

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03678

研究課題名(和文) 翻訳後修飾による新規膜輸送体制御系を基軸とした腎疾患の基盤病態解明と応用の探求

研究課題名(英文) Intra-renal signaling through post-translational modification as the potential target to counteract kidney diseases

研究代表者

柴田 茂 (Shibata, Shigeru)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：60508068

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,300,000円

研究成果の概要(和文)：1. 肥満糖尿病モデルにおいてユビキチンリガーゼKLHL3の過剰リン化と不活性化がNa-Cl共輸送体の活性化と食塩感受性の亢進に関与し、本機構は近位尿管のSGLT2の作用とも関連することが明らかとなった。本モデルではヘンレ係蹄のNa-K-2Cl共輸送体の発現増加も認められ、この機構としてバソプレシンV2受容体の関与も示されている。KLHL3のリン酸化異常はcalcineurin阻害薬に伴う体液異常にも関与する。2. 食塩感受性高血圧の心腎障害の分子基盤としてKlothoの異常とリン代謝障害の関与を見出した。3. 尿細胞外小胞画分を用いてヒト二次性高血圧症におけるpendrinの関与を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎尿管による体液恒常性維持機構は陸生脊椎動物の長い年月をかけた進化の過程で発達してきたものと考えられるが、このような精巧な体液保持システムが仇となり、人類の急速な食生活習慣の変化に伴って表出しているのが生活習慣病である。本研究の成果により生活習慣病と密接に関連する食塩のハンドリング異常、ならびにその結果として惹起される体内での食塩過剰が臓器障害を加速させる分子メカニズムの一端が明らかとなり、生活習慣病の予防や管理改善に向けて有用な知見が得られたものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The study aimed to reveal pathological significance of membrane transport regulatory mechanisms involving post-translational modification. 1. In obese diabetic mice, we found that aberrant phosphorylation of KLHL3 increases salt sensitivity by promoting salt reabsorption in the distal tubules. These abnormalities were corrected by SGLT2 inhibition, suggesting the functional interaction between proximal and distal tubules (JASN 2019). This mechanism is also involved in the electrolyte abnormalities associated with calcineurin inhibitors (PNAS 2019). 2. We found that disturbed phosphorus metabolism is involved in the pathophysiology of salt-sensitive hypertension and salt-induced kidney injury in Dahl rats, which is associated with the alteration in Klotho and Na-Pi transporters (Commun Biol 2020). 3. Using urinary extracellular vesicle fraction, we demonstrated the involvement of the blood pressure regulatory molecule pendrin in secondary hypertension in humans (Hypertens Res 2021).

研究分野：腎臓内科学

キーワード：体液恒常性 膜輸送体 翻訳後修飾

1. 研究開始当初の背景

腎尿細管による体液恒常性維持機構は陸生脊椎動物の長い年月をかけた進化の過程で発達してきたものと考えられるが、このような精巧な体液保持システムが仇となり、人類の急速な食生活習慣の変化に伴って表出しているのが生活習慣病である。中でも腎臓の働きと関わりが深いのが食塩と関連した高血圧や腎臓病であり、特に諸外国と比して食塩摂取量の多い我が国においてはその分子基盤の解明や新規指標・治療・予防の開発は大きな課題となっている。

リン酸化やユビキチン化をはじめとする翻訳後修飾(post-translational modification; PTM)はタンパク質の主要な機能制御機構であり、外的環境の変化に応じて迅速に蛋白活性を変化させる分子スイッチとして作用している。我々はこれまでの一連の研究で、腎遠位ネフロンにおける、PTM を介した新しい細胞機能調節機構の存在を世界に先駆けて明らかにしてきた。遠位尿細管細胞においては、Na-Cl 共輸送体(NCC)の制御分子であるセリン・スレオニンキナーゼ With No lysine(WNK)が KLHL3 と Cul3 により構成されるユビキチンリガーゼ(CRL3-KLHL3)によりプロテアソーム分解を受けること、さらには protein kinase C(PKC)による KLHL3 の基質結合領域(S433)のリン酸化によって両者の会合と WNK の分解が抑制され、WNK を介した NCC の活性化が惹起されること(PKC/KLHL3/WNK/NCC 系)を明らかにした。また集合管間細胞においては、mTOR(mammalian target of rapamycin)および ULK1(unc 51-like kinase 1)がステロイド受容体である mineralocorticoid receptor (MR)のリガンド結合領域(S843)のリン酸化を制御しており、アルドステロンによる Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体 pendrin の活性化を受容体レベルで調節していることを報告した。このように、尿細管を構成する多様な細胞群は PTM をスイッチとするタンパク質相互作用のカスケードによって選択的に制御されており、それぞれの尿細管細胞の機能が適切に連関することで、外的な環境変化に応じた適切な腎臓の応答が誘導されるものと考えられる。一方で、当該メカニズムが生活習慣病や、その他の腎臓関連疾患に果たす病的役割については更なる検討が必要である。

