

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18694

研究課題名(和文) ミトコンドリアが食塩摂取による血圧上昇に及ぼす影響の解析

研究課題名(英文) The effect of mitochondrial oxidative stress on the hypertension induced by dietary sodium intake.

研究代表者

大崎 雄介(OHSAKI, YUSUKE)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40509212

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓髄質領域における酸化ストレス産生の増加は血圧上昇につながる。NAD(P)H oxidaseによる酸化ストレス産生について報告される一方で、ミトコンドリア由来の酸化ストレスについては十分には検討されていない。食塩感受性高血圧ラットへ高食塩飼料を給餌し、酸化ストレスのスキャベンジャーであるTEMPOL、ならびにミトコンドリア酸化ストレスのスキャベンジャーmitoTEMPOを持続投与した。高食塩飼料給餌により収縮期血圧ならびに尿タンパク排泄量は有意な上昇を認めた。一方で、mitoTEMPOによる血圧上昇抑制ならびに尿タンパク排泄量は微減する傾向にあったが有意な差を得るには至らなかった。

研究成果の概要(英文)：Oxidative stress production in the renal medullary region contributes to increase blood pressure. The contribution of NAD(P)H oxidase derived oxidative stress in the renal medullary region has been well investigated, while the contribution of mitochondrial oxidative stress production is still unclear. We fed high salt diet to salt sensitive hypertension model animals, and infused TEMPOL or MitoTEMPO simultaneously. High salt diet treatment significantly increased systolic blood pressure and urinary albumin excretion. Treatment with TEMPOL and MitoTEMPO tended to attenuate the increase of blood pressure and urinary albumin excretion, however did not reached to significant level.

研究分野：腎臓生理学

キーワード：食塩 高血圧 酸化ストレス 腎障害 ミトコンドリア ナトリウム貯留 腎臓髄質血流 体液貯留

1. 研究開始当初の背景

高血圧は収縮期血圧 140mmHg もしくは拡張期血圧 90mmHg を越えるものと定義される。高血圧は脳卒中・心血管疾患の主要なリスク因子である。厚生労働省は 2mmHg の血圧の低下により循環器疾患による死亡をおよそ 20,000 人減少できると試算しており、高血圧ならびに高血圧に起因する脳血管疾患・心血管疾患は高齢者医療費のおよそ 1/3 を占めている。以上のことから高血圧の発症機序解明ならびに予防法の確立は国民の健康と財産を守るうえで非常に重要であると言える。

血漿中のナトリウム濃度は 140mEq/L 付近に厳密に制御されている。食塩の摂取は、血漿ナトリウム濃度を維持するために一時的に循環血漿量を増加させ、結果として心拍出量が増加することから血圧を上昇させる。腎機能が正常である場合には、この一時的な血圧の上昇は腎臓髄質領域の血流量を増加させて、腎臓間質圧の上昇を介したナトリウムの再吸収を低下させることからナトリウム利尿を促進させる。この圧-ナトリウム利尿機構により摂取したナトリウムは腎臓から排泄されて、最終的にナトリウムバランスが保たれる。Makino らは腎臓髄質領域への酸化ストレス(H_2O_2)の長期投与は腎髄質血流量の低下・ナトリウム排泄量の低下を介して血圧を上昇させることを示している (Makino A, et. al., Hypertension. 2003 Jul;42(1):25-30.)。

また Zou らは腎臓における酸化ストレス産生源についても検討を行い、腎臓髄質外層領域における活性酸素($O_2\cdot^-$)産生量は、ミトコンドリアと NAD(P)H オキシダーゼとにほぼ半分ずつ由来しており、キサンチンオキシダーゼによる $O_2\cdot^-$ 産生量は非常に少ないということを示している (Zou AP et. al., Hypertension 2001;37:547- 553)。

Li らは腎臓における酸化ストレスの一種であるスーパーオキシド($O_2\cdot^-$)の糸球体や尿細管の各セグメントにおける産生を比較し、糸

球体や近位尿細管、集合管と比較してヘンレのループの太い上行脚 (Thick Ascending Limb, TAL) における $O_2\cdot^-$ 産生が最も高いということを示している (Li N. et. al., Am J Physiol Renal Physiol. 2002, 282(6): F1111-9)。以上より、腎臓では TAL におけるミトコンドリアと NAD(P)H オキシダーゼによる酸化ストレス産生の寄与が最も大きいといえる。

これまで NAD(P)H オキシダーゼに由来する酸化ストレスが腎臓に及ぼす影響については、主に apocynin やノックアウトマウスを用いた検討が数多く報告されているが、ミトコンドリアに由来する酸化ストレスの影響については、アプローチできる研究ツールが少ないために充分には検討されてはいなかった。

