

論文の内容の要旨

論文題目 幼若期における食塩過剰と臓器障害・高血圧

指導教員 藤田敏郎教授

東京大学大学院医学系研究科

2006年4月1日 入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 河原崎宏雄

幼若期における過剰な食塩摂取はその後の血圧上昇に関連することが示唆されているが、その病態生理学的機序についての研究は少ない。本研究では、先天性ならびに後天性の食塩感受性ラットを用いて、これが幼若期における腎の食塩過剰状態に対する脆弱性による血圧の食塩感受性亢進に基づく可能性を、検討した。血漿アルドステロン高値が将来的な高血圧発症につながるという観察研究があることから、特にミネラルコルチコイド受容体(MR)の役割に注目した。

先天性の食塩感受性ラットとして Dahl 食塩感受性(SS)ラットを用いた。このモデルでは成人期に比べて幼若期からの食塩過剰摂取がより著明な血圧上昇を示すことは以前から報告されている。本研究でもそれをまず確かめるべく、幼若期(6週齢)および成人期(10週齢)の Dahl SS ラットに高食塩(8%NaCl)食負荷を10週間(それぞれ16週齢および20週齢まで)施したところ、成人期でも血圧は上昇するものの、幼若ラットでより著明な血圧上昇を認めた。また、成人期からの食塩負荷は尿蛋白の増加を認めないが、幼若期では著明な尿蛋白が出現した。腎組織を観察しても確かに幼若期食塩負荷 Dahl SS ラットの糸球体、尿細管・間質障害は悪化していた。以上の結果から、幼若期食塩負荷 Dahl SS ラット(HS 群)ではより顕著な食塩感受性高血圧と腎障害が出現することが示めされた。幼若期の過剰食塩摂取における MR 活性亢進の関与について検討するため、幼若期に一過性に(4~10週齢)MR 阻害薬エプレレノン(Ep)を食塩負荷 Dahl SS ラットに追加投与したところ、薬剤投与中のみならず薬剤投与終了後も軽度な降圧効果および著明な尿蛋白抑制効果を認めた。一方、幼若期に一過性に血管拡張性降圧剤ヒドララジン(Hyd)を追加投与した群では、薬剤投

与中は著明な降圧ならびに尿蛋白抑制効果を認めたが、薬剤を中止すると降圧及び尿蛋白抑制効果は消失し、HS 群と同程度になった。Hyd 群では薬剤投与中は終始正常食塩 (0.3%NaCl) 食を投与した群 (NS 群) や Ep 群と比べてもより低い血圧値を認めたにもかかわらず、薬剤中止後は効果が持続しなかったことから、幼若期の食塩負荷は血圧非依存性に高血圧、腎障害を惹起することが推測された。食塩負荷下の MR 活性亢進は炎症・酸化ストレスとの関与が報告されていることから、HS 群、Ep 群および Hyd 群での炎症・酸化ストレスについて検証した。HS 群では食塩負荷 4 週後、10 週後いずれの時点においても酸化ストレスマーカーである尿中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine が増加しており、Hyd 群では抑制効果を認めなかったものの、Ep 群では有意な抑制を認めた。また腎組織内の炎症細胞浸潤も HS 群で増加していたのに対して、Ep 群は薬剤投与中のみでなく中止後も抑制していた。Hyd 群は薬剤投与中には軽度抑制し、投与中止後は HS 群と同程度であった。さらには、薬剤投与中止後の Ep 群では HS 群で亢進していた腎臓内 TGF β 、PAI-1 発現に対して抑制もしくは抑制傾向にあったが、Hyd 群ではそのような影響はなかった。また、抗酸化薬テンポールを幼若期に一過性に投与したところ、薬剤投与中、中止後ともに軽度な降圧と著明な尿蛋白抑制を認め、腎臓内炎症細胞浸潤、TGF β 、PAI-1 発現も Ep 群同様に抑制された。以上より、先天性食塩感受性モデルを用いた実験では、幼若期の食塩過剰摂取による MR 活性亢進とそれに伴う炎症・酸化ストレス増高によって腎障害をきたし、高血圧が進展することが示唆された。

