

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08672

研究課題名（和文）妊娠時悪環境による成人後高血圧発症機序の解明と治療可能性の検討

研究課題名（英文）Exploratory research about the mechanism of prenatal programmed hypertension

研究代表者

西本 光宏（Nishimoto, Mitsuhiro）

国際医療福祉大学・国際医療福祉大学三田病院・准教授

研究者番号：90646572

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠時の悪環境は胎児に成人後にも残る遺伝子制御上の影響を残し、妊娠中の過度な低栄養やストレス反応は成人後に様々な疾患を引き起こす。本研究ではこれらのストレスによって血圧制御中枢である視床下部だけでなく、腎臓での尿細管での食塩再吸収調節因子が先天的に変化し、食塩感受性高血圧の発症原因となりうることを示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期の母体へのストレスが、成人後の高血圧発症の原因になりうることを示し、さらにその原因となりうる機序の解明につながる成果をえた。今後研究を進めることにより、現在ほとんど原因のわかっていない高血圧の発症の原因を明らかにし、新しい治療の解明に繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Maternal stress including maternal malnutrition induces the effect on the regulation of gene expression in adulthood of offspring. Therefore, these stresses induce various diseases. In this research, we elucidated these maternal stress evoke adulthood salt-sensitive hypertension by epigenetic changes not only in the center of blood pressure regulation in the brain, but also in the renal tubule sodium handling transporters.

研究分野：高血圧

キーワード：食塩感受性高血圧 胎児期

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

妊娠時悪環境と子の成長後生活習慣病発症

妊娠中の母体低栄養は高血圧を含む心血管病、肥満、糖尿病などの生活習慣病のリスクとなることが知られているが、これらの疾患リスクは極端な低栄養に限らず、カロリー制限や高齢出産、喫煙といった他因子による子宮内発育遅延(IUGR)とも相関することが分かってきた。妊娠時ストレスは一過性でありながらその影響が残存することから胎児/新生児に一種のプログラミング変化を起こしていると考えられている。このような変化は種々の疾患に対する感受性を変化させ、その後の環境要因と相互作用して疾病を引き起こすとする考え方が認められつつある (Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD)仮説)。この「プログラミング」の機序として遺伝子発現自体ではなく、遺伝子発現の調節機構であるエピジェネティック変化の関与が想定されてきた。高血圧においても個人によって大きく異なる食塩感受性を説明する機序として一つの有力な考え方であったが、具体的な制御系は不明であった。

エピジェネティック変化による遺伝子発現調節

1 個体中の体細胞は同一の遺伝情報を持つが、各々個別の発現プロファイルを持ち別の細胞へと分化する。単一遺伝情報から異なる遺伝子発現を起こす制御機構はエピジェネティクスと呼ばれ、主に DNA の構造変化によって発現調節を行う。中でも DNA メチル化は発生期に調節が行われた後は比較的長期に変化しにくいとされてきた。しかし実際にはがん化や動脈硬化など疾患における不可逆変化の原因となっていることが明らかになってきた。DNA メチル化に働く酵素として DNA メチル基転移酵素 DNMT が知られる。DNMT は DNA をメチル化して遺伝子発現を抑制する方向に主に作用する。報告者らはこれまで糖尿病腎における DNA メチル化変化を報告してきた(JASN 2015, AJP Renal Physiol. 2018, Sci Rep. 2009)。

視床下部室傍核のレニン・アンジオテンシン系活性化による食塩感受性高血圧発症

食塩感受性高血圧の発症には自律神経の異常活性化の関与が知られている(Nishimoto M and Fujita T. AJP Renal Physiol.2015)。自律神経の最上位の制御中枢である視床下部、とくに室傍核が食塩感受性高血圧の中枢として注目されている。またレニン・アンジオテンシン系(RA 系)は強力な昇圧ホルモンであるアンジオテンシン II の制御系であるが、その異常活性化は各臓器局所でも臓器障害や血圧上昇の原因となる。室傍核においてもアンジオテンシン II の受容体である AT1 (げっ歯類では AT1a/b) の室傍核での発現が食塩感受性高血圧に必須であることが示されている (Li ら Am J Physiol.1996, de Kloet ら J Neurosci.2017)。

