

平成22年5月13日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20890062

研究課題名（和文） 多発性嚢胞腎におけるWNKキナーゼを介した高血圧メカニズム

研究課題名（英文） Relationship between WNK kinase and hypertension in polycystic kidney disease

研究代表者

蘇原 映誠 (SOHARA EISEI)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・助教

研究者番号：90510355

研究成果の概要（和文）：PHAII を起こす WNK4R1185C 変異において、1190S の過剰リン酸化を発見し、これが培養細胞系、さらには動物においてもインスリンによって制御されることを解明し、高インスリン血症の塩分感受性高血圧の原因の一因を担っている可能性を発見した。多発性嚢胞腎における WNK-OSR1/SPAK-NCC カスケードの破綻は明らかではなかった。

研究成果の概要（英文）：The metabolic syndrome causes hyperinsulinemia and enhances salt-sensitive hypertension. However, the mechanisms responsible for the greater salt-sensitivity in hyperinsulinemic patients are still unknown. Pseudohypoaldosteronism type II (PHAII) is an autosomal dominant disease characterized by salt-sensitive hypertension due to increased sodium reabsorption in the kidney through activation of the WNK kinase-OSR1/SPAK kinase-NaCl cotransporter (NCC) phosphorylation cascade, which we recently discovered. We found that a PHAII-causing mutant WNK4 (WNK4 R1185C) abnormally increased phosphorylation of WNK4 at serine 1190, which resulted in activation of the downstream OSR1/SPAK-NCC phosphorylation cascade. Furthermore, we clarified that insulin is a powerful stimulator for WNK4 1190S phosphorylation, thereby activating the WNK-OSR1/SPAK-NCC cascade in vitro and in vivo. Thus, our results clearly show that a hyperinsulinemic condition causes salt-sensitive hypertension by the same mechanism as identified in PHAII. However, we could not find the significant relationship between PKD and WNK kinase.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、腎臓内科学、水・電解質

キーワード：塩分感受性高血圧、インスリン、NaCl 共輸送体、WNK キナーゼ

## 1. 研究開始当初の背景

偽性低アルドステロン症II型(PHA II)は遺伝性高血圧疾患であり、WNK4 (With-no-lysine kinase 4) の変異によってOSR1/SPAKキナーゼを介して、Na-Cl共輸送体(NCC)の過剰なリン酸化がおこり、腎臓での塩分再吸収が亢進することにより発症することがあきらかになった。PHA II変異の一つである変異WNK4 R1185Cの解析を進めるとともに、多発性嚢胞腎の合併症である高血圧への関わりに興味を持たれた。

## 2. 研究の目的

本研究は明らかになってきたWNK-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードのPHAIIOにおける病態への関わりをさらに究明するとともに、常染色体優性多発性嚢胞腎(以下ADPKD)の合併症である高血圧のメカニズムとの同カスケードの関連を明らかにすることが目的である。

## 3. 研究の方法

1 : PHA II変異の一つである変異WNK4 R1185Cの解析

2 : ADPKDマウスにおけるWNK1とWNK4-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードの研究

## 4. 研究成果

メタボリックシンドロームなどに代表されるように高インスリン血症や肥満と高血圧には深い関係があり、事実、肥満患者に塩分感受性高血圧が多いことが近年報

告されてはいるが、その詳細なメカニズムは解明されていない。偽性低アルドステロン症II型(Pseudohypoaldosteronism type II: PHA II)は、塩分感受性高血圧を呈する遺伝性高血圧疾患であり、WNK4 (With-no-lysine kinase 4) の変異によって発症する。我々は最近PHA IIモデルマウスを作成/解析し、変異WNK4がOSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードを過剰に亢進することによって、NCCによる過剰な塩分再吸収がおきることがPHA IIの本態であることを明らかにした。今回我々は発症機序が不明であったPHA II変異の一つである変異WNK4 R1185Cの解析を行い、WNK4 R1185CにおいてはWNK4 S1190の過剰なリン酸化がPHAIIOの原因であることを解明した。さらに、このWNK4 S1190のリン酸化がインスリンによって制御されていることを細胞実験で発見した。事実、高インスリン状態のマウス腎臓においてWNK4 S1190-OSR1/SPAK-NCCカスケードのリン酸化が亢進することを確認し、インスリンがWNK4-OSR1/SPAK-NCCリン酸化カスケードを制御していることを明らかにした。我々が発見したこの新規インスリン-WNK4-NCCリン酸化カスケードは肥満等の高インスリン状態における塩分感受性高血圧症のメカニズムに関与していると考えられる。この研究においては

