

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460662

研究課題名(和文) 高尿酸血症合併慢性腎臓病治療におけるシルニジピンの有用性の検討

研究課題名(英文) Protective effects of cilnidipine against hyperuricemia-related renal and vascular injury

研究代表者

鳥羽 裕恵 (Toba, Hiroe)

京都薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：90351270

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：高尿酸血症が血管・腎障害の一因であるという仮説について、高尿酸血症ラットを作成し検討した。 Urikase 阻害薬オキソニウム(750mg/kg、1日2回)を片腎ラットに8週間投与することで尿酸値が上昇し、これはシルニジピン併用により低下した。 血圧、心拍数は全群間に有意差を認めず、尿蛋白は高尿酸血症群でのみ増加した。 大動脈内皮依存性弛緩反応は高尿酸血症群で低下し、シルニジピン投与により改善した。 以上の結果から、高尿酸血症は腎、血管機能低下の危険因子であること、またシルニジピンは尿酸値の低下と腎・血管保護効果を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：This study investigated whether hyperuricemia could induce vascular and renal dysfunction. Administration of an uricase inhibitor potassium oxonate (1500mg/kg/day) increased plasma uric acid levels in uninephrectomized rats ( $2.7 \pm 0.1$ mg/dL vs.  $2.0 \pm 0.1$ mg/dL,  $p < 0.05$ ). In the hyperuricemia group, urinary protein excretion increased ( $11 \pm 1.2$ mg/day vs.  $7 \pm 0.5$ mg/day,  $p < 0.05$ ) and endothelium-dependent relaxation of the aorta was impaired compared to the vehicle group, whereas there were no significant differences in blood pressure. Cilnidipine had not effect on blood pressure, but decreased plasma uric acid and proteinuria and improved vasodilatory response. These results suggest that the increase in plasma uric acid could be a risk factor for renal and vascular injury. Cilnidipine might be beneficial against renal and vascular dysfunction which relates to hyperuricemia.

研究分野：薬理学

キーワード：高尿酸血症

1. 研究開始当初の背景

(1) 疫学研究より高尿酸血症が腎障害の独立した危険因子であることが指摘されているが、臓器障害のリスクがマーカーなのかは議論が分かれている( )。基礎研究において尿酸が心血管イベントを引き起こす可能性を示す報告が散見されるが詳細は不明である。

(2) ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬シルニジピンは L 型に加え N 型カルシウムチャネルをブロックすることから交感神経興奮を抑制することが知られている( )。この作用によりシルニジピンは尿酸低下作用を発揮しうることが期待されている。

2. 研究の目的

(1) 高尿酸血症モデルラットを作成し、当モデルにおける腎機能、各種血管床における内皮細胞機能を測定することで、血漿尿酸値と腎、血管機能との関連を検討することを目的とした。

(2) 高尿酸血症モデルラットにおける腎機能低下、血管内皮機能低下に対し、シルニジピンが改善作用を発揮することを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ウリカーゼ阻害薬オキシソロン酸カリウムを投与することにより高尿酸血症モデルラット作成を試みた。これまでの報告に基づき 750mg/day/day のオキシソロン酸カリウムを 6 週間慢性投与した。血漿尿酸値は vehicle 群と有意差は認められなかったため、オキシソロン酸カリウムの用量を増量させた群、オキシソロン酸カリウムと尿酸を併用投与した群、片腎術後にオキシソロン酸カリウムを投与した群を作成した。血漿尿酸値が上昇した群を高尿酸血症モデルラットとし、これにシルニジピン (1mg/kg/day) を投与した。

(2) 投与期間終了時、テールカフ法により収縮期血圧と心拍数を測定した。また代謝ケージを用いた 24 時間蓄尿と血液サンプルを用い、尿中蛋白排泄量、血漿クレアチニン値、クレアチニンクリアランスを測定し、腎機能を評価した。

(3) 深麻酔下で胸部大動脈組織を摘出した。大動脈リング標本を用いてフェニレフリン前収縮後のアセチルコリンによる弛緩反応から、内皮機能を検討した。また、内皮非依存性弛緩反応はニトロプルシッドによる弛緩反応から検討し、一酸化窒素の寄与については一酸化窒素合成酵素阻害薬 L-NAME 前処置下での弛緩反応から検討した。

