

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591213

研究課題名(和文) エピジェネティック制御からみた食塩感受性高血圧のメカニズムと診断法の開発

研究課題名(英文) Mechanisms and diagnosis of salt-sensitive hypertension in view point of epigenetics

研究代表者

下澤 達雄 (Shimosawa, Tatsuo)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90231365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：塩分過剰摂取により高血圧を発症する食塩感受性高血圧とそれに関連する臓器障害について遺伝子修飾因子の関連を検討した。ヒストンのアセチル化によるWNK4を介したナトリウムチャネルの活性化を報告した。また、マイクロRNAにより酸化ストレス誘導因子が誘導され臓器障害を発症すること、そしてマイクロRNAが治療の対象となりうることを明らかにした。また、ヒト尿中にある細胞を分析することで、腎臓尿細管機能を推察できる可能性について基礎的な知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：The pathophysiology of salt-sensitive hypertension and its related organ damage were investigated in view point of epigenetic modifications. We have reported histone modification leads to salt-sensitive hypertension and in addition to it, we revealed that micro RNA regulates several genes which are regulators for oxidative stress and cause organ damages. And microRNA can be used for a tool to treat or prevent organ damages in salt-sensitive hypertension. In human study, we preliminary investigated that cells in urine can be used to detect tubular function and may be useful to diagnose salt-sensitivity.

研究分野：医学薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 腎臓内科学

キーワード：高血圧学 エピゲノム修飾 マイクロRNA

1. 研究開始当初の背景

高血圧症は心血管イベントの重要なリスクであり、降圧治療は心血管イベント抑制にきわめて有効であることが示されている。高血圧症の中でも、食塩摂取により血圧が上昇しやすい食塩感受性高血圧症は予後が不良であることが知られている。食塩感受性を規定する因子としていくつかの遺伝子の関与も報告されているが、最近では環境要因の関与も明らかとなってきた。我々はすでに交感神経活動の亢進、特に 2 受容体を介した刺激がヒストンのアセチル化を介してナトリウムチャンネルの活性が亢進することで食塩感受性高血圧が発症することを明らかにした。

2. 研究の目的

食塩感受性高血圧発症メカニズムにかかわる環境要因のなかでも交感神経活動と酸化ストレスに着目し、エピジェネティック制御による腎ナトリウムチャンネル発現制御を明らかにする。さらに、ヒストンの修飾にかかわる microRNA を同定することで食塩感受性高血圧の診断方法の新しい可能性を探る。

3. 研究の方法

マウスを用いた検討

カテコラミン持続刺激下で減塩食、増塩食を負荷し、血圧を測定するとともに腎臓よりヒストンたんぱくを抽出し、そのアセチル化とアセチル化により変化する遺伝子を探索し、腎ナトリウムチャンネルとの関連を検討する。

酸化ストレス増加モデルとして片腎摘出食塩負荷マウスを作製し、腎障害の程度と変化するマイクロ RNA を探索し、障害発症との関連を明らかにする。また、関連するマイクロ RNA を補充あるいは阻害することによる腎障害の改善効果を検討する。

細胞を用いた検討

腎遠位尿細管細胞を用い、受容体刺激によるヒストン変化とマウス実験より明らかになる関連遺伝子の変化を検討する。

ヒト尿を用いた検討

マウスの検討から得られた所見がヒト尿中の尿細管細胞で確認できるかを検証する。

4. 研究成果

慢性的にノルアドレナリンを投与したマウスや腎交感神経の緊張が上昇である DOCA-塩モデルマウスにおいて、食塩感受性高血圧を呈した。さらにこれらの動物の腎臓ではヒストンがアセチル化することが明らかになった。さらに遺伝子の発現を検討したところナトリウムチャンネルを抑制する遺伝子 WNK4 の転写が抑制されることが明らかになった。実際 WNK4 のプロモーター部分のヒストンがアセチル化することを確認した。一般的にはヒストンのアセチル化は遺伝子転写を亢進させる。そこで我々は尿細管細胞を用いて検討したところ 刺激による WNK4 の転写抑制はグルココルチコイドが

