

平成 21 年 6 月 18 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 - 2008

課題番号：19590955

研究課題名 (和文) 2 種類の抗利尿ホルモン受容体の相互制御と利尿機構の解明による腎性浮腫治療法の開発

研究課題名 (英文) The investigation of the role of interaction of two types of antidiuretic hormone receptors for diuresis and the invention of the new therapy for renal edema.

研究代表者

野々口 博史 (NONOGUCHI HIROSHI)

兵庫医科大学 医学部 准教授

研究者番号：30218341

研究成果の概要：

抗利尿ホルモンの利尿作用には、V2 受容体が関与し、V1a 受容体は、意味のない受容体と考えられてきたが、私達は、V1a 受容体が V2 受容体を介した抗利尿作用を抑制するだけでなく、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン (RAS) 系の入り口として macula densa 細胞に存在し、集合尿細管では、介在細胞においてアルドステロン作用を制御することで、酸塩基平衡の調節をも司っていることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：腎臓内科学

キーワード：水・電解質代謝学、抗利尿ホルモン、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系

1. 研究開始当初の背景

浸透圧調節系の V2 受容体—アクアポリン 2 系と体液量調節系の RAS 系との関連性については推測されているのみで、はっきりとした証拠はなかった。ましてや V1a 受容体が RAS 系の制御に関与している可能性は、全く考慮されていなかった。

2. 研究の目的

浸透圧調節系と体液量調節系との接点としての V1a 受容体の機能を探ることが、本研究

の目的である。具体的には、V1a 受容体が RAS 系制御に関与しているのかを、macula densa と集合尿細管において検討する。

3. 研究の方法

V1a 受容体ノックアウト (V1aR-KO) マウスを用いて、ワイルドタイプと腎機能、尿量などの違いを metabolic cage で測定する。外因性アルドステロンである 9α -fludrocortisone 投与により、治療しての変化についても検討する。また、その相違の原

因を探るためにPCR, Western blot を検討する。V1a受容体を発現させたLLC-PK1細胞で、V2受容体プロモーター活性に対するV1a受容体の関与を検討する。

4. 研究成果

V1a受容体が、1) V2受容体のプロモーター活性を制御しているだけでなく、2) macula densa細胞でレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の入り口として同系を制御し、さらには3) V2受容体—アクアポリン2系も制御していることを明らかにした。また、4) V1a受容体欠損マウスは、4型腎尿細管性アシドーシスを呈することも発見し、外因性アルドステロンである 9α -fludrocortisone 投与により治療することで、5) 4型腎尿細管性アシドーシスの原因としては、H,K-ATPase, Rhcgの発現低下が関与し、代償性にH-ATPase発現が増加していることも明らかにした。アルドステロンの制御にV1a受容体が深く関与していることを初めて明らかにした本研究のインパクトは、計り知れない程大きいものである。

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18件)

- ① Wakamatsu S, Nonoguchi H, Ikebe M, Machida K, Izumi Y, Memetimin H, Nakayama Y, Nakanishi T, Kohda Y, Tomita K. Vasopressin and hyperosmolality regulate NKCC1 expression in rat OMCD. *Hypertens Res* 2009 ; 32 : 481-7
- ② Mouri T, Inoue T, Nonoguchi H, Nakayama Y, Miyazaki H, Matsuzaki T, Saito H, Nakanishi T, Kohda Y, Tomita K. Acute and chronic metabolic acidosis interfere with aquaporin-2 translocation in the rat kidney collecting ducts. *Hypertens Res* 2009;32:358-63.
- ③ Munemoto M, Kawai K, Yamamoto S, Nonoguchi H, Nakanishi T. Enhanced kidney, gallbladder and colon on delayed CT. *Nephrology* 2009;14:360
- ④ Nakayama Y, Nonoguchi H, Kohda Y, Inoue H, Memetimin H, Izumi Y, Tomita K. Different mechanisms for the progression of CKD with ACE gene polymorphisms. *Nephron Clin Pract* 2009 ; 111 : c 240-6.
- ⑤ Munemoto M, Yahiro M, Kawanishi H, Nonoguchi H, Nakanishi T. (Minerva :calcification of the intestine) *BMJ* 2009 ; 338 : 364.
- ⑥ Nonoguchi H, Kohda Y, Nakanishi T, Fukutomi R, Nakayama Y, Naruse M, Kitamura K, , Inoue T, Nakanishi T, Tomita K. A case with acute renal failure and subsequent nephrotic syndrome. *Renal Fail.* 2009 ; 31 : 162-6.
- ⑦ Nonoguchi H, Nanami M, Hasuike Y, Kuragano T, Nakanishi T. Renal outcomes in the ONTARGET study. *Lancet*. 2008;372(9655):2019-20;
- ⑧ Izumi Y, Nakayama Y, Memetimin H, Inoue T, Kohda Y, Nonoguchi H, Tomita K. Regulation of V2R transcription by hypertonicity and V1aR-V2R signal interaction. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295:F1170-6.
- ⑨ Nakayama Y, Inoue T, Kohda Y, Inoue H, Izumi Y, Tomita K, Nonoguchi H. Long-term observation of renal function on combination therapy with prostaglandin and angiotensin-converting enzyme inhibitor for chronic kidney disease. *Clin Nephrol*. 2008 ;69:402-7.
- ⑩ Aoyagi T, Izumi Y, Hiroyama M, Matsuzaki T, Yasuoka Y, Sanbe A, Miyazaki H, Fujiwara Y, Nakayama Y,

