

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08704

研究課題名(和文)腎虚血再灌流障害後に食塩感受性高血圧が発症する機序の解明

研究課題名(英文)Upregulation of mineralocorticoid receptor contributes to development of salt-sensitive hypertension after ischemic reperfusion injury in rats

研究代表者

土井 盛博(Doi, Shigehiro)

広島大学・病院(医)・助教

研究者番号：80626127

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ラットに腎虚血再灌流を行い(IRIラット)に、食塩負荷を行ったところ(IRI/NaClラット)、血圧上昇や腎障害の進行を認めた。さらに、IRIラットに、アルドステロン負荷を行ったところ(IRI/Aldoラット)、食塩負荷を行っていないにも関わらず、血圧上昇、腎障害の進行を認めた。その後、IRI/NaClラット、IRI/Aldoラットにおいて、ミネラルコルチコイドレセプターブロッカー(MRB)を投与したところ、血圧上昇や腎障害の抑制を認めた。最後に、IRI/NaClラットとIRI/Aldoラットに、ENaC阻害薬であるアミロライドを投与したところ、血圧上昇と腎障害の進行が抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに、急性腎障害(AKI)後に腎機能が正常に回復するにも関わらず、その後、慢性腎臓病に高頻度で発症することが臨床研究で明らかにされている。慢性腎臓病への進行に高血圧が強く関与し、高血圧の中でも、本態性高血圧よりも食塩感受性高血圧の方がより腎障害の進展に寄与することが報告されている。通常、食塩感受性高血圧の発症には、食塩過剰摂取とレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系(RAAS)の活性の両方が必要であるが、本研究の結果、AKIの後は、食塩過剰摂取がRAAS系の活性のどちらかの刺激で、食塩感受性高血圧が発症することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The mechanism by which salt-sensitive hypertension participates in the transition from acute kidney injury (AKI) to chronic kidney disease was determined in ischemic reperfusion injury (IRI) model rats. Salt overload or aldosterone infusion caused hypertension and renal damage in IRI rats, which were ameliorated by a mineralocorticoid receptor (MR) blocker. Salt-sensitivity is therefore enhanced by MR upregulation after AKI, and high salt intake or activation of the renin-angiotensin-aldosterone system contributes to progression of kidney disease.

研究分野：腎臓病

キーワード：急性腎障害 虚血再灌流障害 ミネラルコルチコイドレセプター 食塩感受性高血圧 上皮ナトリウムチャンネル 食塩 アルドステロン

1. 研究開始当初の背景

近年、急性腎障害 (AKI) 後に一旦腎機能障害が改善した患者が、高頻度に慢性腎臓病 (CKD) に進展すること (AKI-CKD transition) が明らかにされている。これまでの基礎研究と臨床研究の結果から、CKD の進展に高血圧が関与することはよく知られているが、われわれは食塩感受性高血圧でより腎障害が高度であることを明らかにした (Doi T, et al. PLoS ONE, Yamauchi T, et al. Am J Physiol, 2018)。

興味深いことに、AKI の動物モデルである腎虚血再灌流障害後に食塩感受性が亢進し、実際に食塩負荷を行うと高血圧が発症することが報告されている。一般的に AKI は腎障害が改善すると考えられているが、AKI 時の刺激によって食塩感受性が亢進し、将来的に食塩負荷が加わったときに腎障害が進展することが推察される。しかし、現在の所、AKI が改善した後に、食塩感受性が増強する機序は明らかではない。

近年、DNA の塩基配列の変化によらない遺伝子発現の制御機構であるエピジェネティクスが注目されている。これまでにわれわれは、腎疾患進展の過程に、ヒストンメチル化 (Sasaki K, et al. J Am Soc Nephrol, 2016, Irifuku T, et al. Kidney Int, 2016) やヒストンバリエーションの挿入 (Shindo T, et al. Sci Rep 2018) が関与することを報告してきた。エピジェネティックな変化は、細胞分裂した後も継続されるため、AKI によって誘導されるエピジェネティックな変化によって食塩感受性が亢進し、その後の食塩負荷の有無が CKD の発症を規定していると考えられる。

これまでの研究の多くは、「病院があって組織障害を引き起こす」というように病気を一元的に説明することを試みるものであったが、この概念のみでは、AKI 後に「なぜ腎機能は改善するにもかかわらず、食塩感受性が亢進するか」という疑問に対して納得のいく説明ができなかった。これに対して、近年のエピジェネティックの概念は、「以前におきたイベントによって、臨床では観察できない程度の遺伝子発現の変化が起こり、その後の食塩負荷によって腎障害を引き起こされる」というように二元的に病態を捉えることを可能にした。しかし、これまでに、腎虚血再灌流障害によって引き起こされるエピジェネティックな変化によって、高血圧が発症することを報告した論文はない。

2. 研究の目的

動物実験において、食塩感受性高血圧の発症には、食塩過剰摂取とレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAAS) の活性化の両方の刺激が必要である。しかし、ラットの AKI モデルである虚血再灌流モデル (IRI ラット) では、食塩負荷のみで高血圧を発症することが報告されている。さらに、脳の IRI モデルにおいて、ミネラルコルチコイドレセプター (MR) の発現が亢進することが明らかにされている。これらの報告から、1) IRI ラットでは、MR の発現が亢進する結果、遠位尿細管におけるナトリウムの吸収が亢進するため、高食塩負荷で食塩感受性高血圧を発症する、2) IRI ラットでは、MR の発現が亢進するために、アルドステロンに対する反応性が亢進するために、アルドステロン単独の刺激で食塩感受性高血圧を発症する、という仮説を立てて、それぞれについて、MR とナトリウムチャンネル (ENaC) の関与について検証した。さらに、IRI ラットで MR の上昇する機序として、ヒストンメチル化酵素の上昇や上皮増殖因子 (EGF) の関与についての検討も行った。

