

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18010

研究課題名（和文）アンジオテンシン受容体機能調節因子による高血圧の新規治療戦略

研究課題名（英文）AT1 receptor binding protein activation strategy in the treatment of hypertension and related organ injury

研究代表者

小林 竜（KOBAYASHI, Ryu）

横浜市立大学・医学部・客員研究員

研究者番号：60805612

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）：1型アンジオテンシンII（Ang II）受容体（AT1受容体）は、高血圧および高血圧関連臓器障害を増悪させる受容体である。研究代表者の研究室ではAT1受容体への新規結合分子の単離・同定に世界で初めて成功しATRAPと命名した。尿管で高発現しているATRAPの機能解析を行ったところ、近位尿管でのATRAP発現は高血圧発症にあまり寄与しないことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尿管で高発現しているATRAPの活性化を行うことで、高血圧治療及び慢性腎臓病などの腎疾患における新たな分子標的治療実現のための検討を行うことを目的とする。

特に慢性腎臓病については、現時点で特効薬がない疾患でありながら患者は増加の一途をたどっており、病態改善に寄与する治療が実現できれば、社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：We have previously shown that ATRAP (angiotensin II receptor; associated protein; Agtrap) interacts with AT1R (angiotensin II type 1 receptor) and promotes constitutive internalization of AT1R so as to inhibit hyperactivation of its downstream signaling. ATRAP deficiency in proximal tubules did not exacerbate angiotensin-dependent hypertension in vivo. The results indicate that renal proximal tubule ATRAP has a minor role in angiotensin-dependent hypertension in vivo.

研究分野：慢性腎臓病

キーワード：慢性腎臓病 高血圧 レニン-アンジオテンシン系

1. 研究開始当初の背景

病的刺激は生体の反応を引き起こし、その持続は組織局所での慢性的な酸化ストレス増加や炎症反応亢進とそれらに伴う代謝系に悪影響を及ぼす。高血圧・高血圧関連臓器障害の発症・進展機序においてもこれらは重要視されている(Nature 464: 1357-1361, 2010)。特に病的刺激の持続による「組織局所における AT1 受容体情報伝達系の過剰活性化」がもたらす組織レニン-アンジオテンシン系(R-A系)の異常亢進状態は、慢性的な細胞・組織の酸化ストレス増加・炎症反応亢進・線維化進行を介して高血圧および高血圧関連臓器障害を発症・増悪させ、重篤な心血管病を引き起こす(Curr Hypertens Rep 8: 191-198, 2006. J Clin Invest 119: 524-530, 2009. Metabolism 62: 1543-1552, 2013)。したがって、AT1 受容体は高血圧・高血圧関連臓器障害の増悪受容体として捉えることができる。実際、高血圧の治療において、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)といった R-A 系阻害薬の有効性が多くの大規模臨床試験で証明されている。同時に、R-A 系自体は生物の進化の過程で獲得されたもので、生体内の水・電解質代謝や循環系の恒常性維持、および臓器発生・分化にとって重要な生理的調節系である。全身性アンジオテンシノーゲン欠損マウス、レニン欠損マウス、AT1 受容体欠損マウスなど、発生段階からの R-A 系欠損マウスでは、生下時からの異常な低血圧と腎などの器官形成異常、臓器機能異常が報告されている(Physiol Rev 86: 747-803, 2006)。最近の心血管病高リスク患者や蛋白尿合併 2 型糖尿病・慢性腎臓病患者を対象とした複数の大規模臨床試験では、ARB と ACE 阻害薬の併用治療や、ARB あるいは ACE 阻害薬とレニン阻害薬との併用治療などの強力な R-A 系阻害は心血管病や腎機能障害などの予後改善には無効であり、逆に腎障害、高 K 血症、低血圧などの有害事象を増加させることが報告されている(N Engl J Med 367: 2204-2213, 2012. N Engl J Med 369: 1892-1903, 2013)。したがって、臓器の発生・形態形成や恒常的生理機能維持を担う AT1 受容体系の生理的情報伝達系活性の遮断を回避しつつ、同受容体系の病的な過剰活性化のみを選択的に効率的かつ安全に抑制することが重要と考えられる。

現在までの予備的研究結果から、ATRAP は AT1 受容体の生理的情報伝達系には悪影響を与えずに、病的刺激の持続による AT1 受容体下流の臓器障害と関連した情報伝達系の過剰活性化に対してのみ選択的な抑制作用を発揮できるという機能上の大きな利点をもつ可能性が高い(Curr Pharm Des 19: 3043-3048, 2013)。本研究課題の核心的な「問い」は、研究代表者がこれまで明らかにしてきた、機能選択的 AT1 受容体制御作用を有する ATRAP について『組織局所での ATRAP の発現あるいは活性が、高血圧および高血圧関連臓器障害の発症・進展に関与し、ATRAP の発現制御により高血圧及び高血圧関連臓器障害を制御できるか』である。

