず様々な機械的刺激 (重力や流れずり応力、伸展力、圧力など) に晒されている。昨今、細胞が機械的刺激を感知し応答する仕組みを探求するメカノバイオロジー研究がクローズアップされており、特に骨・軟骨・骨格筋・心筋、動脈硬化など血管のレオロジー、発生・再生領域において精力的に研究されている。そして機械的刺激により開閉が制御・修飾されるイオンチャネル (TRP ファミリー、Piezo、ASIC/ENaC など) が続々と同定され、圧センサーの本体や疾病との関連が明らかになってきた。

一方、圧そのものの病気である高血圧ではメカノバイオロジー研究は意外にも極めて遅れている。高血圧性臓器障害の最近の研究動向として、血圧依存性機序よりもむしろ、酸化ストレスや炎症・免疫などを介する圧非依存性機序の方が注目されているのが現状である。しかしながら、高血圧の病態にメカノバイオロジーが深く関わることは、高血圧性臓器障害としても、血圧上昇の成因という観点からも確実と考えられる。申請者はこれまで、高血圧モデル動物の動脈や静脈、腎臓において、血圧や糸球体内圧が病的に上昇すると発現が亢進する内皮型酸化 LDL 受容体 LOX-1 について報告し、臓器合併症との関連を示してきた。また、培養血管内皮細胞や腎糸球体メサンギウム細胞において、実際に流れずり応力やストレッチ刺激により LOX-1 発現が亢進することも報告した。最近では、腎糸球体ポドサイトに注目し、*in vitro* で伸展刺激を負荷したり、*in vivo* で圧負荷、濾過量負荷をかけた時の細胞応答について研究を行っており、ポドサイトがメカノ刺激に鋭敏に反応すること、その分子メカニズムが明らかになってきている。

高血圧の成因としてのメカノバイオロジー研究はさらに遅れている。生体には (a) 頸動脈洞や大動脈弓に存在する圧受容器と頸動脈洞神経、大動脈減圧神経、(b) 左右心房に存在する伸展受容器、(c) 腎臓の傍糸球体装置の輸入細動脈壁に存在し、輸入細動脈内圧低下を感知して顆粒細胞からレニン分泌を引き起こす受容器、緻密斑細胞において尿流量を感知して尿管系球体フィードバックを引き起こす受容器、(d) 血圧がある範囲内であれば変動しても臓器血流を一定に保つ自動調節能を担うセンサーなどが存在し、こうした情報を、自律神経系、延髄の循環中枢などが統合して血圧調節がなされる。しかし、これら圧・伸展・流量感知システムの解剖学的構造やセンサー分子の本体、メカノ応答シグナルカスケード、高血圧における変化、特に血管リモデリング (プラーク、中膜肥厚、外膜への炎症細胞浸潤など) が存在する際の圧感知応答機構の変容については不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的である「血圧制御メカニズムの解明と病態に基づく革新的治療法の開発により、健康長寿社会の実現、医療費削減を目指すこと」に向けて、本研究では特に高血圧の成因や合併症という観点から、生体における血圧や血流の感知システムの解剖学的構造や、感知・応答の分子基盤、シグナルカスケードを明らかにし、さらに高血圧動物におけるその変容を解析し、治療標的を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) げっ歯類、ヒトにおける血圧・血流感知応答システムの存在部位と構造を決定：マウスやヒトご遺体より採取した標本で神経走行を可視化する方法として、Sieler 法、組織透明 + ホールマウント免疫組織染色法を確立した。本手法を用いて頸動脈洞、大動脈弓や心房、腎臓の傍糸球体装置に存在する、圧受容器、伸展受容器が存在する部位の解剖学的構造を、神経染色、免疫組織染色、電子顕微鏡解析などで解析した。

(2) 腎臓におけるメカノセンサー候補分子の発現を qPCR 法や *in situ* hybridization 法で解析した。

(3) 高血圧モデル動物において、メカノバイオロジーの変容を決定し、治療標的を同定：自然発症高血圧ラット SHR や Dahl 食塩感受性高血圧ラット、Angiotensin II (+食塩) マウス、若年性片腎摘 (+食塩) ラットにおいて、メカノ感知応答系の変化を解析した。

4. 研究成果

(1) げっ歯類（マウス）ならびにヒト（解剖体）を用いて、血圧・血流感知応答システムとして頸動脈洞と頸動脈洞神経、上神経節、大動脈弓と大動脈減圧神経、下神経節、左右心房の伸展受容器を含む標本を採取し、その解剖学的構造（壁構造や神経の分布・走行）を明らかにした。ヒト解剖体を用いて、頸部のメカノセンサー存在領域の解剖学的構造、特に内頸動脈起始部に存在する頸動脈洞には、頸動脈洞神経（舌咽神経の枝）が分布し、周辺には舌咽・迷走神経、頸部交感神経幹が走行し、複雑な神経ネットワークを形成していた。大動脈弓には大動脈減圧神経（迷走神経の枝）が分布していた。組織学的に、頸動脈洞の中膜は平滑筋層が薄く、弾性動脈に合致する所見であった。頸静脈孔付近に舌咽神経、迷走神経の上下神経節が存在した

神経の走行を可視化するための技術として、Shieler 染色、ホールマウント免疫組織染色、組織透明化のストラテジーを樹立した。また、組織切片を作製し、神経全般、交感神経、副交感神経、知覚神経特異的マーカー分子の免疫組織染色で区別する方法を確立した。

