

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：22701

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21606

研究課題名(和文)皮膚組織の受容体結合性機能制御蛋白による心血管腎臓病の新規病態連関制御機構の解明

研究課題名(英文)Activation of the skin renin-angiotensin system contributes to the development of hypertension

研究代表者

田村 功一(TAMURA, Kouichi)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：40285143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年、皮膚局所における血管収縮やNa貯留についても高血圧と関連する可能性が報告され、最大の臓器である皮膚組織の血圧調節における機能的意義が注目されている。代表的な血圧調節機構であるレニン・アンジオテンシン系は皮膚での存在も明らかにされているが、皮膚組織レニン・アンジオテンシン系の生体における役割や病態との関連は未解明である。本研究は高血圧の進展における皮膚組織RASの病態生理学的意義を臨床・基礎の両側面から検討した。その結果、皮膚組織レニン・アンジオテンシン系の制御による皮膚血管機能調節が、高血圧予防・治療法開発の新規標的となる可能性を明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、外的環境に対する防御機能を担う皮膚組織に存在する循環制御メカニズムの皮膚組織レニン-アンジオテンシン系の意義に着目し、臓器間ネットワーク制御による高血圧克服のための治療標的としての意義を明らかにし、また、皮膚組織と高血圧との新たな接点を提唱することができた。今後は皮膚組織レニン-アンジオテンシン系が、高血圧などの予防・治療法開発の新規標的となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Recent studies suggests that modulation of vascular function and Na⁺ storage in the skin may contribute to blood pressure regulation in physiology and pathophysiology. Although the renin-angiotensin system, one of principal blood pressure regulators, reportedly exists in the skin tissue, its functional role remains unclear. This study aims to examine a putative role of skin tissue renin-angiotensin system in blood pressure regulation by animal experiments using genetic engineered mice and by clinical experiments using human skin samples. The results of our study suggest that functional status of skin renin-angiotensin system activity may exert a modulatory effect on blood pressure in response to certain pathological stimuli.

研究分野：一般内科学、腎臓内科学、内分泌内科学

キーワード：情報伝達系 受容体 腎臓病・高血圧 病態解明 治療標的

1. 研究開始当初の背景

今求められている健康長寿のさらなる向上にとっての課題は、高血圧・脳心血管病・腎臓病の克服である。これらの3つの病態は互いに密接に関連し共通の病態基盤を有しており、一体的に“心血管腎臓病(病態連関病)”として捉えることができる。共通の病態基盤における主要な循環調節系がレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系(RAA系)であり、RAA系の活性制御は“心血管腎臓病(病態連関病)”の克服のために重要である。

一方、腎臓の老化過程を制御する機序は、個体寿命調節に関与する機序と共通の分子機構を有している可能性が指摘されている(柏原直樹、他。日腎会誌、54:68-72、2012; Sato S、et al. Nat Commun、6:7035、2015)。加齢による腎臓の組織学的変化は、“不可逆的”に進行した慢性腎臓病における組織学的変化と同じく腎臓の尿細管間質線維化であり、慢性腎臓病は「腎性老化」が加速する病態と捉えることもできる(Schmitt R、et al. Kidney Int、92:569-79、2017; Shiels PG、et al. Nat Rev Nephrol、13:471-82、2017)。このように、“不可逆的”な慢性腎臓病での腎機能低下と個体の老化促進・寿命短縮は密接に関連し、前者の治療開発は、「腎性老化」改善による抗加齢制御のための新規治療法につながる可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

研究代表者は、生活習慣病誘発因子(angiotensin II; Ang II)受容体(AT1受容体)への新規結合蛋白(ATRAP)の単離・同定に成功し(Daviet L、Tamura K、et al. J Biol Chem、274:17058-62、1999)ATRAPに独自の機能として、細胞・組織表面に存在する受容体の細胞内取り込み(internalization)を促進し、受容体の生理的な情報伝達系活性には悪影響を与えない反面、臓器障害と関連した病的な情報伝達系過剰活性化に対して機能選択的な抑制作用を有することを明らかにしてきた(Tamura K、et al. Curr Hypertens Rep、9:121-7、2007; Curr Pharm Des、19:3043-8、2013)。そして、腎臓尿細管、特に遠位尿細管のATRAPが遠位尿細管AT1受容体-ENaC(上皮型Na⁺ transporter)系を制御することにより尿細管でのPrimaryなNa⁺再吸収調節を介して循環血漿量を変化させることにより、慢性Ang II刺激、高食塩負荷、慢性腎臓病の病的刺激時の血圧調節に関与していることを示してきた(Tamura K、et al. Curr Med Chem、22:3210-6、2015)。さらに、ATRAPが健常者の腎臓、特に尿細管細胞に高発現を呈するが、慢性腎臓病(IgA腎症)患者では腎機能障害の進行にともない腎臓近位尿細管ATRAP発現が低下すること(Masuda S、Tamura K、et al. Am J Physiol Renal Physiol、299:F720-31、2010)また全身性ATRAPノックアウトマウスでは加齢に伴い、腎臓の線維化がより亢進し、長寿遺伝子として知られるSIRT1の腎臓での発現量がAng II刺激非依存的に低下する(Uneda K、Tamura K、et al. J Am Heart Assoc、6:e006120、2017)ことなど、腎臓近位尿細管ATRAPの発現と慢性腎臓病の病態との関連を示唆する可能性も示してきた。

