

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04834

研究課題名(和文)心不全における腎髄質循環とNa貯留メカニズムの解明

研究課題名(英文)Clarification of the mechanism of sodium retention and renal circulation in heart failure patients.

研究代表者

伊藤 貞嘉 (Ito, Sadayoshi)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：40271613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓は体液・ミネラルの恒常性維持を介して循環血漿量を調節し、心臓は腎臓により調節された血漿量を血液として拍出することから、心機能と腎機能は互いに影響しあっている。従って、心機能の低下は腎機能を低下させ、腎機能の低下は心機能を低下させることとなり、結果として心腎症候群を形成する場合がある。

我々は心腎症候群モデル動物として脳卒中易発性高血圧自然発症ラット(SHR-SP)ならびにDahl食塩感受性高血圧(DahlS)ラットを対象として、体液貯留の改善される薬剤数種類を投与して心腎症候群の発症機序解明を試みるべく、検討を行った。

研究成果の概要(英文)：Due to the functional linkage between cardiac function and renal function, a decline in renal function exacerbates cardiac function and a decline in cardiac function exacerbates renal function. Renal congestion is reported to contribute to the decline of renal function in heart failure patients. Regarding the mechanism of kidney failure caused by congestion, although it is suggested that ischemia is involved due to an increase in venous pressure and a decrease in blood flow, it has not been sufficiently elucidated. We have examined the effects of several drugs which is thought to improve body fluid accumulation on cardio renal syndrome models containing stroke-prone spontaneously hypertensive rats and Dahl salt sensitive rats.

研究分野：腎臓生理学

キーワード：腎機能 心機能 心腎連関 腎臓髄質血流量 腎うっ血 ナトリウム利尿 体液貯留

1. 研究開始当初の背景

髄質血流は食塩負荷時に増加し、Na 排泄を促進する。心不全ではこの増加が欠如すると推定される。髄質血流は総腎血流の10%にも満たず、また、髄質血流を制御する下降直血管(動脈血)と上行直血管(静脈血)が互いに接して並走する特異な血管構造により動脈から静脈へ酸素が奪われ、定常的に低酸素状態にある。重要なことは傍髄質ネフロン(mTAL)が直血管と隣接することである。我々はmTALのNa再吸収の亢進によりROS産生が増大し(Mori T et al. Hypertension. 2004, Abe M et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2006.) それにより近傍にある直血管の収縮を惹起する可能性を示した(Tubulo-vascular crosstalk, TVC: Mori T et al. Hypertension. 2003)。Micropunctureの成績は心不全では表在系球体GFRが低下し、傍髄質系球体GFRが増加することを示唆する。すなわち、傍髄質ネフロン(mTAL)に対するNa負荷が増大し、産生されたROSが直血管を収縮させる可能性がある。さらに、我々は心不全でmTALにおけるNa-K-2Clの蛋白発現がRA系とは関係なく亢進していることを示した(Kid Int.2000)。以上より、心不全初期から傍髄質mTALへのNa負荷の増大とそれに伴うROS産生の増加による髄質血流の低下が起こり、心不全の病態を悪化させると考えられる。

mTALはミトコンドリアを豊富にもち、酸素を消費してNaを再吸収している。我々は低酸素がmTALのミトコンドリアにおけるROS産生を増やすことを確認している。

本研究の仮説を検証するために、我々は世界に先駆けて腎尿細管を単離灌流下のミトコンドリア特異的な酸化ストレスのイメージング法を開発した。ミトコンドリア活性酸素特異的標識色素MitoSOXと過酸化水素特異的標識色素MitoPY1を用い、腎ミトコンドリア活性酸素と過酸化水素を世界で初めて独立して評価することに成功した。この手法および我々が得意とする腎生理研究手法を用い、今まで以下の予備検討を行った。

(1) ラット単離尿細管(mTAL)を高NaCl溶液で灌流を行うとミトコンドリア活性酸素が産生する(AbeM et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2006.)

