

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18790578

研究課題名（和文） ARB 一過性投与による高血圧・腎障害の持続抑制効果と
レニン・プロレニン系の関連研究課題名（英文） Transient treatment with ARB can suppress the development of
hypertension and nephropathy

研究代表者

石黒 喜美子（ISHIGURO KIMIKO）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号 20424161

研究成果の概要：高血圧自然発症ラット（SHR）の高血圧発症時期にアンジオテンシン拮抗薬（ARB）を一過性に投与すると、休薬後も高血圧・腎障害の発症が抑制され、レニン・アルドステロン共に低値であった。そこで今回は SHR の高血圧発症後である 16～18 週齢の間 ACE 阻害薬・ARB を一過性投与（‘一過性パルス療法’）した後休薬した。血圧はパルス療法終了 3 ヶ月後でも無処置群と比較して約 30-40mmHg 低値を保った。組織学的に 2 週間の ARB パルス療法直後では腎細動脈の肥厚が著明に退縮し、ほぼ WKY と同様であった。腎臓のマイクロアレイ解析と real-time RT-PCR では ARB パルス投与により細動脈における MMP-13 活性の誘導・MMP-9 活性の低下を認め、蛍光免疫染色でも同様な成績が確認された。これらの変化が腎細動脈肥厚の退縮をもたらし、microvascular remodeling に直接関与することで、投与中止後の血圧低下が持続し、血圧の退行（regression）をもたらす可能性が示された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,100,000	0	1,100,000
2007 年度	1,100,000	0	1,100,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：高血圧，腎臓病

1. 研究開始当初の背景

本態性高血圧は我が国で有病率が高く、本邦では全国民の 4 人に 1 人が高血圧症に罹患するといわれている。特に近年、急速な高齢化に加え生活習慣病の低年齢化が問題となっており、罹病期間の長期化に伴い、腎障害、脳・心脈管障害などの二次性障害の増加が深刻な問題となっている。

現在数々の降圧薬による高血圧治療法が行なわれているが、いずれも治療している期間中に血圧が低下するのみで、根本的に高血圧の発症を抑制するものではない。実際長期間あるいは生涯に渡る薬物治療が必要となることが多く、その社会的負担は莫大である。また、高血圧性腎障害による慢性腎不全のため透析療法を必要とする患者は年々増加し

ている。

従って、今後高血圧やその腎障害の発症機序を明らかにし、これらを抑制する手段を開発することは、社会的な急務と考えられる。

以前より我々は、高血圧・高血圧性腎障害の発症を予防する手段として、アンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACEI)、アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)を高血圧発症時の限定期間(critical period)に一過性に投与することで、永続的に発症を抑制できる可能性を示唆してきた。高血圧自然発症ラット(SHR)の高血圧発症時期である3~10週齢の間 ARB を一過性に投与すると、休薬後も血圧の上昇が抑制され、レニン・アルドステロン共に低値であった。高血圧発症時期("critical period")のARB一過性投与は、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系のリセットを生じる可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、高血圧が確立した後の高用量一過性投与が高血圧の退行に有効か否かを検討し、その機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

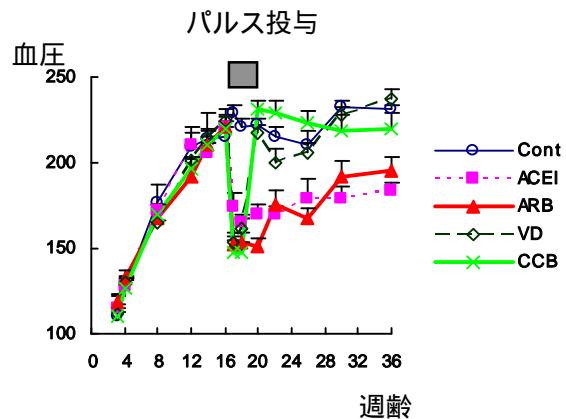
(実験1)16週齢の雄SHR(n=60)にARB(カンデサルタン 50 mg/kg/d)、ACEI(エナラプリル 30 mg/kg/d)、CCB(ニフェジピン 50mg/kg/d)または血管拡張薬(ヒドララジン 25 mg/kg/d)を16週齢から2週間、高用量パルス投与した後休薬した。血圧・尿蛋白は経時的に測定し、36週齢で屠殺処理し、血清生化学的所見および組織学的所見を分析した。