本研究では、外的環境に対する防御機能を担う皮膚組織について、「腎臓組織と共通の構造上の特徴を有し、RAA系構成要素遺伝子の発現が認められる」こと、「心血管腎臓病(病態連関病)の惹起物質(アンジオテンシンII)に対する受容体(AT1受容体)への新規結合蛋白ATRAPの発現が認められる」ことに着目する。そして、動物実験と臨床研究の両手法から、(1)皮膚組織のATRAPと血圧を中心とした循環系調節機構との関連性を明らかにし、また、(2)皮膚組織ATRAPが皮膚組織と心血管組織・腎臓組織との新たな臓器連関における『鍵因子』として“心血管腎臓病(病態連関病)”の治療標的となり得るについての検討を含めて解析した。

3. 研究の方法

まず、腎臓系での検討として、in vivoの実験系において、研究代表者らは慢性Ang II刺激性高血圧における腎近位尿細管ATRAPの機能的役割についての検討をおこなった。腎近位尿細管に発現特異性が高いと報告されているphosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)プロモーターによる発現制御を利用して、Cre/loxPシステムを用いて、近位尿細管特異的ATRAPノックアウトマウスを作成した。腎におけるATRAPの発現を、免疫染色およびレーザーマイクロダイセクション法を用いて、野生型マウスと近位尿細管特異的ATRAP-KOマウスとで比較検討を行った。次に、野生型マウスと近位尿細管特異的ATRAP-KOマウスに浸透圧ポンプを用いてAng II(1000 ng/kg/min)2週間にわたる慢性刺激実験を行い、テイルカフ法にて両群の血圧を測定した。さらに詳細な検討を行うため、Ang II投与による心肥大の程度(心体重比)の評価、Ang II投与中のテレメトリーシステムを用いた観血的な血圧測定および代謝ケージを用いたナトリウムバランスの評価を行った。また、野生型マウスと近位尿細管特異的ATRAP-KOマウスに浸透圧ポンプを用いて、より低用量のAng II(600 ng/kg/min)2週間にわたる慢性刺激実験を行い、両群の血圧をテイルカフ法で測定した。

次に、腎臓系でのin vitroの実験系において、ヒト近位尿細管細胞におけるATRAP発現量が、長寿遺伝子産物SIRT1の発現調節に与える影響を検討した。最初に、ヒト近位尿細管初代培養細胞にhTERTとCDKN2AをターゲットとしたshRNAを共発現させることによりimmortalized(i)RPTECを作成した。その後、限界希釈法にてクローン化を行い、クローン化不死化近位尿細管細胞

胞株を12種類取得した。得られた細胞株のうち、近位尿細管としての性質を、マーカーであるSGLT2とDPP4の発現量をRT-qPCR法により解析、さらに蛍光免疫染色することで行った。さらに、ATRAPとAT1受容体の発現量についてもRT-qPCR法で解析した。SGLT2及びDPP4を発現し、かつ十分なAT1受容体とATRAPの発現を認めた細胞株をcloned (c) iRPTECとし、その後の解析を行った。このciRPTECでは、SGLT2の発現量に対する遠位尿細管マーカーであるCalbindin1とAQP2の発現量を比較し、遠位尿細管のマーカーの発現が極めて少ないことを確認した。このciRPTECをもちいて、Ang II刺激や血清飢餓刺激を行い、ATRAPおよびSIRT1発現量に与える影響を検討した。さらに、ATRAP発現抑制 (siRNAによるノックダウン=KD)や欠損 (CRISPR-CAS9によるノックアウト=KO)を加えて検討した。