2. 研究の目的

本研究では、我々が同定した翻訳後修飾(PTM)を介する新しい細胞機能調節機構とその下流分子の働きに焦点をあて、腎臓病や食塩感受性高血圧の分子基盤への関与を解明することを目的に研究を実施した。

3. 研究の方法

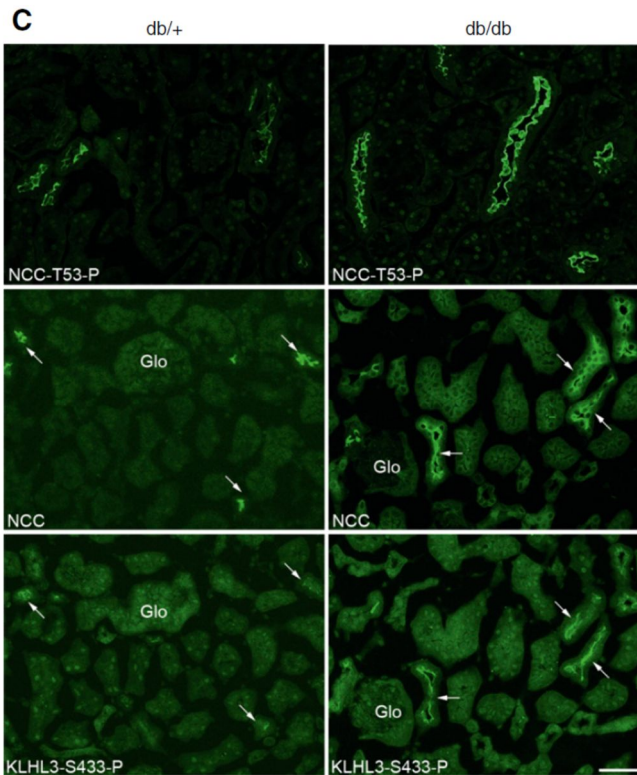
- (1) 慢性腎臓病における PKC/KLHL3/WNK/NCC 系の病的役割を明らかにするため、糖尿病性腎臓病のモデルマウスや薬剤性腎障害モデルを用いて KLHL3 のリン酸化レベルや WNK4 の発現量、NCC の活性を評価した。
- (2) KLHL3 の活性調節に不可欠な基質結合領域の Ser433 を変異させることで、KLHL3 の機能制御における Ser433 を欠失させたマウスモデルを樹立した。CRISPR/Cas9 を用い、Klhl3 exon 13 に存在する該当部位を Cas9 タンパクにて切断し Ser433 (AGC) を Ala433 (GCC) に置換した。
- (3) 動物疾患モデルで得られた知見をヒトへと展開するため、尿中に排泄される細胞外小胞画分(urinary extracellular vesicles; uEV) に着目して解析を行った。ラット高血圧モデルより超遠心法を用いて uEV を単離後、腎臓を採取して腎臓内のタンパク質発現と uEV 中のタンパク質発現の相関を解析した。また同様の方法を用いてヒト二次性高血圧患者より uEV を単離し、臨床的指標との関連を解析した。
- (4) 食塩感受性高血圧の病態における重要な臨床的課題として心血管障害や腎障害などの臓器合併症の発症が挙げられる。食塩感受性高血圧における心腎障害の分子基盤を探索するため、Dahl 食塩感受性ラットをモデルとして検討を行った。

4. 研究成果

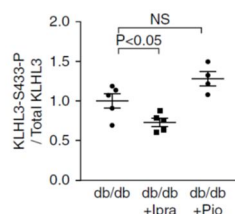
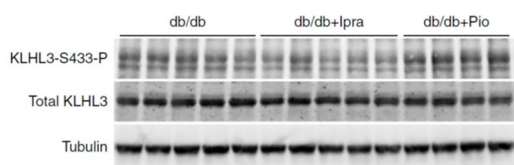
(1) common disease における PKC/KLHL3/WNK/NCC 系の病的役割の解明

CRL3-KLHL3 は腎臓内で WNK の分解を制御することで体液量を調節しており、我々の検討により CRL3-KLHL3 が基質結合領域(KLHL3-S433)のリン酸化により制御されていることが判明している。本メカニズムの腎臓関連疾患の病態に占める意義を明らかにするため、複数の病態モデルで検討した結果、糖尿病性腎臓病と薬剤誘発性高血圧の 2 つの病態において、この分子の異常が重要な役割を果

