

第 37 回腎臓セミナー・Nexus Japan プロシーディング

大島賞受賞講演 1

腎臓におけるミネラルコルチコイド受容体の制御機構

Mechanism regulating mineralocorticoid receptor in the kidneys

柴田 茂

Shigeru SHIBATA

はじめに

ミネラルコルチコイド受容体(mineralocorticoid receptor: MR)は核内受容体に属し、さまざまな下流分子の転写を調節することで多彩な生理作用を発揮する。これまで MR 転写活性化のスイッチとしてはリガンドであるアルドステロンのみが注目されてきたが、近年の研究から、受容体レベルでのさまざまな制御機構の存在が明らかとなっている。

食塩感受性高血圧と MR シグナル活性化：低分子量 G 蛋白質 Rac1 の役割

食塩と血圧の関係は古くから知られているが、食塩負荷に伴う昇圧反応(食塩感受性)には個人差があり、食塩感受性が高い人ではさまざまな理由で腎臓の食塩排泄能が低下しているものと推測される。レニン・アンジオテンシン・アルドステロン(RAA)系は腎臓におけるNa-Clハンドリングの主要な調節機構であり、特にアルドステロンの生合成やMRの異常は血圧変動をきたす大きな要因である¹⁾。

アルドステロンはMRシグナルの活性化に中心的な役割を果たすが、臨床データからはアルドステロンとは独立にMRの機能を亢進させる機構の存在が示唆されてきた^{2,3)}。また、ほかの核内受容体に目を移せば、受容体レベルでのシグナル制御異常と代謝性疾患との関連が注目されている⁴⁾。われわれはリガンドとは独立にMRを制御する分子メカニズムについて探索を行い、低分子量G蛋白質Rac1にMRの転写活性化を増強する作用があることを見出した⁵⁾。

Rhoファミリーがアクチンの再構成を介して細胞骨格を制御することはよく知られているが、RhoファミリーのなかでもRac1に特徴的な作用として転写因子の核移行を制御する作用がある^{6,7)}。われわれの検討でも、*in vitro* および *in vivo* の両者において、Rac1はMRの核移行を促進させ、その結果、糸球体上皮細胞障害や腎機能の低下を加速させることが明らかとなった⁵⁾。

RAA系は食塩負荷により抑制されるが、Rac1-MR系は食塩によりどのように変化し、食塩感受性高血圧の病態にどう関与するのであろうか。食塩感受性の差異をきたすモデルとして、食塩感受性の高いDahl-Sラットと非感受性のDahl-Rラットがよく知られている。食塩感受性の差異の詳細な分子機構は明らかとなっていないが、少なくともアルドステロンの自律的分泌は認められず、Dahl-S、Dahl-Rともに食塩負荷によってアルドステロンは抑制される⁸⁾。ところがDahl-Sラットでは、Sgk1や上皮性ナトリウムチャネル(ENaC)といったMRの主要な下流分子の発現が増強していることも報告されている^{9,10)}。われわれの検討でも、Dahl-S、Dahl-Rともに食塩負荷によりアルドステロンは抑制されたものの、Dahl-SにおいてSgk1の発現は有意に増加しており、さらには腎臓における核内MR発現量の増加やMR阻害薬による顕著な降圧効果といった所見から、本モデルにおける奇異性のMRシグナル増強が裏付けられた¹¹⁾。対照的に、Dahl-Rではアルドステロンの低下とともにSgk1、核MRの抑制が認められた。

Dahl-SモデルでのMRシグナル亢進のメカニズムとして前述のRac1の関与を検討したところ、興味深いことにDahl-Rラットでは食塩負荷に伴いRac1活性が低下した一方、Dahl-Sラットでは逆に上昇していた。さらに、Rac1阻