(2) 正常マウスの腎臓における Piezo1、Piezo2 の発現レベルとその局在を明らかにした。Piezo1 は糸球体、尿細管の様々な細胞に発現していたのに対し、Piezo2 は糸球体に限局して高発現していた。高血圧動物モデルとして、片腎摘+アルドステロン+食塩負荷モデル、食塩負荷 Dahl 食塩感受性高血圧ラットを作製し、高血圧群と対照群の腎臓におけるメカノセンサー発現レベルの変容、発現部位を解析した。Piezo1, Piezo2 とも高血圧モデルの腎臓ではその発現が著しく増加した。Piezo2 発現は、正常群での発現部位に加え、新たな細胞での著明な発現誘導が認められた。以上より、高血圧性腎障害発症進展過程において、Piezo を介する新たな機序が推察された。

(3) TRPV2 は正常腎においては非常に発現が低かったが、リポポリサッカライド(LPS)投与による腎障害モデルを作製したところ、著しく発現が亢進した。In situ hybridization と免疫染色を組み合わせ、発現が誘導された細胞を特定した。現在機能解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nishimoto Mitsuhiro, Ohtsu Hiroshi, Marumo Takeshi, Kawarazaki Wakako, Ayuzawa Nobuhiro, Ueda Kohei, Hirohama Daigoro, Kawakami-Mori Fumiko, Shibata Shigeru, Nagase Miki, Isshiki Masashi, Oba Shigeyoshi, Shimosawa Tatsuo, Fujita Toshiro	4. 巻 42
2. 論文標題 Mineralocorticoid receptor blockade suppresses dietary salt-induced ACEI/ARB-resistant albuminuria in non-diabetic hypertension: a sub-analysis of evaluate study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 514 ~ 521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-018-0201-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haizuka Y, Nagase M (1st coauthor), Takashino S, Kobayashi Y, Fujikura Y, Matsumura G	4. 巻 31
2. 論文標題 A new substitute for formalin: Application to embalming cadavers.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Anat	6. 最初と最後の頁 90-98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ca.23011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 肥満高血圧の病態、臓器合併症の分子メカニズム
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 メカノバイオロジーと血圧調節
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 腎臓における性差：疫学・統計学的視点からの捉え方
3. 学会等名 第48回日本腎臓学会東部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高篠智，灰塚嘉典，北村修，長瀬美樹，松村讓兒
2. 発表標題 解剖実習体に対するホルマリンに代わる新しい固定液（N-Vinyl-2-Pyrrolidone）について
3. 学会等名 第47回杏林医学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹、松村讓兒
2. 発表標題 腎糸球体や心血管におけるメカノ感受応答機構の解析
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木本裕介、松村讓兒、長瀬美樹
2. 発表標題 ピロリドン固定解剖体における腹腔鏡下内臓観察 腹腔鏡手術手技修練への応用にむけて
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木菜穂、灰塚嘉典、松村譲児、長瀬美樹
2. 発表標題 実習解剖体のピロリドン固定法における組織学的構造の観察
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 灰塚嘉典、長瀬美樹、松村譲児
2. 発表標題 ピロリドン固定マウスにおける関節可動域の測定
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 澤田月杜、灰塚嘉典、上野仁之、松村譲児、長瀬美樹
2. 発表標題 総指伸筋における破格例の報告と支配神経の解析
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nagase M, Kurihara H, Sakai T, Matsumura G.
2. 発表標題 Mechanical stretch activates Rac1-dependent pathway in cultured renal glomerular podocytes.
3. 学会等名 Gordon Research Conference (Angiotensin) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nagase M, Kurihara H, Sakai T, Matsumura G.
2. 発表標題 Effects of cyclic mechanical stretch on cultured renal glomerular podocytes.
3. 学会等名 ISN Frontiers 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 アルドステン、メタボリックシンドロームと食塩感受性高血圧.
3. 学会等名 第17回日本内分泌学会北陸支部学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 低分子量G蛋白質と腎臓病.
3. 学会等名 お茶の水がん学アカデミア第138回集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 腎系球体ポドサイト傷害におけるメカニカルストレスの役割.
3. 学会等名 第40回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長瀬美樹, 栗原秀剛, 坂井建雄.
2. 発表標題 培養ボドサイト細胞株の物理的刺激に対する応答機構の解析.
3. 学会等名 第60回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長瀬美樹, 栗原秀剛, 坂井建雄.
2. 発表標題 生活習慣病に伴う腎障害 ~ 環境要因による低分子量G蛋白質Rac1活性化と形態機能連関.
3. 学会等名 環境医学研究所プロジェクト研究発表会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長瀬美樹, 灰塚嘉典, 高篠智, 中村眞二, 藤倉義久, 松村譲児.
2. 発表標題 ピロリドン固定解剖体の組織所見、画像所見の解析.
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 灰塚嘉典, 長瀬美樹, 高篠智, 藤倉義久, 松村譲児.
2. 発表標題 N-Vinyl-2-pyrrolidone注入固定遺体の関節可動域の定量的評価.
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高篠智, 灰塚嘉典, 北村修, 長瀬美樹, 藤倉義久, 松村讓兒.
2. 発表標題 N-ビニール-2ピロリドンを固定液として用いた遺体の関節可動性等についての意識調査.
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 長瀬美樹	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 271
3. 書名 高血圧症の9割は原因が特定できない本態性である in カラー図解 人体の細胞生物学	

1. 著者名 長瀬美樹	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 271
3. 書名 糸球体濾過膜が障害されると蛋白尿、糸球体硬化が生じる in カラー図解 人体の細胞生物学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

杏林大学：医学部：解剖学教室 http://www.kyorin-u.ac.jp/univ/faculty/medicine/education/labo/anatomy/ 杏林大学：大学院医学研究科：研究室・研究グループ紹介：解剖学教室 http://www.kyorin-u.ac.jp/univ/graduate/medicine/education/departments/anatomy/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----