

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790834

研究課題名(和文)慢性酸化ストレスによる中枢ミネラルコルチコイド受容体の非ゲノム作用への影響

研究課題名(英文)The effect of chronic oxidative stress on non-genomic action of mineralocorticoid receptor in the CA1 region.

研究代表者

森 典子(Mori, Fumiko)

東京大学・先端科学技術研究センター・研究員

研究者番号：80431857

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラットに対し、片腎摘出および8%塩分負荷を行い全身および脳内の酸化ストレスを亢進させるモデルを作成した。その海馬スライスを用い、CA1領域のアルドステロンによるfieldEPSPsの増強が慢性酸化ストレスモデルにより減弱することを確認した。また別のスライス、HEK293細胞を用い酸化ストレスにより、細胞質分画のミネラルコルチコイド受容体発現は変わらないものの、膜ミネラルコルチコイド受容体の発現が減弱することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We made chronic oxidative stress model by uninephrectomy and high salt loading to SD rat. and we found that non-genomic action of mineralocorticoid receptor was diminished by chronic oxidative stress in the CA1 region of hippocampus. Further we confirmed that oxidative stress did not decrease MR expression itself, but decrease membranous MR expression.

研究分野：高血圧

キーワード：ミネラルコルチコイド受容体 非ゲノム作用 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

アルドステロン-ミネラルコルチコイド受容体は、腎臓での Na 再吸収に関わるのみならず、炎症や線維化を介した臓器障害に関わることが明らかになっていた。一方脳においてミネラルコルチコイド受容体は記憶の形成に重要な役割を果たしており、ミネラルコルチコイド受容体遮断はグルタミン酸放出を抑制しシナプス増強を抑制することが知られていた。

一方我々は急性の酸化ストレスがミネラルコルチコイド受容体シグナルに協調的に働き、シナプス増強を調節していることを明らかにしていた。

2. 研究の目的

慢性酸化ストレスが脳内ミネラルコルチコイド受容体の非ゲノム作用にどのような影響を及ぼすかを明らかにする。

3. 研究の方法

高血圧を来し、慢性酸化ストレスを来すモデルを用い、海馬でのミネラルコルチコイド受容体の非ゲノム作用を検討する。

・3週零のSDラットの片腎を摘出し、1%食塩水飲水を3週間負荷する。

・麻酔・断頭後速やかに海馬を取り出し、400 μmの厚さでスライスを作成する。

・CA1線維を電気刺激し、約5mm離れた部位でField Excitatory Postsynaptic Potentials (fEPSPs) を測定する。

・灌流液に1nMアルドステロン、100nMコルチコステロンなどを投与し、fEPSPsの変化を検討する。

・海馬スライスでのMRの核内移行、Rac1活性化、NADPHoxidaseコンポーネントを検討する。

・非ゲノム作用に関わる膜MRの発現をstreptavidin-biotin法で検討する。

4. 研究成果

・片腎摘出、塩分負荷を行ったモデルでは、MAP 20mmHg程度の血圧上昇を認めた。

海馬CA1領域でのField EPSPsはアルドステロン、コルチコステロンいずれにおいても増強はみられなかった。

・海馬での酸化ストレスレベルを、4HNE, Nitrotyrosine で検討するといずれの上昇も認められた。さらにNADPH oxidase componentのNOX2, NOX4のmRNAレベルでの発現上昇も認められた。

・MRの非ゲノム作用の消失の原因を検討するため、下流シグナルであるERK1/2のリン酸化、SgK1を検討したところ、いずれの亢進も認められた。膜MR、核MRを検討したところ膜MRの発現低下が認められた。

・以上のことから慢性酸化ストレスにより膜表面に存在するMRの発現低下が非ゲノム作用の減弱を引き起こしている可能性が考えられた。

さらに酸化ストレスが膜MRの発現低下を引

き起こす原因としてGPCR binding proteinであるArrestinとの関係を検討した。

ImmunoPrecipitationを行ったところ、Arrestin1とMRの結合が認められ、酸化ストレスでArrestin1とMRの結合が強固となることが示された。