たす可能性を見出した。肥満糖尿病には高頻度に高血圧が合併することが知られており、そのメカニズムのひとつとしてインスリンの作用が報告されている。しかしながら、インスリーノマの患者では血圧上昇が認められないことから、インスリンの過剰に加えて高血糖の存在が何らかのメカニズムで高血圧を引き起こすものと考えられる。先行研究から、糖代謝異常に伴う細胞内グルコースの蓄積はジアシルグリセロールの de novo 合成を刺激し、protein kinase C を活性化させることが知られている。そこで、db/db マウスモデルを用いて肥満糖尿病における CRL3-KLHL3 の関与を検討したところ、腎臓にて protein kinase C の活性化とともに KLHL3-S433 のリン酸化 (KLHL3-S433-P) が認められ、NCC の活性化を介した食塩感受性の亢進を誘導することが判明した。免疫染色での検討では (右図)、リン酸化 KLHL3 のシグナルは NaCl 共輸送体 (NCC) を発現する遠位尿細管を中心に認められ、そのシグナルは対照群 (db/+) と比して肥満糖尿病マウス (db/db) で増加していた。



更に、db/db マウスの腎臓における KLHL3-S433 のリン酸化は、インスリン投与や PPAR 作動薬である pioglitazone (Pio) による血糖コントロールでは抑制されなかったものの、



SGLT2 阻害薬である ipragliflozin (lpra) により有意に抑制された (左図)。最後に、遠位尿細管培養細胞を用いてグルコースの直接作用を検討したところ、グルコースの負荷に伴って protein kinase C の活性化と

KLHL3-S433 のリン酸化が認められ、細胞内グルコースの蓄積とその代謝異常が protein kinase C を介して CRL3-KLHL3 の機能低下を誘導しているものと考えられた (Ishizawa, Shibata, et al. *J Am Soc Nephrol* 2019)。なお、本研究の過程で、ヘンレ係蹄においては vasopressin V2 受容体を介して Na-K-2Cl 共輸送体 (NKCC2) が制御されていること、また肥満糖尿病においては V2 受容体シグナルの亢進に伴い NKCC2 の膜発現が増加することを示し、肥満糖尿病における体液貯留や利尿薬抵抗性の一機序を解明している (Sakai, Shibata, et al. *BBRC* 2020)。

セリン・スレオニン脱リン酸化酵素である calcineurin は、Tリンパ球の活性化と増殖に主要な役割を担っている。本酵素は T 細胞受容体 (TCR) シグナルに伴う細胞内 Ca 濃度の上昇により活性化され、転写因子である nuclear factor of activated T cell (NFAT) を脱リン酸化し、核内への移行と IL-2 などの転写活性化を促進する。tacrolimus や cyclosporine などは calcineurin の作用を阻害するため、免疫抑制薬として幅広く使用されている。しかしながら多くの副作用の存在も知られており、そのひとつとして高血圧や高カリウム血症の発症が挙げられる。この作用の少なくとも一部はサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体 (NCC) の過剰活性化に由来しており、上流シグナルとして WNK の関与が示唆されていたが、詳細なメカニズムは不明のままであった。そこで CRL3-KLHL3 の制御に calcineurin が関与する、という仮説のもと、KLHL3-S433 の脱リン酸化作用を in vitro phosphatase assay にて検討したところ、calcineurin が強力に KLHL3-S433 の脱リン酸化を促進することが明らかとなった。逆に、calcineurin の作用を遺伝子ノックダウンあるいは薬理的に抑制したところ KLHL3-S433 のリン酸化量は増加し、WNK/SPAK 系を介した NCC の活性化と食塩感受性高血圧が惹起された。更に、calcineurin 阻害薬の WNK に対する作用は、リン酸化を受けない KLHL3-S433A 変異体では認められないことも判明した。腎臓において calcineurin を制御する生理的シグナルを探索するために培養細胞での検討を行ったところ、細胞外カリウム濃度の上昇に伴って calcineurin 活性が上昇し、その結果として KLHL3-S433 の脱リン酸化が促進された。以上の結果より、calcineurin は腎臓において CRL3-KLHL3 の脱リン酸化酵素として作用しており、このユビキチンリガーゼの活性を制御することで血圧や電解質調節に本質的な役割を担うことが判明した。このメカニズムが calcineurin 阻害薬の使用に伴う血圧異常や電解質異常にも関わっているものと考えられる (Ishizawa, Shibata, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019)。

(2) KLHL3-S433A ノックインマウスの樹立と表現型解析

我々は以前、KLHL3-S433 のリン酸化が腎臓の食塩再吸収とカリウム排泄のバランスを制御する可能性を見出している。すなわち、体液量の減少とカリウム過剰は、どちらも副腎皮質の顆粒細胞に作用してアルドステロンの分泌を促すが、前者に由来する高アルドステロン血症は腎臓での食塩再吸収を促す一方でカリウム排泄は最少化されるものと想定される。その一方で、後者に由来する高アルドステロン血症では、腎臓はカリウム排泄を最大化するように作用する。この現象は「アルドステロン・パラドックス」と通称され、長きにわたりそのメカニズムは不明のままであったが、我々はこのメカニズムに KLHL3 が関与すること、そして中でも KLHL3-S433 のリン酸化による制御が重要である可能性を報告している (Shibata et al. PNAS 2014, Ishizawa et al. BBRC 2016, Ishizawa et al. PNAS 2019)。このことを直接的に証明するため、体液恒常性調節における KLHL3-S433 の重要性を *in vivo* にて確立するため、CRISPR/Cas9 によりマウス KLHL3 の S433 を疑似非リン酸化体である Ala へと置換したノックインマウス (KLHL3-S433A-KI) を樹立した。その結果、KLHL3 ならびに KLHL3-S433 がアルドステロン・パラドックスのメカニズムに必須の役割を果たすことを裏付けられるデータが得られつつあり、詳細を解析している。

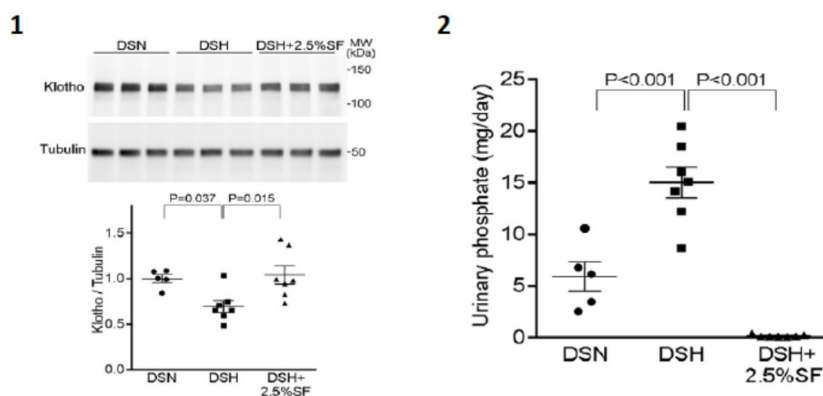
(3) 分子マーカとしての尿細胞外小胞画分の有用性と高血圧症における pendrin の関与の検討

これまで、主として動物モデルを用いた検討にて、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交換輸送体 pendrin が MR の下流分子として制御されていること、そしてその変化が高血圧の病態形成に関わる可能性が示されてきたが、ヒトの高血圧における pendrin の役割は十分に明らかにされていない。そこで、尿中に排泄される細胞外小胞画分 (uEV) を単離し、分子マーカとしての有用性を検討するとともに、ヒトの二次性高血圧症の一種である原発性アルドステロン症において pendrin の関与を検討した。

ウェスタンブロット解析により、ヒトとラットの uEVs 中にはペンドリンが二量体および一量体の形で存在していることが明らかになった。アルドステロン持続投与モデルでの検討では、uEVs 中の ENaC、NCC および pendrin の発現量は腎臓での発現と有意な相関関係にあった。原発性アルドステロン症患者の uEV の検討においては、副腎摘出術または MR 拮抗薬の投与により、uEVs 中の pendrin レベルはベースラインから 49% 低下した。また相関解析では、治療後の pendrin 低下の程度がベースラインのアルドステロン-レニン比 (ARR) と有意に相関していることが明らかになった。最後に、PA 患者の横断解析では、ARR と uEVs 中の pendrin レベルとの間にも有意な相関が確認された。以上より、原発性高血圧症における pendrin の関与が明らかとなるとともに、uEVs の解析が高血圧をはじめとする腎臓関連疾患の病態生理を理解するために有用であることが示された (Ochiai-Homma et al. *Hypertens Res* 2021)。

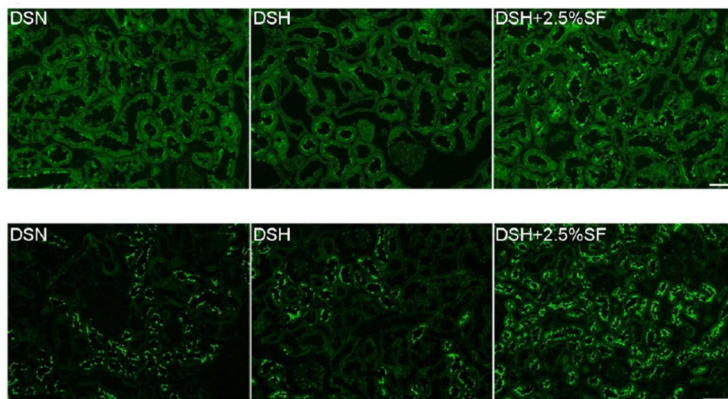
(4) 食塩感受性高血圧に伴う心・腎障害における抗老化分子 Klotho とリン代謝異常の関与

食塩感受性高血圧の病態における重要な臨床的課題として、心血管障害や腎障害などの臓器合併症の発症が挙げられる。事実、食塩感受性は心血管イベントの発症増加と関連することが報告されているが (Morimoto et al. *Lancet* 1997)、その分子基盤は未解明である。我々は、食塩感受性亢進の結果として惹起される食塩の過剰が抗老化分子 Klotho の発現を低下させ、これがリン代謝異常を惹起することで心腎障害を加速させる可能性を見出した。



