

令和元年6月10日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09648

研究課題名(和文) 高血圧感受性遺伝子ATP2B1の血圧調節およびCa代謝に与える影響に関する研究

研究課題名(英文) The implication of ATP2B1 gene in blood pressure regulation and Ca homeostasis

研究代表者

平和 伸仁 (Hirawa, Nobuhito)

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・准教授

研究者番号：20315766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ATP2B1遺伝子は、高血圧関連遺伝子である。本遺伝子の整体における意義を明らかにするために、ATP2B1遺伝子を血管平滑筋特異的に発現を抑制した(KO)マウス、さらに全身の発現を減少させたマウスを作成して、その血圧および生体における意義を検討した。ATP2B1KOマウスでは、血圧が上昇していたが、ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬に対する降圧効果が高かった。全身のヘテロKOマウスでは、低カルシウム血症、尿中カルシウム排泄増加、骨塩増加などを認めた。同時に血中PTH値が低く、ATP2B1がPTH分泌を抑制することが証明された。ATP2B1は、血圧のみならずカルシウムの恒常性に関連する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高血圧は、脳心血管病の最大のリスク因子である。中壮年者の血圧を120/80mmHg未満にコントロールされれば、脳心血管病の死亡は、60%抑制することができると考えられている。このような国民病である高血圧を制圧することができれば、国民が元気に長生きできる可能性が高まる。そこで、本研究では、高血圧を制圧するために、血圧の上昇するメカニズム、最適な降圧治療を明らかにするために、高血圧関連遺伝子ATP2B1の意義を明らかにした。本遺伝子は血管の収縮性に関連することが明らかとなり、降圧治療のテーラーメイド医療に有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The ATP2B1 gene is associated with hypertension. The ATP2B1 gene encodes plasma membrane calcium ATPase 1 (PMCA1), which has been thought to regulate only intracellular Ca²⁺ concentration. We examined the alterations of calcium related factors in systemic heater ATP2B1 knock-out [ATP2B1(+/-)] mice. ATP2B1(+/-) mice exhibited hypocalcemia. The expression of ATP2B1 in the kidney and small intestine decreased, and hypercalciuria was confirmed in ATP2B1(+/-) mice. The intact-PTH levels were lower, and bone mineral density was increased in these mice. These results suggest that hypocalcemia is mainly a result of inhibited bone resorption without compensation by PTH secretion in the case of ATP2B1 knockout. Moreover, NO production may be affected by reduced PTH secretion, which may cause the increase in vascular contractility in these mice. The ATP2B1 gene is important for not only intra-cellular calcium regulation but also for calcium homeostasis and blood pressure control.

研究分野：高血圧 腎臓病

キーワード：ATP2B1 高血圧 カルシウムチャネル 副甲状腺ホルモン Ca拮抗薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々は、ヒト遺伝子を用いたゲノムワイド解析により、高血圧関連遺伝子として ATP2B1 が、ヒト本態性高血圧に重要であることを明らかにしてきた(Hypertension 2010)。しかしながらその意義については、動物モデルを用いて確認しないと明らかにすることは難しい。そこで、Cre-loxP システムを用いて、ATP2B1 を血管平滑筋特異的に欠失させたマウスを作成することに成功した (Hypertension 2012)。本マウスでは、平滑筋細胞内 Ca 濃度が高く、動脈壁における血管収縮力が高まっていて、血圧が上昇することを明らかにした。また、全身の ATP2B1 遺伝子発現を低下させたマウスにおいても血圧が上昇しており、そこには一酸化窒素 内皮機能系の異常が関与していることが明らかとなった (J Hypertens 2014)。しかし、その血管反応性の詳細な検討や全身での ATP2B1 機能を低下させた場合の病態については明らかでなかった。

