

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17867

研究課題名（和文）ヒト心房ナトリウム利尿ペプチド（ANP）による急性腎障害改善効果

研究課題名（英文）Atrial natriuretic peptide (ANP) improves acute kidney injury

研究代表者

北村 裕亮（kitamura, hiroaki）

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50457347

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000 円

研究成果の概要（和文）：心臓の交感神経刺激（ β 受容体）により、組織にナトリウム貯留、水分貯留を引き起こすことが分かった。急性期低血圧状態でもよく β 刺激薬による電解質異常を認めるので、そのメカニズムと高ナトリウム状態の改善のANPの可能性に関する研究つながった。オピオイドアゴニスト投与により、敗血症性急性腎障害AKIの尿滞留が改善することが見つかった。薬剤性腎障害モデルとしてシスプラチン投与後のANP投与によるAKIが改善する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性期でも臨床上特に、敗血症や、急性心不全、高炎症状態（高度侵襲の手術など）で低血圧を引き起こす場合の β 刺激薬が投与され、電解質バランス異常がよく散見される。臨床上に近いモデルになると考える。敗血症性急性腎障害AKIの尿滞留に関してはANPもしくはオピオイドが改善効果を示すことは現時点では完全に治療、予防のできない敗血症性AKIの改善に向けての一步になると考える。薬剤性腎障害モデルとしてシスプラチン投与後のAKIの改善に関しては現時点で治療が確立されていないので投与タイミングなどわかることは有用であると考ええる。

研究成果の概要（英文）：Cardiac sympathetic stimulation (beta receptors) causes sodium and water retention in tissues. Opioid agonist administration improved urine retention in septic acute kidney injury AKI. ANP administration improves AKI after cisplatin administration as a model of drug-induced renal injury.

研究分野：急性腎障害

キーワード：ヒト心房ナトリウム利尿ペプチド 急性腎障害 ナトリウム貯留 尿滞留

1. 研究開始当初の背景

急性腎不全 (AKI) は虚血、敗血症、造影剤等様々な要因で発生し、急性期の死亡率を上げる原因となる。また、治療を行っても、慢性腎不全、血液透析に至ることもあり、治療方法の構築が望まれるが、いまだにメカニズムも判明していない。

我々は、ANP が敗血症性 AKI で発生する近位尿細管での尿滞留を改善することを発見し報告した¹⁾。図 1 は生体内での尿の流れを観察した画像である。ラットに蛍光色素を静脈内投与することにより尿を可視化し、2 光子励起顕微鏡で観察している。緑色の管腔構造は近位尿細管でアスタリスクの部分に遠位ネフロンが存在する。コントロール群 (control) で尿は 60 秒以内にすべてのネフロンで遠位ネフロンに色素が到達する。Lipopolysaccharide (LPS) を腹腔内投与すると尿滞留が起こり、近位尿細管に蛍光色素が残存し、遠位ネフロンに到達しない部分が発生する (LPS 群)。輸液蘇生 (LPSF 群) では一部分しか、近位尿細管の尿滞留は改善しない。ANP (LPSFH 群) は全体的な尿滞留が改善すると証明した。さらにこの研究において ANP 作用部位が近位尿細管に対する ANP の直接作用であることを世界に先駆けて証明した。