(実験2)16週齢の雄WKYとSHR(n=24)にARBまたはCCBをパルス投与し、薬剤投与終了直後に各血管床の内腔/中膜比を比較検討した。また腎臓を薬剤投与終了直後に摘出し、検体の一部からRNAを抽出したのち、Affymetrix 2.0 Expression Arrayにて遺伝子発現の違いを評価した。特定された遺伝子については、real-time RT-PCRにて発現変動を再確認したのち、特異的 inhibitor を用いた high resolution in situ zymography や reverse zymography を行うことにより MMP・ADAM・TIMP 系との関連を検討した。

4. 研究成果

(実験1)降圧薬のパルス療法中は各群とも血圧が低下した。ACEI, ARB 投与群では投与中止後も血圧低値が続き、終了4ヶ月後でも約30-50mmHg低値(p<0.01)を保ち、心肥大・血管肥大の抑制も認められた。CCB・血管拡張薬

ではこの現象を認めなかった。薬剤投与期間中のみ低食塩食にした群でも同様な成績が得られた。



(図1)収縮期血圧の変化

(実験2)2週間のARBパルス療法直後の検討で、ARBパルス投与群では30-100umの腎細動脈肥厚が著しく退縮し、中膜内腔比が著しく改善していた。大動脈並びに腸間膜・心臓・脳細動脈では群間に有意な変化を認めず、30-100um径の腎細動脈にのみ細動脈肥厚の著明な退縮を認めることがわかった。腎臓のマイクロアレイ解析とreal-time RT-PCRでは複数の細胞外マトリックス関連遺伝子の変動を認めた。中でもMMP系に注目しreal-time RT-PCRで確認したところ、ARB投与群ではMMP-9、TIMP-3のmRNAの発現低下がみられ、逆にMMP-13は発現上昇がみられた。これらの変化はパルス投与直後の18週齢でみられたが、36週齢ではみられなかった。腎細動脈での組織学的なMMP発現の違いを明確にするため、さらにMMP阻害薬を用いた腎細動脈のhighly sensitive in situ zymographyや蛍光免疫染色も行ったところ、ARBパルス投与群で、腎細動脈のMMP13活性の上昇、MMP-9活性の低下を認めた。

これらの変化が腎細動脈肥厚の退縮をもたらす、microvascular remodelingに直接関与することで、投与中止後の血圧低下が持続し、血圧の退行(regression)をもたらす可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

1. Kimiko Ishiguro, Kaori Hayashi, Hiroyuki Sasamura, Yusuke Sakamaki, Hiroshi Itoh.

'Pulse' treatment with angiotensin blocker reverses renal arteriolar hypertrophy and regresses hypertension. Hypertension, 83-89, Jan 2009. 査読有

2. Kimiko Ishiguro, Hiroyuki Sasamura, Yusuke Sakamaki, Kaori Hayashi, and Hiroshi Itoh. Differential effects of transient treatment of spontaneously hypertensive rats with various antihypertensive agents on the subsequent development of diabetic nephropathy. Nephron 109:20-28, 2008. 査読有

3. Kimiko Ishiguro, Hiroyuki Sasamura, Yusuke Sakamaki, Hiroshi Itoh, and Takao Saruta. Developmental activity of the renin-angiotensin system during the "critical period" modulates later L-NAME-induced hypertension and renal injury. Hypertens. Res. 30:63-75, 2007. 査読有

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 石黒 喜美子, 林 香, 篠村 裕之, 坂巻 裕介, 伊藤 裕, ARB 高用量パルス投与は高血圧モデル動物において高血圧の著明な退行 (regression) とともに心血管肥大の抑制をもたらす, 第 12 回心血管内分泌学会学術総会, 2008 年 11 月 29 日, 熊本