2. 研究の目的

研究代表者らはこれまでに、ミトコンドリア内に局在して H_2O_2 に応答する新規蛍光プローブ (MitoPY1) を利用して、mTAL におけるミトコンドリアによる酸化ストレス産生について検討を行った。この検討において、mTAL 管腔内の流量上昇によりミトコンドリア H_2O_2 が上昇することを示した。また、この酸化ストレス産生は furosemide ならびに ouabain 添加によるナトリウム再吸収阻害によって低減したことから、mTAL のミトコンドリアは Na の再吸収に依存して酸化ストレスを産生することを明らかにした (Ohsaki Y, et. al., Am J Physiol Renal Physiol. 2012, 302(1):F95-F102)。

一方で食塩摂取により増加すると予想される腎臓髄質領域のミトコンドリア由来酸化ストレスが血圧に及ぼす影響についてはいまだ充分に検討されていないことから、本研究では食塩摂取による腎臓髄質外層部におけるミトコンドリア由来の酸化ストレスが血圧に及ぼす影響について検討することを目的としている。

3. 研究の方法

圧ナトリウム利尿機構が働きにくい Dahl 食塩感受性高血圧(DahlS)ラットは高食塩飼料を給餌することによりナトリウム貯留が起こり、体液過剰による血圧上昇ならびに腎障害を発症することが知られており、この機序には腎臓髄質領域における活性酸素種産生が関与することが明らかとなっている。細胞膜上の NADPH oxidase の関与はよく検討されていたが、ミトコンドリア由来酸化ストレス産生の影響については十分には検討されていないため、ミトコンドリア由来酸化ストレスによる食塩感受性高血圧ならびに腎障害に対する影響について検討を行った。

DahlS ラットへ高食塩飼料を給餌し、血圧上昇ならびに腎障害を誘導し、酸化ストレス消去薬である TEMPOL ならびにミトコンドリア酸化ストレス消去薬である mitoTEMPO を浸透圧ポンプにより持続投与した。血圧、尿中腎障害マーカーの測定を行い、MitoTEMPO、TEMPOL ならびにコントロール群より得られた結果を比較検討することにより、食塩感受性高血圧ならびに腎障害に対してミトコンドリア由来酸化ストレスが与える影響について評価を行った。

また近年、急性腎障害後の腎障害から十分に回復せずに慢性腎障害化することが着目されており、この障害機序に対する酸化ストレスの影響についても検討を行った。虚血再灌流による腎障害モデルラットに浸透圧ポンプを用いて TEMPOL ならびに mitoTEMPO を持続投与して血中腎障害マーカーの測定を行った。

4. 研究成果

DahlS ラットへ高食塩飼料を給餌し、血圧上昇ならびに腎障害を誘導した。同時に酸化ストレスのスカベンジャーである TEMPOL、ならびにミトコンドリア酸化ストレスのスカベンジャー mitoTEMPO を浸透圧ポンプにより持続投与した。収縮期血

圧ならびに腎障害マーカーとして尿中タンパク排泄量を測定した。高食塩飼料給餌により収縮期血圧ならびに尿タンパク排泄量は有意な上昇を認めた。一方で、MitoTEMPO による血圧上昇抑制ならびに尿タンパク排泄量は微減する傾向にあったが有意な差を得るには至らなかった。

虚血再灌流による腎障害モデルラットに浸透圧ポンプを用いて TEMPOL ならびに mitoTEMPO を持続投与したところ、血中腎障害マーカーが低下する傾向が認められ、急性腎障害に酸化ストレスが関与しうることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (4 件)

- 1) Mori T, Ohsaki Y, Oba-Yabana I, Ito S. Diuretic Usage for Protection against End-Organ Damage in Liver Cirrhosis and Heart Failure. *Hepato Res.* 2017 Jan;47(1):11-22
doi: 10.1111/hepr.12700
査読有
- 2) Shimada S, Mori T, Koizumi K, Sato S, Oba-Yabana I, Ohsaki Y, Sato E, Naganuma E, Kurasawa N, Tsuchikawa M, Ito S. Efficacy and Biocompatibility of Neutral Icodextrin Peritoneal Dialysis Fluid. *Adv Perit Dial.* 2016;32:46-50.
査読有
- 3) Mori T, Kurasawa N, Ohsaki Y, Koizumi K, Sato S, Oba-Yabana I, Shimada S, Sato E, Naganuma E, Tsuchikawa M, Ito S. Role of Chronic Use of Tolvaptan in Patients with Heart Failure Undergoing Peritoneal Dialysis. *Adv Perit Dial.* 2016;32:39-45.
査読有
- 4) Cowley AW Jr, Abe M, Mori T, O'Connor PM, Ohsaki Y, Zheleznova NN. Reactive oxygen species as important determinants of medullary flow, sodium excretion and hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2015 Feb 1;308(3):F179-97.
doi: 10.1152/ajprenal.00455.2014.
査読有

[学会発表] (計 35 件)

- 1) 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 2018/2/23 (東京) ポスター
- 2) 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 2018/2/23 (東京) ポスター
- 3) 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ストレスの影響
日本高血圧学会 2017/10/20 (ポスター)
- 4) 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, San Francisco, 2017/9/16, poster
- 5) 大崎雄介, 白川仁, 伊東あさぎ, 駒井三千夫
生殖腺におけるビタミン K 欠乏の影響に対する性差の検討
日本ビタミン学会第 69 回大会, 横浜, 2017/6/10 (ポスター)
- 6) Yusuke Ohsaki, Yuta Komano, Hitoshi Shirakawa, Toshiro Sato and Michio Komai
Effect of dietary ingestion of vitamin K1 derivative (dihydrophyloquinone) on bone metabolism in germ-free rats.
Joint Congress of the 19th International Symposium on Gnotobiology, the 50th Congress of Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology and the 39th Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease, Tokyo, 2017/6/8, oral
- 7) 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ブ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日本腎臓学会 2017/5/28 (仙台) 口演
- 8) 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
日本腎臓学会 2017/5/26 (仙台) ポスター
- 9) Ikuko Oba-Yabana, Chika Takahashi, Yusuke Ohsaki, Emiko Sato, Sadayoshi Ito, Takefumi Mori
Role of Nrf2 System in Peritoneal Mesothelial Cells
Annual dialysis conference, Long Beach, CA, 2017/3/13 (oral)
- 10) 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, 仙台, 2016/10/2 (口演)
- 11) 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, 仙台, 2016/10/1 (口演)
- 12) 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, 仙台, 2016/9/30 (口演)
- 13) 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, 横浜, 2016/6/19 (ポスター)
- 14) 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, 横浜, 2016/6/17(口演)
- 15) 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, 横浜, 2016/6/17(口演)
- 16) 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, 仙台, 2016/3/19 (ポスター)
- 17) Naho Kurasawa, Takefumi Mori, Kenji Koizumi, Shinichi Sato, Ikuko Yabana, Satoshi Shimada, Yusuke Ohsaki, Emiko Sato, Eri Naganuma, Mihoko Tuchikawa, Sadayoshi Ito
Association Between Bone Biomarkers and Immune Parameters Undertaken Denosumab Treatment Undergoing

- Peritoneal Dialysis Patients.
Annual dialysis conference, Seattle, Washington, 2016/2/28-3/1 (oral)
- 18) Shimada S, Mori T, Koizumi K, Sato S, Oba-Yabana I, Ohsaki Y, Sato E, Naganuma E, Kurasawa N, Tsuchikawa M, Ito S.
Water and the Solute Removal in the Neutralized Icodextrin Peritoneal Dialysis Fluid.
Annual dialysis conference, Seattle, Washington, 2016/2/28-3/1 (oral)
- 19) 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, 東京, 2015/12/12 (口演)
- 20) 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, 東京, 2015/12/12 (口演)
- 21) 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, 仙台, 2015/11/28 (ワークショップ)
- 22) 土川未歩子, 森建文, 千田真貴子, 倉澤奈穂, 矢花郁子, 小泉賢治, 佐藤真一, 永沼絵理, 大崎雄介, 伊藤貞嘉
腹膜透析患者における上腕三頭筋囲と BIA 法による筋肉量に関連する臨床検査項目の検討
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会, 仙台, 2015/11/28 (ポスター)
- 23) 矢花郁子, 森建文, 高橋知香, 大崎雄介, 佐藤恵美子, 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, 仙台, 2015/11/28 (ポスター)
- 24) 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, 仙台, 2015/11/28 (ポスター)
- 25) 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 (ポスター)
第 21 回日本腹膜透析医学会学術集会・総会, 仙台, 2015/11/28
- 26) 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, 仙台, 2015/10/24 (招待講演)
- 27) Naho Kurasawa, Takefumi Mori, Kenji Koizumi, Shinichi Sato, Ikuko Yabana, Satoshi Shimada, Yusuke Ohsaki, Emiko Sato, Eri Naganuma, Mihoko Tsuchikawa, Sadayoshi Ito
PLASMA FREE AMINO ACIDS IN PATIENTS UNDERGOING PERITONEAL DIALYSIS.
EURO PD 2015, Krakow, Poland, 2015/10/2-5 (poster)
- 28) 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, Krakow, Poland, 2015/10/2-5 (poster)
- 29) 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, Washington DC, US, 2015/9/17 (poster)
- 30) Kenji Koizumi, Takefumi Mori, Yusuke Ohsaki, Ikuko Oba, 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-ISPD 2015, Daegu, Korea, 2015/9/17-19 (poster)
- 31) 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), Tokyo, 2015/9/1-4
- 32) Yusuke Ohsaki, Hitoshi Shirakawa, Asagi Ito and Michio Komai,
Gender difference of vitamin K deficiency

on Cyp11a expression in rat gonad.

FASEB SRC - Molecular, Structural & Clinical Aspects of Vitamin K and Vitamin K-Dependent Proteins - Itasca, IL, US, 2015/7/12-17 (poster)

- 33) 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、横浜、2015/6/27 (oral)
- 34) 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、名古屋、2015/6/7 (poster)
- 35) 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、名古屋、2015/6/5 (oral)

6. 研究組織

(1)研究代表者

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