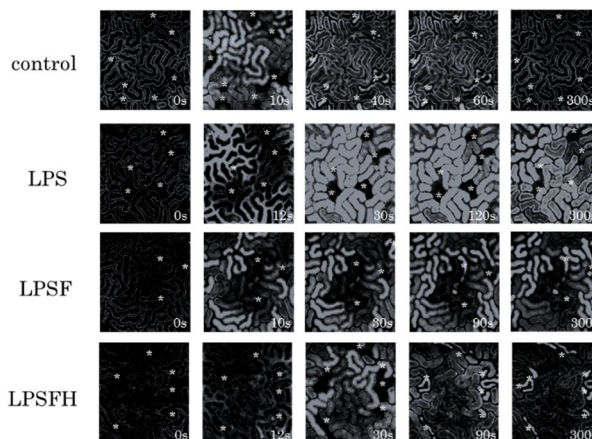


図1 敗血症性AKIでの生体イメージング画像

虚血再灌流障害による AKI は主に近位尿細管が障害され、その回復過程で近位尿細管細胞が線維組織に置き換わり、腎機能障害が発生する。敗血症、手術などの炎症反応による AKI では炎症反応サイトカインなどに近位尿細管障害が発生する。造影剤などの薬剤による AKI では、薬剤が尿細管管腔内に濾過され、近位尿細管でサイトカインや酸化ストレスを起こし近位尿細管障害を起こす。いずれの腎障害においても、近位尿細管障害は 1 つの治療ターゲットになる。

以前より、腎内のレニンアンギオテンシノーゲン系 (RAS) が近位尿細管にあり、近位尿細管障害に関与していると考えられてきた。腎内の RAS は全身のレニンアンギオテンシン系とは乖離して慢性腎障害の進展に関与しているといわれている。近年、AKI においても腎内 RAS の関与が示唆されるデータが出てきている。

ANP にはアンギオテンシノーゲン系の抑制作用がある。さらに、血管拡張作用、Glycocalix に作用し、血管透過性調節作用があるとされている。我々は ANP の腎内 RAS の抑制作用による腎障害軽減効果があると考えている。

今回の研究では虚血再灌流障害、炎症、造影剤による AKI をターゲットとして、ANP による急性腎障害の予防、治療に関して、研究を進めていく。また、臨床上 ANP では治療効果がない場合もあるので、その他の薬剤に関しても調査していく。

2. 研究の目的

急性腎障害 (AKI) は病院内死亡の大きな要因である。AKI を発症する原因は多岐にわたり、有効な早期診断、治療手段がない。AKI のメカニズムの一つとして、近位尿細管の障害が注目されている。我々は動物実験で生体イメージング技術を駆使することにより、ヒト心

房ナトリウム利尿ペプチド（ANP）が近位尿細管のレセプターに作用し、敗血症性 AKI で発生する近位尿細管の尿滞留に有効であることを突き止めた。ANP は近位尿細管の直接作用に着目し、AKI で発生する近位尿細管障害の改善効果があると考えている。

本研究計画は、臨床使用するための AKI の治療を行うための戦略を構築することである。

どのタイプのAKIにANPは有効か？

ANPの近位尿細管障害を改善する投与量、タイミング、投与期間の検討。

その他の薬剤に関するAKIの治療方法の構築。

3．研究の方法

（１）虚血再灌流障害、炎症、造影剤によるAKIモデルでのANPによる腎障害軽減効果

炎症、敗血症モデル：LPSを腹腔内投与するもしくは、大腸穿孔モデル。

造影剤腎症：シスプラチンを腹腔内投与する。

ANP投与プロトコール：麻酔したマウスの頸静脈にカテーテル留置する。コントロール群（生食投与）とANP腎障害前からと腎障害後から投与するものに分けて、腎障害の程度の変化を調査する。それぞれANP投与量を0.01～0.3 μg/kg/minまで変化させて、最も有効な投与量を確定させる。

オピオイドアゴニスト投与モデル：オピオイド（κアゴニスト）を投与し、腎障害の改善効果をチェックする。

腎障害の程度は以下の項目でチェックする

血液、尿解析：尿量測定、尿素窒素濃度、クレアチニン濃度を測定。

腎障害マーカー：尿中KIM-1、アンギオテンシノーゲンを測定。

組織学的解析：腎障害発生3日後、7日後のHE染色、Azan染色等で腎障害、線維化の評価
生体イメージングによる急性期の腎組織の尿速度解析（機能評価）

（２）腎線維化の予防効果

腎組織採取し、腎組織の線維化が軽減していることを、mRNAの解析を行うことでチェックする。RT-PCRでTGF-β、VEFG-AのmRNAの発現レベルのチェックを行う。

腎線維化の指標：TGF-β、VEFG-AのmRNAのRT-PCR

（３）近位尿細管障害、Glycocalixに対する腎障害改善効果

腎サンプルより測定する。腎組織からPCR法、western blot法によりアンギオテンシノーゲンの近位尿細管でのmRNA、タンパク質の発現レベルのチェックを行う。血管透過性変化のチェックのため、syndecan-1のmRNAのチェックを行う⁴⁾。

4．研究成果

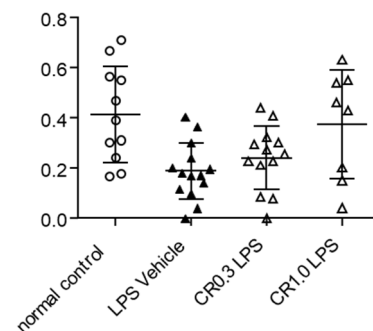
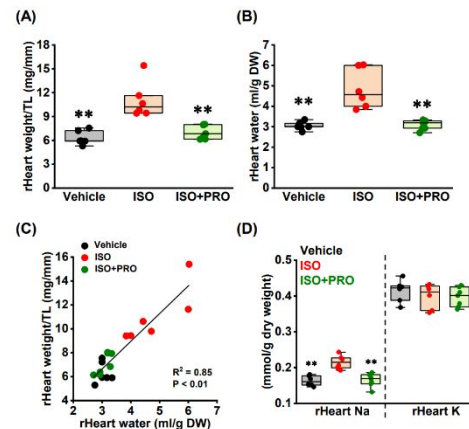
様々なタイプの腎障害モデルを作成し、ヒト心房ナトリウム利尿ペプチド（ANP）を投与した。そうして、いくつか臨床に近いモデルも作成した。

1、心臓の交感神経刺激(β受容体)により、組織にナトリウム貯留、水分貯留を引き起こすことが分かった(右図)。慢性的には心肥大などの問題を引き起こす。急性期でも臨床上特に、敗血症や、急性心不全、高炎症状態(高度侵襲の手術など)では低血圧を引き起こす場合、よくβ刺激薬が投与される。

今後の課題として、β刺激薬が投与されている状況ではナトリウム貯留しやすいのであれば、他の利尿薬よりも尿中にナトリウム排泄を促す ANP を投与するほうが有用ではないかと考え研究を続けている。

2、ANP 自体がオピオイドの投与によって血漿中に増加することが報告されている。今回、オピオイドアゴニスト投与により、敗血症性急性腎障害 AKI の尿滞留が改善することが見つかった(右図)。今後、同様にオピオイドによる敗血症性 AKI の改善効果、ANP 増加効果などの腎作用部位の特定をサンプル採取し、原因究明を行う予定である。

3、薬剤性腎障害モデルとしてシスプラチン投与後の AKI の改善効果の研究も進めている。過去の研究を参考に用量設定したがシスプラチンの強さが強すぎたのか、思うような結果が出ていない。再度容量の見直しなどを行い、予備実験により本研究に使用する適切なシスプラチン誘導性 AKI モデルマウスを作ることができた。近位尿細管だけでなく集合管や腎髄質まで幅広く研究を行うため、腎サンプルの採取を行っている。今後、実験で得られた腎サンプルを用いて解析し、ANP による AKI 改善効果の分子機序の解明を実施していく。1.に関しては論文投稿中である。2 に関しては論文作成中である。3 に関しては解析後論文投稿予定である。



1) Steeve Akumwami, Kento Kitada, Yoshihide Fujisawa, Netish Kumar Kundo, Hideki Kobara, Tsutomu Masaki, Hiroaki Kitamura, Asadur Rahman, Yuichi Ogino, Akira Nishiyama: Chronic activation of β-adrenenergic receptors leads to body water and electrolyte retention at the tissue level; Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Steeve Akumwami, Kento Kitada, Yoshihide Fujisawa, Netish Kundo, Md. Moshiur Rahman, Asahiro Morishita, Hiroaki Kitamura, Asadur Rahman, Yuichi Ogino, Akira Nishiyama	4 . 巻 -
2 . 論文標題 Chronic activation of β -adrenynic receptors leads to body water and electrolyte retention at the tissue level	5 . 発行年 2024年
3 . 雑誌名 Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics	6 . 最初と最後の頁 -
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 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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------