妊娠時悪環境による血圧制御中枢のエピジェネティック変化

報告者らは妊娠時低栄養によって起きる糖質コルチコイド (GC)の胎児への過剰暴露が血圧中枢である室傍核神経細胞のエピジェネティック変化を惹起し、成人後食塩感受性高血圧の原因となることを報告した(JCI Insight 2019, 図 1)。低蛋白食を与えた妊娠ラット(LP モデル)や胎盤通過性 GC であるデキサメサゾン(Dex)を投与した妊娠ラット、マウス(Dex モデル)の産仔は成長後に食塩感受性高血圧を発症する。これらのモデルでは血圧中枢で DNA メチル化を行う酵素 DNMT3a の発現と AT1a 遺伝子への作用が低下し、結果として AT1a 遺伝子のエピジェネティック変化を起こし、AT1a が持続的に高発現していた。遺伝工学的介入によってこの経路が高血圧発症に寄与していることを確認した。

胎児期 GC 過剰暴露による腎尿細管食塩再吸収機構の異常

食塩感受性高血圧の古典的モデルである Guyton 仮説によれば、交感神経の異常活性化は腎尿細管での食塩再吸収亢進を介して高血圧を惹起するとされる。実際報告者らは食塩感受性高血圧発症における腎尿細管機序を報告してきた(AJP Renal Physiol 2015, Hypertension 2017, JASN 2018, Hypertens Res 2019)。上記の母体ストレスモデルにおいては中枢性の交感神経持続活性化が腎尿細管での過剰な食塩再吸収を起こす機序を想定しているが、胎生期の腎に過剰な GC が直接作用する経路も想定された。中枢性交感神経活性化以外の機序として、これら尿細管局所で輸送体を制御する分子のエピジェネティック変化が胎生期に直接に惹起されている

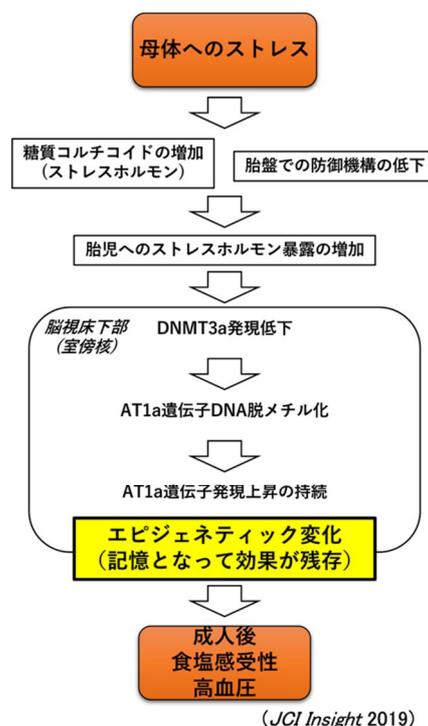


図1. 母体悪環境による高血圧発症機序

母体へのストレスは糖質コルチコイドそのものを増加させるとともに胎盤での防御能を低下させ、胎児の糖質コルチコイド(GC)への暴露が増加する。過剰なGCはDNAメチル化酵素DNMT3aの発現を抑制し、AT1a遺伝子のDNAメチル化を低下させる。DNAメチル化は長期間に渡って保たれやすく、結果として室傍核でのAT1a遺伝子発現上昇が持続し、成人後の食塩感受性高血圧を惹起する。