- Kohda Y, Yamauchi J, Inoue T, Kawahara K, Saito H, Tomita K, Nonoguchi H, Tanoue A. Vasopressin regulates the renin-angiotensin-aldosterone system via V1a receptors in macula densa cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;295:F100-7.
- ⑪ Yokoyama H, Anzai N, Ljubojevic M, Ohtsu N, Sakata T, Miyazaki H, Nonoguchi H, Islam R, Onozato M, Tojo A, Tomita K, Kanai Y, Igarashi T, Sabolic I, Endou H. Functional and immunochemical characterization of a novel organic anion transporter Oat8 (Slc22a9) in rat renal collecting duct. *Cell Physiol Biochem.* 2008;21:269-78.
- ⑫ Matsuzaki T, Morisaki T, Sugimoto W, Yokoo K, Sato D, Nonoguchi H, Tomita K, Terada T, Inui K, Hamada A, Saito H. Altered pharmacokinetics of cationic drugs caused by down-regulation of renal rat organic cation transporter 2 (Slc22a2) and rat multidrug and toxin extrusion 1 (Slc47a1) in ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Drug Metab Dispos.* 2008 36:649-54
- ⑬ Nonoguchi H, Nakayama Y, Shiigai T, Inoue T, Inoue H, Kohda Y, Honda Y, Tomita K Low-responders to angiotensin II receptor blockers and genetic polymorphism in angiotensin-converting enzyme. *Clin Nephrol.* 2007;68:209-15.
- ⑭ Nonoguchi H, Nakayama Y, Inoue T, Kohda Y, Tomita K. Target haemoglobin concentrations in chronic kidney disease. *Lancet.* 2007;369(9572):1517.
- ⑮ Naruse M, Sakaguchi S, Nakayama Y, Nonoguchi H, Tomita K. A novel method for dry weight assessment in hemodialysis patients: utilization of inferior vena cava flat ratio to correct for individual variations in vessel diameter. *Ther Apher Dial.* 2007;11:42-8.
- ⑯ Matsuzaki T, Watanabe H, Yoshitome K, Morisaki T, Hamada A, Nonoguchi H, Kohda Y, Tomita K, Inui K, Saito H. Downregulation of organic anion transporters in rat kidney under ischemia/reperfusion-induced acute renal failure. *Kidney Int.* 2007;71:539-47.
- ⑰ Izumi Y, Nakayama Y, Mori T, Miyazaki H, Inoue H, Kohda Y, Inoue T, Nonoguchi H, Tomita K. Downregulation of vasopressin V2 receptor promoter activity via V1a receptor pathway. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292:F1418-26.
- ⑱ Machida K, Wakamatsu S, Izumi Y, Yosifovska T, Matsuzaki T, Nakayama Y, Kohda Y, Inoue T, Saito H, Tomita K, Nonoguchi H. Downregulation of the V2 vasopressin receptor in dehydration: mechanisms and role of renal prostaglandin synthesis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292:F1274-82.
- [学会発表] (計 6 件)
- ① Izumi Y, Aoyagi T, Hiroyama M, Matsuzaki T, Yasuoka Y, Sanbe A,

Miyazaki H, Fujiwara Y, Nakayama Y, Kohda Y, Yamauchi J, Inoue T, Kawahara K, Saito H, Tomita K, Nonoguchi H, Tanoue A Vasopressin V1a receptor deficient causes a new type of nephrogenic diabetes insipidus 51st Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Philadelphia, 2008. 11. 6-9.

② Memetimin H, Izum Y, Nakayama Y, Kohda Y, Inoue H, Nonoguchi H, Tomita K Acidosis stimulates vasopressin V2 receptor promoter activity and enhances the down-regulation induced by V1a receptor stimulation. 51st Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Philadelphia, 2008. 11. 6-9.

③ Nakayama Y, Memetimin H, Izumi Y, Kohda Y, Inoue H, Nonoguchi H, Tomita K. Renoprotection by inhibition of GSK3 in streptozotocin-induced diabetic nephropathy; the new approach for reduction of proteinuria through TGF-1 pathway. 51st Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Philadelphia, 2008. 11. 6-9.

④ Hasuike Y, Nonoguchi H, Hata R, Nanami M, Kuragano T, Ito K, Kida A, Furuta M, Kitamura R, Hori K, Otaki Y, Nakanishi T Effects of Citrate and Plasma pH on ALA-stimulated Iron Release from Human Ferritin *in vitro*. 51st Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Philadelphia, 2008. 11. 6-9.

⑤ Memetimin Hasiyet, 泉裕一郎、中山裕史、江田幸政、井上武明、野々口博史、富田公夫。浸透圧刺激ならびに V1a 受容体刺激によるバゾプレッシン V2 受容体プロモーター活性の調節機構。第 51 回

日本腎臓学会学術総会。福岡。平成 20 年 5 月 30 日—6 月 1 日。

⑥ 泉裕一郎、青柳利紀、廣山眞巳、松崎尊信、安岡有紀子、三部篤、宮崎博喜、藤原葉子、中山裕史、江田幸政、山内淳司、井上武明、河原克雅、齋藤秀之、富田公夫、野々口博史、田上昭人。腎マクラデンサ細胞内バゾプレッシン V1a 受容体を介したレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系の調節。第 51 回日本腎臓学会学術総会。福岡。平成 20 年 5 月 30 日—6 月 1 日。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野々口 博史 (NONOGUCHI HIROSHI)
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30218341

(2) 研究分担者

富田 公夫 (TOMITA KIMIO)
熊本大学・医学薬学研究部・教授
研究者番号：40114772

(3) 連携研究者