

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17124

研究課題名（和文）致死的不整脈におけるSCN5A-Nedd4-2系の分子メカニズム解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanism of SCN5A-Nedd4-2 for lethal arrhythmia

研究代表者

峯岸 慎太郎（Minegishi, Shintaro）

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：80458398

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本申請の内容である、致死的不整脈におけるSCN5A-Nedd4-2系の分子メカニズムの解明に加えて、DOCAを負荷したマウスの研究を進展させている。従来の腎臓説に立脚した腎におけるナトリウム排泄障害・細胞外液量増加が「循環血液量」の増加と「高血圧」をもたらすという概念に対し、DOCAを負荷したマウス実験により、体内の水分喪失を防ぐ目的のための多因子生理学的適応として「末梢血管抵抗」の増加と「高血圧」が生じる可能性を示した。こうした体液保持機構の活性化が、「治療抵抗性高血圧症」をもたらしている可能性がある。アルドステロンの分泌は、カリウム排泄を亢進させ、水分喪失をもたらすという結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究から、食事の食塩摂取量と高血圧症との強い相関関係は明らかであり、治療抵抗性高血圧症は過度のナトリウム貯留によって引き起こされている可能性が報告されているが、その機序に関する知見は断片的で体系化されていなかった。一方、最近の「食塩」に関する研究によって、腎臓だけでなく、皮膚においてもナトリウム・体液調節機構が存在することが明らかとなっている。本研究により、「高食塩摂取により様々な臓器が協調して機能し、腎臓のみならず、皮膚・肝臓・骨格筋などの内分泌・代謝連関によって体内の水分バランスの制御により血圧が上昇する」という、食塩感受性高血圧研究に新境地をもたらす成果を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：In addition to elucidating the molecular mechanism of the SCN5A-Nedd4-2 system in lethal arrhythmias, which is the subject of this application, we are developing research on DOCA-loaded mice. In contrast to the conventional renal theory that impaired sodium excretion and increased extracellular fluid volume in the kidney cause increased "circulating blood volume" and "hypertension," experiments in DOCA-loaded mice have shown that increased "peripheral vascular resistance" and "hypertension" may occur as a multifactorial physiological adaptation for the purpose of preventing water loss in the body. This activation of fluid conservation mechanisms might be a key factor in the development of hypertension in the body. Activation of these fluid retention mechanisms may result in "treatment-resistant hypertension. Aldosterone secretion increases potassium excretion, resulting in water loss.

研究分野：高血圧

キーワード：電解質 電気的リモデリング 心腎連関 体液恒常性 DOCA アッシング カリウム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高血圧症の約 90%は原因の特定できない本態性高血圧症であるが、近年、食塩摂取で引き起こされる食塩感受性高血圧症の研究は目覚ましい変化と発展を遂げている。

これまで、食塩と血圧の関連性は、腎機能を中心に研究され、我々は、腎臓尿細管に局在するユビキチン化酵素 Nedd4-2 の 1 つの isoform が食塩感受性高血圧症発症の中核的役割を果たしていることを明らかにした。腎臓尿細管上皮細胞での Nedd4-2 C2 の機能が低下することで、ENaC の分解が低下し、Na⁺の再吸収が亢進して、食塩感受性・高血圧を発症することを報告している。

さらに、遺伝学の知見と遺伝子解析・診断技術の進歩に伴い、致死的不整脈における遺伝子解析の位置づけが高まっている。その中でも、SCN5A 遺伝子は心臓の電気的特性を決定付ける重要な遺伝子であり、SCN5A は Nedd4-2 による翻訳後制御を受けていることが判明している。したがって、SCN5A-Nedd4-2 系の分子メカニズムの解明は、高血圧症の制御だけでなく、不整脈の治療にもつながる可能性がある。

一方、最近の「食塩」に関する研究によって、腎臓だけでなく、皮膚においても Na⁺・体液調節機構が存在することが明らかとなっている。食塩感受性・高血圧の成因について、多角的に評価するために、水・電解質の代謝を調節する酢酸デオキシコルチコステロン (DOCA) を負荷したマウス実験を行うこととした。

2. 研究の目的

アルドステロンは腎遠位尿細管に存在するコルチコイド受容体(MR)に作用して Na⁺・体液量を調節するホルモンである。原発性アルドステロン症では、高血圧、高 Na 血症、低 K 血症、代謝性アルカローシスが現れることが特徴的であり、昇圧作用は、アルドステロンが自律的に過剰に分泌されることで、体内の Na⁺・水分量が増加することに起因すると考えられてきた。レニン-アンジオテンシン系は元来、生物が海から陸上に進出する過程で、海水と同じ組成の細胞外液を体内に保持し、陸上で生存を可能にするために獲得された。申請者の予備検討により、原発性アルドステロン症においても「多臓器連携」によって血圧上昇が生じている可能性があるが、今までにこうした視点からの昇圧メカニズムは検証されていない。アルドステロンの分泌は、K⁺排泄を亢進させ、水分喪失をもたらす、体液保持機構の活性化を介した“既存の常識とは異なる血圧上昇機構”が働いている可能性がある。