ことも想定された。

## 2. 研究の目的

妊娠時ストレスによる成人後高血圧発症に対する治療可能性の検討、特に腎尿細管への糖質コルチコイドのエピジェネティック変化を含めた作用の解明

## 3. 研究の方法

(1) 妊娠第三期に合成コルチコステロイドであるデキサメサゾン投与したマウスから出生した産仔とプラセボを投与したマウスから出生した産仔について成人後の腎での食塩再吸収に寄与する分子並びにその調節因子を比較検討した。

(2) 妊娠第三期に合成コルチコステロイドであるデキサメサゾン投与したマウスから出生した産仔とプラセボを投与したマウスから出生した産仔について出生3週齢から6週齢まで、または3週齢から10週齢までMR拮抗薬エプレレノン投与し、上記で明らかになった食塩再吸収関連分子の発現・活性化への影響を検討した。さらに成人後アルドステロンが抑制される高食塩食負荷の状態でもエプレレノンの効果を検討した。

(3) 上記のモデルについてそれぞれの食塩再吸収阻害薬投与による尿量の変化を検討し、実際の食塩再吸収への寄与を検討した。

(4) 成人後のマウスについて生理的で鉱質コルチコイド作用をもつコルチコステロンならびに鉱質コルチコイド作用を持たないデキサメサゾン投与し、食塩再吸収関連遺伝子発現ならびに活性化の状態を比較した。尿細管特異的糖質コルチコイド受容体欠損マウスについても同様の比較を行った。

## 4. 研究成果

(1) prenatal dexamethasone 投与モデルでは腎尿細管における食塩再吸収関連分子のうち NCC、NKCC2、ENaC、Pendrin の膜分画への蛋白発現の増加を認めた(図2)。一方 NHE3 や NaKATPase については明確な変動は認めなかった。これらの遺伝子の mRNA 発現については一定の傾向を認めなかったため、制御因子について検討した。NCC/NKCC2 の既知の制御遺伝子については WNK1, WNK4, OSR1 については mRNA レベルで上昇傾向を認めた。一方 ENaC の制御因子として糖質コルチコイド受容体(GR)および鉱質コルチコイド受容体(MR)が想定されたが、mRNA レベルでは GR のわずかな上昇をみとめ、MR については差を認めなかった。GR および MR は転写因子であるためそのシグナルの状態を検討するため下流遺伝子の発現を検討した。Ata1a1, KSWNK1 遺伝子の発現は変化がなかったが、Sgk1 および Fkbp5 遺伝子については Dex モデルで発現の抑制が認められ、GR のシグナルは代償的に抑制されていることが示唆された。

(2)(1) で得られた MR の関与について明確にするため離乳後から MR 拮抗薬であるエプレレノン投与したところ食塩感受性高血圧が抑制された。(1)での食塩再吸収関連輸送体のうち ENaC は予想通り抑制されたが、NCC についても抑制が認められた。Renin-angiotensin 系阻害薬の小児期の投与は成人後の食塩感受性高血圧を軽減するとのマウスモデルでの既報が存在するため、MR 拮抗薬の効果に残存効果があるかを検討した。3~6週齢の小児期にエプレレノン投与しても成人後の NCC 活性化は抑制できず、食塩感受性高血圧発症についても効果は認められなかった。GR の関与については尿細管特異的 GR 欠損マウスでの検討を行った。尿細管特異的 GR 欠損マウスでは NCC や ENaC について control の状態でも蛋白発現が抑制されており、prenatal dexamethasone 投与母体からの産仔でも抑制されていた。

(3) NCC および ENaC の活性化を生体レベルで確認するため、それぞれの阻害薬であるヒドロクロロチアジドおよびアミロライドを投与する検討を行ったが、明確に NCC, ENaC が活性化しているモデルあるいは食塩負荷を行っても尿量やナトリウム排泄で明確な差を見出せず、さらなる実験系の検討が必要と考えられた。

(4)(2)において尿細管特異的 GR 欠損マウスで NCC, ENaC の発現低下があったため、糖質コルチコイドの食塩再吸収関連輸送体発現変化への検討を行った。