引き続き、皮膚組織での動物実験系での検討として、高血圧・腎臓病モデル動物におけるATRAP発現調節の解析、および皮膚組織局所でのATRAP発現調節による心血管腎臓病制御の検討を行った。高血圧・腎臓病モデル動物におけるATRAP発現調節の解析では、自然発症高血圧ラット(SHR)、5/6腎臓摘出・腎障害薬剤負荷による慢性腎臓病モデルラットにおける皮膚・皮下組織局所ATRAP発現(mRNA・蛋白)と血圧(テレメトリ法による直接測定)・腎機能(クレアチニンクリアランス法による測定)との関連性を検討した。さらに、皮膚・皮下組織局所でのATRAP発現調節による心血管腎臓病制御の検討では、作製済のATRAP-flxedマウスを利用して皮膚ケラチノサイト特異的ATRAP低発現マウス(K14-Cre+/ATRAPfl/flマウス)及び皮膚ケラチノサイト特異的ATRAP高発現トランスジェニックマウス(K14-ATRAP TGマウス)を作製し、皮膚組織のATRAP発現調節によるアンジオテンシンII刺激による高血圧と心血管障害、及び5/6腎臓摘出・腎障害物質負荷による慢性腎臓病の制御が実現できるかどうかについて検証した。さらに、皮膚組織での臨床的検討として、ヒト皮膚組織でのATRAP発現と高血圧、心血管障害、及び慢性腎臓病との関連性の検討を行った。横浜市立大学倫理審査委員会により承認済の横断的解析臨床研究(初回承認番号: B190500008; UMIN ID: 000035688)として、20歳以上の手術適応の直腸癌患者を対象とし、ストマ造設時に廃棄する腹部皮膚組織を収集して研究を行った。

4. 研究成果

1) 腎臓系での解析

・腎臓尿細管培養細胞系の確立

ヒト近位尿細管細胞におけるATRAPの機能を分析するために、不死化RPTECを作製した。次に、この不死化RPTECのクローン化を行い、得られた12クローンからmRNAを抽出して、近位尿細管マーカーであるSGLT2およびDPP4の発現量をRT-qPCR法で評価した。得られた12のクローン細胞株のうち、1C-8、2B-1および2F-5は、SGLT2 mRNA発現が高かった。これら3つのクローン細胞株の中で、2B-1がDPP4は最も高いmRNA発現を示した。次に、これらのクローン細胞株におけるATRAPおよびAT1受容体mRNA発現量を解析した。12クローンすべてでATRAP発現を認め、2B-1で最も高い内在性AT1受容体発現を認めた。次に近位尿細管マーカーに対する遠位尿細管マーカーの発現比を不死化前のRPTECと2B-1のクローン化不死化細胞株で比較した。不死化前RPTECは腎臓近位尿細管マーカーのSGLT2と遠位尿細管マーカーのカルビンディン1およびアクアポリン2の両方を発現し、遠位尿細管細胞が混入している可能性が示唆された。一方、2B-1クローン化不死化細胞株では、SGLT2と比較して、カルビンディン1およびアクアポリン2 mRNA発現量が極めて低いことを確認した。さらに2B-1クローン化不死化細胞株のAng II刺激に対する反応性も評価した。近位尿細管特異的なNaチャンネルNHE3 mRNA発現量が既報通り、Ang II濃度依存的に上昇することを観察した。以上の結果から2B-1クローン化不死化細胞株をclonal immortalized RPTEC (ciRPTEC)として腎臓尿細管培養細胞系の確立に成功した。

・腎臓尿細管培養細胞系の病的刺激に対する反応性

ciRPTECに対するAng II刺激が、ATRAPおよびSIRT1 mRNA発現量にどのような影響を与えるか評価した。ciRPTECでは、Ang II刺激によりATRAP mRNA発現量が有意に低下した。一方でSIRT1 mRNA発現量には変化を認めなかった。また、SIRT1とATRAPの発現量を上昇させる刺激として、血清飢餓刺激がこれまで報告されている(Shang L, et al. J Cell Mol Med, 13(10): 4176-84, 2009; Matsuda M, Tamura K, et al. Physiol Genomics, 43: 884-894, 2011)。そこで本研究でもciRPTECに対する血清飢餓刺激による、ATRAPおよびSIRT1 mRNA発現量に与える影響について評価した。その結果、血清飢餓刺激によりATRAPおよびSIRT1 mRNA発現量は有意に上昇した。

・ATRAP ノックダウンを行った際の不死化クローン化近位尿細管細胞におけるSIRT1の発現量変動及びSIRT1タンパクの半減期への影響

ciRPTECにおいて、siRNAを用いたATRAP ノックダウンを行い、SIRT1の発現量へ与える影響を評価した。ciRPTECにおいてATRAP ノックダウンにより、ATRAP mRNAおよびタンパク質発現量は減少した。また、血清飢餓刺激によりATRAP mRNA発現量が増加した。一方、ATRAPタンパク質発現量については血清飢餓刺激で変化は認めなかった。SIRT1については、ATRAP ノックダウンでmRNA発現量は変動しなかったが、タンパク質発現量は有意に減少した。ATRAP ノックダウンの有無に関わらず、血清飢餓刺激によってSIRT1 mRNA発現量が増加した。しかし、SIRT1 mRNAの発現量増加に関わらず、タンパク質発現量は変化を認めなかった。次に、ATRAP ノックダウンが