MRとArrestin1の結合部位を検討するためにMR deletion mutantを作成し検討したが、一定の結果は得られなかった。

別グループからの研究ではMRとGPR40の結合が非ゲノム作用に関わることが指摘されていることから、MRは直接的にArrestin1と結合していたのではなくGPR40を介した結合があった可能性が示唆された。Arrestin1が酸化ストレスにより修飾されることは既報があり、酸化ストレスArrestin1-GPR40-MR複合体の増加膜MRの発現低下が起きると示唆されたが、酸化ストレスによるArrestin1とMRの結合増加のメカニズムは現在検討中である。

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6件)

1. Serum soluble (pro)renin receptor levels in patients with essential hypertension.

Morimoto S, Ando T, Niiyama M, Seki Y, Yoshida N, Watanabe D, Kawakami-Mori F, Kobori H, Nishiyama A, Ichihara A.

Hypertens Res. 2014;37(7):642-8. doi: 10.1038/

2. Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of Klotho deficiency.

Jimbo R, Kawakami-Mori F, Mu S, Hirohama D, Majtan B, Shimizu Y, Yatomi Y, Fukumoto S, Fujita T, Shimozawa T.

Kidney Int. 2014 May;85(5):1103-11. doi: 10.1038/

3. Prediction of gestational diabetes mellitus by soluble (pro)renin receptor during the first trimester.

Watanabe N, Morimoto S, Fujiwara T, Suzuki T, Taniguchi K, Mori F, Ando T, Watanabe D, Kimura T, Sago H, Ichihara A.

J Clin Endocrinol Metab. 2013 ;98(6):2528-35. doi: 10.1210

4. Heterogeneous electrophysiological and morphological properties of neurons in the mouse medial amygdala in vitro.

Niimi K, Horie S, Yokosuka M, Kawakami-Mori F, Tanaka K, Fukayama H, Sahara Y.

Brain Res. 2012;1480:41-52. doi: 10.1016

5. Oxidative stress augments pulmonary hypertension in chronically hypoxic mice overexpressing the oxidized LDL receptor. Ogura S, Shimosawa T, Mu S, Sonobe T, Kawakami-Mori F, Wang H, Uetake Y, Yoshida K, Yatomi Y, Shirai M, Fujita T. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013 Jul 15;305(2):H155-62. doi: 10.1152/

6. NADPH oxidase-mediated Rac1 GTP activity is necessary for nongenomic actions of the mineralocorticoid receptor in the CA1 region of the rat hippocampus. Kawakami-Mori F, Shimosawa T, Mu S, Wang H, Ogura S, Yatomi Y, Fujita T. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012 5;302(4):E425-32. doi: 10.1152/ [学会発表](計16件)

1. 日本内分泌学会(2015) 妊娠時ストレスによる胎児成長後の影響～塩分感受性高血圧と脳内エピジェネティクス変化 森 典子、下澤達雄、広浜大五郎、藤田敏郎

2. International Society of Hypertension (アテネ) Prenatal Stress and brain renin aldosterone systems. Fumiko Kawakami-Mori, Rika Jimbo, Daigoro Hirohama, Latapati Lehman, Tatsuo Shimosawa, Atsuhiko Ichihara 日本

3. 高血圧学会臨床高血圧フォーラム (2014) 本態性高血圧患者における腎機能と組織レニン-アンジオテンシン系指標との関連 竜崎正毅, 森本 聡, 水口 悠貴, 新山 道大, 吉田 尚弘, 関 康史, 渡辺 大輔, 森 典子 et al.