必要であることが明らかとなり、WNK4 のプロモーターにはグルココルチコイドにより抑制される配列があることを確認した。すなわちヒストンアセチル化によりグルココルチコイドの WNK4 転写抑制作用が増強されると考えられ、実際クロマチン免疫沈降法で確認することができた。一方ヒストンアセチル化の亢進は PKA を介したヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC8) の活性抑制であることを明らかにした。他のヒストン脱アセチル化酵素に与える影響、マイクロ RNA の関与を検討したが有意なものを見つけることはできなかった。

腎臓に高発現している既報の 73 個の microRNA と酸化ストレスにより制御される microRNA を insilico でサーチし、腎臓細胞での発現を確認した。miR29a は酸化ストレスにより著明に発現が抑制されるものであった。一方 miR124a, 135, 195 は発現が亢進した。また miR29a は rac1 の活性化酵素である Tiam1 の発現を抑制することを確認した。miR29a を介し Tiam1 が抑制されることで rac1 の活性化が抑制された。Rac1 は mineralocorticoid 受容体を活性化するが、実際片腎摘出食塩負荷動物モデルでは酸化ストレスの増大と miR29a の低下および Rac1 の活性化をみとめ、腎臓の線維化が増悪した。このモデルで mineralocorticoid 受容体拮抗薬あるいは miR29a の補充は腎障害を抑制することが明らかになった。

ヒト尿中細胞を用いた検討では糖尿病性腎症、末期腎不全患者では尿管細胞を繰り返し採取することが可能であり、培養することも可能であった。これらの細胞の多くは近位尿管のマーカーを発現していた。動物実験で検討された遠位尿管を得ることは困難であることが明らかとなり、今後動物実験の結果を臨床応用する際の課題である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 11 件)

1. 下澤達雄, 食塩感受性高血圧における 2 アドレナリン作動性受容体とナトリウム再吸収調節系 (WNK4 経路). 生体の科学. 64 : 386-387, 2013.

2. Shimosawa T. Salt, the renin-angiotensin-aldosterone system and resistant hypertension. Hypertension Res. 36:657-660, 2013

3. Kawakami· Mori F, Shimosawa T, Mu S, Wang H, Ogura S, Yatomi Y, Fujita T. NADPH oxidase-mediated Rac1 GTP activity is necessary for non-genomic actions of the mineralocorticoid receptor in the CA1 region of the rat hippocampus. Am J Physiol Endoc Metab. 302: E425-32, 2012

4 . Shimosawa T, Shengyu M, Shibata S, Fujita T. The Kidney and Hypertension: Pathogenesis of Salt-Sensitive Hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 14:468-472,2012.

5 .下澤達雄, 穆勝宇, 藤田敏郎. 食塩感受性の個人差のメカニズム - その遺伝的背景 -. *Medical Practice.* 29:510-512,2012.

6 .下澤達雄, 穆勝宇, 藤田敏郎. 食塩感受性高血圧におけるエピゲノム制御. *内分泌・糖尿病・代謝内科.* 34:347-352,2012.

7 .下澤達雄. 食塩感受性の分子生物学的機序. *Progress in Medicine.* 32:1020-1024,2012.

8 .下澤達雄, 藤田敏郎. 食塩感受性高血圧の発症メカニズム. *医学のあゆみ-高血圧のすべて* 2012. 241:961-965,2012.

9 .下澤達雄. メタボリックシンドロームにおける食塩感受性高血圧と交感神経のかかり WNK の関与. *Angiotensin Research.* 9:140-143,2012.

10 .下澤達雄. 臨床検査から病状を把握し, 予後を予測するには尿検査の立場から. *日本末病システム学会雑誌.* 18:99-103,2012.

11 . Mu S, Shimosawa T, Ogura S, Wang H, Uetake Y, Kawakami-Mori F, Marumo T, Yatomi Y, Geller DS, Tanaka H, Fujita T. Epigenetic modulation of the renal β -adrenergic-WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. *Nat Med.* 17:573-580, 2011

12 . Shibata S, Mu S, Kawarazaki H, Muraoka K, Ishizawa K, Yoshida S, Kawarazaki W, Takeuchi M, Ayusawa N, Miyoshi J, Takai Y, Ishikawa A, Shimosawa T, Ando K, Nagase M, Fujita T. Rac1 GTPase in rodent kidneys is essential for salt-sensitive hypertension via a mineralocorticoid receptor-dependent pathway. *J Clin Invest.* 121:3233-3243, 2011