食塩感受性高血圧モデルである Dahl ラットの腎臓で Klotho のタンパク質レベルを評価したところ、通常食飼育群 (DSN) と比して高食塩飼育群 (DSH) で Klotho が有意に低下していることが判明した (上図 1)。Klotho がリン代謝を制御することから、本モデルにおいてリン代謝を評価したところ、Dahl ラットでは食塩負荷により尿中リン排泄が 3 倍にも増加していることが判明した (上図 2)。また既報の通り、本モデルでは食塩負荷に伴い顕著なアルブミン尿の増加と腎実質の炎症誘導が確認された。一方で、食塩負荷に加えて腸管においてリンを吸着するスクロオキシ水酸化鉄 (SF) を 2.5% で混餌投与した群においては (DSH+2.5%SF 群)、血圧レベルに DSH 群との差異は認められず、また摂食量や塩分摂取量、尿中

ナトリウム排泄量なども全て同程度であったにもかかわらず、尿中アルブミンおよび腎実質の炎症が有意に低減していることが明らかとなった。そこでリン代謝に関連するパラメータについて検討を行ったところ、DSH+2.5%SF 群では腎臓の Klotho 発現の抑制低下と尿中リン排泄の有意な低下が認められており、食塩が Klotho の異常とリン代謝異常を介して腎実質の炎症を誘導していることが明らかとなった。



腎尿細管でリン代謝に主要な働きを担うのは近位尿細管である。そこで、我々のモデルにおいて同部位に発現するナトリウム・水素交換輸送体(NHE3)およびナトリウム・リン共輸送体(NaPi2a・NaPi2c)の変化を検討したところ、NHE3 については食塩負荷に伴い適切に抑制されていた一方で、NaPi2a および NaPi2c について DSN 群と DSH 群では明らかな発現の差異が認められなかった(左図)。NaPi2a、NaPi2c ともに 2.5%SF 投与群で

は適切に誘導されており、DSH 群における尿中リン排泄の増加には腎尿細管でのリン・ハンドリング以外のメカニズム、おそらくは骨組織からのリン遊離の増加が寄与しているものと考えられた。また、腎臓に加えて心臓の変化についても形態学的評価を行ったところ、心肥大については DSH 群と DSH+2.5%SF 群で明らかな差異が認められなかったが、心臓における炎症細胞の浸潤は DSH+2.5%SF 群で有意に軽減していた。

リン代謝異常による腎臓の炎症誘導を直接的に証明し、またその分子基盤を解明するため、ラット近位尿細管由来の培養細胞である NRK-52E 細胞を用いた *in vitro* の検討を行った。NRK-52E をリンの存在下で培養したところ、6 時間・24 時間で有意な炎症性サイトカイン Ccl2 の上昇が認められた。この変化は NaPi2a をコードする Slc34a1 をノックダウンした NRK-52E においても消失しなかった。そこで遠心法によりリン含有微粒子(phosphate-containing nanoparticle)を単離し、炎症誘導作用を検討したところ、リン含有微粒子を含む画分では Ccl2 誘導作用が認められた一方で、リン含有微粒子を除去した画分では Ccl2 の誘導作用が認められなかった。以上の検討より、食塩感受性高血圧モデルで認められた尿細管へのリン負荷は、リン含有微粒子の形成を介して炎症性サイトカインを誘導することものと考えられた。

最後に、リン含有微粒子が腎臓の炎症を誘導するメカニズムについて明らかにすべく、マイクロアレイ解析により DSH 群と DSH+2.5%SF 群の遺伝子発現プロファイルを比較検討した。その結果、DSH+2.5%SF 群では補体関連分子の遺伝子発現が低下していることが判明した。これらの遺伝子の中には、老化促進分子として報告されている C1q が含まれていたことから(Naito et al. Cell 2012)、C1q の発現量を評価したところ、DSH と比較し DSH+2.5%SF 群では C1q のタンパク質発現が有意に低下していることが判明した。また免疫染色での検討では、DSH 群において主に近位尿細管近傍に C1q の沈着が認められた一方で、DSH+2.5%SF 群ではこの変化が抑制されていることが明らかとなった。