SIRT1 タンパクの安定性に影響を与えるかどうかを評価するために、タンパク質合成阻害剤であるエメチンを使用して、ATRAP ノックダウン下での ciRPTEC における SIRT1 タンパク質の半減期を評価した。ATRAP のノックダウンは ciRPTEC の SIRT1 タンパクの安定性には影響を与えなかった。

・腎臓尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスの作製

Ang II 刺激性高血圧における近位尿細管の病態生理学的役割を検討するため、研究代表者らはまず、Pepck-Cre を用いて Cre/loxP システムにより、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスを作製した。この近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスの腎臓における ATRAP 蛋白の発現および分布を確認するため、抗 ATRAP 抗体と特異的なネフロンマーカーを使用して免疫組織化学染色を行った。特異的ネフロンマーカーとして、主に遠位尿細管に発現しているカルシウム結合蛋白であるカルピンディン D に対するモノクローナル抗体と、近位尿細管管腔側に特異的に発現しているメガリンに対するモノクローナル抗体を用いた。これらの抗体で連続切片を免疫染色したところ、野生型マウスと比較して近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスの腎近位尿細管において特異的に ATRAP の免疫染色の減衰を認めた。

・Ang II 刺激が近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスの非観血的血圧、心拍数、体重に及ぼす影響

Ang II 刺激性高血圧における近位尿細管 ATRAP の機能的役割について検証した。週齢を合わせた近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスを次の 4 つのグループに振り分けた。(1) 近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに vehicle を投与した群、(2) 近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに Ang II (1000 ng/kg/min) を投与した群、(3) 野生型マウスに vehicle を投与した群、(4) 野生型マウスに Ang II (1000 ng/kg/min) を投与した群。ベースラインにおける近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスの収縮期血圧は野生型マウスと同等であった(繰り返しのある 2 元配置分散分析法、 $F=0.2744$ 、 $P=0.6092$)。また、Ang II を 2 週間投与すると、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスで有意かつ同程度に収縮期血圧が増加した(近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに vehicle を投与した群 vs 近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに Ang II を投与した群、繰り返しのある 2 元配置分散分析法、 $F=4.845$ 、 $P=0.0450$; 野生型マウスに vehicle を投与した群 vs 野生型マウスに Ang II を投与した群、繰り返しのある 2 元配置分散分析法、 $F=5.945$ 、 $P=0.0299$; 近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに Ang II を投与した群 vs 野生型マウスに Ang II を投与した群、繰り返しのある 2 元配置分散分析法、 $F=0.1014$ 、 $P=0.7548$)。Ang II を投与した時の収縮期血圧の変化量も近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスで同等であった。その一方で、4 群間で心拍数に違いは認めなかった。Ang II を 2 週間投与すると、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスで同程度に投与期間中の体重増加が抑制された。

・低用量の Ang II 刺激が野生型マウスと近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスの血圧に及ぼす影響

Ang II 刺激性高血圧における近位尿細管 ATRAP の病態生理学的役割をさらに検証するため、低用量の Ang II (600 ng/kg/min) を用いて追加の実験を行った。研究代表者らは、Ang II (600 ng/kg/min) を投与した時の近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスの血圧をテイルカフ法で測定し、比較した。週齢を合わせた近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスを以下の 4 群に振り分けた。(1) 近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに vehicle を投与した群、(2) 近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに Ang II (600 ng/kg/min) を投与した群、(3) 野生型マウスに vehicle を投与した群、(4) 野生型マウスに Ang II (600 ng/kg/min) を投与した群、Ang II (600 ng/kg/min) を 2 週間投与すると近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスで有意かつ同程度に収縮期血圧が増加した。

・Ang II 刺激が近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスの心肥大に及ぼす影響

心肥大は血圧上昇と密接な関係にあるため、研究代表者らはさらに近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスの心体重比について検証をおこなった。Ang II (1000 ng/kg/min) を 2 週間投与すると、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで有意かつ同程度に心体重比が増加した。この結果は、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで Ang II を投与した時の血圧上昇が同程度であることを支持する結果である。

・Ang II 刺激が近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスの観血的血圧に及ぼす影響

研究代表者らは、テレメトリーシステムを用いて近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスにおける Ang II 投与の観血的な血圧に及ぼす影響を厳格に比較検討した。24 時間平均収縮期血圧は、Ang II (1000 ng/kg/min) を 2 週間投与すると、近位尿細管特異的 ATRAP

