

令和 6 年 5 月 11 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08234

研究課題名(和文) ミトコンドリア代謝異常と食塩感受性高血圧発症メカニズムの関連の解明

研究課題名(英文) Abberent mitochondrial metabolism as a cause of salt-sensitive hypertension

研究代表者

下澤 達雄 (Shimosawa, Tatsuo)

国際医療福祉大学・医学部・教授

研究者番号：90231365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではマウス由来遠位尿細管細胞(mDCT)におけるNCC活性化とミトコンドリア機能について検討を行った。NCCを発現するmDCT細胞のミトコンドリア機能とNCC活性を低酸素、高糖条件下で検証した。これら刺激でNCCの転写は影響されず、低酸素ではリン酸化が亢進し、高糖では抑制された。ミトコンドリア由来酸化ストレスは、低酸素で高くなっていた。低酸素下でミトコンドリア由来酸化ストレスを除去したところNCCのリン酸化が抑制された。マウスの間欠的低酸素モデルを用いて検証した。低酸素負荷にてNCCのリン酸化を認めた。また夜間の血圧低下が認められなかったが、NCC欠損マウスでは睡眠中に血圧が低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミトコンドリア機能は腎臓におけるナトリウム再吸収に重要な働きをもち、特に血圧日内変動に影響することが明らかとなった。睡眠時無呼吸症候群ではミトコンドリア由来の酸化ストレスがナトリウムチャンネル機能に影響をあたえ、高血圧発症のリスクとなる可能性が考えられる。一方、尿糖はミトコンドリア機能に悪影響を与えず、ナトリウム再吸収も抑制することが示された。糖尿病の治療において、尿中糖排泄を増加させることは高血圧発症を予防する可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the current study, we investigated the impact of hypoxia and high glucose on NCC activation in mDCT cells. Hypoxia induced mitochondrial oxidative stress and activated NCC by increases in its phosphorylation, however, under high glucose, NCC was inactivated. Mito-TEMPO which eliminates mitochondrial oxidative stress reduced NCC activation. In vivo experiments revealed that intermittent hypoxia activated NCC in the kidney and induced sustained high blood pressure during the sleeping time of mice. When NCC is genetically deleted, the nocturnal blood pressure declined under intermittent hypoxic conditions.

