

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18390063
 研究課題名（和文） イオン輸送体の機能発現規定因子の同定とその制御機構による
 高血圧の新たな治療法
 研究課題名（英文） Treatment strategy of hypertension based on the mechanism for
 the functional expression of ion transporters and ion channels
 研究代表者
 種本 雅之（TANEMOTO MASAYUKI）
 東北大学・病院・講師
 研究者番号：40303945

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：イオンチャネル、腎臓、尿細管、細胞内蛋白局在、イオンホメオスターシス、
 高血圧

1. 研究計画の概要

高血圧症は本邦で10人に3人以上といわれる高い罹患率を示す先進諸国における最大の心血管イベント（中枢神経系・心臓における血管障害）危険因子である。適切な血圧制御による心血管イベントの発症抑制効果が判明しているが（*N. Engl. J. Med.* 2000, 342:1-8）、現行の治療法では高血圧症の半数以上で適切な降圧が達成できていない（治療抵抗性高血圧症）。

血圧は末梢血管抵抗と循環血漿量により規定されるが、現行降圧剤は主に末梢血管抵抗を標的としており、治療抵抗性高血圧症の一因であることが推定される（*Cell* 2001, 104:545-556）。

循環血漿量は腎遠位尿細管における Na^+ 再吸収過程により制御されている。同部での Na^+ 再吸収は、基底膜側 Na^+/K^+ -ATPaseを駆動力とし管腔側 Na^+ 輸送体を介し行われる。このため、再吸収に際して細胞内に流入する K^+ を細胞外に出す K^+ -recycling機構がこれを維持していると考えられる。

本研究では、 K^+ -recycling機構を構成するチャネルを主な標的とし、腎遠位尿細管 Na^+ 再吸収を司るイオン輸送体の機能発現を規定する分子機構を解明することにより、同機構の制御法を解明し、これに則り循環血漿量を適切に制御することにより、病態生理に基づいた高血圧症の新たな治療法の解明を試みる。

2. 研究の進捗状況

本研究では、血管側 K^+ チャネル・管腔側 K^+

チャネル・血管側水チャネルを標的分子として用い、各々の腎遠位尿細管における機能局在機構の解明を目的として研究を開始した。現在までに各標的分子に関して以下を解明する事に成功している。

(1) 血管側 K^+ チャネルに関する研究

① 従来の研究成果により解明していた血管側 K^+ チャネルの機能局在シグナルの一つであるPDZ-binding motifを認識する新たなタンパクとして、いわゆるアンカータンパクに属するMAGI-1の同定に成功した。

② MAGI-1のカルボキシル末端側から一番目のPDZ domainが K^+ チャネルのPDZ-binding motifを認識するドメインであることを解明した。

③ MAGI-1が腎遠位尿細管の血管側において K^+ チャネルと共発現し、また、腎臓においてタンパク間相互作用することを確認したことから、実際に腎遠位尿細管において血管側 K^+ チャネルを規定しているタンパクであろうことを解明した。

④ MAGI-1と K^+ チャネルの相互作用が、個体に対するイオン負荷状態により制御されていることを解明した。

⑤ MAGI-1と K^+ チャネルの相互作用の制御がPDZ-binding motifのリン酸化を介して行われていることを解明した。

(2) 管腔側 K^+ チャネル（ Na^+ 輸送体）に関する研究

① 血管側 K^+ チャネルのアンカータンパクとして同定したMAGI-1のスプライス変異体が管腔側 K^+ チャネルのアンカータンパクとし

て機能している可能性を解明した。

②管腔側 Na⁺輸送体に対しては管腔側の MAGI-1 変異体はアンカータンパクとしては機能していない可能性を解明した。

(3)血管側水チャネルに関する研究

① 遠位尿細管において血管側における水の通過孔として機能する水チャネル AQP4 に関してその血管側への発現を規定するシグナル群がカルボキシル末端に存在することを解明していたが、カルボキシル末端の3つの異なる特異的アミノ酸配列が独立に血管側への局在シグナルとして機能していることを解明した。

② 上記で解明した局在シグナルが血管側から細胞内へのエンドサイトーシスを抑制することにより、血管側の膜上への発現を促進している可能性を解明した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。
(理由)