以上の結果から、食塩感受性高血圧に伴う体内への食塩の過剰蓄積は、抗老化分子 Klotho の発現を低下させることでリン代謝異常を惹起するものと考えられる。その結果としてリン含有微細結晶が尿細管へと負荷され、老化促進分子 C1q の作用を介して腎臓や心血管系の炎症と組織障害が誘導されるものと考えられる(Wang, Shibata et al. Commun Biol 2020)。食塩感受性を亢進させる重要な後天的要因として加齢が知られており、老化と食塩感受性高血圧に関連した病態として本メカニズムの関与が想定される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 9件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Fujii Wataru, Shibata Shigeru | 4. 巻 24 |
| 2. 論文標題 Mineralocorticoid Receptor Antagonists for Preventing Chronic Kidney Disease Progression: Current Evidence and Future Challenges | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 7719 ~ 7719 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24097719 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Hosoyamada Makoto, Tomioka Naoko H., Watanabe Tamaki, Yasuno Nobuhiro, Uchida Shunya, Shibata Shigeru | 4. 巻 41 |
| 2. 論文標題 SLC23A3 is a renal hypoxanthine transporter | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids | 6. 最初と最後の頁 1279 ~ 1286 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2022.2028826 | 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 Shibata Shigeru, Uchida Shunya | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Hyperkalemia in patients undergoing hemodialysis: Its pathophysiology and management | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Therapeutic Apheresis and Dialysis | 6. 最初と最後の頁 3 ~ 14 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1744-9987.13721 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Yamazaki Osamu, Yamashita Maho, Li Jinping, Ochiai-Homma Fumika, Yoshida Tadashi, Hirahashi Junichi, Furukawa Taiji, Kozuma Ken, Fujigaki Yoshihide, Seki George, Hayashi Matsuhiko, Shibata Shigeru | 4. 巻 321 |
| 2. 論文標題 A novel I551F variant of the Na/HCO ₃ cotransporter NBCe1-A shows reduced cell surface expression, resulting in diminished transport activity | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Renal Physiology | 6. 最初と最後の頁 F771 ~ F784 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajprenal.00584.2020 | 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 Shibata Shigeru, Kishi Takuya | 4. 巻 34 |
| 2. 論文標題 Updates on Renin-Angiotensin System Blockers in Hypertensive Patients With COVID-19 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Hypertension | 6. 最初と最後の頁 1145-1147 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpab130 | 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 Ochiai-Homma Fumika, Kuribayashi-Okuma Emiko, Tsurutani Yuya, Ishizawa Kenichi, Fujii Wataru, Odajima Kohei, Kawagoe Mika, Tomomitsu Yoshihiro, Murakawa Masataka, Asakawa Shinichiro, Hirohama Daigoro, Nagura Michito, Arai Shigeyuki, Yamazaki Osamu, Tamura Yoshifuru, Fujigaki Yoshihide, Nishikawa Tetsuo, Shibata Shigeru | 4. 巻 44 |
| 2. 論文標題 Characterization of pendrin in urinary extracellular vesicles in a rat model of aldosterone excess and in human primary aldosteronism | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Hypertension Research | 6. 最初と最後の頁 1557 ~ 1567 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-021-00710-5 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Hirohama Daigoro, Nishimoto Mitsuhiro, Ayuzawa Nobuhiro, Kawarazaki Wakako, Fujii Wataru, Oba Shigeyoshi, Shibata Shigeru, Marumo Takeshi, Fujita Toshiro | 4. 巻 78 |
| 2. 論文標題 Activation of Rac1-Mineralocorticoid Receptor Pathway Contributes to Renal Injury in Salt-Loaded Mice | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Hypertension | 6. 最初と最後の頁 82 ~ 93 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17263 | 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 Hosoya Takuji, Uchida Shunya, Shibata Shigeru, Tomioka Naoko H., Matsumoto Koji, Hosoyamada Makoto | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 Xanthine Oxidoreductase Inhibitors Suppress the Onset of Exercise-Induced AKI in High HPRT Activity Urat1-Uox Double Knockout Mice | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology | 6. 最初と最後の頁 326 ~ 341 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2021050616 | 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 Wang Qin, Ishizawa Kenichi, Li Jinping, Fujii Wataru, Nemoto Yoshikazu, Yamazaki Osamu, Tamura Yoshifuru, Miura Yutaka, Nie Xuedan, Abe Ryo, Segawa Hiroko, Kuro-O Makoto, Shibata Shigeru | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Urinary phosphate-containing nanoparticle contributes to inflammation and kidney injury in a salt-sensitive hypertension rat model | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Communications Biology | 6. 