

特集：腎臓学この一年の進歩

腎と高血圧

Kidney and hypertension

向山 政志 安達 政隆

Masashi MUKOYAMA and Masataka ADACHI

はじめに

腎臓が血圧を制御する重要な臓器であることは周知の事実であるが、近年の分子生物学およびゲノムワイド関連解析などの手法によって、その詳細な機序が解明されつつある。そこで、本稿ではこの1年における腎と高血圧の領域を振り返り、興味深い注目すべき研究のなかから、臨床研究の分野からは腎交感神経焼灼術、生体腎ドナーと妊娠高血圧症候群、HALT-PKD 試験、PATHWAY-2 試験を、基礎研究の分野からは WNK-SPAK-SLC12A カスケードと新規創薬、mTORC2 による上皮型 Na チャネルの制御、ATRAP と食塩感受性高血圧を取り上げ、これらの研究について私見を含めて概要を紹介する。

腎交感神経焼灼術

2014年4月、New England Journal of Medicine 誌に発表された Symplicity HTN-3 Study は腎交感神経焼灼術 (renal denervation : RDN) の sham 手技群を設定したランダム化比較試験として実施されたが、Symplicity HTN-1, 2 の報告と異なり、RDN 群に有意な降圧効果が認められなかったことは記憶に新しい¹⁾。試験登録により患者の服薬アドヒアランス向上を図り、また RDN 治療後の剖検例の病理組織の検討を行って、Symplicity カテーテル (4 電極) ではプローブから 2 mm 以内の範囲かつ 1/6 周程度は神経を壊死させているが、全周性には腎交感神経を焼灼できないことが確認された²⁾。

近年、多電極 (6 電極) バイポーラカテーテルである Vesix™ 腎デナベーションシステムを用いて、3 剤以上の降圧

薬を服用しているにもかかわらず収縮期血圧が 160 mmHg 以上の患者 146 例を対象に、前向き多施設共同 single-arm 試験が行われ、半年後の診察室および 24 時間自由行動下血圧が評価された。その結果、診察室血圧が $-24.7 \pm 22.1 / -10.3 \pm 12.7$ mmHg ($p < 0.0001$)、24 時間自由行動下血圧が $-8.4 \pm 14.4 / -5.9 \pm 9.1$ mmHg ($p < 0.0001$) と有意に低下したことが報告されている³⁾。現在、無作為化、sham コントロール、多施設共同第 2 相試験である REDUCE-HTN : REINFORCE 試験が開始されており、その登録が 2015 年 4 月から開始となっている。主要評価項目は無作為化後 8 週目における 24 時間血圧測定の変化であり、2016 年前半に結果発表予定となっている。今後、この領域における新しいデバイスの治療 (神経焼灼) 確実性と降圧に対する有効性が期待される。

生体腎ドナーと妊娠高血圧症候群

若年女性が生体腎ドナーとなることによって将来の妊娠にどのような影響を与えるか、妊娠高血圧または妊娠高血圧腎症との関連を調査した後ろ向きコホート研究の結果が 2015 年 1 月、New England Journal of Medicine 誌に発表された⁴⁾。この研究は、カナダ、オンタリオ州で 1992~2009 年に腎ドナーとなり 2013 年 3 月まで追跡された症例を対象として、生体腎ドナーになった女性 85 例 (コホート登録後の妊娠 131 件) を、一般集団の非ドナーの健常人女性 510 例 (コホート登録後の妊娠 788 件) と 1 : 6 の割合で、年齢、コホート登録の時期、居住地、収入、コホート登録前の妊娠回数、コホート登録後最初の妊娠までの期間についてマッチさせた。主要評価項目は妊娠高血圧または妊娠高血圧腎症とし、副次的評価項目を主要評価項目の各項目と母体および胎児の転帰とした。

追跡期間の中央値は10.9年で、妊娠高血圧または妊娠高血圧腎症は、生体腎ドナーのほうが非ドナーよりも有意に高頻度に認められ〔発生数：妊娠131件中15件(11%)対妊娠788件中38件(5%)、ドナーのodds比2.4, 95%信頼区間1.2~5.0, $p=0.01$ 〕、主要評価項目の各項目もドナーのほうが高頻度に認められた(妊娠高血圧のodds比2.5, 妊娠高血圧腎症のodds比2.4)。ドナーと非ドナー間で早産率(8% vs 7%)、低出生体重児の割合(6% vs 4%)に有意差は認められず、ドナーでの妊産婦死亡、死産、新生児死亡は報告されなかった。この研究の問題点としては、血圧や腎機能などのデータがなく、白人よりも黒人のほうが妊娠高血圧、妊娠高血圧腎症になりやすいとされているが、人種の情報が含まれていない点があげられる。また、日本では腎移植レシピエントの妊娠についての報告はあるが⁵⁾、ドナーの妊娠についての報告はなく、今後の研究に期待される。