したがって、「MR 活性化作用を有する DOCA(Deoxycorticosterone acetate)投与によって K⁺および水分喪失が生じるのか」、「多臓器連携型の体液保持機構が働き、血圧上昇をもたらすか」という学術的問いがある。本研究の目的は、「DOCA を用いた動物実験によるアルドステロン/MR 系の新規昇圧メカニズム解明」である。

3. 研究の方法

DOCA による昇圧作用を検証し、電解質・水分バランスの変化を調べるために、DOCA ペレット(25mg/錠・21 日徐放製剤)を皮下移植した 9 週齢雄性 C57BL/6J マウスに、低塩分飼料(<0.1%NaCl)を与え、通常水(Control 群)、DOCA 処理(DOCA 単独群)、1% NaCl 投与群(DOCA NaCl 群)、1.44% NaHCO₃ 投与群(DOCA NaHCO₃ 群)の 4 群に分け、下記の実験を行った。

研究計画①：ラジオテレメトリーを用いた観血持続的 blood 測定実験

マウスを麻酔し、左総頸動脈を分離し、ラジオテレメトリー送信機のカテーテル先端を胸部大動脈に留置し、RPC-1 受信機システムを用いて、動脈圧、心拍数、運動量を例数追加および予備実験の再現性確認のために持続測定した。データは Dataquest ART(DSI)を用いて収集および時間経過解析する。手術から回復した 2 週間後に DOCA ペレットを移植し、上記 4 群に分け、5 分ごとの血圧測定を 12 日間連続で実施し、血圧変化、飲水中 Na⁺負荷の随伴陰イオン Cl⁻と HCO₃⁻の差異を評価した。

研究計画②：通常飼育ケージでの連続測定実験

4 群に分けたマウスを通常飼育ケージにて単体飼育し、毎日の体重、摂餌量、摂水量を測定し、DOCA 移植前後で体組成分析(Echo-MRI)により脂肪量・筋肉量を複数回測定した。さらに、予備実験データに基づき、負荷開始 2 日目(初期効果)、6 日目(中間効果)、12 日目(晩期効果)で、DOCA による体内 Na⁺、K⁺、水分量の変化を血漿溶質と共に経時的に定量的化学分析し、昇圧作用との関連を検証した。

研究計画③：代謝ケージでの連続測定実験

4 群に分けたマウスを、代謝ケージにて単体飼育し、連日、24 時間毎に水分摂取量を測定し、尿サンプルを収集する。DOCA による尿中溶質と水分の排泄の時間経過解析を行うことで、尿浸

透圧・尿中溶質と血圧の関係を調べた。

4. 研究成果

Control 群と比較し DOCA 単独群は、尿量と飲水量の増加、尿浸透圧の低下を示し、MR 活性化により腎臓からの体液喪失が生じていた。DOCA 単独群および DOCA NaCl 投与群で、早期から血圧上昇が見られた(図 1-A)。

血圧上昇開始時は体内の K^+ と水分量の減少を認め、 Na^+ 貯留を認めなかったが、水分喪失を防ぐために、失われた K^+ を Na^+ に置換して脱水を改善した(図 1-B)。