多発性嚢胞腎におけるWNK-OSR1/SPAK-NCCカスケードの破綻は明らかではなかった。

## 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) 英文誌のみ記載

Satoh F, Okado T, Iwamoto M, Akita W, Wakabayashi M, Ohta A, Sohara E, Noda Y, Rai T, Uchida S, Sasaki S. Calcium-alkali syndrome-like symptoms manifested by daily alphacalcidol and thiazide. *Intern Med.* 2010;49(9):837-40.

Talati G, Ohta A, Rai T, Sohara E, Naito S, Vandewalle A, Sasaki S, Uchida S. Effect of angiotensin II on the WNK-OSR1/SPAK-NCC phosphorylation cascade in cultured mpkDCT cells and in vivo mouse kidney. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Mar 19;393(4):844-8.

Noda Y, Sohara E, Ohta E, Sasaki S. Aquaporins in kidney pathophysiology. *Nat Rev Nephrol.* 2010 Mar;6(3):168-78.

Yui N, Okutsu R, Sohara E, Rai T, Ohta A, Noda Y, Sasaki S, Uchida S. FAPP2 is required for aquaporin-2 apical sorting at trans-Golgi network in polarized MDCK cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009 Dec;297(6):C1389-96.

Ohta E, Itoh T, Nemoto T, Kumagai J, Ko SB, Ishibashi K, Ohno M, Uchida K, Ohta A, Sohara E, Uchida S, Sasaki S, Rai T. Pancreas-specific aquaporin 12 null mice showed increased susceptibility to caerulein-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009 Dec;297(6):C1368-78.

Ohta A, Rai T, Yui N, Chiga M, Yang SS, Lin SH, Sohara E, Sasaki S, Uchida S. Targeted disruption of the Wnk4 gene decreases phosphorylation of Na-Cl cotransporter, increases Na excretion and lowers blood pressure. *Hum Mol Genet.* 2009 Oct 15;18(20):3978-86.

[学会発表] (計5件)

筆頭演者の発表のみ記載

Sohara E, Rai T, Ohta A, Ohta E, Sasaki S and Uchida S. Novel insulin-WNK4-NCC phosphorylation cascade is involved in pathogenesis of PHA II caused by WNK4

R1185C mutation. The 42<sup>nd</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, San Diego, November, 2009.

Eisei Sohara, Funda Saglam, Jingjing Zhang, Leah Contrino, Alexander Beck, and Jing Zhou. Generation of liver specific Pkd1 knockout mice. The 41st Annual meeting of American Society of Nephrology 7th, November, 2008 Philadelphia, USA

蘇原映誠、太田哲人、太田英里子、頼建光、内田信一、佐々木成。新規 Insulin-WNK4-NCC リン酸化カスケードの発見と偽性低アルドステロン症 II 型における破綻。第15回分子腎臓研究会、京都、2009年9月

蘇原映誠、Nek8(NIMA-related kinase 8)と囊胞性腎疾患 生理研研究会2008年7月愛知

蘇原映誠、Nek8(NIMA-related kinase 8)と囊胞性腎疾患第94回 東京腎生理集団会2008年11月東京

[図書] (計1件)

Function of aquaporin-7 in the kidney and the male reproductive system.

Sohara E, Uchida S, Sasaki S. *Handb Exp Pharmacol.* 2009;(190):219-31.

[その他]

2009年分子腎臓学会研究奨励賞受賞

蘇原映誠 疾患解明 Overview. 遺伝性腎性尿崩症～アクアポリン水チャネルによる尿濃縮機構とその破綻。実験医学 vol 27, No. 4; 589-594 2009

蘇原映誠 囊胞性腎疾患と Nek8 (NIMA-related kinase 8) 腎と透析 vol 67, No. 3; 397-400, 2009

蘇原映誠 囊胞性腎疾患と Nek8 医学のあゆみ vol232, No. 7; 790-791, 2009

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

蘇原 映誠 (SOHARA EISEI)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・助教

研究者番号: 90510355

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし