

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460919

研究課題名(和文) 高血圧症における鉄の関与と新規予防戦略の開発

研究課題名(英文) Iron is associated with the development of hypertension

研究代表者

内藤 由朗(Naito, Yoshiro)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：10446049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：鉄は生命にとって必須な微量元素であるが、鉄過剰は酸化ストレスの原因となる。本研究では高血圧症の病態を鉄過剰の観点から検討した。高血圧症モデル動物を用いた検討より、食事性鉄制限を行うとこれら高血圧モデル動物の血圧上昇が抑制されることが示され、その分子機構には、高血圧性障害臓器における細胞内鉄取り込み受容体の関与が示された。また、高血圧症患者に対して食事性鉄制限の有効性を検討したところ、3カ月間で血圧の有意な低下は認められなかったが、血管内皮機能の改善が認められた。

研究成果の概要(英文)：Iron is an essential element for life, while excessive iron contributes to increase the oxidative stress. We investigate the impacts of dietary iron restriction on the development of hypertension in experimental and clinical studies. Dietary iron restriction attenuated the development of hypertension in experimental hypertensive animals. The cellular iron import protein transferrin receptor 1 was increased in hypertensive damaged tissues (i.e. aorta, kidney). Although 3 months of dietary iron restriction did not significantly decrease blood pressure, iron restriction decreased cardio ankle vascular index in patients with essential hypertension.

研究分野：高血圧

キーワード：高血圧 鉄 慢性腎臓病 肺高血圧症 内科学

1. 研究開始当初の背景

鉄は生命にとって必須な微量元素であるが、鉄過剰は酸化ストレスの原因となり、慢性的な鉄過剰状態は循環器疾患・動脈硬化の原因にもなる。我々は、これまでに食塩感受性高血圧、慢性腎臓病の病態形成における鉄の関与を明らかにし、鉄制限による病態抑制効果を示してきた(Naito Y and Masuyama T, et al. *Hypertension*. 57: 497-504, 2011、Naito Y and Masuyama T, et al. *Journal of Hypertension*. 30: 2192-2201, 2012)。

一方、肺高血圧症はいくつかの新薬により治療成績が向上してきているが、その本態は原因不明であり生命予後は未だ不良である。最近、肺高血圧症患者における鉄欠乏の合併、鉄欠乏が肺高血圧症患者の重症度や予後に関係することが欧米より報告されており、肺高血圧症と鉄の関係が注目されている。しかし、肺高血圧症病態形成における鉄の関与を検討した報告は国内外において未だ存在しない。

2. 研究の目的

我々は研究を進めている中で、血管における細胞内鉄取り込み受容体 トランスフェリン受容体 1 (TfR1) が高血圧性動脈リモデリングの病態形成に関与することを見出した。本研究では、高血圧症における鉄の関与、血管における TfR1 の役割、及び鉄制限の効果を基礎実験よりさらに検討し、高血圧症の予防法として鉄制限療法について臨床応用へと展開し、高血圧症の予防・治療に貢献するための研究基盤を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、高血圧症の病態形成における鉄の関与と高血圧症に対する鉄制限の効果について、高血圧症モデル動物および肺高血圧症モデル動物を用いた実験より検討し、血管における TfR1 が高血圧性動脈リモデリングの病態形成に関与するかどうかを、ノックアウトマウスを用いた実験より検討する。さらに、高血圧症患者における鉄制限療法と血圧の関連について、臨床研究を行う。

(1) 高血圧症モデル動物を用いた検討

高血圧症モデルは、高血圧症モデルとして確立されている脳卒中易発症系自然発症高血圧ラット (Stroke Prone Spontaneously Hypertensive Rat: SHR-SP) を用いて高血圧症における鉄の関与と鉄制限の効果を検討する。SHR-SP は、遺伝的に高血圧症、脳血管障害を発症し、高血圧進展に伴う心血管系疾患の病態モデルとして頻用されており、このラットを用いてこれまでに多くの研究・論文発表がなされている。この高血圧症モデル動物を用い、重度高血圧の病態形成における鉄の関与と鉄制限の効果を検討する。具体的には、このラットに食事性鉄制限をおこない、鉄制限に伴う病態変化・生命予後を解析し、重度高血圧病態形成における鉄の関与および鉄制限の効果を検討する。