ノックアウトマウスと野生型マウスとで有意かつ同程度に増加した(近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに Ang II を投与した群 vs 野生型マウスに Ang II を投与した群、繰り返しのある 2 元配置分散分析法、 $F=0.04280$ 、 $P=0.8407$)。また、Ang II (1000 mg/kg/min) を 2 週間投与すると平均収縮期血圧は日中だけでなく、夜間も近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで有意かつ同程度に増加した。同様に、24 時間平均拡張期血圧は、Ang II (1000 ng/kg/min) を 2 週間投与すると、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで有意かつ同程度に増加した(近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスに Ang II を投与した群 vs 野生型マウスに Ang II を投与した群、繰り返しのある 2 元配置分散分析法、 $F=0.02541$ 、 $P=0.8769$)。また、Ang II (1000 mg/kg/min) を 2 週間投与すると平均拡張期血圧は日中だけでなく、夜間も近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで有意かつ同程度に増加した。

・ Ang II 刺激が近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスのナトリウムバランスに及ぼす影響

さらに、研究代表者らは Ang II (1000 ng/kg/min) 投与中のナトリウムバランスを、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで比較した。Ang II を投与期間である 2 週間の積算ナトリウムバランスは、近位尿細管特異的 ATRAP ノックアウトマウスと野生型マウスとで同等であった(近位尿細管特異的 ATRAP 欠損マウス vs 野生型マウス、 153.3 ± 141 vs 194.7 ± 62.1 mmEq/day¹⁻¹³、 $P=0.9075$ 、対応のない t 検定)。

2) 皮膚組織での解析

・ 高血圧発症における皮膚組織レニン・アンジオテンシン系関与の可能性についての検討

血圧はレニン・アンジオテンシン系(RAS)、交感神経系、Na 利尿ペプチド系等の循環系・内分泌系調節機構の影響を受け、主に腎臓、心臓、血管、神経系により調節されるとされている。近年、皮膚局所における血管収縮や Na 貯留についても高血圧と関連する可能性が報告され、最大の臓器である皮膚組織の血圧調節における機能的意義が注目されている。代表的な血圧調節機構である RAS は皮膚での存在も明らかにされているが、皮膚組織 RAS の生体における役割や病態との関連は未解明である。本研究は高血圧の進展における皮膚組織 RAS の病態生理学的意義を臨床・基礎の両側面から検討した。

アンジオテンシン II (Ang II) 1 型受容体 (AT1R) 関連タンパク (ATRAP) は、AT1R 内在化を促進し下流シグナルを抑制する(Azushima K, Curr Hypertens Rep 2020)。臨床的検討では、高血圧患者を含むヒト皮膚組織における AT1R 発現および ATRAP 発現と血圧との関連性を検討した。また、基礎的検討では、皮膚ケラチノサイト特異的 ATRAP 発現低下マウス (KO: K14Cre;ATRAPflox) を作成し、Ang II 刺激高血圧モデルにおける血圧調節に与える影響について検討した。

臨床的検討において、まずヒト皮膚 AT1R 発現は血圧値との間で有意な相関がみられなかった。一方、ヒト皮膚 ATRAP 発現は血圧値と有意な負の相関を示すことが明らかになった。基礎的検討において、24 時間血圧をテレメトリー法にて評価したところ、対照群と比較し KO 群において Ang II 刺激による血圧上昇が増悪するとともに、心肥大増悪と心臓 BNP、Acta1 発現上昇を認めた。KO 群では、Ang II 刺激時の皮膚 Agt、Agtr1a 発現が対照群と比較し有意に増加した一方、腎臓・心臓での発現は両群で同等であり、皮膚特異的な組織 RAS 活性亢進が示唆された。これらの群間差は ARB (AT1R blocker) 投与で消失したため、皮膚組織 RAS 活性亢進が血圧上昇に寄与することが示された。Ang II 刺激高血圧増悪の機序を解明するため、テレメトリー法により活動量・交感神経活性、Evans Blue 希釈法により循環血漿量、Ashing 法により皮膚の水・Na 量、代謝ケージ実験により累積 Na バランスを評価したが、全て両群で同等であった。しかし、代謝ケージ実験において、体重変化・摂餌量・飲水量は両群で同等であるにもかかわらず、KO 群で飲水量あたりの尿量増加を認めたことから経皮水分蒸散 (TEWL) の減少が示唆された。これらの結果と一致し、KO 群では皮膚血流量、TEWL の有意な減少を認め、皮膚血管収縮が血圧上昇に寄与することが示唆された。実際に、血圧を含むこれらの群間差は皮膚加温刺激による皮膚血管拡張により消失した。したがって、外的環境に対する防御機能を担う皮膚組織に存在する循環制御メカニズムの皮膚組織レニン-アンジオテンシン系の意義に着目し、臓器間ネットワーク制御による高血圧克服のための治療標的としての意義を明らかにし、また、皮膚組織と高血圧との新たな接点を提唱することができた。今後は皮膚組織レニン-アンジオテンシン系が、高血圧などの予防・治療法開発の新規標的となる可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件 / うち国際共著 10件 / うちオープンアクセス 19件）

