

## 審査の結果の要旨

氏名 穆 勝宇

本研究は腎交感神経活動と食塩感受性発症の詳細なメカニズムを明らかにするため、動物モデルやマウス遠位尿細管細胞を用い、交感神経刺激による、遠位尿細管の塩分再吸収チャネル NCC ( $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  cotransporter) の活性化とそれともなうナトリウムの再吸収、循環血漿量の増加と血圧の上昇の関係を明らかにした。更に、交感神経刺激による、NCC チャネルが活性化されるメカニズムについて、遠位尿細管に局在する酵素 WNK4 の関与と WNK4 の転写調節の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

- 1、動物モデルで交感神経刺激による食塩感受性高血圧を発症した。野生型と $\beta_1$  受容体欠損マウスではイソプロテレノール(ISO)刺激下で低食塩に比し高食塩食では血圧が上昇し、低食塩食に戻すと血圧が低下した。同時に WNK4 の発現が低下し、NCC、ENaC のたんぱく量と NCC のリン酸化が亢進を確認した。このような変化は $\beta_2$  受容体欠損マウスでは認められなかった。一方 PKA 阻害剤では WNK4 の発現抑制が解除され、テオフィリンにより WNK4 の発現はさらに低下した。DOCA 食塩ラットでは WNK4 の発現が低下したが、腎交感神経により血圧および WNK4 発現が正常化した。
- 2、charcol 処理した血清では ISO 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 $\beta_2$  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 ISO の作用が抑制されたことから WNK4 が GR (glucocorticoid receptor) 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 (nGRE, negative GR responsive element) があることがプロモーターアッセイで明らかとなった。また、この部位を対象にした CHIP アッセイでも ISO は GR と nGRE の結合を増強させ、さらに WNK4 を抑制することが明らかになった。また腎臓での GR 欠損マウスでは ISO 及び食塩負荷による血圧上昇が認められなかった。
- 3、 $\beta_2$  受容体活性化によって、HDAC (Histone-deacetylase) 8 がリン酸化し、活性を抑制された。それで WNK4 プロモーター近傍のヒストン 3, 4 のアセチル化が有意に増加し、GR と nGRE の結合が増強するメカニズムを確認した。HDAC8 リン酸

化サイトの変異による、HDAC8 の活性、ヒストンのアセチル化、GR- rGRE 結合とWNK4 転写の改善を認めた。

- 4、食塩感受性モデル Dahl ラットと交感神経興奮モデル DOCA 食塩ラットを用いて、交感神経興奮と食塩感受性発症の関連をさらに証明した。腎切除神経したラットでは食塩負荷により血圧の上昇を認められなかった。

以上、本論文は $\beta 2$  受容体刺激が GR の作用をヒストン 3, 4 のアセチル化を介して増強させることで WNK4 の発現を抑制し、その結果として ENaC, NCC が亢進し食塩感受性を亢進させることを示した。本研究ではさらに $\beta 2$  受容体によるヒストンアセチル化のメカニズムを明らかにし、食塩感受性高血圧の新たなメカニズムを解明した。今回の検討から $\beta 2$  受容体刺激はヒストンのアセチル化を介して核内受容体の転写活性とクロストークし、その結果として食塩感受性高血圧を発症させる可能性示された。Epigenetic 変化が食塩感受性高血圧治療の新しい目標になると考えられ、学位授与に値するものと考えられる。