4. 研究成果

(1) これまでの報告に基づき、750mg/kg のオキシソロン酸カリウムを経口投与したが、血漿尿酸値の有意な増加を認めなかった。そこで 1500mg/kg/day まで投与量を増量し、両腎、片腎ラットに投与したところ、片腎ラットでのみ血漿尿酸値の増加を認め、これを高尿酸血症モデルラットとした ( $2.7 \pm 0.1 \text{mg/dL}$  vs. vehicle 群  $2.0 \pm 0.1 \text{mg/dL}$ ,  $p < 0.05$ )。両腎ラットに尿酸とオキシソロン酸カリウムを併用投与しても尿酸値の増加を認めなかった。シルニジピン投与により尿酸値は低下した ( $2.1 \pm 0.1 \text{mg/dL}$ ,  $p < 0.05$ )。

(2) 血圧、心拍数、体重は全群間で有意差を認めなかった(血圧: vehicle 群  $120 \pm 2 \text{mmHg}$ , 高尿酸血症群  $124 \pm 3 \text{mmHg}$ , シルニジピン群  $127 \pm 2 \text{mmHg}$ 、心拍数: vehicle 群  $403 \pm 8 \text{bpm}$ , 高尿酸血症群  $399 \pm 12 \text{bpm}$ , シルニジピン群  $398 \pm 16 \text{bpm}$ )。24 時間代謝ケージを用いた検討によると、飲水量、尿量も全群間で有意差はなかった。尿中蛋白排泄量は高尿酸血症モデルラットで増加したが ( $10.5 \pm 1.2 \text{mg/day}$  vs. vehicle 群  $6.7 \pm 0.5 \text{mg/day}$ ,  $p < 0.05$ )。血漿クレアチニン値、クレアチニンクリアランスは変化を認めなかった。シルニジピン投与は血圧に影響を与えなかったが、尿中蛋白排泄量の増加を抑制した ( $7.4 \pm 0.5 \text{mg/day}$ ,  $p < 0.05$ )。これらの結果から、高尿酸血症は腎障害を引き起こすこと、またシルニジピンは高尿酸血症モデルラットにおける腎障害に有用であることが示唆された。

(3) 胸部大動脈リング標本における内皮依存性弛緩反応は高尿酸血症モデル群で有意な低下を認めた。シルニジピン投与により内皮機能の低下は抑制された。これらのアセチルコリンによる弛緩反応は一酸化窒素合成酵素阻害薬 L-NAME の前処置により消失した。一方、内皮依存非依存性弛緩反応は全群間で有意差を認めなかった(図 1)。本結果より高尿酸血症は血管内皮機能低下の危険因子である可能性が示唆されたとともに、シルニジピンによる血管保護効果が示された。

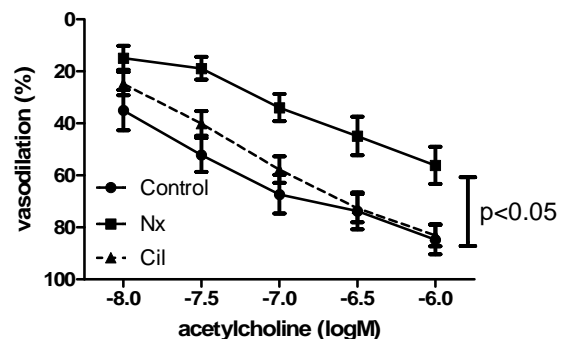


図 1 胸部大動脈における内皮依存性弛緩反応

<引用文献>

Feig DI, Uric acid: a novel mediator and marker of risk in chronic kidney disease?, *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2009、18(6):526-30

Toba H, Yoshida M, Tojo C, Nakano A, Oshima Y, Kojima Y, Noda K, Wang J, Kobara M, Nakata T, L/N-type calcium channel blocker cilnidipine ameliorates proteinuria and inhibits the renal renin-angiotensin-aldosterone system in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats, *Hypertens Res.* 2011、34(4):521-9

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 3 件)

