

## 生活習慣病の病態におけるアルドステロン／鉱質コルチコイド受容体活性化機構の解明

Activation mechanisms of the aldosterone /mineralocorticoid receptor system in metabolic syndrome

藤田 敏郎 (FUJITA TOSHIRO)

東京大学・先端科学技術研究センター・特任教授



### 研究の概要

『Rac1によるMR活性化』というカスケードが食塩感受性高血圧やメタボリックシンドロームの臓器合併症の病態へ関与する可能性を探り、Rac阻害薬の臓器保護効果を検討する。細胞特異的遺伝子改変動物を作製し、細胞毎のRac1-MR系の機能的役割を実証する。臓器のRac活性、MR活性の診断法、新規治療薬を開発する。臨床研究にて本系のヒトにおける意義を検証する。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：腎臓病学、内分泌学

### 1. 研究開始当初の背景

アルドステロン／鉱質コルチコイド受容体(MR)は腎臓での塩分の再吸収を司る系で、塩分の少ない環境で生命を維持する手段として重要な役割を果たしてきた。ところが近年、塩分の取り過ぎや過食といった生活習慣の変化に伴い、アルドステロン／MR系の過剰な活性化による高血圧や心血管病、慢性腎臓病(CKD)が問題化するようになった。我々はメタボリックシンドロームモデル動物を用いて、脂肪細胞より分泌される未知の因子(aldosterone-releasing factors: ARF)がアルドステロン過剰、標的臓器のMR活性化、ひいては臓器障害をもたらすこと、肥満に塩分過剰が加わるとMR活性化が増強し、著しい心腎障害が生じることを示した。さらに新たなMR活性化因子として低分子量G蛋白Rac1を同定し、Rac1がアルドステロン非依存性にMRを活性化し腎障害を引き起こすこと、Rac阻害薬が腎保護薬として有望であることを世界に先駆けて報告した(Nature Medicine 14:1370,2008)。

### 2. 研究の目的

本研究では『Rac1とMRのクロストーク』に焦点をあて、分子細胞生物学的・発生工学的的手法など多角的アプローチでメタボリックシンドロームに伴う臓器障害のメカニズムを解明するとともに、ヒトにおけるRac1・MR活性化の意義の検証、新規診断法・治療薬の開発を目指したトランスレーショナル

リサーチを推進することを目的とする。

### 3. 研究の方法

- (1) Dahl食塩感受性高血圧ラット(Dahl-S)、つくば高血圧マウス、幼若期ないし成熟期Dahlラット、片腎摘ラットに食塩を負荷し、食塩感受性、血圧、腎障害、Rac1・MR活性、副腎摘出とアルドステロン補充の影響、Rac阻害薬やMR拮抗薬の効果を検討する。
- (2) 臓器・細胞特異的Rac1トランスジェニック・ノックアウトマウスを作製し、当該細胞におけるRac1活性化とMRカスケード・臓器障害の関係を検証する。
- (3) 酸化ストレスが心筋障害を惹起する過程に『Rac1とMRのクロストーク』関与するか否か、新規MR活性化機構があるか調べる。
- (4) 脂肪細胞由来アルドステロン分泌刺激因子ARFを同定する。
- (5) 臓器Rac1活性、MR活性を反映するバイオマーカーを血液、尿サンプルより探索する。
- (6) 新規治療薬(Rac、ARFに対する阻害薬)の開発を進める。
- (7) 多施設共同、二重盲検、プラセボ対照、無作為化臨床試験にてMR拮抗薬の腎保護効果に関する日本人のエビデンスを蓄積する。

### 4. これまでの成果

『Rac1によるMR活性化』機構が実際にDahl食塩感受性高血圧、アンジオテンシン

IIが過剰産生されるつくば高血圧マウスの食塩感受性腎障害などの病態に密接に関係し、Rac 阻害薬、MR 拮抗薬がいずれもの臓器保護効果を示すことが実証され、本系をターゲットとする新規治療法開発の基盤研究として大きく前進したといえる。肥満糖尿病マウスの腎障害、酸化ストレスによる心拡張機能障害における関与も示されている。

心筋特異的 Rac1 KO マウスホモは胎生致死であったが、ヘテロマウスでは TAC による圧負荷心障害が野生型に比し有意に軽微であった。TAC により Rac1-MR 系の活性化が生じ、Rac 阻害薬、MR 拮抗薬の有用性も示された。すなわち、Rac1-MR 系は腎臓病のみならず、心筋障害メカニズムにも重要な役割を果たしていると考えられた。