害薬, MR拮抗薬を用いた介入検討により, Dahl-Sモデルの高血圧・腎障害におけるRac1-MR系の関与が確認された。

副腎摘出やアルドステロン補充によりRac1活性は変化することから, Rac1-MRとアルドステロン-MRは完全に独立した系ではなく, 相互に関連しているものと思われる。食塩がRac1を活性化する機構としてはRac-GEFであるTiam1の関与が示唆されたが, 詳細な機構は不明である。なお, 副腎摘出Dahl-Sに対するアルドステロン補充で高血圧, 腎障害は完全に再現されたことから, コルチコステロンをはじめとするほかの副腎由来ステロイドの関与は否定的と考えられる。

以上から示されるように, 食塩の過剰摂取はアルドステロンを抑制する一方, 食塩感受性高血圧の一群ではRac1を介してMRシグナルが増強され, 高血圧や腎障害を促進している可能性がある¹¹⁾。そのような病態でもMR拮抗薬には臓器保護効果が認められうる。2014年発表された二重盲検化臨床試験においてもMR拮抗薬の腎保護効果が示されているが, 興味深いことに, MR拮抗薬の有効性は血漿アルドステロンレベルよりもむしろ食塩摂取量と関連する¹²⁾。現在, CKDにおける適応拡大を目指したMR拮抗薬の開発が行われている¹³⁾。

接合尿細管—集合管における主要な膜輸送体と“aldosterone paradox”: DASH dietの保護効果との関連

野菜, 果物といったカリウムに富む食品(DASH diet)の血圧降下作用, 臓器保護効果は広く認知されているものの, そのメカニズムは十分に解明されていない。この保護効果と関連する生理現象として, “aldosterone paradox“と呼ばれる現象がある。体液量減少時にはRAA系が活性化されてアルドステロンが分泌されるが, その一方でカリウム負荷もアルドステロンの産生を促す。どちらも同じように副腎からのアルドステロン産生を促すわけだが, 腎臓は前者においては K^+ 喪失を最小化しつつNa-Cl再吸収を亢進させる一方, 後者では K^+ 分泌を最大化するように作用する。この“aldosterone paradox“の分子基盤として重要なのが, 遠位ネフロンにおける状況依存性の膜輸送体制御である。

アルドステロンはaldosterone-sensitive distal nephron (ASDN)に作用して食塩の再吸収を亢進させる。ASDNのなかで, 接合尿細管(CNT)から集合管(CD)にかけて存在

するのが主細胞(principal cell)と間在細胞(intercalated cell)である。この部位では Na^+ は主に主細胞のENaCにより再吸収され, K^+ はカリウムチャンネルROMKを介して分泌される。 Cl^- は傍細胞輸送(paracellular flux)と経細胞輸送(transcellular flux)を介して再吸収されるが¹⁴⁾, 後者の役割を担うのが間在細胞に存在するSLC26A4 (pendrin)である^{15~17)}。ヒトにおいて Na^+ イオンのみならず Cl^- イオンのハンドリングも血圧調節に重要であることは古くから認識されているが¹⁸⁾, pendrinの血圧制御分子としての役割はそれを裏付けるものである。

間在細胞に発現する H^+ -ATPaseも体液量の調節に関与する。 H^+ -ATPaseのB1サブユニット(ATP6V1B1)は遺伝性遠位尿細管アシドーシスの責任遺伝子であるが¹⁹⁾, 興味深いことに, そのモデルであるB1サブユニットのノックアウトマウス(*Atp6v1b1*^{-/-})ではアシドーシスに加えて体液量減少をきたすことが明らかにされている²⁰⁾。

既存のモデルで提示されている通り, 遠位尿細管におけるNa-Cl共輸送体(NCC)の活性化は相対的にENaCを介した Na^+ 再吸収を抑制し, CNT~CDにおける K^+ 分泌の低下に寄与すると考えられる。しかし逆に, CNT~CDにおけるENaCの活性化は尿細管腔の陰性荷電の形成を促し, K^+ 分泌と同時に Cl^- 再吸収も促進することから, この部位でのイオンハンドリングを最適化する何らかの局所メカニズムが存在するものと推定される。また前述のように体液量調節における間在細胞の重要性が認識され, さらには同細胞にMRが存在することなども明らかとなり²¹⁾, CNT~CDにおいてNa-Cl再吸収と K^+ 分泌のバランスが最適化されるメカニズムに多くの関心が集まることとなった。