Hiroe Toba, Jiahong Wang, Makoto Ohigashi, Miyuki Kobara, Tetsuo Nakata, Telmisartan protects against vascular dysfunction with peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  activation in hypertensive 5/6 nephrectomized rats, *Pharmacology*, 査読有、2013、92 : 265-275  
DOI: 10.1159/000355482

Jiahong Wang, Hiroe Toba, Yosuke Morita, Kohei Nakashima, Kazuki Noda, Wei Tian, Miyuki Kobara, Tetsuo Nakata, Endothelial dysfunction, macrophage infiltration and NADPH oxidase-dependent superoxide production were attenuated by erythropoietin in streptozotocin-induced diabetic rat aorta, *Pharmacology*, 査読有、2013、91 : 48-58  
DOI: 10.1159/000343963

Makoto Ohigashi, Nobuyoshi Imai, Hiroe Toba, Miyuki Kobara, Tetsuo Nakata, Pitavastatin Exhibits Protective Effects on Podocytes Accompanied by BMP-7 Up-Regulation and Rho Suppression, *Pharmacology*, 査読有、2016、97(5-6):265-76  
DOI: doi: 10.1159/000444397

[学会発表](計 11 件)

Hiroe Toba, Jiahong Wang, Kazuki Noda, Wei Tian, Miyuki Kobara, Tetsuo Nakata, Telmisartan inhibited vascular inflammation and endothelial dysfunction via activation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  in hypertensive 5/6 nephrectomized rat, 23rd European Meeting on Hypertension and

Cardiovascular Protection (イタリア、ミラノ)、2013年6月

横山拓未、大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、食塩負荷腎障害モデルラットにおける rebamipide の腎保護作用に関する検討、第 124 回日本薬理学会近畿部会 (京都)、2013 年 11 月

Makoto Ohigashi、Miyuki Kobara、Tamotsu Takahashi、Hiroe Toba、Takehiko Wada、Tetsuo Nakata、Pitavastatin suppresses hyperglycemia-induced podocyte injury via bone morphogenetic protein-7 preservation、The 78th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (東京)、2014 年 3 月

瀬尾文菜、片山ちさ、加藤麻里、野口智也、大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、rebamipide は食塩負荷腎障害モデルラットにおいて腎保護効果を示す、第 64 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (京都)、2014 年 10 月

中森 愛、黒川智美、長谷部晃、大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、高尿酸血症モデルラットにおける臓器障害に関する検討、第 64 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (京都)、2014 年 10 月

瀬尾文菜、加藤麻里、大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、rebamipide は食塩負荷腎障害モデルラットにおいて腎保護作用を示す、第 37 回日本高血圧学会総会 (横浜)、2014 年 10 月

大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、HMG-CoA 還元酵素阻害薬 pitavastatin の podocyte 保護効果と BMP-7 の関与及びその機序について、第 24 回日本循環薬理学会 (山形)、2014 年 12 月

大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、高尿酸血症モデルラットにおける尿酸と臓器障害の関連について、第 88 回日本薬理学会年会 (名古屋)、2015 年 3 月

三野由香利、大東 誠、鳥羽裕恵、小原 幸、中田徹男、高尿酸血症が血管内皮機能に与える影響について、第 38 回日本高血圧学会総会 (愛媛)、2015 年 10 月

渡部裕介、大畑佳織、深野木文香、藤本直人、松本万瑠里、Naseratun Nessa、鳥羽裕恵、小原幸、中田徹男 DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットにおける flaxseed の降圧効果および作用機序の検討、第 26 回日本循環薬理学会学術集会 (長野)、2016 年 12 月

Hiroe Toba、Tomoka Suzuki、Akari Yoshikawa、Tomoki Noutomi、Yukari Mino、Shiho Ishikawa、Nanako Toda、Kouki Sugino、Naseratun Nessa、Yusuke Watanabe、Miyuki Kobara、Tetsuo Nakata、A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type I motif (ADAMTS1) causes renal fibrosis in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats、27th European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection (イタリア、ミラノ)、2016年6月発表確定

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

[https://www.kyoto-phu.ac.jp/education\\_research/laboratory/?c=laboratory\\_view&pk=15](https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/laboratory/?c=laboratory_view&pk=15)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鳥羽 裕恵 (TOBA, Hiroe)  
京都薬科大学・薬学部・助教  
研究者番号：90351270

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし