

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2015～2016
課題番号：15K19442
研究課題名(和文)概日リズム異常による夜間高血圧発症機序の解明

研究課題名(英文)The mechanism of nocturnal hypertension

研究代表者

上田 浩平 (Ueda, Kohei)

東京大学・先端科学技術研究センター・特任研究員

研究者番号：80735697

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：夜間高血圧は特に心血管疾患の合併率が高い高血圧であり、より良い治療法が求められている。腎臓特異的Hsd11b2遺伝子欠損(KO)マウスは夜間高血圧をきたすことからこれをヒトの夜間高血圧モデルとして解析を行った。正常マウスと比較してこのKOマウスは日中夜間ともに高血圧をきたすnon-dipper型を呈した。これは昼高く夜低いという血圧の正常な日内変動を失っており、概日リズム異常を伴う高血圧である。さらにKOマウスの腎臓ではMR-ENaC-NCC系というナトリウム再吸収機構が異常に活性化しており、それぞれの阻害薬を投与すると高血圧は改善した。さらに高カリウム食が降圧効果を示すことを見出した。

研究成果の概要(英文)：To reveal the mechanism of nocturnal hypertension, we generated kidney-specific Hsd11b2 knockout mice. The knockout mice exhibited nocturnal hypertension, and we detected an increase in renal membrane expressions of cleaved ENaC and T53-phosphorylated NCC in the knockout mice. Chronic administration of amiloride and high-KCl diet significantly decreased mean blood pressure in the knockout mice, which was accompanied with the correction of hypokalemia and the resultant decrease in NCC phosphorylation. Accordingly, a NCC blocker hydrochlorothiazide significantly decreased mean blood pressure in the knockout mice. Chronic administration of MR antagonist spironolactone significantly decreased mean blood pressure of the knockout mice along with downregulation of cleaved ENaC and phosphorylated NCC expression in the knockout kidney. Our data suggest that kidney-specific deficiency of HSD11B2 leads to nocturnal hypertension, which is attributed to MR-ENaC-NCC activation in the kidney.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：夜間高血圧

1. 研究開始当初の背景

(1) 夜間高血圧

高血圧は本邦患者数が 3000 万人を超えており、心血管疾患発症の強力な危険因子である。これまで様々な降圧治療が開発されてきたが、そのような治療に抵抗性である難治性高血圧の存在がクローズアップされている。その一つが夜間高血圧である。ヒトの血圧は「日中に高く、夜間は低く」なるよう制御されていることが知られているが、高血圧患者のなかには夜間も日中と同様に高血圧を呈する一群が存在し、生理的な血圧リズムを保つ高血圧患者に比べ心血管合併症発症率が著しく高く、予後不良であることが知られていた。生体内の恒常性はある一定の周期性をもち変動しながら保たれており、概日リズムと呼ばれている。夜間高血圧は、周期的な血圧の変化が崩れているという意味で概日リズムの異常と捉えることができる。研究代表者はまず夜間高血圧をきたす動物モデルの作製と解析が、夜間高血圧の発症機序解明のために必要と考えた。当初は夜間高血圧モデルとして *Cry1/2^{-/-}* マウスの使用を予定したが、予備実験において、高血圧を安定して観察するには光遮断が必要であることが判明し、本研究で夜間高血圧のモデル動物として使用するのには困難と判断した。

(2) 11β-HSD2

糖質コルチコイド (ヒトではコルチゾル、マウスではコルチコステロン) を非活性型に代謝する酵素であり、腎臓・腸管・神経系に発現する。鉱質コルチコイド (アルドステロン) 受容体 (MR) は糖質コルチコイドに対しても結合活性をもつので、11β-HSD2 活性を喪失すると 100 倍の血中濃度で存在する糖質コルチコイドにより MR は過剰活性化される。*HSD11B2* 遺伝子の活性喪失変異は高血圧・低カリウム血症 (Apparent Mineralocorticoid Excess 症候群) を来すので、腎臓での MR 活性化の結果とする腎臓説が主な病態と考えられていたが、*Hsd11b2* 遺伝子欠損マウスは交感神経活性化・カテコラミン作用に起因することが示唆された一方で、神経特異的 *Hsd11b2* 遺伝子欠損マウスは高血圧発症に過剰な高食塩摂取を要することから、より生理的な条件で AME 症候群を発症するうえでどの臓器における 11β-HSD2 活性喪失が本質的な発症機序であるかに注目が集まっていた。

2. 研究の目的

夜間高血圧を発症する動物モデルを作製し、その発症機序を明らかにする。また 11β-HSD2 活性喪失に伴う高血圧の発症機序における腎臓の役割を明らかにする。

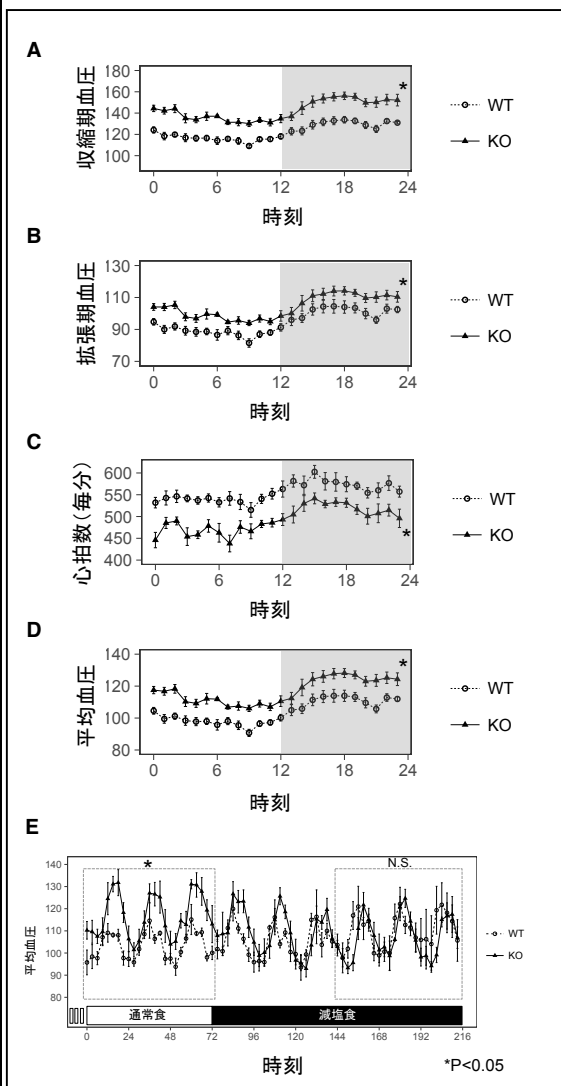
3. 研究の方法

夜間高血圧の動物モデルとして、当研究室で作出した腎臓特異的 *Hsd11b2* 遺伝子欠損マウ

ス雄 (*Hsd11b2^{Ksp-/-}*; KO) を使用した。野生型対照群として同週齢同胞マウス雄 (WT) を使用した。マウスの血圧は、左側頸動脈カテーテル留置下テレメトリ法を用いて持続的に測定した。通常食として 0.3% NaCl 食、減塩食として 0.01% NaCl 食を用いた。下大静脈から採血・分離した血漿を解析した。24 時間蓄尿はマウス個体ごとにメタボリックケージを用いて行った。血漿カリウム濃度は i-STAT カートリッジ (Abbott) を用いて測定した。血漿中・尿中のアルドステロン・コルチコステロン濃度は ELISA により測定した。KO マウスの低カリウム血症を補正するために 8% 塩化カリウム含有食または飲水にアミロライド 25 mg/L を溶解し 10 日間投与した。Na⁺-Cl⁻ 共輸送体 (NCC) の阻害薬として飲水にヒドロクロチアジド (HCTZ) 300 mg/L を溶解し 10 日間投与した。MR 拮抗薬としてスピロノラクトン 50 mg/Kg 体重/day を皮下徐放ペレットにより 10 日間投与した。