常染色体優性多発性嚢胞腎とRA系のdual blockade

常染色体優性多発性嚢胞腎(ADPKD)患者では早期から高血圧を発症し、高血圧が末期腎不全への進行に関与していること、レニン・アンジオテンシン(RA)系が高血圧の発症や嚢胞の増大に関与していることが報告されている^{6~8)}。ADPKDに対してアンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACEI)単独投与の効果を検討したメタ解析の成績では、他の降圧薬投与群と比較してACEI投与群で有意の蛋白尿減少効果が示され、有意ではないが25%の腎機能障害進行抑制効果が認められた⁹⁾。厳格な降圧療法や強力なRA系抑制がADPKDの腎不全進行を抑制するかどうかを検討するため、RA系阻害薬の有効性が検討され、Halt Progression of Polycystic Kidney Disease(HALT-PKD)試験として2014年12月、New England Journal of Medicine誌に発表された¹⁰⁾。

HALT-PKD A試験は、eGFR 60 mL/分/1.73 m²以上の比較的腎機能が保持されている早期ADPKD患者558例を対象に、厳格な降圧療法およびRA系のdual blockadeの嚢胞増大抑制効果を検討し、HALT-PKD B試験は、eGFR 25~60 mL/分/1.73 m²と腎機能が低下したADPKD患者486例を対象とし、ACEI+プラセボ投与群とACEI+ARB投与群に割り付け、複合主要評価項目(死亡、末期腎不全、eGFRのベースラインからの50%の低下のいずれかが発生するまでの期間)に対する効果を検討した。

A試験では8年間の観察の結果、降圧目標を120/70 mmHgとより厳格に降圧された群では、130/80 mmHgの通常降圧群よりも年間の腎容積増大率が低かった(5.6% vs

6.6%, $p=0.006$)。しかし、eGFRの変化率には有意差を認めず、またACEI単独群とACEI+ARB併用群の差は明らかでなかった。

B試験では5~8年間の観察の結果、両群間に複合主要評価項目の有意差は認めず、eGFRの変化も有意差を認めなかった。このことから、厳格な降圧療法に腎機能低下抑制効果はなく、ACEI単独投与とACEI+ARBの併用療法にも治療効果に差がないことが示された。嚢胞増大の観点からは降圧目標を120/70 mmHgとより低くする必要があるが、eGFRの変化率には有意差を認めなかったことから、現時点では、多発性嚢胞腎の高血圧治療方針をCKD合併高血圧に準じるとしている高血圧治療ガイドライン2014に準拠してよいものと考えられる。

治療抵抗性高血圧に対するスピロノラクトンの有効性

治療抵抗性高血圧とは、3剤以上の降圧薬を使用しても血圧コントロールが不十分な場合と定義される。高血圧、糖尿病、慢性腎臓病、肥満に関連した臓器障害によって治療抵抗性高血圧が生じ^{11~13)}、降圧治療を受けている患者の少なくとも10%が治療抵抗性高血圧と推定されている¹⁴⁾。

国際的なガイドラインでは、3つの推奨降圧薬(ACEIまたはARB, Ca拮抗薬, サイアザイド系利尿薬)の最大耐用量による治療でも、目標血圧がコントロールできない場合を治療抵抗性高血圧と定義している。スピロノラクトンは治療抵抗性高血圧に有効であることがメタ解析で示されているが¹⁵⁾、他の薬剤と比較した試験はこれまで存在しなかった。そこで、治療抵抗性高血圧の多くは過剰なNa貯留によって発症し、スピロノラクトンは利尿薬以外の薬剤追加よりも難治性の降圧に有効であるとの仮説を検証するために、二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験であるPATHWAY-2試験が実施され、2015年9月、Lancet誌に発表された¹⁶⁾。

試験は2009年5月~2014年7月にかけて、RA系阻害薬, Ca拮抗薬, サイアザイド系利尿薬の3剤をいずれも最大耐用量で3カ月以上使用しているにもかかわらず、血圧コントロール不良(外来血圧:収縮期血圧140 mmHg以上、糖尿病では135 mmHg以上、家庭血圧:4日間の平均収縮期血圧130 mmHg以上)の患者314例(平均年齢61.4歳)を対象とした。登録患者のベースラインにおける平均血圧値は、家庭血圧が147.6/84.2 mmHg、外来血圧が157.0/90.0 mmHgであり、ベースラインの降圧薬に追加するかたち