(2) ラットアンジオテンシン II 静脈内投与による血圧上昇および腎血流低下はミトコンドリア活性酸素消去剤であるMitoTEMPOの投与により抑制され、ミトコンドリア酸化ストレスが腎血流を調節する。(Yi Lu et al. Hypertension 2010, abstract)

(3) 腎虚血再灌流ラットモデルで、再灌流

後の髄質血流と酸素濃度の低下がMitoTEMPOの投与により抑制される。(Akao K et al. Hypertension. 2011, abstract)

(4) ラット単離尿細管(mTAL)が低酸素刺激によりミトコンドリア酸化ストレスを誘導する(Akao K et al. Hypertension. 2011, abstract)。

また、麻酔したラットの腎臓にミトコンドリア特異的活性酸素消去剤を投与するとアンジオテンシン II による腎虚血が改善できることが観察された。また、糖尿病の病態にみられるように尿細管腔内のブドウ糖濃度を高めてもミトコンドリア酸化ストレスが亢進した。

2. 研究の目的

心不全におけるNa調節の大きな特徴は食塩負荷時に近位尿細管のNa再吸収が増加する現象である。すなわち、心不全の腎臓は単にNaを排泄できないのではなく、食塩負荷時にこそNaを積極的に再吸収する特異な機序が作動している。近位尿細管の再吸収にはRenin-Angiotensin (RA)や交感神経系に加え、髄質血流が関与する。しかしながら、研究手法の問題により、これまで心不全の病態における髄質の役割はほとんど検討されていない。以下の仮説を検証する：心不全には髄質循環異常が見られる。それには髄質の太いヘンレのループ(mTAL)におけるNa再吸収(酸素消費)の増大にともなう低酸素と体液因子が関与する。低酸素により活性酸素種(ROS)産生が増大し、Na貯留と細胞傷害が惹起される。この研究により、髄質循環改善による新たな治療法の開発が期待される。

3. 研究の方法

我々は心腎症候群モデル動物として脳卒中易発性高血圧自然発症ラット(SHR-SP)ならびにDahl食塩感受性高血圧(DahlS)ラットを対象として、体液貯留の改善される薬剤数種類を投与して心腎症候群の発症機序解明を試みるべく、検討を行った。

また、心不全時の腎機能悪化(WRF)は患者の予後に影響することが報告されており、WRFと体液貯留の指標であるCVPが関連することから、うっ血による心腎症候群の悪化が推察されている。我々が開発した片側腎静脈狭窄による腎うっ血モデルラットにおいて、グルコース・ナトリウム共輸送体2阻害薬(SGLT2i)による尿中へのナトリウム排泄量増加を介した体液貯留の改善を介したうっ血改善効果が期待されたため、検討を行った。

さらに、腎うっ血は腎臓総血流量を低下させることが報告されている。このうち腎

臓髄質領域の血流量は腎臓全体のおよそ10%程度に過ぎないが、圧-ナトリウム利尿機構を介したナトリウムならびに体液の恒常性に関わるなど重要な役割を果たしている。一方で、酸素濃度の低い腎臓髄質領域では能動輸送により盛んにナトリウム再吸収を行って酸素を消費していることから虚血に弱く、障害を受けやすい構造となっている。

我々は下大静脈の左右腎静脈間を結紮することにより新規に腎うっ血モデルを作出した。

また、動静脈シャントによる心機能低下モデルを作出し、このラット片側腎静脈を狭窄させることにより心腎連関モデルを作出して検討を行った。

4. 研究成果

高食塩飼料を給餌した高血圧ラットモデルにアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)ならびに ARB とネプリライシン阻害薬(併用群)を連日経口投与したラット腎組織中の遺伝子発現を RT-PCR 法により評価したところ、ARB 群と比較して併用群において tumor necrosis factor- α (TNF- α) mRNA 発現量の有意な低下を認め、monocyte chemoattractant Protein 1 (MCP-1) mRNA が低下する傾向にあった。以上より ARB とネプリライシン阻害薬の併用は高食塩給餌 SHR-SP における腎障害を改善し、その機序の一部として炎症反応の抑制が関わる可能性が示された。

片側腎静脈狭窄による腎うっ血モデルラットにおいて、グルコース・ナトリウム共輸送体 2 阻害薬(SGLT2i)による尿中へのナトリウム排泄量増加を介した体液貯留の改善を介したうっ血改善効果を検討したが、今回の検討条件下においては SGLT2i 投与による著名な改善効果は認められなかった。

また、下大静脈の左右腎静脈間を結紮することにより新規に腎うっ血モデルを作出したところ、本モデルでは腎臓髄質領域の血流低下を伴う腎組織障害が観察され、特に腎臓間質線維化並びに尿細管障害マーカーの上昇が認められた。マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現の網羅的解析法を用いてうっ血に誘導される遺伝子種の検索を行ったところ、多数の線維化に関連する mRNA 発現の上昇が検出された。

動静脈シャントによる心機能低下モデルを作出し、このラット片側腎静脈を狭窄させることにより心腎連関モデルを作出して検討を行った。動静脈シャントによる心肥大は認められたが、今回検討した条件下においては顕著な腎組織障害ならびに腎機能の低下は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(4件)

1. Oba-Yabana I, Mori T, Takahashi C, Hirose T, Ohsaki Y, Kinugasa S, Muroya Y, Sato E, Nguyen G, Piedagnel R, Ronco PM, Totsune K, Ito S: Acidic organelles mediate TGF- β 1-induced cellular fibrosis via (pro)renin receptor and vacuolar ATPase trafficking in human peritoneal mesothelial cells. *Sci Rep.* 8(1):2648, 2018
doi: 10.1038/s41598-018-20940-x. (査読有)
2. Mori T, Ohsaki Y, Oba-Yabana I, Ito S. Diuretic usage for protection against end-organ damage in liver cirrhosis and heart failure. *Hepatol Res.* 2017 Jan;47(1):11-22. doi: 10.1111/hepr.12700. Review. (査読有)
3. Oba I, Mori T, Chida M, Kurasawa N, Naganuma E, Sato E, Koizumi K, Sato S, Tsuchikawa M, Ito S. Glucose and Insulin Response to Peritoneal Dialysis Fluid in Diabetic and Nondiabetic Peritoneal Dialysis Patient. *Adv Perit Dial.* 2015;31:11-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26714381> (査読有)
4. Kurasawa N, Mori T, Naganuma E, Sato E, Koizumi K, Sato S, Oba I, Tsuchikawa M, Ito S. Association Between Home Blood Pressure and Body Composition by Bioimpedance Monitoring in Patients Undergoing Peritoneal Dialysis. *Adv Perit Dial.* 2015;31:38-44. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26714387> (査読有)

〔学会発表〕(計45件)

- 1) 伊藤貞嘉
心腎連関～ナトリウム排泄機構～
第8回日本腎臓リハビリテーション学会
学術集会ランチョンセミナー 2018年3月18日 (招待講演)
- 2) 伊藤貞嘉
アルドステロンと腎臓
第8回日本腎臓リハビリテーション学会
学術集会教育講演 2018年3月18日 (招待講演)
- 3) Anyi Wang, Yusuke Ohsaki, Takuo Hirose, Chika Takahashi, Ikuko Oba-Yabana, Satoshi Kinugasa, Yoshikazu Muroya, Sadayoshi Ito, Takefumi Mori
Polyuria due to V2 receptor antagonism is attenuated by hydrochlorothiazide in PCK rats

- ISN Frontier Meeting 2018年2月23日
(東京) (ポスター)
- 4) Yusuke Ohsaki, Chika Takahashi, Sadayoshi Ito, Takefumi Mori
Carbonyl stress could enhance renal fibrosis and tubular injury induced by the renal congestion
ISN Frontier Meeting 2018年2月23日
(東京) (ポスター)
 - 5) 大崎雄介、高橋知香、森建文、伊藤貞嘉
うっ血による腎障害に対するカルボニルストレスの影響
第40回日本高血圧学会 2017年10月20日 (ポスター)
 - 6) 伊藤貞嘉
高血圧の克服に向けて
第40回日本高血圧学会総会会長特別企画 2017年10月20日 (松山) (招待講演)
 - 7) Yusuke Ohsaki, Chika Takahashi, Takefumi Mori and Sadayoshi Ito
The effect of carbonyl stress on renal injury induced by renal congestion.
Council on Hypertension 2017, 2017年9月16日 (San Francisco) (poster)
 - 8) 伊藤貞嘉
尿は語る
第60回日本腎臓学会サテライトシンポジウム 2017年7月1日 (札幌) (招待講演)
 - 9) 伊藤貞嘉
腎臓を護ることは命を守ること
第60回日本腎臓学会市民公開講座 2017年5月28日 (仙台) (招待講演)
 - 10) 大崎雄介、森建文、王安邑、高橋知香、伊藤貞嘉
PCK ラットにおけるトルバプタン投与による水利尿効果に対するサイアザイド系利尿薬の効果
第60回日本腎臓学会 2017年5月28日 (仙台) (口演)
 - 11) 伊藤貞嘉
レニン・アンジオテンシン系と慢性腎臓病～進化の宿命～
第60回日本腎臓学会会長講演 2017年5月27日 (仙台) (招待講演)
 - 12) 大崎雄介、森建文、美間健二、王安邑、高橋知香、伊藤貞嘉
うっ血性心不全により誘導される腎障害に対する腎生理学的検討
第60回日本腎臓学会 2017年5月26日 (仙台) (ポスター)
 - 13) 伊藤貞嘉
腎微小循環：2つのフィードバック機構
第6回臨床高血圧フォーラム特別企画 2017年5月13日 (岡山) (招待講演)
 - 14) 伊藤貞嘉
心腎連関と水利尿
第6回臨床高血圧フォーラムアフタヌーンセミナー 2017年5月13日 (岡山) (招待講演)
 - 15) Ikuko Oba-Yabana, Chika Takahashi, Yusuke Ohsaki, Emiko Sato, Sadayoshi Ito, Takefumi Mori
Role of Nrf2 System in Peritoneal Mesothelial Cells
Annual dialysis conference, 2017年3月13日 (Long Beach, CA) (oral)
 - 16) 山越聖子、伊藤修、戒栄、大崎雄介、室谷嘉一、森建文、伊藤貞嘉、高橋和広、戸恒和人、上月正博
Dahl 食塩感受性ラットの腎における高食塩飼料給餌による(プロ)レニン受容体発現調節異常
第39回日本高血圧学会総会 2016年10月2日 (仙台) (口演)
 - 17) 森建文、佐藤真一、矢花郁子、岩倉芳倫、倉澤奈穂、小泉賢治、伊藤貞嘉
腹膜透析患者におけるトルバプタンの心負荷および体液組成に対する影響
第39回日本高血圧学会総会 2016年10月2日 (仙台) (口演)
 - 18) 伊藤貞嘉
私の高血圧研究：過去・現在・未来
第39回日本高血圧学会総会 2016年10月1日 (仙台) (会長講演)
 - 19) 王安邑、佐藤恵美子、森建文、中道淑美、矢花郁子、伊藤貞嘉
尿中メチルグリオキサールは高血圧と関連
第39回日本高血圧学会総会 2016年10月1日 (仙台) (口演)
 - 20) 大崎雄介、森建文、赤尾研人、中道淑美、高橋知香、伊藤貞嘉
SGLT2 阻害薬がラット腎臓髄質循環に及ぼす影響の検討
第39回日本高血圧学会総会 2016年10月1日 (仙台) (口演)
 - 21) 大崎雄介、森建文、高橋知香、伊藤貞嘉
LCZ696 の高食塩飼料給餌脳卒中易発性高血圧自然発症ラット (SHR-SP) に対する腎保護効果の検討
第39回日本高血圧学会総会 2016年9月30日 (仙台) (口演)
 - 22) 大崎雄介、森建文、美間健二、王安邑、高橋知香、伊藤貞嘉
うっ血による腎障害機序の検討
第59回日本腎臓学会学術総会 2016年6月19日 (横浜) (ポスター)
 - 23) 島田佐登志、森建文、大崎雄介、矢花郁子、伊藤貞嘉
ラット腹膜中皮細胞におけるブドウ糖刺激によるミトコンドリア由来活性酸素種産生メカニズムの解明
第59回日本腎臓学会学術総会 2016年6月17日 (横浜) (口演)
 - 24) 矢花郁子、森建文、高橋知香、大崎雄介、佐藤恵美子、伊藤貞嘉
ヒト腹膜中皮細胞の線維化における酸性オルガネラの機能解析