2. 石黒 喜美子, 林 香, 篠村 裕之, 坂巻 裕介, 伊藤 裕, ARB '一過性高用量パルス投与' による高血圧の退行 (regression) 療法の開発, 第 44 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 2008 年 11 月 22 日, 出雲

3. 石黒 喜美子, 篠村 裕之, 坂巻 裕介, 林 香, 伊藤 裕, 高血圧発症後の ACE 阻害薬・ARB 「一過性パルス療法」による高血圧の退行 (regression) の検討, 第 31 回日本高血圧学会総会, 2008 年 10 月 9-11 日, 札幌

4. Kimiko Ishiguro, Kaori Hayashi, Hiroyuki Sasamura, Yusuke Sakamaki, and Hiroshi Itoh, Effects of 'pulse' treatment with high-dose angiotensin receptor blocker (ARB) or calcium channel blocker (CCB) on regression of hypertension and renal microvascular remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR), The 22nd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension 2008 年 6 月 19 日, Berlin

5. 石黒喜美子, 篠村裕之, 坂巻裕介, 林 香, 猿田享男, 伊藤 裕, アンジオテンシン受容体拮抗薬およびアルドステロン拮抗薬の早

期一過性投与による糖尿病性腎症発症抑制効果の比較検討, 第 51 回日本腎臓学会学術総会, 2008 年 5 月 30 日, 福岡

6. 石黒喜美子, 篠村裕之, 坂巻裕介, 林 香, 猿田享男, 伊藤 裕, メタボリックシンドローム (MetS) モデルラットにおける 'アンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) 一過性パルス投与' による血圧・肥満・インスリン抵抗性体質の退行 (regression), 第 81 回日本内分泌学会学術総会, 2008 年 5 月 16-18 日, 青森

7. 石黒喜美子, 篠村裕之, 坂巻裕介, 林 香, 猿田享男, 伊藤 裕, アンジオテンシン受容体拮抗薬の早期一過性投与による糖尿病性腎症発症抑制効果の検討, 心血管内分泌学会学術総会, 2007 年 11 月 16 日, 品川

8. Kimiko Ishiguro, Hiroyuki Sasamura, Yusuke Sakamaki, Kaori Hayashi, Takao Saruta, Hiroshi Itoh Effects of Transient Exposure to Angiotensin or Aldosterone Antagonist During the 'Critical Period' on the Later Development of Nephropathy in Streptozotocin-induced Diabetic Rats, American Society of Nephrology, 2007 年 11 月 2 日, サンフランシスコ

9. Kimiko Ishiguro, Hiroyuki Sasamura, Yusuke Sakamaki, Kaori Hayashi, Takao Saruta, Hiroshi Itoh Use of Transient 'Pulse' Therapy with High-Dose Antihypertensive Agents to Induce Regression of Established Hypertension in Spontaneously Hypertensive Rats, American Society of Nephrology, 2007 年 11 月 2 日, サンフランシスコ

10. 石黒 喜美子, 篠村裕之, 坂巻裕介, 林 香, 伊藤 裕, レニン-アンジオテンシン系抑制薬の「一過性パルス投与」による高血圧退行療法 (regression therapy) の開発とカルシウム拮抗薬との比較検討, 日本高血圧学会学術総会, 2007 年 10 月 26 日, 沖縄

11. 石黒喜美子, 篠村裕之, 坂巻裕介, 伊藤 裕, レニン-アンジオテンシン系阻害薬「一過性パルス療法」による高血圧の退行 (regression) の検討, 日本内分泌学会学術総会, 2007 年 6 月 14-16 日, 東京国際フォーラム

12. 石黒喜美子, 篠村裕之, 坂巻裕介, 猿田享男, 伊藤 裕, 高血圧発症後の ACE 阻害薬・ARB 「一過性パルス療法」による高血圧の退行 (regression) の検討, 日本腎臓学会

学術総会，2007年5月25-27日，浜松

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石黒 喜美子 (ISHIGURO KIMIKO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号 20424161

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

林 香 (HAYASHI KAORI)

慶應義塾大学・医学部・研究員(非常勤)

研究者番号 60445294

篠村 裕之 (SASAMURA HIROYUKI)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号 00235293