間在細胞における細胞選択的なMR制御機構: Na-Cl再吸収 vs. K^+ 排泄のスイッチング

MRの局所調節機構の詳細を明らかにするため, われわれは質量分析装置を用いてMRのリン酸化サイトを網羅的に解析し, ヒトMRの全長にわたって存在する16のリン酸化サイトを同定した²²⁾。MRはアルドステロン, コルチゾルの両者と結合し, グルココルチコイド受容体(GR)はコルチゾルとのみ選択的に結合するが, どちらもancestral corticoid receptorと呼ばれる共通の祖先から生じたとされている。両者のリガンド選択性の違いはリガンド結合領域における2カ所の変異に由来しており, そのうちの一つがMRの843番目のセリンに相当する部位の, プロリンへの変異である²³⁾。興味深いことに, MRの16のリン酸化サイ

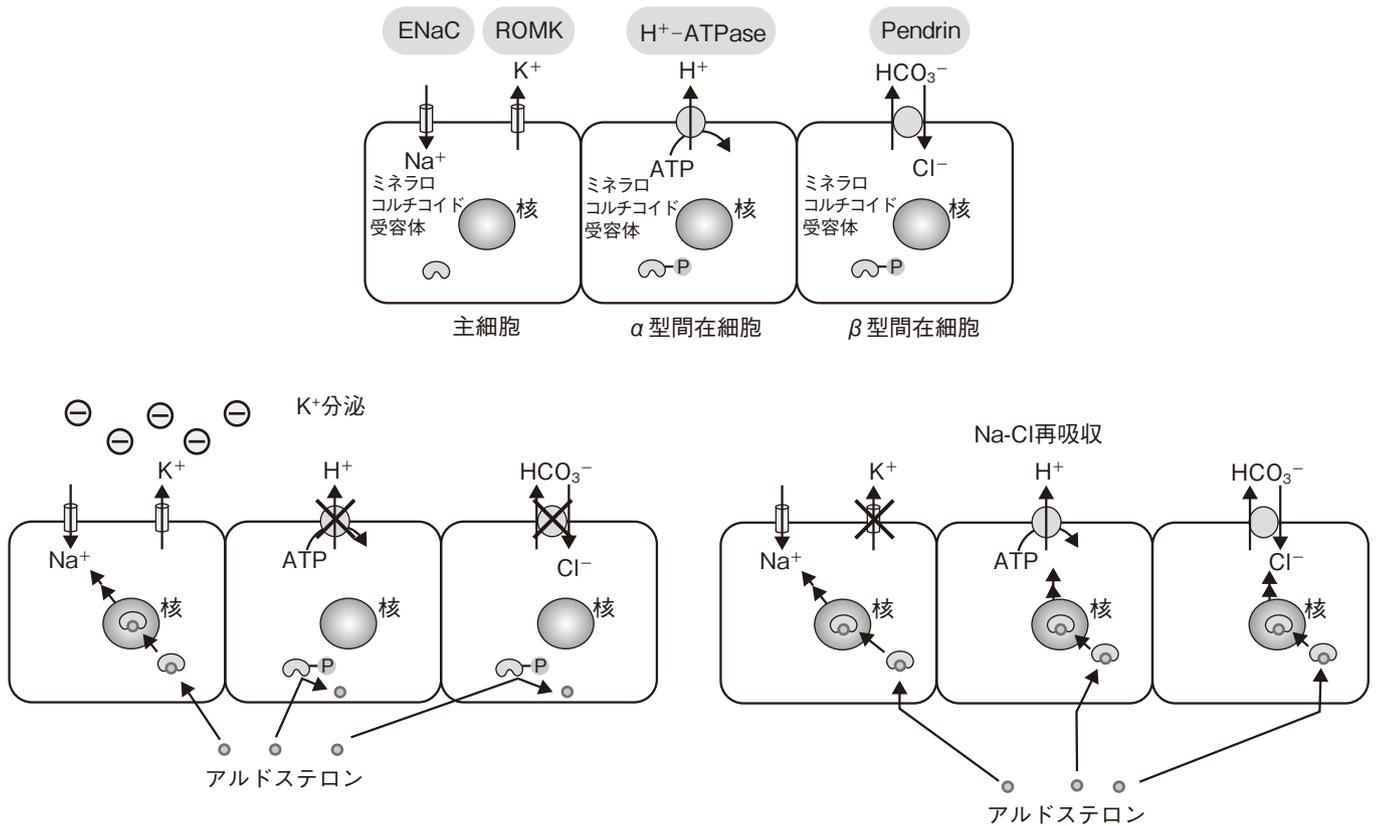


図 間在細胞のMRリン酸化とK⁺分泌, Na-Cl再吸収のスイッチング

トのうちの一つがS843であり, MRはこの部位でリン酸化を受けることにより, リガンド選択性に大きな変化をきたす可能性が考えられた。

事実, S843のリン酸化に伴ってMRとリガンドとの結合が高度に障害され, リン酸化MR(MR^{S843-P})は生理的な濃度のリガンド存在下においてもアポ体として細胞質にとどまり, 標的遺伝子の転写活性化を起こさないことがわかった。従来の核内受容体シグナル活性化のモデルでは, リガンドの増加に伴い核内受容体は常にホロ体を形成しシグナル活性化をきたすと考えられてきたが, 十分なリガンドと受容体の存在下でも, 両者の結合自体を制御する機構があることが明らかとなった。