研究分野：腎臓

キーワード：血圧日内変動 ナトリウムチャンネル ミトコンドリア 低酸素 糖

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

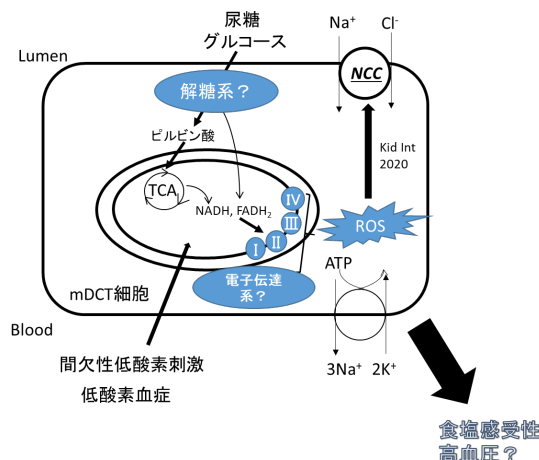
高血圧症は食塩摂取に比例して血圧が上がる食塩感受性高血圧と、上がらない食塩非感受性高血圧に分けられる。腎臓におけるナトリウム排泄障害が食塩感受性の原因と考えられ腎臓でのレニンアンジオテンシナルドステロン系、交感神経系、キニンカリクレイン系、ナトリウム利尿ペプチドなどの液性因子の関与が報告された。さらに、GWAS研究などから食塩感受性を規定する遺伝的背景も明らかになっている。一方、日本人を対象とした研究では、血圧を同等にコントロールしていても食塩感受性高血圧患者の心血管予後が不良であることから食塩感受性高血圧の発症予防の重要性が認識されている。そこで、我々は腎臓内ホルモン環境の変化による食塩感受性高血圧発症メカニズムとしてミネラルコルチコイド受容体の関与(JCI 2011, Hypertension 2018)、ヒストンのアセチル化(Nat Med 2011)や、母体低栄養ストレスによる胎児脳内DNAメチル化低下(JCI Insight 2018)が食塩感受性高血圧の発症にかかわることを明らかにしてきた。また、アンジオテンシン負荷、低酸素やNO抑制モデルを用いて酸化ストレスが血管、ナトリウム クロール共輸送体(NCC)に作用し、食塩感受性高血圧を発症させること(Circulation, Am J Physiol, PLoS One, Am J Resp Dis Kid Int 2020など)を見出している。これらの一連の酸化ストレスに関する検討から、血管ではアンジオテンシンIIを抑制することでNADPH oxidaseを介した酸化ストレスを抑制することが食塩感受性の改善にかかわる可能性を示した(Circulation 2001)。しかし腎臓における酸化ストレスの産生にはミトコンドリアも重要な役割を果たすと考えられるが、ミトコンドリア由来の酸化ストレス産生メカニズムの解明、また創薬が進んでいない。食塩感受性高血圧の発症に重要な役割を果たすNCCは遠位尿細管に存在する。この遠位尿細管は虚血に抵抗性を示し、低い酸素飽和度でもその細胞機能を維持するだけでなく、ナトリウムの代謝のために大量のミトコンドリア由来ATPを用いるという特徴がある。ミトコンドリアの機能が異常になると酸化ストレスを産生することが知られているが、我々は遠位尿細管細胞でのNOを介した酸化ストレスの増大がNCCを不適切に活性化し、食塩感受性高血圧症発症の原因となりうることを報告した(Kid Int 2020)。そこで本研究ではマウス由来腎遠位尿細管細胞(mDCT細胞)を用いて、ミトコンドリア機能に影響する低酸素による電子伝達系を変化させた場合及び高糖状態による解糖系を変化させた際の細胞外ナトリウム濃度の変化によるミトコンドリア機能の変化、酸化ストレスの変化を確認し、その結果生じるNCCの活性化に着目して食塩感受性高血圧発症の新たなメカニズムを解明し、発症予防方法開発の基盤となる研究を行うことを計画した(図1)。

図1 作業仮説

2. 研究の目的

食塩感受性高血圧発症予防法開発のために、高血糖、低酸素負荷時のミトコンドリア機能の異常とナトリウム輸送系の活性化異常の関係を明らかにする。

3. 研究の方法



1. 細胞実験

細胞はNCCを発現しているmDCTを用いて検討した。

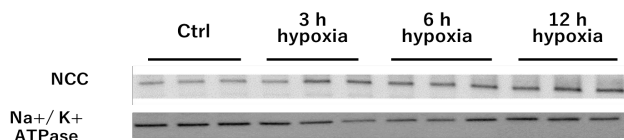
通常培養条件(20%酸素、糖 5.5mM)と5%**低酸素培養**、糖尿病患者尿糖に近い**培養液中糖濃度 100mM**およびその浸透圧コントロールで0.5, 1, 6, 12時間培養し、細胞外フラックスアナライザーXFpを用いてミトコンドリア呼吸機能を測定した。また、解糖系についても同様にフラックスアナライザーにて測定した。ミトコンドリア由来酸化ストレスはMitoSOXを用い、内部標準としてMito-Trackerを用いて蛍光顕微鏡で蛍光強度を測定した。

また、細胞実験の妥当性を検討するために低酸素負荷はC57B5j並びにNCC欠損マウスを用い我々がすでに確立している間歌的低酸素負荷 (FiO2 20%-5% 90秒サイクル、8時間/日)を用いて腎臓でのNCCリン酸化および血圧変動をテレメトリーを用いて検討した。

