

Banyu Foundation Research Grant 2011—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	東京大学先端研臨床エビジェネテックス講座
氏 名	穆 勝宇
研究テーマ	食塩感受性高血圧の発症の機序:腎 β 2受容体-WNK4の役割とEpigenetic調節

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

高血圧症は心血管イベントの重要なリスクであり、降圧治療は心血管イベント抑制にきわめて有効であることが示されている。高血圧症の中でも、食塩摂取により血圧が上昇しやすい食塩感受性高血圧症は予後が不良であることが知られている。この食塩感受性高血圧症の発症には遺伝因子が関与することが知られている一方で、肥満や精神的ストレスにより食塩感受性が亢進することも報告されており、環境要因特に交感神経活動により食塩感受性は変化することが明らかになった。しかし、交感神経活動と食塩感受性発症の詳細なメカニズムは不明であった。一方、古くより食塩感受性には腎臓におけるナトリウム排泄機能の低下が重要な役割を果たすと考えられてきた。近年、WNK4が腎臓遠位尿細管でナトリウム再吸収にかかわるチャンネル(ENaC, NCC)を負に制御し、ナトリウム排泄能を低下させ、食塩感受性高血圧の発症にかかわる可能性が報告された。

我々In vivoの検討では野生型と β_1 受容体欠損マウスではイソプレテノールによる β 受容体刺激下で低食塩に比し高食塩食では血圧が上昇し、低食塩食あるいはサイアザイド利尿薬にてNCCを抑制すると血圧が低下した。同時に腎臓でのWNK4 mRNAの発現が低下し、NCC、ENaC、NCCのリン酸化が亢進した。このような変化は β_2 受容体欠損マウスでは認められなかった。また、食塩感受性モデルDahlラット並びに、内因性の交感神経が亢進する食塩感受性モデルであるDOCA食塩ラットでもWNK4 mRNAは低下したが、腎除神経により血圧およびWNK4発現が正常化した。さらに、PKA阻害剤ではWNK4 mRNAの発現抑制が解除され、反対にテオフィリンによりWNK4 mRNAの発現はさらに低下したことから β_2 受容体を介しPKAを介した経路がWNK4の転写に関与することが示唆された。腎臓内血流変化、レニンアンジオテンシン系の影響を排除する目的でin vitroの実験として遠位尿細管細胞のmDCT細胞を用いて検討した。mDCT細胞でも、イソプレテノールによりWNK4 mRNAの発現が低下し、ルシフェラーゼを用いたWNK4のプロモーターアッセイでも同様の結果が得られた。しかし、WNK4のプロモーター領域にはPKAにより転写が抑制される部位は無いことから、我々はWNK4の転写抑制メカニズムをエピジェネティック修飾に求めた。

β_2 受容体活性化によって、ヒストン3, 4のアセチル化が有意に増加した。この作用はcharcol処理した血清下でもヒストンのアセチル化には変化がなかった。しかし、charcol処理した血清ではイソプレテノールによるWNK4の転写は抑制されなかった。このことは血清中のステロイドが β_2 受容体によるWNK4抑制に関与することを示唆するものである。今回の検討ではRU486でイソプレテノールの作用が抑制されたことからWNK4がグルココルチコイドにより抑制されると考えた。実際WNK4のプロモーターにはGRにより抑制的に制御されるエレメントがあることがプロモーターアッセイで明らかにした。また、この部位を対象にしたクロマチン免疫沈降法でもイソプレテノールはグルココルチコイドの結合を増強させ、さらにWNK4を抑制することを明らかにした。この点をIn vivoで確認するために腎臓特異的グルココルチコイド受容体欠損マウスを用いて検討したところイソプレテノール及び食塩負荷による血圧上昇が認められなかった。

今回の検討から β_2 受容体刺激はヒストンのアセチル化を介してグルココルチコイド受容体とクロストークし、その作用を増強させた。その結果としてNCCを抑制する酵素WNK4が抑制されることでNCCが活性化し、食塩感受性高血圧を発症させる可能性示された。これらの研究からエピジェネティック修飾が食塩感受性高血圧の診断、治療の新しい標的になると考えられる。

Banyu Foundation Research Grant 2011—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所 属	東京大学先端研臨床エビジェネテックス講座
氏 名	穆 勝宇

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	<u>Mu S</u> , Shimosawa T, Ogura S, Wang H, Uetake Y, Kawakami-Mori F, Marumo T, Yatomi Y, Geller DS, Tanaka H, Fujita T. Epigenetic modulation of the renal β -adrenergic-WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. <i>Nat Med.</i> 17:573–580, 2011 査読あり
2	Shibata S*, <u>Mu S</u> *, Kawarazaki H*, Muraoka K, Ishizawa K, Yoshida S, Kawarazaki W, Takeuchi M, Ayusawa N, Miyoshi J, Takai Y, Ishikawa A, Shimosawa T, Ando K, Nagase M, Fujita T. (*equally contributor) Rac1 GTPase in rodent kidneys is essential for salt-sensitive hypertension via a mineralocorticoid receptor-dependent pathway. <i>J Clin Invest.</i> 121:3233-3243, 2011 査読あり
3	Mori-Kawakami F, Shimosawa T, Wang H, Ogura S, <u>Mu S</u> , Yatomi Y, Fujita T. NADPH oxidase-mediated Rac1 GTP activity is necessary for non-genomic actions of the mineralocorticoid receptor in the CA1 region of the rat hippocampus. <i>Am J Physiol Endoc Metab.</i> 302: E425-32, 2012 査読あり
4	Shimosawa T, <u>Mu S</u> , Shibata S, Fujita T. The Kidney and Hypertension: Pathogenesis of Salt-Sensitive Hypertension. <i>Curr Hypertens Rep.</i> 14: 468-472, 2012. 査読あり
5	Ogura S, Shimosawa T, Mu S, Sonobe T, Kawakami-Mori F, Wang H, Uetake Y, Yoshida K, Yatomi Y, Shirai M, Fujita T. Oxidative stress augments pulmonary hypertension in chronically hypoxic mice overexpressing the oxidized LDL receptor. <i>Am J Physiol Heart Circ Physiol.</i> 2013 Jul 15;305(2):H155-62. 査読あり
6	Jimbo R, Kawakami-Mori F, Mu S, Hirohama D, Majtan B, Shimizu Y, Yatomi Y, Fukumoto S, Fujita T, Shimosawa T. Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of Klotho deficiency. <i>Kidney Int.</i> 2013 Oct 2. [Epub ahead of print] 査読あり

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2011 Sep.	<u>Mu S</u> , Shimosawa T, Ogura S, Mori F, Wang H, Uetake Y, Fujita T. Sympathetic tone and salt-sensitive hypertension, involvement of WNKs. <i>High blood pressure research conference (HBPR2011)</i> Orlando
2	2011 Nov.	<u>Mu S</u> , Shimosawa T, Ogura S, Mori F, Wang H, Uetake Y, Saito R, Fujita T. Sympathetic tone and salt-sensitive hypertension, involvement of WNKs. <i>American Society of Nephrology (ASN kidney Week 2011)</i> Philadelphia,
3	2012 June.	<u>Mu S</u> , Matsui H, Wang H, Hirohama D, Tanaka H, Ando K, Shimosawa T, Fujita T. The interaction of ROS and MR develops cardiac diastolic dysfunction via NHE1 up-regulation. <i>38th Meeting of the International Aldosterone Conference (IAC 2012)</i> Houston,
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		