で、スピロラクトン(25~50 mg), β 遮断薬のビソプロロール(5~10 mg), α 遮断薬のドキサゾシン(4~8 mg), プラセボをランダムに割り付け, それぞれ12週間ずつ投与した。主要評価項目はスピロラクトン使用期間とプラセボ使用期間の家庭収縮期血圧の差に設定し, 解析は intention-to-treat で行った。

プラセボと比較すると, スピロラクトンで家庭血圧の降圧差は -8.70 mmHg と有意に低下していた($p < 0.0001$)。スピロラクトンとドキサゾシンとの降圧差は -4.03 mmHg($p < 0.0001$), ビソプロロールとの降圧差は -4.48 mmHg($p < 0.0001$)と, スピロラクトンの優越性が示された。良好な血圧コントロール(家庭収縮期血圧 < 135 mmHg)と判断された患者の割合は, 全体 68.9%, スピロラクトン 58.0%, ビソプロロール 43.3%, ドキサゾシン 41.5% とスピロラクトンが最も多く, スピロラクトンが最も有効だった患者の割合は, ドキサゾシンまたはビソプロロールが最も有効だった患者の割合の3倍以上であった。基礎血漿レニン濃度と降圧効果の関係については, スピロラクトンで血漿レニン濃度と降圧度に逆相関を認め, レニン濃度低値群ではスピロラクトンの降圧作用がより高く, すなわち Na 貯留例においてスピロラクトンの降圧に対する有効性が示された。いずれの治療も忍容性は高く, 有害事象の発生率や治療中断率に差は認めなかった。症例の14%が糖尿病であったにもかかわらず, スピロラクトン投与中に血清 K 濃度が 6.0 mEq/L 以上となったのはわずか6例だった。

Na 貯留の原因として, ベースラインでの利尿薬投与量が少ない可能性やアルドステロン症患者が含まれている可能性があり, ベースラインの利尿薬の増量とスピロラクトンの直接比較が必要と思われる。また, 3カ月の短期間で効果を評価しているため, スピロラクトン長期投与の有効性と有害事象の評価も必要である。本試験は eGFR 45 mL/分/1.73m² 以上と慢性腎臓病ステージ G3a までが対象であるため, ステージ G3b より進行した腎機能低下患者への有効性は明らかでない。また, 白人を対象としているため, 他の人種で有効かも不明である。今回, 死亡率のデータもないため, 各薬剤の降圧による生命予後への評価についても今後の研究に期待される。

mTORC2 による上皮型 Na チャネルの制御

免疫抑制薬/抗腫瘍薬として知られるマクロライド系化合物ラパマイシンの細胞内標的蛋白として, 1991年, 酵母

から target of rapamycin(TOR)が同定され¹⁷⁾, 1994年には mammalian TOR(mTOR)が同定された¹⁸⁾。TORはPI3 kinase-related kinase ファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼであり, 分子量が 300 kDaの巨大蛋白である。ラパマイシンは単独でTOR活性を阻害するわけではなく, 細胞内でFKBP12(12-kDa FK506 binding protein)と結合し, FKBP12-ラパマイシン複合体がTORに結合することでTOR活性を阻害する。その後2002年に, TORが複合体を形成して細胞内で機能を発揮することが酵母と哺乳類で報告された^{19,20)}。この複合体は2種類存在し, TOR complex 1(TORC1)とTOR complex 2(TORC2)と呼ばれる。mTORC1は触媒サブユニットであるmTOR自身に加えて, Raptor(regulatory-associated protein of mTOR), mLST8, PRAS40(proline-rich Akt substrate 40 kDa), DEPTOR(DEP domain-containing mTOR-interacting protein)をサブユニットとして持つ。一方, mTORC2はmTORに加えて, Rictor(rapamycin-insensitive companion of mTOR), mSIN1, mLST8, Protor-1/2(protein observed with Rictor-1 and 2), DEPTORから成る²¹⁾。複合体構成要素として, 特にRaptorとRictorがそれぞれmTORC1とmTORC2を特徴づける因子として重要である。ラパマイシン-FKBP12複合体はmTORC1のみと結合し, mTORC2はRaptorを欠如しているため, ラパマイシンに非感受性である。近年, mTORの特異的酵素活性阻害薬(mTORキナーゼドメイン阻害薬)によってmTORC1とmTORC2を区別することが可能となった²²⁾。