4. 日本内分泌学会(2014)アルドステロン産生腺腫患者術前後の夜間血圧下降度 安藤 孝, 小野 昌美, 渡辺 大輔, 大島 洋一, 水口 悠貴, 竜崎 正毅, 村山 友樹, 森 典子, 森本 聡, 三木 伸泰, 市原 淳弘

5. 日本内分泌学会(2014) アディポネクチン高値は甲状腺結節のリスクを上昇させる 森 典子, 水口 悠貴, 長崎 実佳, 林 直人, 宇野 漢成, 渡辺 大輔, 安藤 孝, 森本 聡, 市原 淳弘

6. 日本内分泌学会 (2014) 自律神経系調節と心血管内分泌代謝学 自律神経調節と腎臓-心腎連関における効果器と受容器としての働き 下澤 達雄, 広浜 大五郎, レーマン・ラタパティ, 王 聡慧, 森 典子, 小倉 彩世子

7. 日本腎臓病学会 (2014) 腎除神経術はSERCA2a 発現回復を介して心拡張障害を軽減させる 広浜 大五郎, 森 典子, 小倉 彩世子, 神保 りか, 上竹 勇三郎, 矢富 裕, 南学 正臣, 藤田 敏郎, 下澤 達雄

8. 日本高血圧学会 (2013) 腎除神経術は降圧非依存的に心拡張障害を軽減させる 広浜 大五郎, 森 典子, 小倉 彩世子, 穆

勝宇, 神保 りか, 上竹 勇三郎, 藤田 敏郎,

9. 日本高血圧学会 (2013)

妊娠時ストレスが胎児の発達後血圧に与える影響, 森 典子, 神保 りか, 広浜 大五郎, Lehman 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

10. 日本高血圧学会 (2013)

高血圧患者での急性食塩負荷時の交感神経活動の変化 LF/HF での評価 下澤 達雄, 小倉 彩世子, 森 典子, 広浜 大五郎, Rehman Latapati, 神保 りか, 上竹 勇三郎

11. 日本内分泌学会 (2013)

高血圧患者における上腕血圧と中心血圧の比較検討

竜崎 正毅, 森本 聡, 水口 悠貴, 大島 洋一, 渡辺 大輔, 森 典子, 安藤 孝, 小野 昌美, 三木 伸泰, 市原 淳弘

12. 日本内分泌学会 (2013) アルドステロン産生腺腫患者における夜間血圧下降度の術後変化 安藤 孝, 小野 昌美, 渡辺 大輔, 森 典子, 新山 道大, 関 康史, 吉田 尚弘, 森本 聡, 三木 伸泰, 市原 淳弘

13. 急激に増大した甲状腺扁平上皮癌の一例 水口 悠貴, 安藤 孝, 森 典子, 大島 洋一, 渡辺 大輔, 竜崎 正毅, 関 康史, 吉田 尚弘, 小野 昌美, 三木 伸泰, 森本 聡, 堀内 喜代美, 岡本 高宏, 市原 淳弘

14. 日本内分泌学会 (2013) 森 典子, 長崎 実佳, 林 直人, 渡辺 大輔, 安藤 孝, 吉田 尚弘, 水口 悠 甲状腺結節と代謝マーカーの関連 アディポネクチン、HOMA-IR、BMI

15. 日本高血圧学会 (2012)

森 典子, 下澤 達雄, 広浜 大五郎, 神保 りか, 穆 勝宇, 藤田 敏郎, 日本高血圧学会(名古屋) AngII、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

16. International Society of Hypertension The effect of microRNA on AngII-Salt induced kidney fibrosis. Fumiko Kawakami-Mori, Tatsuo Shimosawa, Rika Jimbo, Daigoro Hirohama, Latapati Lehman, Toshiro Fujita

[図書](計2件)

森 典子, 下澤 達雄用語解説 食塩感受性高血圧、腎・高血圧の最新治療(2187-0004)2巻1号 Page51(2013.01)

森 典子, 市原 淳弘 レニン(プロレニン)と腎臓、Angiotensin Research

〔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 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
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

森 典子 (Mori Fumiko, Mori Kawakami
Fumiko)

東京大学 先端科学技術研究センター

特任研究員

研究者番号：80431857