1. 著者名 Haruhara K, Suzuki T, Tamura K, et al.	4. 巻 101
2. 論文標題 Deficiency of the kidney tubular angiotensin II type1 receptor-associated protein ATRAP exacerbates streptozotocin-induced diabetic glomerular injury via reducing protective macrophage polarization.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kidney Int.	6. 最初と最後の頁 912-928
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2022.01.031.	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 Morita R, Yamada T, Tamura K, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors, mineralocorticoid receptor antagonists, and their combination on albuminuria in diabetic patients.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diabetes Obes Metab.	6. 最初と最後の頁 1271-1279
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dom.14976	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 Haze T, Tamura K, Hirawa N, et al.	4. 巻 46
2. 論文標題 Effect of the interaction between the visceral-to-subcutaneous fat ratio and aldosterone on cardiac function in patients with primary aldosteronism.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 1132-1144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41440-023-01170-9	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 Tsukamoto S, Uehara T, Azushima K, Wakui H, Tamura K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Updates for Cardio-Kidney Protective Effects by Angiotensin Receptor-Nepriylsln Inhibitor: Requirement for Additional Evidence of Kidney Protection.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e029565
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.122.029565	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 Konishi M, Tamura K, Komuro I, et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Association of weight change and in-hospital mortality in patients with repeated hospitalization for heart failure.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Cachexia Sarcopenia Muscle.	6. 最初と最後の頁 642-652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.13170	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 Minegishi S, Kinguchi S, Tamura K, et al.	4. 巻 79
2. 論文標題 Immune Checkpoint Inhibitors Do Not Increase Short-Term Risk of Hypertension in Cancer Patients: a Systematic Literature Review and Meta-Analysis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hypertension.	6. 最初と最後の頁 2611-2621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.122	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 Kawai Y, Uneda K, Yamada T, Kinguchi S, Kobayashi K, Azushima K, Kanaoka T, Toya Y, Wakui H, Tamura K.	4. 巻 183
2. 論文標題 Comparison of effects of SGLT-2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists on cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes mellitus patients with/without albuminuria: A systematic review and network meta-analysis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diabetes Res Clin Pract.	6. 最初と最後の頁 109146 (1-11)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diabres.2021.109146	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 Kobayashi K, Chin K, Umezawa S, Ito S, Yamamoto H, Nakano S, Takada N, Hatori N, Tamura K.	4. 巻 45
2. 論文標題 Influence of stress induced by the first announced state of emergency due to coronavirus disease 2019 on outpatient blood pressure management in Japan.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 675-685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-021-00832-w	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 Tsukamoto S, Okami N, Yamada T, Azushima K, Yamaji T, Kinguchi S, Uneda K, Kanaoka T, Wakui H, Tamura K.	4. 巻 41
2. 論文標題 Prevention of kidney function decline using uric acid-lowering therapy in chronic kidney disease patients: a systematic review and network meta-analysis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 911-919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10067-021-05956-5	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 該当する