上皮型 Na チャネル(epithelial sodium channel: ENaC)は α , β , γ の3つのサブユニットから構成され²³⁾, このチャネルの機能亢進型変異によってLiddle症候群として知られる常染色体優性の高血圧症を発症する。ENaCは主にアルドステロンによって制御され, アルドステロンにて集合管管腔側膜のENaC発現が増加し, この機序の一部にserum/glucocorticoid-regulated kinase1(SGK1)の関与が報告されている²⁴⁾。Neural precursor cell-expressed developmentally downregulated (gene 4) protein(Nedd4-2)はENaCのPYモチーフに結合してENaCをユビキチン化することにより, チャネル活性を抑制する。このNedd4-2のSer³²², Ser³²⁸がSGK1によりリン酸化を受け, 14-3-3蛋白がNedd4-2に結合し, その結果Nedd4-2とENaCの結合が阻害されユビキチン化されないために, 管腔側膜に発現するENaCが増加することが明らかにされた。SGK1はACGファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼであり, C末端側の疎水性モチーフ内のセリン残基S⁴²²がリン酸化され, 引き続いてスレオニン残基T²⁵⁶がリン酸化されると活性化する。

これまで皮質集合管細胞(mpkCCD細胞)におけるmTORキナーゼドメイン阻害薬PP242を使用した実験によって、mTORC2がSGK1の疎水性モチーフキナーゼであることが証明され、mTORC2阻害薬とノックダウンの成績から、mTORC2活性がENaC依存性のNa再吸収に必要であることが*in vitro*で実証された²⁵⁾。しかしながら、*in vivo*においてmTORC2がENaCを制御しているか不明であったため、マウスで詳細な検討がなされた²⁶⁾。

PP242をマウスに腹腔内投与すると、尿中Na排泄と尿中Na/K比が有意に増加し、PP242投与1時間後の腎臓においてmTORCの基質であるAkt, SGK1, RPS6のリン酸化が有意に抑制された。ラパマイシン投与ではこれらの変化を認めなかった。さらに、半減期の長いmTORC2阻害薬であるAZD8055の腹腔内投与で尿量、尿中Na排泄、尿中Na/K比が有意に増加し、腎でのAkt, SGK1のリン酸化が抑制された。

mTORC2の主要な標的であるSGK1はENaCだけでなく、Na-Cl共輸送体(NCC)の発現も増加させるため、マウスにENaC阻害薬のアミロライドとNCC阻害薬のヒドロクロロチアジド(HCTZ)を投与した状態でmTOR阻害薬PP242の効果を検討したところ、アミロライド投与時には尿量、尿中Na排泄の増加は認めなかったが、HCTZ投与時には尿量と尿中Na排泄の増加を認めた。このことから、mTORC2がENaCを制御し、Naバランスを調整していることが示唆された。ENaCを介したNa輸送におけるmTORの直接的な効果を検討するため、単離した皮質集合管において上皮間電位差を測定したところ、PP242添加時に管腔側のnegative PDが有意に減少した(-9.1 ± 2.8 mV \rightarrow -4.9 ± 1.3 mV)が、ラパマイシンでは変化がなかった。アミロライド添加時は電位が0になることより、管腔側のnegative PDはENaCによるものであることが理解され、以上のことから、mTORC2阻害によってENaCを介した上皮間Na輸送が阻害されることが明らかとなった。パッチクランプ法でもPP242がENaCを介したNa電流を抑制することを示し、PP242, AZD8055投与1時間後に腎でのNedd4-2のSer³²⁸のリン酸化が減少し、Total Nedd4-2蛋白が減少することも示された。

Sgk1^{-/-}マウスの検討では、PP242の腹腔内投与後、尿中Na, K, Cl排泄と尿中Na/K比が有意に増加した。WTマウスと対照的に、Sgk1^{-/-}マウスにおいてPP242投与で観察される尿電解質排泄パターンは、ENaCの選択的な抑制を反映していなかった。慢性的なSGK1の欠損によって、mTORに感受性のNa再吸収代償機転が活性化されている

可能性が示唆された。そこで、Sgk1^{-/-}マウスにアミロライドとHCTZを投与した状態でPP242の効果を検討したところ、アミロライド投与時には尿量や尿中Na排泄の増加は認めず、著明な高カリウム血症(10 mM以上)を発症した。HCTZ投与では尿中Na排泄の増加を認めた。以上のことから、mTORC2によるENaCの制御にSGK1が関与していることが明らかとなった。

mTORC2阻害の問題点として、著しい高血糖をきたすことがあげられ、利尿効果も尿糖による浸透圧利尿の影響を完全には否定できない。また、 α ENaCのcleavageには影響がなかったが、 γ ENaCのcleavageの検討はなされておらず、mTORCのENaCの活性化がSGK1/Nedd4-2系のみかは不明である。また、本研究では血圧の評価が行われておらず、mTORC2阻害が降圧効果をもたらすかどうかは不明であり、興味のあるところである。今後の詳細な検討を待ちたい。