- 第 59 回日本腎臓学会学術総会 2016 年 6 月 17 日 (横浜) (口演)
- 25) Takefumi Mori, Yusuke Ohsaki, Anyi Wang, Yoshimi Yoneki, Chika Takahashi, Sadayoshi Ito
Physiological Evaluation of Renal Congestion to the Worsening Renal Function.
第 80 回日本循環器学会学術集会、2016 年 3 月 19 日 (仙台) (ポスター)
- 26) 大崎雄介、森 建文、王 安邑、高橋知香、伊藤貞嘉
うっ血による腎機能低下機序に関する生理学的検討
第 6 回腎不全研究会 2015 年 12 月 12 日 (東京) (口演)
- 27) 矢花郁子、森 建文、高橋知香、大崎雄介、佐藤恵美子、廣瀬卓男、Nguyen Geneviève、Piedagnel Rémi、Ronco Pierre M、伊藤貞嘉
腹膜透析における酸性オルガネラによる新規腹膜線維化機序の解明
第 6 回腎不全研究会 2015 年 12 月 12 日 (東京) (口演)
- 28) 倉澤奈穂、森建文、小泉賢治、佐藤真一、矢花郁子、永沼絵理、土川未歩子、島田佐登志、石田容子、伊藤貞嘉
腹膜透析患者における長期バソプレシン V2 受容体拮抗薬服用における体組成及び残腎・腹膜機能への影響
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 29 日 (仙台) (高得点演題口演)
- 29) 島田佐登志、森建文、小泉賢治、佐藤真一、矢花郁子、永沼絵理、倉澤奈穂、土川未歩子、伊藤貞嘉
新規中性化イコデキストリン腹膜透析液における溶質除去
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 29 日 (仙台) (ポスター)
- 30) 矢花郁子、森建文、高橋知香、伊藤貞嘉
腹膜中皮細胞障害における酸性オルガネラの意義と(プロ)レニン受容体
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 28 日 (仙台) (ワークショップ)
- 31) 島田佐登志、森建文、大崎雄介、伊藤貞嘉
ブドウ糖および GDPs はラット腹膜中皮細胞でミトコンドリア由来の活性酸素 (ROS) を生じる
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 28 日 (仙台) (ワークショップ)
- 32) 矢花郁子、森建文、高橋知香、伊藤貞嘉
腹膜中皮細胞における Nrf2 標的遺伝子活性化の効果
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 28 日 (仙台) (ポスター)
- 33) 大崎雄介、森建文、田代学、志田原美保、小泉賢治、矢花郁子、岩田錬、宮澤英充、伊藤貞嘉
ポジトロン断層法を利用した残腎機能の評価
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 28 日 (仙台) (ポスター)
- 34) 高橋知香、森建文、大崎雄介、矢花郁子、伊藤貞嘉
ブドウ糖分解産物により上皮間葉形質転換 (EMT) の誘導された腹膜中皮への細胞移植の可能性の検討
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 2015 年 11 月 28 日 (仙台) (ポスター)
- 35) 大崎雄介、森建文、芦毅、長澤将、Allen W. Cowley, Jr.、伊藤貞嘉
食塩負荷による腎尿細管酸化ストレス産生の増大と血圧上昇メカニズム
日本栄養・食糧学会東北支部(第 49 回大会) 北海道支部(第 45 回大会) 合同支部大会 2015 年 10 月 24 日 (仙台) (招待講演)
- 36) Ikuko Yabana, Takefumi Mori, Chika Takahashi, Yusuke Ohsaki, Emiko Sato, Takuo Hirose, Geneviève Nguyen, Rémi Piedagnel, Pierre Ronco, Sadayoshi Ito
ANGIOTENSIN INDEPENDENT ROLE OF (PRO)RENIN RECEPTOR IN HUMAN PERITONEAL MESOTHELIAL CELLS.
EURO PD 2015, 2015 年 10 月 2 日-5 日 (Krakow, Poland) (poster)
- 37) Yusuke Ohsaki, Takefumi Mori, Kento Akao, Yoshimi Nakamichi, Chika Takahashi, Sadayoshi Ito.
The effects of V2 receptor antagonist treatment on the renal medullary circulation and urinary sodium excretion in rat.
Hypertension 2015 Scientific Sessions, 2015 年 9 月 17 日 (Washington DC, US) (poster)
- 38) Kenji Koizumi, Takefumi Mori, Yusuke Ohsaki, Ikuko Ohba, Shinichi Sato, Satoshi Shimada, Eri Naganuma, Naho Kurasawa, Mihoko Tsuchikawa, Sadayoshi Ito.,
Role of long-term treatment of tolvaptan on left ventricular mass index in patients undergoing peritoneal dialysis.
APCM-ISPDP 2015, 2015 年 9 月 17 日-19 日 (Daegu, Korea) (poster)
- 39) Mihoko Tsuchikawa, Takefumi Mori, Makiko Chida, Naho Kurasawa, Ikuko Yabana, Kenji Koizumi, Shinichi Sato, Satoshi Shimada, Eri Naganuma, Sadayoshi Ito
Association between clinical parameters and upper arm

