

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分  
平成30年3月8日現在

生活習慣病の高血圧／臓器障害における  
糖質・鉱質コルチコイドの役割と新規治療探索

Development of a novel strategy for life style disease through exploration of the roles of mineral- and glucocorticoids in hypertension and organ dysfunction

課題番号：15H05788

藤田 敏郎 (FUJITA TOSHIRO)

東京大学・先端科学技術研究センター・名誉教授/特任研究員



研究の概要

糖質・鉱質コルチコイドは高血圧と生活習慣病による臓器障害に重要な役割を果たしている。それぞれの受容体である GR と MR の活性化と下流経路は、完全には明らかにされていない。本研究で ①Rac1 活性化と MR 経路 ②新たな MR・GR 活性化機構と下流分子 ③高血圧と臓器障害発症に関わるエピジェネティック制御を検討し、新たな治療標的の解明につなげる。

研究分野：医歯薬学

キーワード：腎臓学 高血圧学

1. 研究開始当初の背景

わたしたちはこれまで、生活習慣病にともなう臓器障害について様々な観点から研究をしてきた。副腎皮質ホルモンのアルドステロンとコルチゾールが過剰に分泌されると高血圧と腎障害を引き起こす。古典的には、ホルモンの血中濃度が障害の程度を規定すると考えられていた。しかし、わたしたちは、その受容体の MR と GR の活性化が、ホルモンの血中濃度とは独立して重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。低分子 GTP 結合タンパク質 Rac1 は MR の活性化を介して(Nat Med 2008)、またヒストン脱アセチル化酵素 8 の低下は GR の活性化を介して(Nat Med 2011)、高血圧と腎障害の発症に関わることを示した。

2. 研究の目的

本研究では、これまで得られた結果に基づき MR・GR 活性化機構の解明を以下の3点について進め、高血圧および生活習慣病での腎障害に対する新規治療開発を目指す。

- ① Rac1-MR 系の病態における役割解明を進める。腎臓の Rac1-MR 系の活性化による腎障害と高血圧の原因となる責任部位を明らかにする。また、心臓拡張機能障害での Rac1-MR 系の役割について解明を進める。
- ② 新たな MR・GR 活性化機構と下流分子を解明する。
- ③ 高血圧と臓器障害発症に関わるエピジェネティック制御を解明する。

3. 研究の方法

以下の3点から研究を進めている。

①Rac1 活性化と MR

Rac1 活性化が関与する病態を、部位特異的に Rac1 欠損および過剰活性化が生じた遺伝子改変マウスを用いて明らかにする。

②新たな MR・GR 活性化機構と下流分子

MR 活性を制御する MR リン酸化を下流の Pendrin 活性化とともに解析し MR リン酸化の血圧と電解質制御での役割を明らかにする。糖質コルチコイドの血圧調節を、MR 活性化と GR 活性化の側面から、それぞれ糖質コルチコイド分解酵素 11β HSD2 と GR の腎臓選択的欠損マウスを用いて検討する。

③高血圧と臓器障害発症に関わるエピジェネティック制御

妊娠時のストレスが後年高血圧発症させる原因として GR 活性化による血圧中枢のエピジェネティック異常に焦点をあてて解析をする。また進行性の原因となる糖尿病性腎症の DNA メチル化異常を明らかにする。

4. これまでの成果

①Rac1 活性化と MR

心筋 Rac1 欠損マウスを用いて、Rac1-MR-NOX4 経路が高血圧による心不全発症に関わることを示した(Hypertension 2016)。腎臓遠位尿細管で Rac1 が過剰に活性化した特異的 GDI 欠損マウスでは、Rac1-MR 系の活性化を反映してアルドステロンに対して過剰に反

応することが見出されており、検討を進めている。

Rac1 活性化を調べる過程で、加齢マウスの腎臓と血管では Rac1 と近縁の RhoA が活性化していることを見出した。さらに抗加齢因子 Klotho 補充が加齢による RhoA の活性化と食塩感受性高血圧を抑制することが明らかになった。

#### ②新たな MR・GR 活性化機構と下流分子

低カリウム血症が MR を脱リン酸化させ Pendrin を活性化してカリウム喪失を防ぐ一方、その代償として高血圧は悪化することが明らかになった (Hypertension 2017)。また、カリウム欠乏はユビキチンリガーゼ分子 KLHL3 の作用を抑制し、NCC の活性化をきたして血圧上昇に関わることを示した (Biochem Biophys Res Commun 2016)。さらにアンジオテンシン II が MR の脱リン酸化を介して Pendrin を活性化する過程にアルドステロンが必要であることを見出した (J Am Soc Nephrol 2018)。MR のリン酸化に関わる MR キナーゼを同定して、腎臓内発現分布と上流シグナルの解析を進めている。