2. 研究の目的

本研究では、ATP2B1 が Ca チャネルの機能に関連していることから、降圧薬に対する反応性に影響することを考え、短期的治療、長期的降圧薬治療による薬剤反応性を調べ、本遺伝子がテーラーメイド医療に貢献する可能性を検討した。さらに、全身の ATP2B1 発現を低下させることにより、血管以外の組織における Ca 代謝や血中・尿中 Ca 排泄に与える影響を調べ、ATP2B1 の全身での作用について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

血管平滑筋特異的 ATP2B1KO マウスは、Cre-loxP システムを用いて既報のごとく作成した。コントロールマウスとともに植え込み型観血的血圧測定装置を用いて、24 時間血圧を測定した。薬剤は、ニカルジピン、アムロジピン、カンデサルタン、プラゾシンを単回投与して、血圧への影響を検討した。さらに、アムロジピンおよびカンデサルタンを用いて長期投与して降圧効果について検討した。

さらに、全身の ATP2B1 ヘテロ KO マウスとコントロールマウスの血圧、採血、採尿と各臓器のともに骨の組織検査を調べて、Ca ホメオスタシスにおける ATP2B1 の意義を検討した。

4. 研究成果

血管平滑筋特異的 ATP2B1KO マウスでは、降圧薬の短回投与では、Ca 拮抗薬であるにカルジピンに特異的に降圧効果が高かった。一方、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬や交感神経 1 遮断薬、最も半減期の長い Ca 拮抗薬であるアムロジピンでは降圧効果があまり認められなかった。一方、長期間治療するとアムロジピンでは 24 時間にわたる有意な血圧の低下が得られた。しかしアンジオテンシン II 受容体拮抗薬では、初期は比較的良好な降圧を得られたが徐々にその効果が低下した。これらの結果から血管壁における ATP2B1 は、Ca 拮抗薬に対する感受性に影響を与えることが明らかとなった。この成果は、本遺伝子多型をもつ高血圧患者には、Ca 拮抗薬がより降圧効果が高い可能性がありテーラーメイド医療に有用であることが示唆された。

全身の ATP2B1 発現を低下させると、血清 Ca 濃度が低下し、尿中 Ca 排泄量が増加した。さらに、大腿骨を調べると KO マウスでコツ点が増加していた。血清 PTH 濃度は、KO マウスで有意に低下しており、一方で血清 P、FGF23、活性型 VItD3、オステオカルシン等には差を認めなかった。さらに腸における ATP2B1 は低下していたが NCX、TRPV6 とともに変化がなかった。これらの結果から ATP2B1 は内分泌腺である副甲状腺における PTH 産生を抑制して、低 Ca 血症を生じるとともに、高血圧に関連していることが明らかとなった。

ATP2B1 は、細胞内 Ca の汲み出しに関与する PMCA 1 (Ca ポンプ) の遺伝子である。本遺伝子発現を抑制すると PMCA1 の機能が低下するため、細胞内 Ca 濃度が上昇すると考えられている。このため、血管の収縮力が高まり高血圧を生ずる。しかし、一方で、副甲状腺細胞において副甲状腺ホルモンの産生を調節することが世界で初めて明らかとなった。ATP2B1 は単に高血圧発症の因子となるだけでなく、高血圧に関連する様々な病態と関連することが明らかとなり、今後、さらなる研究が重要であることが考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

1. Okuyama Y, Hirawa N, Fujita M, Fujiwara A, Ehara Y, Yatsu K, Sumida K, Kagimoto

M, Katsumata M, Kobayashi Y, Saka S, Umemura S and Tamura K. The effects of anti-hypertensive drugs and the mechanism of hypertension in vascular smooth muscle cell-specific ATP2B1 knockout mice. *Hypertens Res.* 2018;41:80-87.

2. Ehara Y, Hirawa N, Sumida K, Fujiwara A, Kagimoto M, Ooki-Okuyama Y, Fujita M, Katsumata M, Kobayashi Y, Saka S, Katou I, Yatsu K, Umemura S and Tamura K. Reduced secretion of parathyroid hormone and hypocalcemia in systemic heterozygous ATP2B1-null hypertensive mice. *Hypertens Res.* 2018;41:699-707.
3. Wakui H, Sumida K, Fujita M, Ohtomo Y, Ohsawa M, Kobayashi R, Uneda K, Azushima K, Haruhara K, Yatsu K, Hirawa N, Minegishi S, Ishigami T, Umemura S, Tamura K. Enhancement of intrarenal plasma membrane calcium pump isoform 1 expression in chronic angiotensin II-infused mice. *Physiol Rep.* 2017 Jun;5(11). pii: e13316.