最初と最後の頁 575 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01298-1 | 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 該当する |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Yamazaki Osamu, Hirohama Daigoro, Ishizawa Kenichi, Shibata Shigeru | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Role of the Ubiquitin Proteasome System in the Regulation of Blood Pressure: A Review | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 5358 ~ 5358 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21155358 | 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 Morimoto Chikayuki, Tamura Yoshifuru, Asakawa Shinichiro, Kuribayashi-Okuma Emiko, Nemoto Yoshikazu, Li Jinping, Murase Takayo, Nakamura Takashi, Hosoyamada Makoto, Uchida Shunya, Shibata Shigeru | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 ABCG2 expression and uric acid metabolism of the intestine in hyperuricemia model rat | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids | 6. 最初と最後の頁 744 ~ 759 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2019.1694684 | 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 Sakai Kazuhiro, Yamazaki Osamu, Ishizawa Kenichi, Tamura Yoshifuru, Wang Qin, Ueno Masaki, Hayama Yuto, Fujigaki Yoshihide, Shibata Shigeru | 4. 巻 524 |
| 2. 論文標題 Upregulation of renal Na/K/2Cl cotransporter 2 in obese diabetes mellitus via a vasopressin receptor 2-dependent pathway | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 710 ~ 715 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.01.142 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Hirohama Daigoro, Kawarazaki Wakako, Nishimoto Mitsuhiro, Ayuzawa Nobuhiro, Marumo Takeshi, Shibata Shigeru, Fujita Toshio | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 PGI2 Analog Attenuates Salt-Induced Renal Injury through the Inhibition of Inflammation and Rac1-MR Activation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 4433 ~ 4433 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21124433 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Omizo Hiroki, Tamura Yoshifuru, Morimoto Chikayuki, Ueno Masaki, Hayama Yuto, Kuribayashi-Okuma Emiko, Uchida Shunya, Shibata Shigeru | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Cardio-renal protective effect of the xanthine oxidase inhibitor febuxostat in the 5/6 nephrectomy model with hyperuricemia | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 9326 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-65706-6 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Ishizawa Kenichi, Wang Qin, Li Jinping, Xu Ning, Nemoto Yoshikazu, Morimoto Chikayuki, Fujii Wataru, Tamura Yoshifuru, Fujigaki Yoshihide, Tsukamoto Kazuhisa, Fujita Toshio, Uchida Shunya, Shibata Shigeru | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 Inhibition of Sodium Glucose Cotransporter 2 Attenuates the Dysregulation of Kelch-Like 3 and NaCl Cotransporter in Obese Diabetic Mice | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology | 6. 最初と最後の頁 782 ~ 794 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2018070703 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Ishizawa Kenichi, Wang Qin, Li Jinping, Yamazaki Osamu, Tamura Yoshifuru, Fujigaki Yoshihide, Uchida Shunya, Lifton Richard P., Shibata Shigeru | 4. 巻 116 |
| 2. 論文標題 Calcineurin dephosphorylates Kelch-like 3, reversing phosphorylation by angiotensin II and regulating renal electrolyte handling | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 3155 ~ 3160 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1817281116 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Wang Qin, Wang Derun, Shibata Shigeru, Ji Tianrong, Zhang Lei, Zhang Rui, Yang He, Ma Linlin, Jiao Jundong | 4. 巻 511 |
| 2. 論文標題 Group I metabotropic glutamate receptor activation induces TRPC6-dependent calcium influx and RhoA activation in cultured human kidney podocytes | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 374 ~ 380 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.02.062 | 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 Shibata Shigeru | 4. 巻 32 |
| 2. 論文標題 Role of Pendrin in the Pathophysiology of Aldosterone-Induced Hypertension | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Hypertension | 6. 最初と最後の頁 607 ~ 613 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpz054 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Kikuyama Takahiro, Susa Takao, Tamamori-Adachi Mimi, Iizuka Masayoshi, Akimoto Miho, Okinaga Hiroko, Fujigaki Yoshihide, Uchida Shunya, Shibata Shigeru, Okazaki Tomoki | 4. 巻 199 |
| 2. 論文標題 25(OH)D3 stimulates the expression of vitamin D target genes in renal tubular cells when Cyp27b1 is abrogated | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology | 6. 最初と最後の頁 105593 ~ 105593 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2020.105593 | 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 5件 / うち国際学会 7件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shigeru Shibata |
| 2. 発表標題 Role of KLHL3 in blood pressure and electrolyte homeostasis |