腎臓特異的 11 $\beta$  HSD2 欠損マウスは食塩感受性高血圧を呈しており、糖質コルチコイドの腎臓での分解が血圧調節に重要な役割を果たすことを見出した (Hypertension 2017)。11 $\beta$  HSD2 欠損マウスの血圧は夜間に上昇し、腎臓で過剰となった糖質コルチコイドが予後不良とされる夜間高血圧に関わる可能性が考えられる。尿細管 GR 欠損マウスを用いて高血圧での GR の役割を検討している。

③高血圧と臓器障害のエピジェネティクス  
妊娠時ストレスがその後の生活習慣病罹患を惹起する (Baker 仮説) 機序は不明である。妊娠時の低栄養は胎児の糖質コルチコイド過剰をきたす。妊娠後期の糖質コルチコイド過剰モデルでは、血圧中枢の視床下部での DNMT3a の減少と、アンジオテンシン受容体 AT1a の DNA 脱メチル化に伴う発現上昇が生じていた。視床下部特異的 DNA メチル化酵素 (DNMT) 3a 欠損マウスは、塩分負荷時に視床下部 AT1a の発現上昇を伴い高血圧を発症した。以上から胎児の GR 過剰活性化が血圧中枢の DNA メチル化異常を介して脳内レニンアンジオテンシン系活性化を経て高血圧を生じることを示し Baker 仮説の分子機構を明らかにした。また、糖尿病性腎症で生じる DNA メチル化異常を検討し、核内受容体 PXR に脱メチル化が生じて常時活性化していることが明らかになった。PXR は糖質コルチコイドにより刺激されるが、腎臓では線維化因子と糖新生を制御することが明らかになった (Am J Physiol in press)。

#### 5. 今後の計画

作出した遺伝子改変マウスの検討を進め、尿細管 Rac1-MR 系・MR リン酸化、GR の血

圧調節を明らかにする。同定した MR リン酸化酵素の制御解明を進める。また Wnt 経路の検討により、加齢による食塩感受性高血圧に関わる Klotho-Wnt-RhoA 経路を証明する。糖尿病性腎症は腎生検検体の検討を進める。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 1) Watanabe A, Marumo T, Kawarazaki W, Nishimoto M, Ayuzawa N, Ueda K, Hirohama D, Tanaka T, Yagi S, Ota S, Nagae G, Aburatani H, Kumagai H, Fujita T: Aberrant DNA methylation of pregnane X receptor underlies metabolic gene alterations in the diabetic kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* in press
- 2) Hirohama D, Ayuzawa N, Ueda K, Nishimoto M, Kawarazaki W, Watanabe A, Shimosawa T, Marumo T, Shibata S, Fujita T: Aldosterone is essential for angiotensin II-induced upregulation of pendrin. *J Am Soc Nephrol* 29:57-68, 2018
- 3) Xu N, Hirohama D, Ishizawa K, Chang WX, Shimosawa T, Fujita T, Uchida S, Shibata S: Hypokalemia and pendrin induction by aldosterone. *Hypertension* 69:855-62, 2017
- 4) Ueda K, Nishimoto M, Hirohama D, Ayuzawa N, Kawarazaki W, Watanabe A, Shimosawa T, Loffing J, Zhang MZ, Marumo T, Fujita T: Renal dysfunction induced by kidney-specific gene deletion of Hsd11b2 as a primary cause of salt-dependent hypertension. *Hypertension* 70:111-8, 2017
- 5) Ayuzawa N, Nagase M, Ueda K, Nishimoto M, Kawarazaki W, Marumo T, Aiba A, Sakurai T, Shindo T, Fujita T: Rac1-mediated activation of mineralocorticoid receptor in pressure overload-induced cardiac injury. *Hypertension* 67:99-106, 2016
- 6) Ishizawa K, Xu N, Loffing J, Lifton RP, Fujita T, Uchida S, Shibata S: Potassium depletion stimulates Na-Cl cotransporter via phosphorylation and inactivation of the ubiquitin ligase Kelch-like 3. *Biochem Biophys Res Commun* 480: 745-751, 2016
- 7) Toshiro Fujita, Chair of Gordon Research Conference (Angiotensin), 2018, USA
- 8) 上田浩平 第 40 回日本高血圧学会総会 YIA 優秀賞 2017 年
- 9) 鮎澤信宏 第 12 回 Vascular Biology Innovation 研究会 優秀賞 2017 年
- 10) 藤田敏郎 日本医師会医学賞 2015 年
- 11) 西本光宏 第 7 回腎疾患と高血圧研究会 奨励賞 2015 年

#### 7. ホームページ

<http://www.c-epi.rcast.u-tokyo.ac.jp/>