〔学会発表〕(計 5件)

1. 江原洋介, 角田剛一郎, 奥山由紀, 藤田恵美, 勝又真理, 藤原亮, 小林雄祐, 坂早苗, 谷津圭介, 安田元, 梅村敏, 平和伸仁. ATP2B1 血管平滑筋過剰発現マウスの作成と解析 第39回日本高血圧学会学術総会 仙台 2016, 10.
2. 奥山由紀, 角田剛一郎, 鍵本美奈子, 江原洋介, 勝又真理, 藤田恵美, 藤原亮, 小林雄祐, 坂早苗, 谷津圭介, 梅村敏, 平和伸仁. 血管平滑筋特異的 ATP2B1 ノックアウトマウスは Caチャンネル拮抗薬に対する薬剤応答性を認めた 第39回日本高血圧学会学術総会 仙台 2016, 10.
3. Yosuke Ehara, Nobuhito Hirawa, Kouichiro Sumida, Minako Kagimoto, Yuki Ooki, Megumi Fujita, Mari Katumata, Akira Fujiwara, Yusuke Kobayashi, Sanae Saka, Ikuma Katou, Keisuke Yatsu, Satoshi Umemura, and Kouichi Tamura. Calcium metabolism in systemic heterozygous ATP2B1-null mice, American Society of Nephrology Kidney Week 2017 Annual Meeting, New Orleans, 2017, 11.
4. Yosuke Ehara, Nobuhito Hirawa, Kouichiro Sumida, Minako Kagimoto, Yuki Ooki, Megumi Fujita, Mari Katumata, Akira Fujiwara, Yusuke Kobayashi, Sanae Saka, Ikuma Katou, Keisuke Yatsu, Satoshi Umemura, and Kouichi Tamura. Decreased blood pressure in vascular smooth muscle specific ATP2B1 overexpressing mice, American Society of Nephrology Kidney Week 2017 Annual Meeting, New Orleans, 2017, 11.
5. 奥山由紀, 平和伸仁, 藤田恵美, 藤原亮, 江原洋介, 谷津圭介, 角田剛一郎, 鍵本美奈子, 勝又真理, 小林雄祐, 坂早苗, 梅村敏, 田村功一 血管平滑筋特異的 ATP2B1 ノックアウトマウスにおける高血圧のメカニズムと降圧薬の効果 第41回日本高血圧学会総会 旭川, 2018, 9.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 3件)

名称：Identification of hypertension susceptibility gene group.
発明者：三木哲郎、平和伸仁、他7名
権利者：国立大学法人愛媛大学、横浜市立大学、滋賀大学
種類：中国特許
番号：ZL 20130537507.6.0
取得年：平成28年4月20日
国内外の別：国外

名称：Identification of group of hypertension-susceptibility genes.
発明者：三木哲郎、平和伸仁、他7名
権利者：国立大学法人愛媛大学、横浜市立大学、滋賀大学
種類：欧州特許(指定国ドイツ)
番号：2937416
取得年：平成29年8月2日
国内外の別：国外

名称：Identification of group of hypertension-susceptibility genes.
発明者：三木哲郎、平和伸仁、他7名
権利者：国立大学法人愛媛大学、横浜市立大学、滋賀大学
種類：欧州特許(指定国ドイツ)
番号：2940137
取得年：平成29年8月9日
国内外の別：国外

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：谷津 圭介
ローマ字氏名：Yatsu Keisuke
所属研究機関名：横浜市立大学
部局名：附属病院
職名：助教
研究者番号(8桁)：10457856

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。