circumference of the patients undergoing peritoneal dialysis.

APCM-ISPDP 2015, 2015年9月17日-19日 (Daegu, Korea) (poster)

- 40) Yusuke Ohsaki, Takefumi Mori, Chika Takahashi, Ikuko Oba, Sadayoshi Ito.
POSSIBILITY OF CELL TRANSPLANTATION THERAPY FOR PERITONEUM INJURED BY GLUCOSE DEGRADATION PRODUCTS.

12th International Symposium on the Maillard Reaction (ISMR) 2015年9月1日-4日 (Tokyo)

- 41) 高橋知香, 大崎雄介, 森建文, 大場郁子, 伊藤貞嘉
ブドウ糖分解産物による腹膜傷害と腹膜中皮細胞移植の検討
第60回日本透析医学会学術集会 2015年6月27日 (横浜) (oral)
- 42) 山本多恵, 中山恵輔, 中道崇, 村田弥栄子, 加藤政子, 齋藤有希, 佐々木俊一, 小松亜紀, 菅原克幸, 宮崎真理子, 佐藤博, 森建文, 伊藤貞嘉
導入期透析患者におけるインピーダンス値を利用した適正体重設定
第60回日本透析医学会学術集会 2015年6月26日 (横浜) (poster)
- 43) 鳴海かほり, 廣瀬卓男, 佐藤恵美子, 佐藤博, 森建文, 伊藤貞嘉
ヒト免疫細胞に発現する(プロ)レニン受容体の機能検討
第58回日本腎臓学会学術集会 2015年6月7日 (名古屋) (poster)
- 44) 大崎雄介, 森建文, 赤尾研人, 中道淑美, 高橋知香, 伊藤貞嘉
ラットを用いた腎血行動態ならびにナトリウム排泄に V2 受容体拮抗薬が及ぼす影響の検討
第58回日本腎臓学会学術集会 2015年6月7日 (名古屋) (poster)
- 45) 矢花郁子, 森建文, 高橋知香, 佐藤恵美子, 大崎雄介, 鳴海かほり, 伊藤貞嘉
腹膜透析における(プロ)レニン受容体の動態と意義
第58回日本腎臓学会学術集会 2015年6月5日 (名古屋) (oral)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 貞嘉 (SADAYOSHI ITO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40271613

(2) 研究分担者

森 建文 (TAKEFUMI MORI)

東北医科薬科大学・腎臓内分泌内科・教授

授

研究者番号：40375001

大崎 雄介 (YUSUKE OHSAKI)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：40509212