4. 研究成果

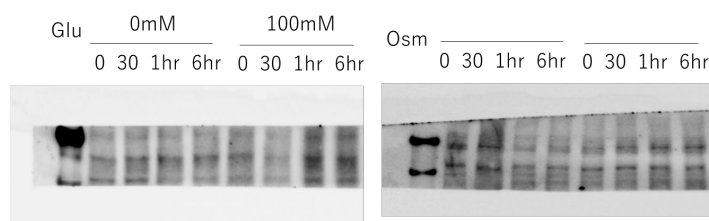
1 細胞実験 低酸素状態でNCCのリン酸化が亢進し、高糖状態でNCCのリン酸化が抑制されることが示された。NCCの転写には変化がないことをRT-PCRにて確認した。またミトコンドリア特異性SOD様物質のMito-TEMPOを用いたところNCCリン酸化が抑制された。

図2a 低酸素刺激下での細胞膜へのNCC発現



一方、糖負荷ではNCCのリン酸化はむしろ抑制された。

図2b 糖負荷ならびに浸透圧コントロール(Osm)時の細胞膜へのNCC発現
負荷後0分、30分、1時間、6時間で評価した。



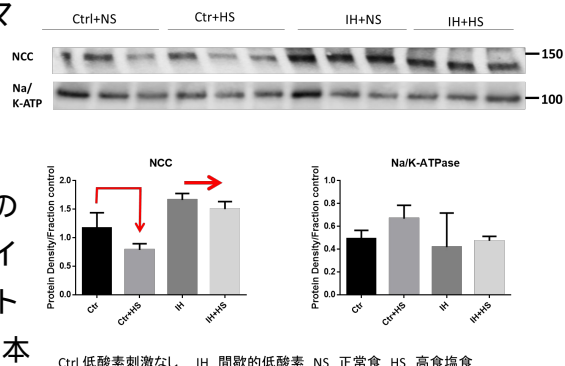
2. 動物実験

間歌的低酸素刺激では図3に示すように、膜分画NCCが増加した。

図3 IHによる膜分画

血圧日内変動を検討したところ間歌的低酸素刺激ではマウス睡眠中の血圧が低下せず血圧日内変動が認められなかった。NCC欠損マウスを用いたところ、日内変動は維持された。

本研究は高血圧症の発症予防のためのメカニズム解析の研究の一端である。特に睡眠時無呼吸症候群の心血管イベント発症リスクの一つである高血圧症発症に腎臓ナトリウムチャンネルの異常活性を明らかにしたものである。本研究分野は世界でも注目されており、WHOをはじめ各国の研究、行政機関が心血管イベント抑制のためにナトリウム摂取、腎臓におけるナトリウム代謝調節と高血圧について基礎研



