

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：22701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22908

研究課題名(和文) 高血圧症における皮膚レニン-アンジオテンシン系の病態生理学的意義の解明

研究課題名(英文) Pathophysiological significance of skin renin-angiotensin system in the development of hypertension

研究代表者

小豆島 健護 (AZUSHIMA, Kengo)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：00760381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：高血圧は心血管病の最大の危険因子であるが、その病態生理は十分に解明されていない。本研究では、AT1受容体シグナルの抑制因子であるATRAPに着目し、高血圧における皮膚組織レニン・アンジオテンシン系(RAS)の病態生理学的意義を目的とした。C57BL/6マウスと比較してRAS感受性が亢進している129/Svマウスでは、アンジオテンシン Ⅱ 負荷による血圧上昇がC57BL/6よりも増悪し、皮膚ナトリウム量は増加傾向にあった。一方で、高食塩負荷による血圧上昇は129/Svマウスで増悪したものの、皮膚ナトリウム量増加は認めなかった。また、ケラチノサイト特異的ATRAP欠損マウスの作製に成功し解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高血圧は心血管病の最大の危険因子であるにもかかわらず、その病態生理は十分に解明されていない。本研究により、皮膚組織が高血圧発症の新たなプレイヤーとして機能している可能性、またそのメカニズムとして皮膚組織レニン・アンジオテンシン系が関与している可能性が示された。今後、皮膚組織RASを標的とした高血圧の新規治療法の開発にもつながる可能性を有しており、その学術的・社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Hypertension is the most powerful risk factor for the development of cardiovascular diseases. Yet, its pathophysiology has not been fully elucidated. In this current study, we intended to investigate the pathophysiological significance of skin tissue renin-angiotensin system (RAS) in the development of hypertension with focusing on angiotensin II (Ang II) type 1 receptor (AT1R)-associated protein (ATRAP) that is an endogenous suppressor for the AT1R signal transduction. 129/Sv mice have been reported that its systemic RAS activity is upregulated compared to C57BL/6 mice. Compared to C57BL/6 mice, 129/Sv mice exhibited an exacerbation of Ang II-dependent hypertension mice along with a tendency of increasing skin sodium amount. On the other hand, this tendency in skin sodium amount was not found when these mice were received high-salt loading despite an exacerbated hypertension in 129/Sv mice. In addition, we have already generated keratinocyte-specific ATRAP knock-out mice.

研究分野：腎臓・高血圧内科

キーワード：高血圧 皮膚組織 レニン・アンジオテンシン系 ナトリウム ATRAP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高血圧は脳心血管病発症の最大のリスク因子であり医療経済上も大きな問題となっているが、降圧治療を受けている患者の2/3は降圧目標を達成できていない。その一因として本態性高血圧の病態生理が十分に解明されていないことが挙げられる。近年、生体内のナトリウム濃度は一定ではなく、皮膚などの組織局所に異常に蓄積したナトリウムが高血圧を引き起こす可能性が明らかとなってきた。人体最大の臓器である皮膚には腎臓の対向流系に類似した構造が存在するだけでなく、ナトリウムチャネルやRAS構成因子が発現しており、皮膚組織にはレニン-アンジオテンシン系(RAS)を介したナトリウム・水バランスの調整が存在している可能性がある。これに対し申請者らは、RAS受容体結合蛋白であるATRAPP(AT1 receptor-associated protein)が、腎尿細管AT1受容体活性を調整することで血圧制御に寄与すること、またAT1受容体の生理的情報伝達系には悪影響を与えずに、臓器障害と関連した情報伝達系のみ選択的に抑制できるという機能上の大きな利点をもつ可能性を明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本研究は、「皮膚組織RASを介して皮膚組織機能(ナトリウム・水分バランス、炎症、免疫応答など)を調節し、その発現・活性異常により高血圧が生じる」という高血圧の新規病態生理概念を提唱し、ATRAPPを足掛かりとして本態性高血圧症の新規病態生理を解明することを目的として遂行された。

3. 研究の方法

129/Svマウスはレニン遺伝子を2つ保有しているため、同遺伝子を一つ保有しているC57BL/6マウスと比較してRAS感受性が亢進していると報告されている(Ma LJ, et al. *Kidney Int* 2003.)。本研究では、129/SvおよびC57BL/6を用いて高血圧症モデルを作製し、昇圧反応とともに、灰化-炎光光度法を用いて測定した皮膚ナトリウム量をstrain間で比較検討した。また、皮膚ケラチノサイト特異的ATRAPP欠損マウスを作製し、皮膚組織特異的RAS活性化モデルを創出した。

(1) 12週齢オス、C57BL/6マウスおよび129/Svマウスに対し、浸透圧ポンプを用いて生理食塩水もしくはアンジオテンシン(Ang) 500 ng/kg/minを7日間持続投与した。実験開始前および開始6日後にテールカフ法を用い血圧を測定し、投与7日後に解剖を行った。また、12週齢オスC57BL/6マウスおよび129/Svマウスに対し、通常飼育もしくは高食塩負荷(生理食塩水飲水+4%塩分含有餌)飼育を7日間行った。実験開始前および開始6日後にテールカフ法を用い血圧を測定し、開始7日後に解剖を行った。

(2) 皮膚ケラチノサイト基底細胞プロモーター領域にCreリコンビナーゼを有するK14-CreマウスとATRAPP^{f/f}マウスを交配させることにより、皮膚ケラチノサイト特異的ATRAPP欠損マウス(K14-Cre;ATRAPP^{f/f})を作製した。このマウスの皮膚よりケラチノサイトを単離し、心臓、腎臓、肝臓、筋肉なども含めてATRAPP mRNA発現をRT-qPCR法にて確認した。

(3) 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臨床研究を行う。「皮膚RAS構成因子発現量や皮膚ナトリウム量」と「血圧、心血管系・腎機能、糖脂質代謝やそれらの障害マーカーの各種臨床指標」との関連性について解析する。

4. 研究成果

(1) C57BL/6マウスと比較してRAS感受性が亢進しているとされる129/Svマウスでは、Ang負荷および高食塩負荷による血圧上昇率がC57BL/6マウスよりも増加していた。一方で、高食塩負荷高血圧モデルでは、両strainともに高食塩負荷により皮膚ナトリウム量に明らかな変化を認めなかったが、Ang負荷高血圧モデルでは129/SvマウスでのみAng負荷により皮膚ナトリウム量が増加する傾向を認めた。本結果は、皮膚におけるナトリウム量と血圧調節の関連性について、特に組織RASが関与している可能性を示唆する。

(2) Cre-loxPシステムを用いて皮膚ケラチノサイト特異的ATRAPP欠損マウス(K14-Cre;ATRAPP^{f/f}マウス)の作製に成功した。本マウスにおける心、腎、肝、筋肉などの臓器でのATRAPP mRNA発現は同腹仔対照マウスおよびATRAPP欠損マウスで同等であったが、皮膚ケラチノサイトにおいてはATRAPP欠損マウスで同腹仔対照マウスと比較して約98%の発現低下を認めた。

現在，Ang 負荷や高食塩負荷を含めた高血圧病態モデルでの検討を行っている．

（３）ヒト皮膚組織を用いた臨床研究に関しては，2022年4月末日時点で計40症例分の検体収集を終えており，今後，30症例での中間解析を予定している．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Haruhara K, Suzuki T, Wakui H, Azushima K, Kurotaki D, Kawase W, Uneda K, Kobayashi R, Ohki K, Kinguchi S, Yamaji T, Kato I, Ohashi K, Yamashita A, Tamura T, Tsuboi N, Yokoo T, Tamura K.	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 International	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 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 23587
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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Taguchi S, Azushima K, Wakui H, Yamaji T, Urate S, Suzuki T, Abe E, Tanaka S, Tsukamoto S, Yamashita A, Tamura K.
2. 発表標題 Functional Role of Tumor Necrosis Factor- Pathway in Aristolochic Acid-induced Kidney Injury Model.
3. 学会等名 Kidney Week 2021 (American Society of Nephrology Annual Meeting) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamaji T, Azushima K, Gurley SB, Coffman TM.
2. 発表標題 Beneficial Effects of Tumor Necrosis Factor- Blockade in a Mouse Model of Diabetic Nephropathy.
3. 学会等名 Kidney Week 2021 (American Society of Nephrology Annual Meeting) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamaji T, Azushima K, Gurley SB, Coffman TM.
2. 発表標題 Beneficial Effects of Tumor Necrosis Factor- Blockade in a Mouse Model of Diabetic Nephropathy.
3. 学会等名 WCN 2022 - The World Congress of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2022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