*in vivo*の検討では, MR^{S843-P}は間在細胞の細胞質にのみ選択的に存在し, アルドステロンの分泌刺激であるアンジオテンシンIIとカリウム負荷とでリン酸化レベルが正反対に制御されることが判明した²²⁾。すなわち, アンジオテンシンII負荷によりMR^{S843-P}レベルは低下してMRは核内へ移行するが, 逆にカリウム負荷では高度にリン酸化が誘導され, アルドステロンの存在下でも細胞質にとどまる。また, MR^{S843-P}の下流分子としてはpendrin, ATP6V1B1(B1

H⁺-ATPase)といった膜輸送体の頂端膜発現が制御されていることも明らかとなった。これらのことを総合すると, カリウム負荷時にはMR^{S843-P}の誘導によって間在細胞のMRは抑制される。逆に, 体液量減少時には脱リン酸化によってリガンド結合能が回復し, 間在細胞のMRの活性化に伴ってNa-Cl輸送が可能となると考えられる(図)。

CNT～CDでは主細胞, α間在細胞, β間在細胞といった異なる機能を持つ細胞が共存しているが, それぞれの細胞の機能が状況に応じて適切に制御されることにより, 最適なNa⁺, Cl⁻, K⁺, H⁺イオンの再吸収・分泌のバランスが達成される¹⁴⁾。リン酸化による細胞選択的なMRの制御機構は, CNT～CDの最適な応答を誘導させるためのシステムの一つであり, 間在細胞の膜輸送体の活性を制御することで, Na-Clの再吸収を最大限に行いつつ, K⁺およびpHの変化を最小化しているものと考えられる。以上のわれわれのモデルからは, カリウムを摂取することによりCNT～CDにおけるK⁺排泄経路が活性化され, その結果として相対的に同部位のNa-Cl再吸収が抑制されることが, DASH dietの保護効果の一機序であるものと考えられる。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

1. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell* 2001 ; 104 : 545-556.
2. Pitt B, Reichek N, Willenbrock R, Zannad F, et al. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy : the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation* 2003 ; 108 : 1831-1838.
3. Quinkler M, Zehnder D, Eardley KS, Lепенies J, et al. Increased expression of mineralocorticoid effector mechanisms in kidney biopsies of patients with heavy proteinuria. *Circulation* 2005 ; 112 : 1435-1443.
4. Hollenberg AN. Metabolic health and nuclear-receptor sensitivity. *N Engl J Med* 2012 ; 366 : 1345-1347.
5. Shibata S, Nagase M, Yoshida S, Kawarazaki W, et al. Modification of mineralocorticoid receptor function by Rac1 GTPase : implication in proteinuric kidney disease. *Nat Med* 2008 ; 14 : 1370-1376.
6. Kawashima T, Bao YC, Nomura Y, Moon Y, et al. Rac1 and a GTPase-activating protein, MgcRacGAP, are required for nuclear translocation of STAT transcription factors. *J Cell Biol* 2006 ; 175 : 937-946.
7. Wu X, Tu X, Joeng KS, Hilton MJ, et al. Rac1 activation controls nuclear localization of beta-catenin during canonical Wnt signaling. *Cell* 2008 ; 133 : 340-353.
8. Rapp JP, Dahl LK. Suppression of aldosterone in salt susceptible and salt resistant rats. *Endocrinology* 1973 ; 92 : 1286-1289.
9. Farjah M, Roxas BP, Geenen DL, Danziger RS. Dietary salt regulates renal SGK1 abundance : relevance to salt sensitivity in the Dahl rat. *Hypertension* 2003 ; 41 : 874-878.
10. Kakizoe Y, Kitamura K, Ko T, Wakida N, et al. Aberrant ENaC activation in Dahl salt-sensitive rats. *J Hypertens* 2009 ; 27 : 1679-1689.
11. Shibata S, Mu S, Kawarazaki H, Muraoka K, et al. Rac1 GTPase in rodent kidneys is essential for salt-sensitive hypertension via a mineralocorticoid receptor-dependent pathway. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 3233-3243.
12. Ando K, Ohtsu H, Uchida S, Kaname S, et al. Anti-albuminuric effect of the aldosterone blocker eplerenone in non-diabetic hypertensive patients with albuminuria : a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014 ; 2 : 944-953.
13. Bakris GL, Agarwal R, Chan JC, Cooper ME, et al. Effect of finerenone on albuminuria in patients with diabetic nephropathy : a randomized clinical trial. *JAMA* 2015 ; 314 : 884-894.
14. Wall SM, Weinstein AM. Cortical distal nephron Cl(-) transport in volume homeostasis and blood pressure regulation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013 ; 305 : F427-438.
15. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, et al. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 4221-4226.
16. Jacques T, Picard N, Miller RL, Riemondy KA, et al. Overexpression of pendrin in intercalated cells produces chloride-sensitive hypertension. *J Am Soc Nephrol* 2013 ; 24 : 1104-1113.
17. Soleimani M, Barone S, Xu J, Shull GE, et al. Double knockout of pendrin and Na-Cl cotransporter (NCC) causes severe salt wasting, volume depletion, and renal failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 13368-13373.
18. Kurtz TW, Al-Bander HA, Morris RC, Jr. "Salt-sensitive" essential hypertension in men. Is the sodium ion alone important? *N Engl J Med* 1987 ; 317 : 1043-1048.
19. Karet FE, Finberg KE, Nelson RD, Nayir A, et al. Mutations in the gene encoding B1 subunit of H⁺-ATPase cause renal tubular acidosis with sensorineural deafness. *Nat Genet* 1999 ; 21 : 84-90.
20. Gueutin V, Vallet M, Jayat M, Peti-Peterdi J, et al. Renal beta-intercalated cells maintain body fluid and electrolyte balance. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 4219-4231.
21. Ackermann D, Gresko N, Carrel M, Loffing-Cueni D, et al. *In vivo* nuclear translocation of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in rat kidney : differential effect of corticosteroids along the distal tubule. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010 ; 299 : F1473-1485.
22. Shibata S, Rinehart J, Zhang J, Moeckel G, et al. Mineralocorticoid receptor phosphorylation regulates ligand binding and renal response to volume depletion and hyperkalemia. *Cell Metab* 2013 ; 18 : 660-671.
23. Ortlund EA, Bridgham JT, Redinbo MR, Thornton JW. Crystal structure of an ancient protein : evolution by conformational epistasis. *Science* 2007 ; 317 : 1544-1548.