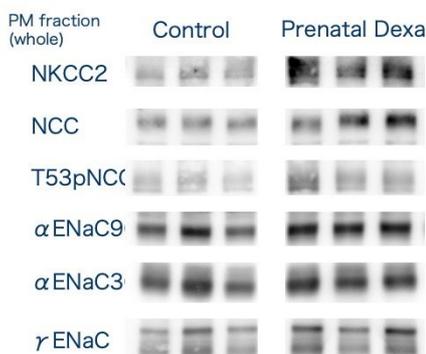


図2. 妊娠期デキサメサゾン投与による食塩再吸収関連輸送体発現

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 西本光宏、藤田敏郎	4. 巻 109
2. 論文標題 医学と医療の最前線 胎児期から成人にいたる食塩感受性高血圧	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本内科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 2191-2198
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 西本 光宏、下澤 達雄	4. 巻 126
2. 論文標題 特集 いま知っておきたい! 内科最新トピックス 巻頭トピックス 選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬の使い方	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 363~366
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15106/j_naika126_363	査読の有無 無
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 Ayuzawa Nobuhiro, Nishimoto Mitsuhiro, Ueda Kohei, Hirohama Daigoro, Kawarazaki Wakako, Shimosawa Tatsuo, Marumo Takeshi, Fujita Toshiro	4. 巻 31
2. 論文標題 Two Mineralocorticoid Receptor-Mediated Mechanisms of Pendrin Activation in Distal Nephrons	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 748~764
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1681/ASN.2019080804	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 該当する
1. 著者名 Kawarazaki Wakako, Mizuno Risuke, Nishimoto Mitsuhiro, Ayuzawa Nobuhiro, Hirohama Daigoro, Ueda Kohei, Kawakami-Mori Fumiko, Oba Shigeyoshi, Marumo Takeshi, Fujita Toshiro	4. 巻 130
2. 論文標題 Salt causes aging-associated hypertension via vascular Wnt5a under Klotho deficiency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 4152-4166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI134431	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 該当する

1. 著者名 Hirohama Daigoro, Kawarazaki Wakako, Nishimoto Mitsuhiro, Ayuzawa Nobuhiro, Marumo Takeshi, Shibata Shigeru, Fujita Toshiro	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 該当する

1. 著者名 Marumo Takeshi, Hoshino Junichi, Kawarazaki Wakako, Nishimoto Mitsuhiro, Ayuzawa Nobuhiro, Hirohama Daigoro, Yamanouchi Masayuki, Ubara Yoshifumi, Okaneya Toshikazu, Fujii Takeshi, Yuki Kazunari, Atsumi Yoshihito, Sato Atsuhisa, Arai Eri, Kanai Yae, Shimosawa Tatsuo, Fujita Toshiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Methylation pattern of urinary DNA as a marker of kidney function decline in diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Research & Care	6. 最初と最後の頁 e001501 ~ e001501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjdr-2020-001501	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 該当する

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 [西本 光宏]
2. 発表標題 水電解質領域および尿細管機能の基礎研究:最近の進歩と臨床へのつながり 妊娠時低栄養による食塩感受性高血圧のエピジェネティック機序
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西本 光宏
2. 発表標題 妊娠時低栄養による食塩感受性高血圧発症機序
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会関東支部 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西本 光宏
2. 発表標題 高血圧発症機序の解明－血管内皮機能調節と食塩感受性規定因子の研究－
3. 学会等名 第15回Vascular Biology Innovationに関する研究助成 研究発表会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西本光宏、森典子、広浜大五郎、鮎澤信宏、河原崎和歌子、丸茂丈史、藤田敏郎
2. 発表標題 妊娠時ストレスによる食塩感受性高血圧発症機序の解明
3. 学会等名 Vascular Biology Innovationに関する研究助成 第14回研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西本光宏
2. 発表標題 高血圧と食塩
3. 学会等名 東京大学先端研カフェセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------