Ctrl 低酸素刺激なし IH 間歌的低酸素 NS 正常食 HS 高食塩食

究、臨床研究、患者教育、社会的活動を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 11件／うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Liang L, Shimosawa T	4. 巻 24
2. 論文標題 Molecular Mechanisms of Na-Cl Cotransporter in Relation to Hypertension in Chronic Kidney Disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24010286	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 Yang F, Chang Y, Zhang C, Xiong Y, Wang X, Ma X, Wang Z, Hui L, Shimosawa T, Pei L, Xu Q.	4. 巻 93
2. 論文標題 UUO induces lung fibrosis with macrophage-myofibroblast transition in rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology.	6. 最初と最後の頁 107396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2021.107396.	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 Zhang C, Li H, Xiong YZ, Chang Y, Yang F, Ma XL, Wang XT, Shimosawa T, Ji ES, Xu QY.	4. 巻 163
2. 論文標題 Chronic intermittent hypoxia induces renal fibrosis through MR activation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Gerontol	6. 最初と最後の頁 111780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exger.2022.111780	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 Chen G, Chang Y, Xiong Y, Hao J, Liu L, Liu Z, Li H, Qiang P, Han Y, Xian Y, Shimosawa T, Wang X, Yang F, Xu Q.	4. 巻 108
2. 論文標題 Eplerenone inhibits UUO-induced lymphangiogenesis and cardiac fibrosis by attenuating inflammatory injury.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int Immunopharmacol.	6. 最初と最後の頁 108759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2022.108759.	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 Zhang C, Hao J, Chen G, Liu L, Xiong Y, Chang Y, Li H, Shimosawa T, Yang F, Xu Q	4. 巻 24
2. 論文標題 Eplerenone ameliorates lung fibrosis in unilateral ureteral obstruction rats by inhibiting lymphangiogenesis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Ther Med.	6. 最初と最後の頁 623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/etm.2022.11560.	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 Qiang P, Hao J, Yang F, Han Y, Chang Y, Xian Y, Xiong Y, Gao X, Liang L, Shimosawa T, Xu Q.	4. 巻 13
2. 論文標題 Esaxerenone inhibits the macrophage-to-myofibroblast transition through mineralocorticoid receptor/ TGF- β 1 pathway in mice induced with aldosterone.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	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) 10.3389/fimmu.2022.948658.	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 Chang Y, Ben Y, Li H, Xiong Y, Chen G, Hao J, Ma X, Gao X, Qiang P, Shimosawa T, Wang X, Yang F, Xu Q.	4. 巻 Sept
2. 論文標題 Eplerenone Prevents Cardiac Fibrosis by Inhibiting Angiogenesis in Unilateral Urinary Obstruction Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Renin Angiotensin Aldosterone Syst	6. 最初と最後の頁 1283729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2022/1283729.	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 Han Y, Xian Y, Gao X, Qiang P, Hao J, Yang F, Shimosawa T, Chang Y, Xu Q.	4. 巻 113
2. 論文標題 Eplerenone inhibits the macrophage-to-myofibroblast transition in rats with UUO-induced type 4 cardiorenal syndrome through the MR/CTGF pathway.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology.	6. 最初と最後の頁 109396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2022.109396.	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 Bonnard B, El Moghrabi S, Ueda K, Lattenist L, Soulie M, Lopez-Andres N, Xhaard C, Shimosawa T, Rossignol P, Jaisser F	4. 巻 80
2. 論文標題 NGAL is a Novel Target in Hypertension by Modulating the NCC-Mediated Renal Na Balance.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 1860-1870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.21156.	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 Gao X, Chang J, Chang Y, Fan L, Liu Z, Zhang C, Shimosawa T, Yang F, Xu Q.	4. 巻 24
2. 論文標題 Esaxerenone Inhibits Renal Angiogenesis and Endothelial-Mesenchymal Transition via the VEGFA and TGF- 1 Pathways in Aldosterone-Infused Mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences.	6. 最初と最後の頁 11766
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms241411766	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 Hao J, Qiang P, Fan L, Xiong Y, Chang Y, Yang F, Wang X, Shimosawa T, Mu S, Xu Q	4. 巻 14
2. 論文標題 Eplerenone reduces lymphangiogenesis in the contralateral kidneys of UUO rats.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-024-60636-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 Chang J, Gao X, Yang F, Qiang P, Fan L, Liu Z, Shimosawa T, Xu Q & Chang Y.	4. 巻 May
2. 論文標題 Esaxerenone Inhibits Interferon- Induced Pyroptosis of Macrophages in the Lungs of Aldosterone-treated Mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Inflammation	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10753-024-02030-5	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 Shimosawa T	4. 巻 137
2. 論文標題 How animal models can be utilized to find new biomarkers for cardiovascular diseases	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical Science	6. 最初と最後の頁 527-535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/CS20220832	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 Shimosawa T	4. 巻 46
2. 論文標題 Quality is not an act, it is a habit-Aristotle.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 1221-1226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-023-01234-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 Conghui Wang, Tatsuo Shimosawa	4. 巻 2
2. 論文標題 Evaluation of the pathophysiological mechanisms of salt sensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Exp Nephrol	6. 最初と最後の頁 21-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.46439/nephrology.2.010	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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Shimosawa T
2. 発表標題 Salting a bird's tail
3. 学会等名 20th International Society of Hypertension (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shimosawa T
2. 発表標題 Biomarcadores Urinarios para Enfermedades No Transmisibles / Urinary Biomarkers for Non-communicable Diseases
3. 学会等名 The XXXI World Congress of the World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下澤達雄
2. 発表標題 内分泌的視点から見た本態性高血圧病態
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuo Shimosawa
2. 発表標題 Hypertension and related diseases in the era of COVID-19
3. 学会等名 Kazakhstan Society of Medicine (招待講演)
4. 発表年 2021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
---------	---------