

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591064

研究課題名（和文） 糖尿病性腎症における抗利尿ホルモン V1a 型受容体の役割と新たな治療法開発

研究課題名（英文） The role of vasopressin V1a receptor in diabetic nephropathy and the invention of new therapy.

研究代表者

野々口 博史（NONOGUCHI HIROSHI）

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30218341

研究成果の概要（和文）：

バゾプレッシン V1a 受容体 KO マウスは、軽度腎機能低下、代謝性アシドーシス、高K血症を特徴とする 4 型腎尿細管性アシドーシスを呈することを報告した。さらに、腎における酸排泄部位である集合尿細管間細胞 cell line (IN-IC cell) を作成し、アルドステロンの受容体である mineralocorticoid receptor の核内への輸送にバゾプレッシン V1a 受容体が必須であることを明らかにした。以上より、バゾプレッシン系である V1a 受容体がレニン・アンジオテンシン・アルドステロン (RAS) 系であるアルドステロンの酸塩基平衡調節作用を制御していることを明らかにした。これらの事は、バゾプレッシン V1a 受容体拮抗薬によるアルドステロン作用制御という臨床応用の可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：

We reported that vasopressin V1a receptor deficient mice show type 4 renal tubular acidosis, which is characterized by reduced renal function, metabolic acidosis and hyperkalemia. Since the collecting ducts are the main site of acid secretion by the kidney, we established a new cell line of the intercalated cells (IN-IC cells) from SV40 large T antigen Tg rats. Using these cells, we also found that vasopressin V1a receptor is required for nucleocytoplasmic transport of mineralocorticoid receptor by aldosterone in the intercalated cells. In conclusion, vasopressin V1a receptor is essential for acid-base regulation by aldosterone in intercalated cells. These data suggest the possibility of clinical use of vasopressin V1a receptor antagonist as an aldosterone antagonist.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：腎臓内科学

キーワード：水・電解質代謝学、抗利尿ホルモン、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系、ミネラルコルチコイド受容体、細胞質核内輸送

1. 研究開始当初の背景

腎における 2 大体液調節系である浸透圧調節系のバゾプレッシン系と体液量調節系

の RAS 系との関連性については、はっきりとした証拠はなかった。ましてや V1a 受容体が RAS 系の制御に関与している可能性は、全く

想定外であった。

2. 研究の目的

浸透圧調節（バゾプレッシン）系と体液量調節（RAS）系との接点としての V1a 受容体の機能を探り、臨床応用することが、本研究の目的である。具体的には、V1a 受容体が RAS 系制御に関与しているのかを、酸排泄部位である集合尿管間在細胞において検討する。

3. 研究の方法

V1a 受容体ノックアウト (V1aR-KO) マウスを用いて、ワイルドタイプと腎機能、酸塩基平衡状態を比較する。酸負荷と外因性アルドステロンである 9α -fludrocortisone 投与による変化についても検討し、その相違の原因を探るために PCR, Western blot を用いる。さらに SV40 Tg ラットから作成した間在細胞 cell line (IN-IC cell) を用いて、間在細胞におけるアルドステロンの作用と V1a 受容体の関与を siRNA などを用いて検討する。アルドステロンは、その受容体である mineralocorticoid receptor の細胞質から核内への輸送を促進する事が知られているので、V1a 受容体の役割を免疫染色を用いて検討する。

4. 研究成果

V1a 受容体欠損マウスは、4 型腎尿細管性アシドーシスを呈し、外因性アルドステロンである 9α -fludrocortisone 投与で治療することで、4 型腎尿細管性アシドーシスの原因としては、H, K-ATPase, Rhcg の発現低下が関与し、代償性に H-ATPase 発現が増加していることを明らかにした。さらに、アルドステロンによる mineralocorticoid receptor (MR) の細胞質から核内への輸送は、RCC-1 活性化によることも明らかにし、その過程において V1a 受容体が必須であることも明らかにした。以上より、V1a 受容体は、アルドステロンによる MR 核内輸送を制御することで、アルドステロンによる酸塩基平衡調節作用を制御していることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(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 15 件)

1. High Levels of Tumor Necrosis Factor- α Downregulate Antimicrobial Iron Transport Protein, Nramp1, in Chronic Hemodialysis Patients: A Key Factor for Infection Risk. Moriguchi R, Otaki Y,

Hazeki S, Shimada T, Matsumoto A, Kakita N, Kaibe S, Kuragano

T, Nonoguchi H, Masayoshi N, Hasuike Y, Nakanishi T. Am J Nephrol. 査読有 2012;35(4):372-8.