さらに、異なる高血圧症モデル動物である片腎摘出、高食塩、昇圧ホルモン アルドステロン負荷マウスでも、同様に食事性鉄制限をおこない、鉄制限に伴う病態変化を解析し、高血圧病態形成における鉄の関与および鉄制限の効果を検討する。

(2) 肺高血圧症モデル動物を用いた検討

10週齢雄性 Sprague-Dawley ラットにモノクロタリン (MCT) という肺動脈に障害を与

える薬剤を 60mg/kg 投与(皮下注射)し、肺高血圧症モデルを作成する。このラットに食事性鉄制限をおこない、鉄制限に伴う肺動脈および心機能の生理的变化・生命予後を解析し、肺高血圧症病態形成における鉄の関与および鉄制限の効果を検討する。

(3) TfR1 遺伝子ヘテロノックアウトマウスを用いた検討

全身の TfR1 遺伝子ホモノックアウトマウスは胎生期に貧血と中枢神経の異常のために死亡することが報告されているが、今回検討する TfR1 遺伝子ヘテロノックアウトマウスは生存可能である。このマウスを低酸素状態で飼育し、低酸素性肺高血圧モデルを作成する。野生型マウスと比較検討し、肺動脈リモデリングにおける TfR1 の役割を検討する。

(4) 高血圧症患者における鉄制限と血圧に関する検討

インフォームドコンセントにより同意の得られた高血圧症患者を対象に、減塩療法とともに食事性鉄制限と血圧の関連について検討する。

4. 研究成果

(1) 高血圧症モデル動物を用いた検討

高食塩食を負荷した SHR-SP は重度高血圧、高血圧性腎硬化症を呈し、8 週間の観察期間で生存率は 40% と低下した。さらに、高食塩食を負荷した SHR-SP 腎臓では細胞内鉄取り込みに関与する TfR1 および divalent metal transporter 1 発現が亢進し、尿細管では鉄が著明に沈着し、腎臓組織中鉄含有量が増加していた。しかしながら、これらの変化は食事性鉄制限で減弱することが確認された。さらに、食事性鉄制限を行うと、血圧上昇およ

び腎硬化所見が抑制され、生存率は 100% に改善した。さらに、異なる高血圧症モデル動物である片腎摘出、高食塩、昇圧ホルモン アルドステロン負荷マウスでも、同様に食事性鉄制限を行うと、血圧上昇および腎障害が抑制されることが明らかにされた。

(2) 肺高血圧症モデル動物を用いた検討

Sprague-Dawley ラットに MCT を投与したところ、4 週間後には肺動脈圧・右心室圧が上昇し右心室機能の低下を認めたが、食事性鉄制限をおこなうとそれらが抑制されることがわかった。組織学的検討では、MCT 投与肺高血圧症群では肺動脈血管平滑筋肥大を認めたが、食事性鉄制限をおこなうとその肥大が抑制された。さらに、MCT 投与 8 週後の生存率解析の結果、肺高血圧症群は右心不全を呈し生存率は 50% に低下したが、鉄制限群では 80% と改善することがわかった。

次に、肺高血圧症病態形成における鉄の関与を検討するために、細胞内への鉄取り込みに重要な役割を担う TfR1 について検討したところ、MCT 投与肺高血圧症モデル肺動脈における TfR1 発現は亢進していることが明らかにされた。

(3) TfR1 遺伝子ヘテロノックアウトマウスを用いた検討

マウスを低酸素状態で 4 週間飼育すると、低酸素性肺高血圧を呈し、肺動脈リモデリングが観察される。TfR1 遺伝子ヘテロノックアウトマウスは、野生型マウスと同様に低酸素性肺高血圧を呈し、肺動脈リモデリングを認めたが、その程度は野生型マウスに比べ TfR1 遺伝子ヘテロノックアウトマウスで減弱していた。以上より、肺動脈リモデリング形成過程における TfR1 の関与が示された。