3. 研究の方法

1) IRI ラットの Day7 における MR の発現やそのシグナルの下流に存在する分子、ENaC やナトリウム-クロライド共輸送体 (NCC) の活性化、また、これらに関連するヒストンメチル化酵素の発現、EGF の関与について調査した。

2) AKI 後に食塩負荷の効果を調査するため、ラットを水投与の sham ラット (sham ラット)、1.0% 食塩水投与の sham ラット (sham/NaCl ラット)、水投与の IRI ラット (IRI ラット)、1.0% 食塩水投与の IRI ラット (IRI/NaCl ラット) を作製し、血圧の推移や 6 週後の MR とその下流分子、ENaC の発現、腎障害の程度を検討した。

3) AKI 後のアロドステロン投与の効果を調査するため、ピークル投与の sham ラット (sham ラット)、アロドステロン投与の sham ラット (sham/Aldo ラット)、ピークル投与の IRI ラット (IRI ラット)、アロドステロン投与の IRI ラット (IRI/Aldo ラット) を作製し、血圧の推移や 6 週後の MR とその下流分子、ENaC の発現、腎障害の程度を検討した。

4) IRI/NaCl rats における MR ブロッカー (MRB) である esaxerenone (3 mg/kg/day) の効果を調査するため、0.5 w/v %メチルセルロース投与の sham/NaCl ラット (sham/NaCl ラット)、MRB 投与の sham/NaCl ラット (sham/NaCl + MRB ラット)、0.5 w/v %メチルセルロース投与の IRI ラット (IRI/NaCl ラット)、MRB 投与の IRI ラット (IRI/NaCl + MRB ラット) を作製し、血圧の推移や 6 週後の MR とその下流分子、ENaC の発現、腎障害の程度を検討した。

5) IRI/Aldo rats における MRB の効果を調査するため、0.5 w/v %メチルセルロース投与の sham/Aldo ラット (sham/Aldo ラット)、MRB 投与の sham/Aldo ラット (sham/Aldo + MRB ラット)、0.5 w/v %メチルセルロース投与の IRI ラット (IRI/Aldo ラット)、MRB 投与の IRI ラット (IRI/Aldo + MRB ラット) を作製し、血圧の推移や 6 週後の MR とその下流分子、ENaC の発現、腎障害の程度を検討した。

6) IRI/NaCl rats における ENaC 阻害薬であるアミロライド (AML, 5 mg/kg/day) の効果を調査するため、0.5 w/v %メチルセルロース投与の sham/NaCl ラット (sham/NaCl ラット)、AML 投与の sham/NaCl ラット (sham/NaCl + AML ラット)、0.5 w/v %メチルセルロース投与の IRI ラット (IRI/NaCl ラット)、AML 投与の IRI ラット (IRI/NaCl + AML ラット) を作製し、血圧の推移や 6 週後の MR とその下流分子、ENaC の発現、腎障害の程度を検討した。

7) IRI/Aldo rats における AML の効果を調査するため、0.5 w/v %メチルセルロース投与の sham/Aldo ラット (sham/Aldo ラット)、AML 投与の sham/Aldo ラット (sham/Aldo + AML ラット)、0.5 w/v %メチルセルロース投与の IRI ラット (IRI/Aldo ラット)、AML 投与の IRI ラット (IRI/Aldo + AML ラット) を作製し、血圧の推移や 6 週後の MR とその下流分子、ENaC の発現、腎障害の程度を検討した。

4. 研究成果

IRI ラットに、7 日後に MR やその下流因子である、SGK1、ENaC、NCC の発現を調べたところ、MR、SGK1、ENaC の上昇を認めたが、NCC の変化には差を認めなかった。MR の発現亢進に、ヒストン修飾が関与しているかを調査するため、ヒストンメチル化酵素の PCR アレイを行ったが、ヒストン修飾と MR 発現の関連は明らかにすることはできなかった。また、MR の発現維持に、EGF が関与しているかを調べるため、EGF 受容体ブロッカーの投与を行ったが、MR の発現に差を認めなかった。次に、IRI ラットに、食塩負荷を行ったところ

(IRI/NaCl ラット)、血圧上昇や腎障害の進行を認めた。さらに、IRI ラットに、アルドステロン負荷を行ったところ (IRI/Aldo ラット)、食塩負荷を行っていないにも関わらず、血圧上昇、腎障害の進展を認めた。その後、IRI/NaCl ラット、IRI/Aldo ラットにおいて、MRB を投与したところ、血圧上昇や腎障害の抑制を認めた。最後に、IRI/NaCl ラットと IRI/Aldo ラットに、ENaC 阻害薬である AML を投与したところ、血圧上昇と腎障害の進展が抑制された。上記の結果から、IRI ラットにおいて MR が上昇する機序を明らかにすることはできなかったが、IRI ラットにおいて、食塩負荷、あるいは、RAAS 系の活性があった場合には、血圧上昇や腎障害が誘導されることが明らかとなった。さらにその機序として、MR 発現上昇に伴う、ENaC の発現亢進が関与しており、「なぜ急性腎障害後に、高血圧や慢性腎臓病が発症しやすいか？」というクリニカルクエッションに対する答えが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	正木 崇生 (Masaki Takao) (30397913)	広島大学・病院(医)・教授 (15401)	
研究分担者	中島 歩 (Nakashima Ayumu) (40448262)	広島大学・医系科学研究科(医)・共同研究講座教授 (15401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関