主研究対象である血管側 K⁺チャネルの2つの局在シグナル (di-hydrophobic motif と PDZ-binding motif) に関して、一方の PDZ-binding motif に関しては、その認識タンパクの同定に成功し、その認識機構に関しての解明を進めることが出来ており、おおむね予定通りに研究を進捗させている。しかし、他方の di-hydrophobic motif に関しては、その認識タンパクに対して、数度のプロテオーム検索を施行したが、現在までに、同モチーフを認識することを確認できたタンパクの同定が出来ていない。

管腔側 K⁺チャネルと血管側水チャネルに関しては、血管側 K⁺チャネルに対して、当初より副次的対象と捉えており、おおむね予定通りに研究を進めている。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 血管側 K⁺チャネルに関する研究

同定した MAGI-1 と K⁺チャネルの相互作用の制御機構に関して、生体において K⁺チャネルのリン酸化を司るキナーゼの解明及びその制御機構の解明を進める。

MAGI-1・K⁺チャネルの臓器・時間特異的な機能障害が生体に及ぼす影響の解明に向け、遺伝子改変動物を用いた実験系を用いて研究を進展させたいと考え、その研究資金の調達を試み、若手Sに応募させていただいたが、残念ながら採用されず、新たな研究資金調達への道を模索中である。

(2) 管腔側 K⁺チャネル (Na⁺輸送体) に関する研究

管腔側 K⁺チャネルと MAGI-1 変異体の相互作用に関して、その相互作用部位の同定から更に相互作用の制御法の解明へと研究を進める。

管腔側 Na⁺輸送体に関しては、血管側 K⁺チャネルに対して用いた方法を応用して、その

管腔側への発現を規定する機構の解明を進める。

(3) 血管側水チャネルに関する研究

血管側 K⁺チャネルに対して用いた方法を応用し、同定した水チャネルの血管側への局在シグナルを認識するタンパクの同定と、その制御機構の解明を進める。

5. 代表的な研究成果

(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 5 件)

- ① Tanemoto M, Suzuki T, Abe M, Abe T, Ito S. Hemodynamic Index of Atheromatous Renal Artery Stenosis for Angioplasty. *Clin J Am Soc Nephrol*. 4:651-655, 2009 査読有
- ② Tanemoto M, Suzuki T, Abe M, Abe T, Ito S. Physiologic variance of corticotrophin affects diagnosis in adrenal vein sampling. *Eur J Endocrinol*. 160:459-463, 2009 査読有
- ③ Tanemoto M, Effect of serum albumin on serum sodium: necessity to consider the Donnan effect. *QJM* 101:827-828, 2008 査読有
- ④ Tanemoto M, Toyohara T, Abe T, Ito S. MAGI-1a functions as a scaffolding protein for the distal renal tubular basolateral K⁺ channels. *J Biol Chem*. 283:12241-12247, 2008 査読有
- ⑤ Tanemoto M, Abe M, Uruno A, Abe T, Ito S. Angiographic index for angioplasty-treatable atheromatous renal artery stenosis. *Hypertens Res*. 31:881-885, 2008 査読有

[学会発表] (計 3 件)

- ① 種本雅之、秋山泰利、相馬友和、鈴木健弘、阿部倫明、阿部高明、伊藤貞嘉、生理的レベルの副腎皮質刺激が副腎静脈サンプリングの診断に及ぼす影響、第 31 回 日本高血圧学会総会、平成 20 年 10 月 9 日、札幌
- ② 種本雅之、秋山泰利、相馬友和、阿部倫明、阿部高明、伊藤貞嘉、腎動脈狭窄症の狭窄部圧格差と血行再建術の治療効果の関連、第 51 回 日本腎臓学会学術総会、平成 20 年 5 月 30 日、福岡
- ③ 種本雅之、相馬友和、阿部倫明、阿部高明、伊藤貞嘉、副腎静脈サンプリングにおける極定量 ACTH 刺激の有用性、第 81 回 日本内分泌学会学術総会、平成 20 年 5 月 16 日、青森

[図書] (計 1 件)

- ① 種本雅之、伊藤貞嘉、文光堂、腎尿路系 コア・カリキュラムテスト、2008、254-257