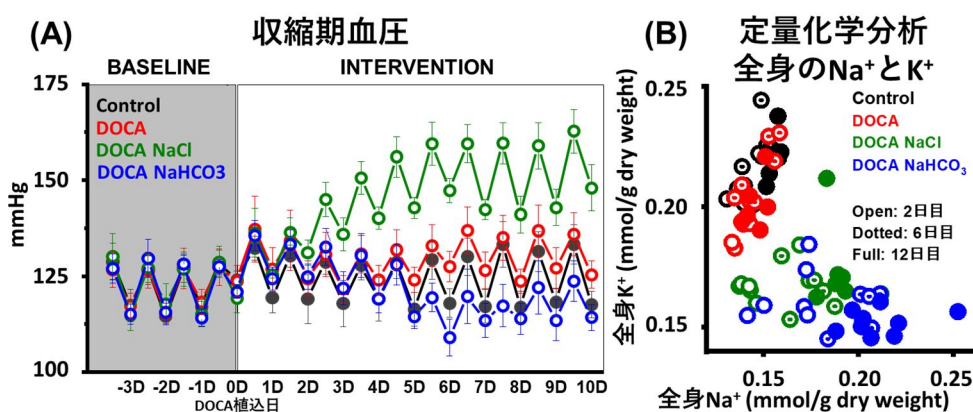


図 1. DOCA 移植マウスの電解質・血圧変動

この体液保持反応により、腎血管抵抗は増加し、皮膚血液灌流は減少した。DOCA NaHCO₃ 投与群は、初期の K^+ 喪失を起こしたが、直ちに Na^+/K^+ 溶質交換が行われ、 K^+ による水分喪失を防ぐことができた。そのため、皮膚の血管を収縮させる必要がなく、体内の Na^+ 過剰にもかかわらず血圧は正常に保たれた(図 1-A)。

「高血圧」は、「循環血液量」と「末梢血管抵抗」のいずれか、あるいは両方が持続して高い状態である。食塩感受性高血圧症に関する従来の学説は、機械論として、圧 Na^+ 利尿の破綻により、 Na^+ および水分の体内貯留・心拍出量の増加・血圧が上昇することを示しており、目的論として、腎からの Na^+ 排泄障害による体液および体内 Na^+ の過剰を防ぐために、正常よりも高い血圧を呈する必要があるというものである。

食塩感受性高血圧症の研究は腎臓の観点から発展を遂げており、我々の研究グループは、塩分摂取量の多いマウスやラットでは「腎臓における尿素と水の再吸収増加」、「肝臓と筋肉における尿素と代謝水産生の亢進」等が生じ、飲水量や尿量の変化を抑えるように体内の Na^+ と水分の恒常性を維持している可能性を示した¹。さらに、慢性腎不全早期、尋常性乾癬では、水分喪失およびそれに続く多因子生理学的適応である体液保持機構の活性化を介して血圧上昇が惹起されることを報告している^{2,3}。

本研究の結果から、従来の腎臓説に立脚した腎における Na^+ 排泄障害・細胞外液量増加が「循環血液量」の増加と「高血圧」をもたらすという概念に対し、体内の水分喪失を防ぐ目的のための多因子生理学的適応として「末梢血管抵抗」の増加と「高血圧」が生じる可能性が示唆された(図 2)。MR の過剰発現は、心・腎臓障害の一因となり、MR 拮抗薬が心血管系イベントを抑制し、生命予後を改善することが証明されており、アルドステロン/MR 系の新規昇圧メカニズムを解明することは、臨床医学や創薬の視点からも非常に重要である。