2. The impact of ferritin fluctuations on stable hemoglobin levels in hemodialysis patients. Yahiro M, Kuragano T, Kida A, Kitamura R, Furuta M, Hasuike Y, Otaki Y, Nonoguchi H, Nakanishi T. Clin Exp Nephrol. 査読有 2012 (in press)
3. Persistent homocysteine metabolism abnormality accelerates cardiovascular disease in hemodialyzed patients--the Nishinomiya Study. Hasuike Y, Hama Y, Nonoguchi H, Hori K, Tokuyama M, Toyoda K, Hazeki S, Nanami M, Otaki Y, Kuragano T, Nakanishi T. J Ren Nutr. 査読有 2012 ;22(1):12-8.e1.
4. Hecpidin: another culprit for complications in patients with chronic kidney disease? Nakanishi T, Hasuike Y, Otaki Y, Kida A, Nonoguchi H, Kuragano T. Nephrol Dial Transplant. 査読有 2011;26(10):3092-100.
5. Toxicodynamic evaluation of a cisplatin-chondroitin sulfate complex using a perfused kidney and human proximal tubular cells. Zhang JS, Kadowaki D, Nonoguchi H, Hirata S, Seo H, Imai T, Suenaga A, Giam Chuang VT, Otagiri M. Ren Fail. 査読有 2011;33(6):609-14.
6. Izumi Y, Hori K, Nakayama Y, Kimura M, Hasuike Y, Nanami M, Kohda Y, Otaki Y, Kuragano T, Obinata M, Kawahara K, Tanoue A, Tomita K, Nakanishi T, Nonoguchi

- H. Aldosterone requires vasopressin V1a receptors on intercalated cells to mediate acid-base homeostasis. *J Am Soc Nephrol*. 査読有 2011;22(4):673-80. Doi: 10.168/ASN.2010050468
7. Therapeutic efficacy of double filtration plasmapheresis in patients with anti-aquaporin-4 antibody-positive multiple sclerosis. Munemoto M, Otaki Y, Kasama S, Nanami M, Tokuyama M, Yahiro M, Hasuike Y, Kuragano T, Yoshikawa H, Nonoguchi H, Nakanishi T. *J Clin Neurosci*. 査読 2011 ;18(4):478-80.
 8. Pathological role of aminolevulinate in uremic patients. Hasuike Y, Nonoguchi H, Tokuyama M, Hata R, Kitamura R, Hori K, Nanami M, Otaki Y, Kuragano T, Nakanishi T. *Ther Apher Dial*. 査読有 2011;15(1):28-33. doi: 10.1111/j.1744-9987.2010.00824.x.
 9. Importance of ferritin for optimizing anemia therapy in chronic kidney disease. Nakanishi T, Kuragano T, Nanami M, Otaki Y, Nonoguchi H, Hasuike Y. *Am J Nephrol*. 査読有 2010;32(5):439-46.
 10. Kidney function, proteinuria, and adverse outcomes. Nonoguchi H, Nanami M, Nakanishi T. *JAMA*. 査読有 2010;303(20):2030;
 11. Epoetins and mortality in patients with cancer. Nonoguchi H, Otaki Y, Tokuyama M, Yamamoto S, Nakanishi T. *Lancet*. 査読有 2009;374(9686):287
 12. Low pH stimulates vasopressin V2 receptor promoter activity and enhances downregulation induced by V1a receptor stimulation. Memetimin H, Izumi Y, Nakayama Y, Kohda Y, Inoue H, Nonoguchi H, Tomita K. *Am J Physiol Renal Physiol*. 査読有 2009;297(3):F620-8.
 13. Enhanced kidney, gallbladder and colon on delayed CT. Munemoto M, Kawai K, Yamamoto S, Nonoguchi H, Nakanishi T. *Nephrology (Carlton)*. 査読有 2009;14(3):360.
 14. Vasopressin and hyperosmolality regulate NKCC1 expression in rat OMCD. Wakamatsu S, Nonoguchi H, Ikebe M, Machida K, Izumi Y, Memetimin H, Nakayama Y, Nakanishi T, Kohda Y, Tomita K. *Hypertens Res*. 査読有 2009 ;32(6):481-7.
 15. Acute and chronic metabolic acidosis interferes with aquaporin-2 translocation in the rat kidney collecting ducts. Mouri T, Inoue T, Nonoguchi H, Nakayama Y, Miyazaki H, Matsuzaki T, Saito H, Nakanishi T, Kohda Y, Tomita K. *Hypertens Res*. 査読有 2009 ;32(5):358-63.
- [学会発表] (計 10 件)
1. 間在細胞におけるバゾプレッシンV1a受容体によるミネラルコルチコイド受容体核内輸送制御機構 野々口博史、永井孝憲、堀加穂理、泉裕一郎、蓮池由起子、田上昭人、中山裕史、河原克雅、冨田公夫、中西健 第89回日本生理学会シンポジウム、松本、2012. 3. 30
 2. Nagai T, Hori K, Izumi Y, Hasuike Y, Nakayama Y, Nanami M, Otaki Y, Tomita K, Kawahara K, Tanoue