2. 研究の目的

前述の「問い」に対応し、本研究課題では高血圧モデル動物、発生工学的手法により作製した組織特異的 ATRAP 発現制御動物およびヒト組織を用いて、ATRAP の発現・活性調節異常と高血圧および高血圧関連臓器障害との関連について Na チャネルや R-A 系構成要素(アンジオテンシノーゲン、血漿レニン活性など)や炎症性サイトカインなどの蛋白発現解析、尿中カテコラミンや腎交感神経活性、血管張力、代謝ケージによる水電解質代謝の解析など多面的に検討し、高血圧・高血圧関連臓器障害の発症・進展における ATRAP の病態生理学的意義の解明、および ATRAP に着目した新規分子標的治療法の開発に向けた検討を行う。本研究の学術的独自性として、ATRAP は、現在臨床使用されている ACE 阻害薬や ARB などの R-A 系阻害薬とは分子機序が異なり、定常状態での同受容体情報伝達系活性には影響を与えずに、病的刺激による AT1 受容体の過剰活性化を選択的に抑制する可能性がこれまでの研究成果から示されている。また、今回ヒト組織での ATRAP 発現レベルと、高血圧および高血圧関連臓器障害の重症度と臨床指標との関連を検討することにより、その早期診断法や新規治療法の発見につながる可能性がある。

3. 研究の方法

loss-of-function in vivo strategy により、尿細管特異的 ATRAP 欠損マウス、血管平滑筋特異的 ATRAP 欠損マウスなどを用いて、高血圧および高血圧関連臓器障害の発症・進展における ATRAP の機能的意義を検討する。内在性 ATRAP は腎近位尿細管～遠位尿細管～集合管にかけて幅広く分布している。研究代表者は今までに、gene targeting 法を用いて作製した全身性 ATRAP 欠損マウスでは、定常状態での血圧や腎機能に異常はみられないが、Ang II 刺激下において高血圧およびタンパク尿の増悪を認め、その機序として、腎尿細管でのナトリウム再吸収亢進が関与することを明らかにしている。そして、尿細管での ATRAP のより詳細な機能解析のために、すでに Cre-loxP システムを用いて、近位尿細管特異的 ATRAP 欠損マウスの作製に成功している。さらに、現在、遠位尿細管特異的 ATRAP 欠損マウス、集合管特異的 ATRAP 欠損マウスを作製中である。本研究では、これらの尿細管各セグメントでの ATRAP 欠損マウスに対して、Ang II 投与、高食塩負荷、5/6 腎摘などを行い血圧および腎障害に与える影響を検討する。この検討によって、

高血圧および腎機能障害の発症・進展における，尿細管の各部位での ATRAP の機能的意義が明らかになると期待する．

4．研究成果

近位尿細管特異的 ATRAP 発現制御マウスの作製に成功し，アンジオテンシン依存性高血圧モデルを用いて検討を行った結果，近位尿細管特異的 ATRAP 発現制御マウスでは野生型マウスと比較して，テイルカフ法・テレメトリー法ともに野生型マウスと血圧に変化がないことが確認された。つまり、全身性 ATRAP 欠損マウスでは、アンジオテンシン依存性高血圧モデルにおいて有意な血圧上昇を認めたと、近位尿細管特異的 ATRAP 発現制御マウスで血圧上昇がみられなかったことから、近位尿細管ではなく遠位尿細管系の ATRAP が主に、高血圧発症抑制の内在性システムとして機能している可能性が高いことを明らかにした(J Am Heart Assoc. 2019 Apr 16;8(8):e012395)。本研究結果をもとに、ATRAP 活性化による高血圧や慢性腎臓病などの臓器障害に対する新規治療戦略につながるよう研究をすすめていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kinguchi Sho, Wakui Hiromichi, Azushima Kengo, Haruhara Kotaro, Koguchi Tomoyuki, Ohki Kohji, Uneda Kazushi, Matsuda Miyuki, Haku Sona, Yamaji Takahiro, Yamada Takayuki, Kobayashi Ryu, Minegishi Shintaro, Ishigami Tomoaki, Yamashita Akio, Fujikawa Tetsuya, Tamura Kouichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of ATRAP in Renal Proximal Tubules on Angiotensin Dependent Hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e012395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.012395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaji Takahiro, Yamashita Akio, Wakui Hiromichi, Azushima Kengo, Uneda Kazushi, Haku Sona, Kobayashi Ryu, Ohki Kohji, Haruhara Kotaro, Kinguchi Sho, Ishii Takeo, Yamada Takayuki, Urate Shingo, Suzuki Toru, Abe Eriko, Tanaka Shohei, Kamimura Daisuke, Ishigami Tomoaki, Toya Yoshiyuki, Takahashi Hidehisa, Tamura Kouichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Angiotensin II type 1 receptor-associated protein deficiency attenuates sirtuin1 expression in an immortalised human renal proximal tubule cell line	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52566-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kouichi Tamura, Sho Kinguchi, Kengo Azushima, Kotaro Haruhara, Takahiro Yamaji, Takayuki Yamada, Ryu Kobayashi, Tetsuya Fujikawa, Kohji Ohki, Hiromichi Wakui
2. 発表標題 Functional Impact of Proximal Tubule ATRAP in Blood Pressure Regulation
3. 学会等名 ASN Kidney Week 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金口翔, 涌井広道, 小豆島健護, 春原浩太郎, 高口知之, 大城光二, 畝田一司, 白善雅, 山地孝拡, 山田貴之, 小林竜, 石上友章, 山下暁朗, 藤川哲也, 田村功一
2. 発表標題 腎近位尿細管AT1受容体結合因子がアンジオテンシン依存性高血圧に及ぼす影響
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------