しかし、この現象が幼若期食塩過剰摂取において普遍的に認めうる現象であるかは先天性食塩感受性モデルを用いた検討のみからでは結論付けられない。そこで、私は後天性の食塩感受性モデルである食塩負荷片腎摘 (Nx) Sprague-Dawley (SD) ラットを用いた実験を行った。すなわち、幼若期 (3 週齢) に片腎摘して 4 週間食塩負荷を行うと著明な血圧上昇と尿蛋白が出現した。しかし、成人期 (10 週齢) 食塩負荷 Nx SD ラットではそのような血圧上昇と尿蛋白増加は認めなかった。幼若期の食塩過剰摂取 Nx ラットにおいてエプレレノン投与によって軽度の降圧を伴う著明な尿蛋白抑制効果が認められた。この幼若モデル動物においては、食塩過剰摂取で腎組織において MR 活性亢進を示唆する sgk1 発現の亢進や TGF β 、PAI-1、connective tissue growth factor (CTGF)、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) mRNA 発現をはじめとした炎症性マーカーの増加もしくは増加傾向、nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) 由来活性酸素種 (ROS) の増高が認められた。MR 拮抗薬エプレレノンや抗酸化剤テンポールによりこれらの所見の改善とともに腎障害抑制ならびに血圧上昇抑制作用を認めた。とくに腎障害の改善は劇的であった。さらに、腎臓内のレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAAS) 因子を検証したところ、興味深いことにこの食塩感受性高血圧モデルでも MR 活性を示唆する sgk1 に加えてアンジオテンシン変換酵素 (ACE)、

angiotensinogen といった RAAS 因子の発現の亢進ないしはその傾向を認めた。以前から臓器障害時の RAAS の悪循環は指摘されており、幼若期食塩負荷 Nx モデルにおいてもこの現象が発生していることが示唆された。興味深いことに軽度の血圧上昇のみを認め、尿蛋白の増加を認めなかった成人期食塩負荷 Nx ラットでは、このような所見は認めず、RAAS 亢進が幼若期における血圧ならびに臓器(腎)障害の食塩感受性の鍵となる特異的因子であるものと思われた。さらに、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) のオルメサルタンでも腎障害の改善を認めたが、オルメサルタンの作用はアルドステロン追加投与で消失したこと、また、アルドステロン合成阻害薬でも腎障害の著明な改善を認めることから、とくに RAAS のなかでも MR 活性亢進が重要な位置を占める可能性が高い。おそらく、RAAS の悪循環が生じるキーファクターはアルドステロン (MR 活性亢進) ではないかと推測される。さらに、エプレレノン、オルメサルタンといった RAAS 抑制薬の投与で、腎臓内 NADPH 由来 ROS の抑制に伴う腎障害改善を認め、抗酸化薬でも腎臓内 RAAS 因子発現抑制に伴う腎障害改善を認めた。このことから、酸化ストレスは RAAS の上流にも下流にも存在しえ、RAAS の悪循環に一役かっている可能性が、以前の報告と同様に本研究でも示唆された。

ここで、実験動物やヒトにおいても幼若期では成人期に比べて RAAS の亢進が認められており、本研究でも正常食塩群では幼若ラットのほうが血清アルドステロン値は高値を示した。高食塩負荷を行っても血清アルドステロン値は依然高値傾向であり、アルドステロンの不十分な抑制のため生じた相対的なアルドステロン過剰に基づく腎の脆弱性増大がこの幼若期における食塩感受性亢進の引き金になっている可能性がある。実際、アルドステロン合成阻害剤 FAD286 は顕著な腎障害の改善を認めた。しかし、相対的にアルドステロンが過剰とはいえず、低アルドステロン状態における MR 活性亢進に寄与する何らかの因子を考える必要がある。酸化ストレスなどによるアルドステロンを介さない MR 活性が推測されているが、その根拠には乏しい。一方、最近 Shibata, Nagase らは Rho ファミリーの Rac1 による MR 活性亢進に基づく腎機能障害の存在を報告している。Rho ファミリーとは、低分子量 G 蛋白質の一種で、主に細胞骨格の制御に関わり、代表的な Rho ファミリー分子として、RhoA、Rac1 などが知られている。その研究では同じ Rho ファミリーであっても RhoA は MR 活性への関与を示さなかった。本研究で用いた幼若期食塩負荷 Nx ラットでも Rac1 阻害薬特異的に (RhoA 阻害薬は無効であった) 著明な尿蛋白抑制効果に伴う高血圧抑制が認められた。つまり Rac1 は幼若期の食塩過剰摂取時の MR を介した腎障害における有望な一因子と推測され、今後研究の集積が期待される。

以上、本研究から先天性並びに後天性の食塩感受性ラットにおいて幼若期の腎障害ならびに血圧の食塩感受性亢進に腎 MR 活性亢進に基づく炎症・酸化ストレス増高が重要な枠割を果たしている可能性を示唆された。