- A, Nakanishi T, Nonoguchi H. Vasopressin V1a Receptor is required for Nucleocytoplasmic Transport of Minerelocorticoid Receptor. 44th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, 2011 Nov 8-13, Philadelphia, USA.
3. Yasuoka Y, Sato Y, Izumi Y, Nonoguchi H, Kawahara K. Acid decreased the expression of Ca-sensing receptor in type-B of mouse kidney collecting duct intercalated cells. 44th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, 2011 Nov 8-13, Philadelphia, USA.
 4. 堀加穂理、永井孝憲、泉裕一郎、蓮池由紀子、小瀧慶長、倉賀野隆裕、田上昭人、河原克雅、富田公男、中西健、野々口博史。アルドステロンとバソプレシンの相互作用におけるバソプレシンV1a受容体の役割 第54回日本腎臓学会学術総会 2011/06/15-17、横浜
 5. Hori K, Nagai T, Izumi Y, Nakayama Y, Hasuike Y, Nanami M, Yasuoka Y, Otaki Y, Tanoue A, Kawahara K, Tomita K, Nakanishi T, Nonoguchi H. Mechanisms of Type 4 (hyperkalemic) Renal Tubular Acidosis. 43rd Annual Meeting of the American Society of Nephrology, 2010 Nov 16-21, Denver, USA.
 6. Yasuoka Y, Kobayashi M, Sato Y, Nonoguchi H, Tanoue A, Kawahara K. Dislocation of Mouse Collecting Duct Aquaporin-2 by Metabolic Acidosis: Role of Vasopressin V1a Receptor. 43rd Annual Meeting of the American Society of Nephrology, 2010 Nov 16-21, Denver, USA.
 7. 堀加穂理、永井孝憲、泉裕一郎、蓮池由紀子、小瀧慶長、倉賀野隆裕、田上昭人、河原克雅、富田公男、中西健、野々口博史。アルドステロンによる酸・塩基平衡においてバソプレシンV1a受容体は必須である 第53回日本腎臓学会学術総会、神戸、2010/06/16-18
 8. 安岡有紀子、野々口博史、河原克雅。水チャネルAQP2の腎集合管細胞内局在におけるアシドーシスの影響とバソプレシンV1aRの役割。第53回日本腎臓学会学術総会、神戸 2010/06/16-18
 9. Izumi Y, Nakayama Y, Memetimin H, Inoue H, Kohda Y, Tomita K, Tanoue A, Nonoguchi H. Vasopressin V1a receptor deficient causes type 4 renal tubular acidosis. 42nd Annual Meeting of the American Society of Nephrology, 2009 Oct 27- Nov 1, San Diego, USA.
 10. Hori K, Kimura M, Izumi Y, Nakayama Y, Memetimin H, Kida A, Hasuike Y, Otaki Y, Tomita K, Tanoue A, Nakanishi T, Nonoguchi H. Regulation of aldosterone action by vasopressin V1a receptor in the intercalated cell. 42nd Annual Meeting of the American Society of Nephrology, 2009 Oct 27- Nov 1, San Diego, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野々口 博史 (NONOGUCHI HIROSHI)
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30218341

(2) 研究分担者

中西 健 (NAKANISHI TAKESHI)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：70217769

(3) 連携研究者

富田 公夫 (TOMITA KIMIO)
熊本大学大学院・生命科学研究部・教授
研究者番号：40114772

河原 克雅 (KAWAHARA KASTUMASA)
北里大学・医学部・教授
研究者番号：70134525

中山 裕史 (NAKAYAMA YUSHI)
熊本大学大学院・生命科学研究部・講師
研究者番号：003635312