| 3. 学会等名 International Society of Hypertension 2022 Kyoto (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Kenichi Ishizawa, Ken Kaseda, Osamu Yamazaki, Shigeru Shibata |
| 2. 発表標題 Creation and characterization of the ubiquitin ligase KLHL3-S433A knock-in mice |
| 3. 学会等名 International Society of Hypertension 2022 Kyoto (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Daigoro Hirohama, Mitsuhiro Nishimoto, Nobuhiro Ayuzawa, Wakako Kawarazaki, Wataru Fujii, Shigeyoshi Oba, Shigeru Shibata Takeshi Marumo and Toshiro Fujita |
| 2. 発表標題 Activation of Rac1-mineralocorticoid receptor pathway contributes to renal injury in salt-loaded db/db mice |
| 3. 学会等名 AHA Hypertension 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Minoru Yasukawa, Shigeyuki Arai, Michito Nagura, Shinichiro Asakawa, Daigoro Hirohama, Osamu Yamazaki, Yoshifuru Tamura, Hiroko Kodama, Shunya Uchida, Yoshihide Fujigaki, Shigeru Shibata |
| 2. 発表標題 Association of serum selenium levels with the response to erythropoiesis-stimulating agents in maintenance hemodialysis patients |
| 3. 学会等名 ASN Kidney Week 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Fumika Ochiai-Homma, Emiko Kuribayashi-Okuma, Yuya Tsurutani, Kenichi Ishizawa, Kohei Odajima, Mika Kawagoe, Yoshihiro Tomomitsu, Masataka Murakawa, Shinichiro Asakawa, Daigoro Hirohama, Michito Nagura, Shigeyuki Arai, Osamu Yamazaki, Yoshifuru Tamura, Yoshihide Fujigaki, Tetsuo Nishikawa, Shigeru Shibata |
| 2. 発表標題 Characterization of pendrin in urinary extracellular vesicles in a rat model of aldosterone excess and in human primary aldosteronism |
| 3. 学会等名 ASN Kidney Week 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Osamu Yamazaki, Maho Yamashita, Tadashi Yoshida, Junichi Hirahashi, Matsuhiko Hayashi Shigeru Shibata |
| 2. 発表標題 A novel I551F variant of Na ⁺ /HCO ₃ ⁻ cotransporter NBCe1 shows reduced cell surface expression and may exert a dominant negative activity |
| 3. 学会等名 ASN Kidney Week 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 佐藤陽菜、山崎 修、森本幾之、新井繁幸、古川泰司、上妻 謙、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 近位尿細管ナトリウム輸送体NBCe1の新規変異体R881Sの機能的解析 |
| 3. 学会等名 第65回日本腎臓学会総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 早間悠人、落合文佳、栗林恵美子、田村好古、内田俊也、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 原発性アルドステロン症患者の尿エクソソームにおける上皮性ナトリウムチャネルの検討 |
| 3. 学会等名 第65回日本腎臓学会総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 柴田 茂 |
| 2. 発表標題 食塩感受性の亢進機序：腎臓 |
| 3. 学会等名 日本高血圧学会高血圧フォーラム (招待講演) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名 柴田 茂 |
| 2. 発表標題 腎臓内シグナル伝達系、慢性腎臓病と高血圧 |
| 3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 柴田 茂 |
| 2. 発表標題 血圧・電解質調節に及ぼす集合管間在細胞の役割 |
| 3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 落合文佳、栗林恵美子、石澤健一、藤井航、浅川信一郎、広浜大五郎、奈倉倫人、新井繁幸、山崎 修、田村好古、藤垣嘉秀、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 尿中exosome画分のpendrin発現は原発性アルドステロン症患者のアルドステロン・レニン比と相関し、治療により減弱する |
| 3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山中仁樹、田村好古、内田俊也、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 PAN腎症モデルにおけるエネルギー代謝異常とATP感受性カリウムチャネルの病的役割の検討 |
| 3. 学会等名 第64回日本腎臓学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 落合文佳、栗林恵美子、石澤健一、浅川信一郎、広浜大五郎、奈倉倫人、新井繁幸、山崎 修、田村好古、藤垣嘉秀、鶴谷悠也、西川哲男、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 原発性アルドステロン症におけるCl/HCO3輸送体pendrinの検討 |
| 3. 学会等名 第64回日本腎臓学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 安川穂、新井繁幸、奈倉倫人、田村好古、浅川信一郎、広浜大五郎、山崎 修、田村好古、三牧正和、児玉浩子、木戸亮、藤巻道孝、小林沙和子、内田俊也、藤垣嘉秀、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 血液透析患者のESA反応性におけるセレンの役割と鉄動態との関連 |
| 3. 学会等名 第64回日本腎臓学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Fumika Ochiai, Emiko Kuribayashi-Okuma, Kenichi Ishizawa, Yuya Tsurutani, Tetsuo Nishikawa, Shigeru Shibata |
| 2. 発表標題 Pre- and post-treatment analysis of pendrin in the urinary exosome in primary aldosteronism |
| 3. 学会等名 AHA Hypertension (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|----------------------------|
| 1. 発表者名 柴田 茂 |
| 2. 発表標題 MR拮抗薬と高血圧関連疾患 |
| 3. 学会等名 日本腎臓学会総会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大溝啓揮、田村好古、森本幾之、浅川信一郎、上野雅樹、早間悠人、内田俊也、藤垣嘉秀、柴田 茂 |
| 2. 発表標題 febuxostatは高尿酸血症合併CKDモデルにおいて酸化ストレス負荷を軽減し、腎障害および心肥大を抑制する |
| 3. 学会等名 日本腎臓学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 広浜大五郎、西本光宏、鮎澤信宏、河原崎和歌子、大庭成喜、丸茂丈史、柴田茂、藤田敏郎 |
| 2. 発表標題 新たな糖尿病性腎臓病モデルの開発とミネラルコルチコイド受容体の関与の解明 |
| 3. 学会等名 高血圧関連疾患学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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 |
|-------|---|-----------------------------|----|
| 研究分担者 | 石澤 健一 (Ishizawa Kenichi) (10772684) | 帝京大学・医学部・講師 (32643) | |
| 研究分担者 | 山崎 修 (Osamu Yamazaki) (80757229) | 帝京大学・医学部・准教授 (32643) | |
| 研究分担者 | 田村 好古 (Tamura Yoshifuru) (10459315) | 帝京大学・医学部・准教授 (32643) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|