4. 研究成果

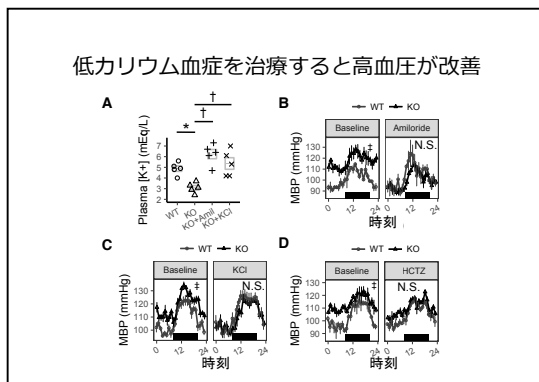
KO マウスは WT マウスと比較して収縮期・拡張期血圧高値、心拍数低下、低カリウム血症を呈した。特にその高血圧は日中・夜間を通じて持続した。



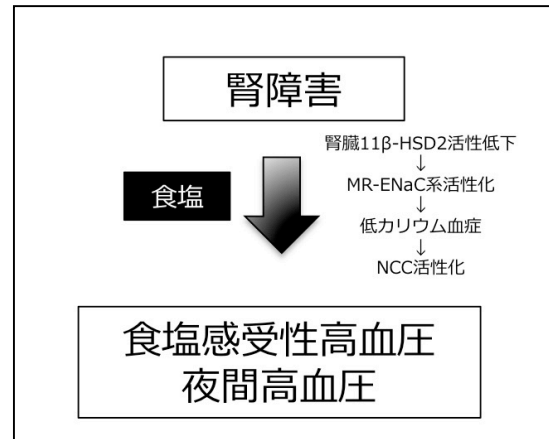
この結果から、KO マウスは夜間高血圧を発症しかつ、心拍数が低下していたことから、高血圧は交感神経活性化によるものではなく体液貯留に起因する血圧上昇であることが示唆された。そこで減塩食を投与したところ、平均血圧は対照群と同等まで低下したので、KO マウスの高血圧は食塩摂取とそれに伴う体液貯留によって発症する食塩感受性高血圧と考えられた。

KO マウスの血漿レニン活性・血漿アルドステロン濃度・24 時間尿中アルドステロン排泄量は WT マウスと比較して低く、体液貯留による全身のレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系抑制を反映していると考えられた。

KO マウスの腎臓細胞膜分画における活性型 ENaC α とリン酸化 NCC の発現増加を認めた。これはナトリウム再吸収活性上昇を示すと考えられた。高 K 食・アミロライド投与により低カリウム血症の改善と共にリン酸化 NCC の腎発現量は低下し、その平均血圧は NCC 活性阻害作用を有するヒドロクロロチアジド投与群と同様に低下した。MRA 投与により活性型 ENaC α ・リン酸化 NCC の腎発現量は低下し平均血圧も対照群と同等まで低下した。



以上の結果から、腎臓単独の 11β -HSD2 活性の低下が食塩感受性高血圧・夜間高血圧を発症させることが明らかとなった。この結果は腎臓単独の 11β -HSD2 活性の低下、MR の活性化そして低カリウム血症が夜間高血圧の発症機序となることを示す初めてのものである。またわれわれの腎臓特異的 *Hsd11b2* 遺伝子欠損マウスは臓器特異的な *Hsd11b2* 遺伝子欠損マウスとしては初めて、全身ノックアウトマウスと同様の生理的な条件で高血圧・低カリウム血症を発症したことから、腎臓説が主な発症機序であることが証明された。



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 1 件)

- ① 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* (in press). 査読有 DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08966.

[学会発表] (計 3 件)

- ① Kohei Ueda, The mechanism of blood pressure elevation in distal nephron-specific *Hsd11b2* knockout mice. International Aldosterone Conference, March 30-31, 2016. Boston (USA).
- ② 上田浩平、遠位ネフロン特異的 *Hsd11b2* 遺伝子欠損マウスの高血圧発症機序 第 5 9 回日本腎臓学会総会 2016 年 6 月 19 日 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
- ③ Kohei Ueda, The mechanism of blood pressure elevation in kidney-specific *Hsd11b2* knockout mice. RAAS 2016 ISH Satellite symposium, September 23-24, 2016. コングレススクエア日本橋 (東京都中央区).

[図書] (計 0 件)

[産業財産権] なし

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 浩平 (UEDA, Kohei)

東京大学・先端科学技術研究センター・特
任研究員

研究者番号：80735697