1. 著者名 Nakano M, Koga M, Hashimoto T, Matsushita N, Masukawa D, Mizuno Y, Uchimura H, Niikura R, Miyazaki T, Nakamura F, Zou S, Shimizu T, Saito M, Tamura K, Goto T, Goshima Y.	4. 巻 148
2. 論文標題 Right ventricular overloading is attenuated in monocrotaline-induced pulmonary hypertension model rats with a disrupted Gpr143 gene, the gene that encodes the 3,4-l-dihydroxyphenylalanine (l-DOPA) receptor.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci.	6. 最初と最後の頁 214-220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.11.008	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 Nagasu H, Yano Y, Kanegae H, Heerspink HJL, Tamura K, et al.	4. 巻 44
2. 論文標題 Kidney Outcomes Associated With SGLT2 Inhibitors Versus Other Glucose-Lowering Drugs in Real-world Clinical Practice: The Japan Chronic Kidney Disease Database.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes Care.	6. 最初と最後の頁 2542-2551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/dc21-1081	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 Konishi M, Akiyama E, Matsuzawa Y, Sato R, Kikuchi S, Nakahashi H, Maejima N, Iwahashi N, Kosuge M, Ebina T, Hibi K, Misumi T, von Haehling S, Anker SD, Tamura K, Kimura K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Prognostic impact of muscle and fat mass in patients with heart failure.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cachexia Sarcopenia Muscle.	6. 最初と最後の頁 568-576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.12702	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 Tamura K, Azushima K, Kinguchi S, Wakui H, Yamaji T.	4. 巻 45
2. 論文標題 ATRAP, a receptor-interacting modulator of kidney physiology, as a novel player in blood pressure and beyond.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 32-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-021-00776-1	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 Taguchi S, Azushima K, Yamaji T, Urate S, Suzuki T, Abe E, Tanaka S, Tsukamoto S, Kamimura D, Kinguchi S, Yamashita A, Wakui H, Tamura K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Effects of tumor necrosis factor- inhibition on kidney fibrosis and inflammation in a mouse model of aristolochic acid nephropathy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 23587(1-11)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-02864-1	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 Fujiwara A, Ozawa M, Sumida K, Hirawa N, Yatsu K, Ichihara N, Haze T, Komiya S, Ohki Y, Kobayashi Y, Wakui H, Tamura K.	4. 巻 40
2. 論文標題 LPIN1 is a new target gene for essential hypertension.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Hypertens.	6. 最初と最後の頁 536-543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/HJH.0000000000003046	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 Haze T, Hatakeyama M, Komiya S, Kawano R, Ohki Y, Suzuki S, Kobayashi Y, Fujiwara A, Saka S, Tamura K, Hirawa N.	4. 巻 44
2. 論文標題 Association of the ratio of visceral-to-subcutaneous fat volume with renal function among patients with primary aldosteronism.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 1341-1351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-021-00719-w.	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 12. Ishii T, Kumagae T, Wakui H, Urate S, Tanaka S, Abe E, Suzuki T, Yamaji T, Kinguchi S, Kobayashi R, Haruhara K, Nakamura T, Kobayashi S, Tamura K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Tissue xanthine oxidoreductase activity in a mouse model of aristolochic acid nephropathy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio.	6. 最初と最後の頁 507-518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13083	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 1. Haze T, Hirawa N, Yano Y, Tamura K, Kurihara I, Kobayashi H, Tsuiki M, Ichijo T, Wada N, Katabami T, Yamamoto K, Oki K, Inagaki N, Okamura S, Kai T, Izawa S, Yamada M, Chiba Y, Tanabe A, Naruse M.	4. 巻 324
2. 論文標題 Association of aldosterone and blood pressure with the risk for cardiovascular events after treatments in primary aldosteronism.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Atherosclerosis.	6. 最初と最後の頁 84-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.atherosclerosis.2021.03.033	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 2. Nakamaru R, Yamamoto K, Akasaka H, Rakugi H, Kurihara I, Yoneda T, Ichijo T, Katabami T, Tsuiki M, Wada N, Yamada T, Kobayashi H, Tamura K, Ogawa Y, Kawashima J, Inagaki N, Fujita M, Watanabe M, Kamemura K, Okamura S, Tanabe A, Naruse M; JPAS/JRAS Study Group.	4. 巻 11
2. 論文標題 Age-stratified comparison of clinical outcomes between medical and surgical treatments in patients with unilateral primary aldosteronism.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 6925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-86290-3	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 14. Yamada T, Wakabayashi M, Bhalla A, Chopra N, Miyashita H, Mikami T, Ueyama H, Fujisaki T, Saigusa Y, Yamaji T, Azushima K, Urate S, Suzuki T, Abe E, Wakui H, Tamura K.	4. 巻 20
2. 論文標題 Cardiovascular and renal outcomes with SGLT-2 inhibitors versus GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease: a systematic review and network meta-analysis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cardiovasc Diabetol.	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12933-020-01197-z	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 18.Kinguchi S, Wakui H, Ito Y, Kondo Y, Azushima K, Osada U, Yamakawa T, Iwamoto T, Yutoh J, Misumi T, Yasuda G, Yoshii T, Haruhara K, Kobayashi Y, Yamanaka T, Terauchi Y, Tamura K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Relationship between basal sodium intake and the effects of dapagliflozin in albuminuric diabetic kidney disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-79687-z.	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 19.Kobayashi Y, Haze T, Yano Y, Tamura K, Kurihara I, Ichijo T, Yoneda T, Katabami T, Tsuiki M, Wada N, Ogawa Y, Kawashima J, Sone M, Inagaki N, Yamada T, Okamoto R, Fujita M, Kamemura K, Yamamoto K, Izawa S, Tanabe A, Naruse M; JPAS/JRAS Study Group.	4. 巻 5
2. 論文標題 Associations Between Changes in Plasma Renin Activity and Aldosterone Concentrations and Changes in Kidney Function After Treatment for Primary Aldosteronism.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney Int Rep.	6. 最初と最後の頁 1291-1297
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2020.06.012.	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 19.Yamada T, Ueyama H, Chopra N, Yamaji T, Azushima K, Kobayashi R, Kinguchi S, Urate S, Suzuki T, Abe E, Saigusa Y, Wakui H, Partridge P, Burger A, Bravo CA, Rodriguez MA, Ivey-Miranda J, Tamura K, Testani J, Coca S.	4. 巻 5
2. 論文標題 Systematic Review of the Association Between Worsening Renal Function and Mortality in Patients With Acute Decompensated Heart Failure.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney Int Rep.	6. 最初と最後の頁 1486-1494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2020.06.031.	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9件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 田村功一
2. 発表標題 受容体結合性機能制御因子ATRAPと心血管腎臓病
3. 学会等名 会長特別企画: 第85回日本循環器学会学術集会(JCS2021) (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村 功一
2. 発表標題 高血圧性緊急症の原因と管理: JSH2019ガイドラインから
3. 学会等名 日本脳卒中学会・日本高血圧学会 合同企画: 脳卒中急性期・慢性期の血圧管理. 第46回日本脳卒中学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村 功一
2. 発表標題 COVID-19 とレニン・アンジオテンシン系阻害薬
3. 学会等名 会長特別企画 2: With CORONA, Post CORONA時代における新しい医療体系. 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 Tamura K
2. 発表標題 Receptor Interacting Molecule ATRAP as Modulator of Renal Sodium Handling and Pathological Blood Pressure Response.
3. 学会等名 Parallel Oral Session 11A: RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM. The ESH-ISH 2021 ON-AIR Joint Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村 功一
2. 発表標題 腎硬化症の臨床: 高血圧性腎硬化症の病態生理を考慮した血圧管理の重要性
3. 学会等名 日本腎臓学会合同企画: 加齢と高血圧に関連した腎障害 - 増え続ける腎硬化症にどう取り組むか. 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 Tamura K
2. 発表標題 Modulation of Renal Sodium Handling and Blood Pressure in Hypertension and Kidney Injury by Receptor Interacting Molecule ATRAP.
3. 学会等名 18th Asian Pacific Congress of Nephrology (APCN 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamada T, Tamura K, et al.
2. 発表標題 Cardiovascular outcomes with SGLT2 inhibitors vs. GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes and CKD: A systemic review and network meta-analysis.
3. 学会等名 ASN Kidney Week 2020, 53rd Annual Meeting & Scientific Exposition of American Society of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田村功一
2. 発表標題 神奈川県内の当教室関連医療機関でのCOVID-19入院患者の検討と第二波に備えた透析患者向け神奈川モデル体制構築について
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会 総会特別シンポジウム：COVID-19と腎臓病（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田村功一
2. 発表標題 受容体結合性機能制御因子ATRAPと心血管腎臓病: Receptor-binding Molecule ATRAP in Cardiovascular and Renal Disease
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会(JCS2021) 会長特別企画：臓器連関と心血管腎臓病（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 田村功一	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2151
3. 書名 低血圧症. 第6章 循環器疾患. 今日の治療指針 (2022年版)	