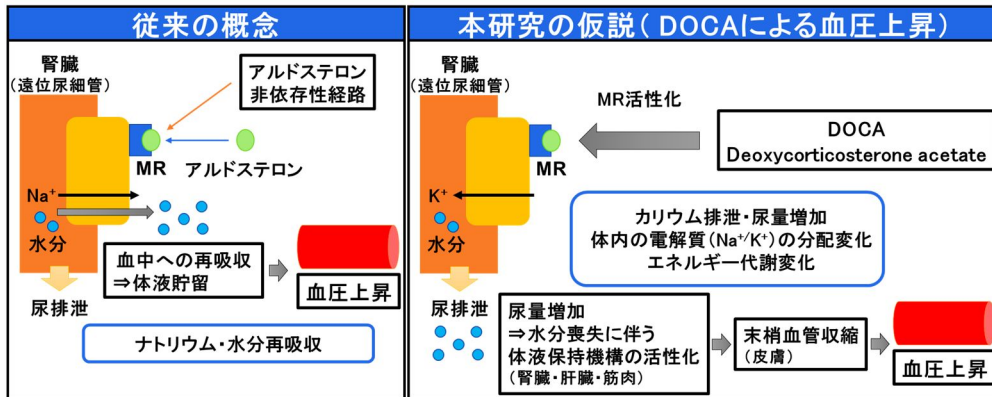


図2.アルドステロン/MR活性化による昇圧機序

参考文献

1. Kitada K, Daub S, Zhang Y, et al. High salt intake reprioritizes osmolyte and energy metabolism for body fluid conservation. J Clin Invest. 2017 May 1;127(5):1944-1959.
2. Kovarik JJ, Morisawa N, Wild J, et al. Adaptive physiological water conservation explains hypertension and muscle catabolism in experimental chronic renal failure. Acta Physiol (Oxf) . 2021 May;232(1):e13629.
3. Wild J, Jung R, Knopp T, et al. Aestivation motifs explain hypertension and muscle mass loss in mice with psoriatic skin barrier defect. Acta Physiol (Oxf). 2021 May;232(1):e13628.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Minegishi Shintaro, Nishiyama Akira, Yano Yuichiro, Node Koichi, Kidoguchi Satoshi, Sugano Naoki, Kaneko Hidehiro, Ono Yoshikiyo, Nozato Yoichi, Hoshide Satoshi, Nishimura Kunihiro, Mukai Mikio	4. 巻 -
2. 論文標題 Future Prospects of Onco-Hypertension	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.21011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minegishi Shintaro	4. 巻 -
2. 論文標題 Impact of Hypertension in Cancer Patients Treated With Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-22-0825	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minegishi Shintaro, Kinguchi Sho, Horita Nobuyuki, Namkoong Ho, Briasoulis Alexandros, Ishigami Tomoaki, Tamura Kouichi, Nishiyama Akira, Yano Yuichiro, Japanese Society of Hypertension working group "Onco-Hypertension"	4. 巻 79
2. 論文標題 Immune Checkpoint Inhibitors Do Not Increase Short-Term Risk of Hypertension in Cancer Patients: a Systematic Literature Review and Meta-Analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 2611 ~ 2621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19865	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 峯岸慎太郎, 西山成	4. 巻 93
2. 論文標題 高血圧とがんの関連性について：新しい学術領域"Onco-Hypertension"の概念と今後の展望について	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 科学評論社 循環器内科 Vol.93/No.2	6. 最初と最後の頁 161-168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kovarik Johannes J., Morisawa Norihiko, Wild Johannes, Marton Adriana, Takase Minegishi Kaoru, Minegishi Shintaro, Daub Steffen, Sands Jeff M., Klein Janet D., Bailey James L., Kovalik Jean Paul, Rauh Manfred, Karbach Susanne, Hilgers Karl F., Luft Friedrich, Nishiyama Akira, Nakano Daisuke, Kitada Kento, Titze Jens	4. 巻 0
2. 論文標題 Adaptive physiological water conservation explains hypertension and muscle catabolism in experimental chronic renal failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Physiologica	6. 最初と最後の頁 e13629 ~ e13647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/apha.13629	査読の有無 無
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 Minegishi Shintaro, Luft Friedrich C, Titze Jens, Kitada Kento	4. 巻 33
2. 論文標題 Sodium Handling and Interaction in Numerous Organs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 687 ~ 694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpaa049	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 Ohki Kohji, Wakui Hiromichi, Uneda Kazushi, Azushima Kengo, Haruhara Kotaro, Kinguchi Sho, Urate Shingo, Yamada Takayuki, Yamaji Takahiro, Kobayashi Ryu, Kanaoka Tomohiko, Minegishi Shintaro, Ishigami Tomoaki, Fujikawa Tetsuya, Toya Yoshiyuki, Tamura Kouichi	4. 巻 6
2. 論文標題 Effects of Erythropoietin-Stimulating Agents on Blood Pressure in Patients with Non-Dialysis CKD and Renal Anemia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney Diseases	6. 最初と最後の頁 299 ~ 308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000507396	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 Ishigami Tomoaki, Kino Tabito, Minegishi Shintaro, Araki Naomi, Umemura Masanari, Ushio Hisako, Saigoh Sae, Sugiyama Michiko	4. 巻 21
2. 論文標題 Regulators of Epithelial Sodium Channels in Aldosterone-Sensitive Distal Nephrons (ASDN): Critical Roles of Nedd4L/Nedd4-2 and Salt-Sensitive Hypertension	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3871 ~ 3871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21113871	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4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shintaro Minegishi, Norihiko Morisawa, Kento Kitada, Johannes Wild, Yam Wan Keat, Hong Yu Han, Adriana Marton, Kaoru Minegishi, Lim Tzy Tiing, Tomoaki Ishigami, Kouichi Tamura, Akira Nishiyama, Jean Paul Kovalik, Jens Titze
2. 発表標題 Mineralocorticoid receptor activation leads to high blood pressure due to body potassium and water loss
3. 学会等名 第29回国際高血圧学会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 峯岸慎太郎、北田研人、森澤紀彦、小豆島健護、西山成、石上友章、田村功一
2. 発表標題 酢酸デオキシコルチコステロン（DOCA）は体液喪失を介して血圧を上昇させる
3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 峯岸慎太郎
2. 発表標題 本態性高血圧症の成因 「水喪失と体液保持機構の観点から」
3. 学会等名 第57回高血圧関連疾患モデル学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 峯岸慎太郎、北田研人、森澤紀彦、小豆島健護、西山成、石上友章、田村功一
2. 発表標題 酢酸デオキシコルチコステロン（DOCA）は体液喪失を介して血圧を上昇させる
3. 学会等名 第57回高血圧関連疾患モデル学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021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
---------	---------