酸化ストレスによる心障害にも Rac1-MR 系が関与することが示されたが、酸化ストレス存在下では MR が従来のホルモン応答配列を介さない、転写因子ネットワークを介する新たなエピジェネティック制御機構が存在することも明らかになってきている。

食塩感受性高血圧には腎交感神経活性化も重要である。ノルアドレナリン投与マウスは食塩感受性高血圧を呈するが、ノルアドレナリンが遠位尿細管の B2 受容体に作用して WNK4 の転写を抑制し、NCC 活性亢進、Na 貯留、血圧上昇を引き起こす機序を明らかにした。さらにこの過程にグルココルチコイド受容体(GR)、ヒストンのアセチル化といったエピジェネティック機構が関与することが示された。

チアゾリジン誘導体は核内受容体のひとつ PPAR $\gamma$  に結合し、代謝関連遺伝子の転写を調節してインスリン作用を増強させ、生活習慣病の治療にしばしば用いられる。副作用として体液貯留を伴う浮腫が知られており、腎遠位尿細管 Na 輸送体遺伝子の発現誘導によると考えられてきた。今回、近位尿細管では遠位尿細管と異なり、PPAR $\gamma$  に結合したチアゾリジン誘導体が遺伝子転写の調節を介さずに非ゲノム作用により速やかに Na 再吸収を亢進させることを発見した。このように生活習慣病の治療に MR, GR, PPAR $\gamma$  といった核内受容体が重要な治療標的となっており、創薬のターゲットとしても注目される。

日本人の成人発症ネフローゼ症候群の関連遺伝子を見いだすため、ゲノムワイド SNP 関連解析を行い、GPC5(パラノ硫酸プロテオグリカン的一种)遺伝子が発症促進遺伝子であること、GPC5 は糸球体ポドサイトで発現し、濾過装置の構造維持に関与していることを明らかにした。

## 5. 今後の計画

後半の2年間では細胞特異的 Rac1 KO マウスの表現型の解析、ARF の同定、臓器 Rac1 活性、MR 活性の診断法や新規阻害薬の開発

に特に力を注ぐ。さらにこれまでの研究計画に加え、MR のエピジェネティック制御機構に関する研究を展開させていきたい。

## 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Shibata S, Ando K, Nagase M, Fujita T et al. Rac1 GTPase in rodent kidneys is essential for salt-sensitive hypertension via a mineralocorticoid receptor-dependent pathway. *J Clin Invest* 121:3233-3243, 2011.
- Mu SY, Tanaka H, Fujita T et al. Epigenetic modulation of the renal  $\beta$ -adrenergic-WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. *Nat Med* 17:573-580, 2011.
- Okamoto K, Fujita T et al. Glypican 5 predisposes podocytes to nephrotic proteinuria. *Nat Genet* 43:459-463, 2011.
- Endo Y, Fujita T et al. Thiazolidinediones enhance sodium-coupled bicarbonate absorption from renal proximal tubules via PPAR $\gamma$ -dependent non-genomic signaling. *Cell Metab* 13:550-561, 2011.
- Fujita T. Mineralocorticoid receptors, salt-sensitive hypertension, and metabolic syndrome. *Hypertension* 55:813-8, 2010.
- Kawarazaki H, Ando K, Fujita T. Mineralocorticoid receptor activation contributes to salt-induced hypertension and renal injury in prepubertal Dahl salt-sensitive rats. *Nephrol Dial Transplant*. 25:2879-89, 2010.
- Kawarazaki H, Ando K, Fujita T. Mineralocorticoid receptor activation: a major contributor to salt-induced renal injury and hypertension in young rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 300:F1402-9, 2011.
- Nagase M, Fujita T. Oxidative stress causes mineralocorticoid receptor activation in rat cardiomyocytes: role of small GTPase Rac1. *Hypertension* 59:500-6, 2012.
- Kawarazaki W, Nagase M, Fujita T et al. Angiotensin II- and salt-induced kidney injury through Rac1-mediated mineralocorticoid receptor activation.. *J Am Soc Nephrol* (in press).
- 2009年 アメリカ心臓協会 (AHA) 高血圧部会より Arthur C. Corcoran Memorial Lecture 賞

ホームページ等

fujita-dis@h.u-tokyo.ac.jp