(4) 高血圧症患者における鉄制限と血圧に関する検討

インフォームドコンセントにより同意の得られた高血圧症患者3例で検討したところ、食事性鉄制限開始3か月後、早朝血圧は低下傾向にあったが、夜間血圧は変化しなかった。一方、食事性鉄制限開始3か月後、Cardio Ankle Vascular Index (CAVI)値は、全例で低下した。

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9件)

1. Naito Y, Hosokawa M, Sawada H, Oboshi M, Hirotani S, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Nishimura K, Soyama Y, Fujii K, Mano T, Ishihara M, Tsujino T, Masuyama T. Transferrin receptor 1 in chronic hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling. *Am J Hypertens*. 29: 713-718, 2016. 査読有
2. Oboshi M, Naito Y, Sawada H, Ando T, Iwasaku T, Eguchi A, Okuhara Y, Nishimura K, Soyama Y, Fujii K, Hirotani S, Mano T, Ishihara M, Masuyama T. Experience of dietary iron intake restriction in patients with essential hypertension. *Int J Cardiol*. 206: 154-6, 2016. 査読有
3. Eguchi A, Naito Y, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Sawada H, Nishimura K, Oboshi M, Fujii K, Mano T, Masuyama T, Hirotani S. Association of dietary iron restriction with left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Heart Vessels*. 31: 222-229, 2016. 査読有
4. Sawada H, Hao H, Naito Y, Oboshi M, Hirotani S, Mitsuno M, Miyamoto Y, Hirota S, Masuyama T. Aortic Iron Overload With Oxidative Stress and Inflammation in Human and Murine Abdominal Aortic Aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 35: 1507-1514, 2015. 査読有
5. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotani S, Mano T, Tsujino T, Masuyama T. Cardiac remodeling in response to chronic iron deficiency: role of the erythropoietin receptor. *J Hypertens*. 33: 1267-1275, 2015. 査読有
6. Sawada H, Naito Y, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotani S, Masuyama T. Iron restriction inhibits renal injury in aldosterone/salt-induced hypertensive mice. *Hypertens Res*. 38: 317-322, 2015. 査読有
7. Oboshi M, Naito Y, Sawada H, Hirotani S, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Nishimura K, Fujii K, Mano T, Ishihara M, Masuyama T. Temporary dietary iron restriction affects the process of thrombus resolution in a rat model of deep vein thrombosis. *PLoS One*. 10: e0126611, 2015. 査読有

8. Naito Y, Hosokawa M, Hao H, Sawada H, Hirotani S, Iwasaku T, Okuhara Y, Eguchi A, Hirota S, Ohyanagi M, Tsujino T, Masuyama T. Impact of dietary iron restriction on the development of monocrotaline-induced pulmonary vascular remodeling and right ventricular failure in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 436: 145-151, 2013. 査読有
9. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Fujii A, Hirotani S, Iwasaku T, Okuhara Y, Eguchi A, Morisawa D, Ohyanagi M, Tsujino T, Masuyama T. Increased Renal Iron Accumulation in Hypertensive Nephropathy of Salt-Loaded Hypertensive Rats. *PLoS One*. 8: e75906, 2013. 査読有

〔学会発表〕(計 12 件)

1. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Eguchi A, Nishimura K, Soyama Y, Hirotani S, Mano T, Ishihara M, Masuyama T. A Cellular Iron Transporter in the Development of Pulmonary Vascular Remodeling. 第 80 回日本循環器学会学術集会, 仙台国際センター, 宮城県, 仙台市, 2016.3.18-20.
2. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Masuyama T. Role of transferrin receptor 1 in pulmonary arterial hypertension. CVMW2015 心血管代謝週間 (第 32 回国際心臓研究学会日本部会), 神戸国際会議場, 兵庫県, 神戸市, 2015.12.10-2, 神戸.
3. 内藤由朗, 澤田 悠, 大星 真貴子, 辻野 健, 増山 理. 高血圧における腎臓内鉄代謝異常. 第 38 回日本高血圧学会総会, ひめぎんホール, 愛媛県, 松山市, 2015.10.9-11.
4. 大星 真貴子, 内藤 由朗, 澤田 悠, 岩破 俊博, 奥原 祥貴, 森澤 大祐, 江口 明世, 西村 晃一, 廣谷 信一, 真野 敏昭, 石原 正治, 増山 理. 食事性鉄制限を試みた本態性高血圧症の一例. 第 63 回日本心臓病学会学術集会, パシフィコ横浜国際会議場, 神奈川県, 横浜市, 2015.9.18-20.
5. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Masuyama T. Possible Role of Duodenal Iron Transporters in the Development of Cardiorenal Anemia Syndrome. 第 79 回日本循環器学会総会・学術集会 (招待講演), 大阪国際会議場, 大阪府, 大阪市, 2015.4.24-27.
6. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Aya F, Hosokawa M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotani S, Mano T, Tsujino T, Masuyama T. Iron Restricted Pair Feeding Attenuates Hypertension and Renal Damage in a Rat Model of Chronic Kidney Disease. American Heart Association Scientific Sessions 2014, Chicago, USA, 2014.11.15-19.
7. 大星 真貴子, 内藤 由朗, 澤田 悠, 岩破 俊博, 奥原 祥貴, 森澤 大祐, 江口 明世, 廣谷 信一, 真野 敏昭, 辻野 健,

- 増山 理. 食事性鉄制限は腎血管性高血圧モデルにおける腎障害を抑制する. 第37回日本高血圧学会総会, パシフィコ横浜, 神奈川県, 横浜市, 2014.10.17-19.
8. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsani S, Tsujino T, Masuyama T. Iron in the Development of Hypertensive Nephropathy. Joint meeting European Society Hypertension/ International Society Hypertension-Hypertension, Athens, Greece, 2014.2014,6.13-16.
9. Naito Y, Hosokawa M, Hao H, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsani S, Masuyama T. Effect of Iron Restriction on Monocrotaline-Induced Pulmonary Vascular Remodeling in Rats. Joint meeting European Society Hypertension/ International Society Hypertension-Hypertension, Athens, Greece, 2014.2014,6.13-16.
10. Naito Y, Hosokawa M, Hao H, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsani S, Tsujino T, Masuyama T. Effects of Iron Restriction on Monocrotaline-Induced Pulmonary Vascular Remodeling. American College of Cardiology 63rd Annual Scientific Session 2014, Washington DC, USA 2014.3.29-31.
11. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Fujii A, Hosokawa M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsani S, Tsujino T, Masuyama T. Renal Iron Accumulation in Hypertensive Nephropathy of Salt-Loaded Hypertensive Rats. 第78回日本循環器学会学術集会, 東京国際フォーラム, 東京都, 2014.3.21-3.
12. Sawada H, Naito Y, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsani S, Tsujino T, Ohyanagi M, Masuyama T. Dietary iron restriction attenuates hypertension and renal injury in aldosterone/salt-induced hypertensive mice. American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dallas, USA, 2013.11.16-20.
- 〔図書〕(計2件)
1. 内藤 由朗, 増山 理. 高血圧関連疾患と鉄. 循環器内科:科学評論社、東京: 592-601, 2014.
2. 増山 理, 内藤 由朗. 栄養素から考える心血管病 序文. 循環器内科:科学評論社、東京: 549, 2014.
6. 研究組織
(1) 研究代表者
内藤 由朗 (NAITO, Yoshiro)
兵庫医科大学・医学部・講師
研究者番号: 10446049
- (2) 研究分担者
増山 理 (MASUYAMA, Tohru)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号: 70273670