1. 著者名 藤吉 朗、香坂 俊、田村功一、他	4. 発行年 2023年
2. 出版社 日本循環器学会	5. 総ページ数 99
3. 書名 2023 年改訂版 冠動脈疾患の一次予防に関する診療ガイドライン	

1. 著者名 日本肥満学会編集: ガイドライン作成委員会、ガイドライン検討拡大学術委員会、田村功一、他	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ライフサイエンス出版	5. 総ページ数 184
3. 書名 肥満症診療ガイドライン2022	

1. 著者名 田村功一、他	4. 発行年 2022年
2. 出版社 中央経済社株式会社	5. 総ページ数 286
3. 書名 データで変える病院経営	

1. 著者名 「日本医療研究開発機構(AMED)長寿科学研究開発事業: 高齢腎不全患者に対する腎代替療法の開始/見合わせの意思決定プロセスと最適な緩和医療・ケアの構築」研究班、田村功一、他	4. 発行年 2022年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 256
3. 書名 高齢者腎不全患者のための保存的腎臓療法	

1. 著者名 成瀬光栄、方波見卓行、柴田洋孝、曽根正勝、田村功一 他、日本内分泌学会原発性アルドステロン症診療ガイドライン策定と診療水準向上委員会編.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 診断と治療社(東京)	5. 総ページ数 68
3. 書名 原発性アルドステロン症診療ガイドライン2021	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>横浜市立大学循環器・腎臓・高血圧内科学教室 https://yokohama-medicine.org/classinfo/greeting.html 田村 功一 先生(神奈川県の内科医)のプロフィール https://medicalnote.jp/doctors/220217-002-SL 横浜市立大学医学部 循環器・腎臓・高血圧内科学教室 心血管腎臓病を制御し健康寿命の向上に貢献 https://k-ijishinpo.jp/article/202105yokohamashiritsudai/ 急性心不全に伴う腎機能悪化と予後との関係に新たな知見 https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/202009yamada_kidney.html Kanagawa RASI COVID-19研究の取り組み https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/202008matsuzawa_rasi.html 国際共同研究により、糖尿病および慢性腎臓病患者に対する糖尿病治療薬2種の予防効果の違いを発見 https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/202101yamada_cad.html</p>
--

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

オーストラリア	University of New South Wales			
シンガポール	Duke-NUS Medical School			
米国	University of Pittsburgh			