〔学会発表〕(計 9 件)

1 .下澤達雄, 広浜大五郎, 小倉彩世子, 森典子, 神保りか, Reheman Latapati, 上竹勇三郎. 急性食塩負荷時の自律神経の変化. 第二回臨床高血圧フォーラム, 東京, 2013.5

2 . 森典子, 神保りか, 広浜大五郎, Reheman Latapati, 小倉彩世子, 渡辺大輔, 安藤孝, 関康史, 吉田尚弘, 森本聡, 市原淳弘, 下澤達雄. 妊娠時ストレスが胎児の発達後血圧に与える影響. 第 36 回日本高血圧学会学術総会, 大阪, 2013.10

3 .下澤達雄, 小倉彩世子, 宿谷賢一, 田中雅美, 矢富裕. 急性食塩負荷時の交感神経活動の変化 LF/HF での評価. 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会, 神戸, 2013.11

4 .森典子, 下澤達雄, 広浜大五郎, 神保りか, 穆勝宇, 藤田敏郎. Ang , 高食塩負荷モデルによる腎線維化に対する microRNA 導入に

よる改善効果. 第 35 回日本高血圧学会総会, 名古屋, 2012. 9

5 . 森典子, 神保りか, 広浜大五郎, 穆勝宇, 藤田敏郎, 下澤達雄. アンジオテンシンによる腎線維化障害への miR 導入によるシグナル変化の検討. 第 16 回日本心血管内分泌代謝学会, 東京, 2012.11

6 . Shengyu Mu, Tatsuo Shimosawa, Sayoko Ogura, Hong Wang, Yuzaburo Uetake, Fumiko Mori, Rika Jimbo, Yutaka Yatomi, David S Geller, Hirotohi Tanaka, Toshiro Fujita. Renal β -adrenergic-stimulation-induced salt sensitive hypertension, interaction between WNK4 and glucocorticoid receptor. 第 54 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 2011.06

7 . 森典子, 下澤達雄, 神保りか, 穆勝宇, 上竹勇三郎, 藤田敏郎. UO モデルにおける microRNA の変化および治療効果. 第 54 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 2011.06

8 . Shengyu Mu, Tatsuo Shimosawa, Sayoko Ogura, Hong Wang, Yuzaburo Uetake, Fumiko Mori, Toshiro Fujita. Epigenetic Modulation of the Renal β -adrenergic-WNK4 Pathway in Salt-sensitive Hypertension. 第 34 回日本高血圧学会総会, 宇都宮, 2011.10

9 . 穆勝宇, 下澤達雄, 小倉彩世子, 王紅, 上竹勇三郎, 森典子, 矢富裕, 藤田敏郎. 食塩感受性高血圧の発症機序: 腎 2 受容体 WNK4 の役割と Epigenetic 調節. 第 15 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 大阪, 2011.11

〔図書〕(計 3 件)

1 .下澤達雄. (分担) Clinical nephrology 全身性疾患と腎障害. 食塩感受性高血圧の発症機序. *Annual Review 2013 腎臓.*(富野康日己, 柏原直樹, 成田一衛編) 中外医学社(東京) pp254-256, 2013.

2 .下澤達雄. (分担) 内分泌 基礎分野での進歩. 食塩感受性高血圧のエピジェネティクス. *Annual Review 2013 糖尿病・代謝・内分泌.*(寺内康夫, 伊藤裕, 石橋俊編) 中外医学社(東京) pp171-173, 2013.

3 . Shimosawa T, Kameko T, Qingyou X, Miyamoto Y, Shengyu M, Wang H, Ogura S, Jimbo R, Majtan B, Uetake Y, Hirohama D, Kawakami-Mori F, Fujita T. Oxidative stress in multiple organ damage in hypertension, diabetes and CKD, mechanisms and new therapeutic possibilities. In Volodymyr I. Lushchak, Dmytro V. Gospodaryov. ed. *Oxidative Stress and Diseases.* Croatia, pp.457-468, 2012.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下澤 達雄 (Shimosawa, Tatsuo)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：90231365

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

安東 克之 (Ando, Katsuyuki)
東京大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号：60184313