WNK-SPAK-SLC12Aカスケードと新規降圧物質 SPAK阻害薬

偽性低アルドステロン症II型(PHA II)は高血圧、高カリウム血症、代謝性アシドーシスを特徴とする常染色体優性の遺伝性疾患であり、その原因遺伝子としてWNK1とWNK4が同定された²⁷⁾。その後の研究でoxidative stress-responsive gene 1(OSR1)とSte 20-related proline-alanine-rich kinase(SPAK)がWNK1とWNK4の基質であることが判明し^{28,29)}、さらにOSR1とSPAKがNCCをリン酸化して活性化することで高血圧を発症することが明らかとなった³⁰⁾。さらに、OSR1とSPAKはNCCだけではなく、Na⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送体type I(NKCC1)やtype II(NKCC2)のようなSLC12A輸送体もリン酸化することで活性化する³¹⁾。また、アンジオテンシンII(Ang II)は、オートファジーを介してE3ユビキチンリガーゼであるkelch-like protein 2(KLHL 2)を減少させるためWNK3が増加し、血管平滑筋に存在するSPAKとNKCC1がリン酸化される。その結果、細胞内Cl濃度が増加し、Ca感受性ClチャネルからのClの細胞外への流出が増加すると脱分極が起りやすくなり、電位依存性CaチャネルからCaが流入し、血管トーンが亢進して血圧が上昇することが示された^{32,33)}。以上のことから、WNK-SPAK-SLC12シグナルカスケードは腎臓や血管における血圧制御機構として重要であることが理解される。さらに、WNKシグナルはアルドステロン、Ang II、インスリンによって正の制御を受けており、高アルドステロン血症

や高インスリン血症に伴う高血圧発症に関与することも報告されている^{34~38)}。したがって、WNK キナーゼ以下の一連のシグナルカスケードの遮断は、NCC/NKCC1/NKCC2 といったすべての輸送体を抑制することができるため、食塩感受性高血圧に対する治療戦略となりうる事が期待される。

SPAK の C 末端ドメインは、WNK キナーゼおよび NCC などの SLC12A 輸送体内のいずれにも存在する特定のアミノ酸配列 (RFxVI/モチーフ) と高い親和性を持ち、直接結合できるため、この結合を阻害できれば、WNK キナーゼ以下のシグナルを遮断できる可能性が高くなる。そこで、蛍光相関分光法を用いた分子間結合反応を検出できる系が確立され、WNK-SPAK 結合を阻害する化合物がスクリーニングされた。約 1 万 7 千種類の低分子化合物スクリーニングの結果、いくつかの候補化合物が同定された³⁹⁾。

その一方で、NKCC2 の SPAK リン酸化部位の特異的抗体を利用した ELISA 法によるスクリーニング系が確立され、SPAK 活性を特異的に直接阻害する薬剤が約 2 万余りの低分子化合物ライブラリー、および既存薬物ライブラリーよりスクリーニングされた。その結果、SPAK 阻害作用を有する低分子化合物 Stock1S-14279 と、既存薬としてサリチルアニリド誘導体で抗寄生虫薬として家畜に利用されていた closantel が同定された⁴⁰⁾。これらの薬剤はマウス遠位尿細管細胞および血管平滑筋細胞において、低浸透圧刺激により活性化された WNK-SPAK-SLC12A 系を抑制することが明らかとなった。さらに、これらの薬剤を腹腔内投与したマウスにおいて、腎での NCC、大動脈での NKCC1 のリン酸化が減少し、降圧作用を有することも示された。Stock1S-14279 は生体毒性が強く、慢性投与が困難であること、closantel は効果発現のためには高用量を必要とし、安全性評価の必要性があり、現状での問題点もあるが、高血圧に対する新しい治療戦略として今後の研究の発展が強く期待される。

AT1 受容体結合因子と食塩感受性高血圧

AT1 受容体結合因子 (angiotensin II type 1 receptor-associated protein: ATRAP) は、AT1 受容体に結合する蛋白としてマウス腎 cDNA ライブラリーから yeast two-hybrid 法によってクローニングされた 160 アミノ酸から成る 18 kDa の蛋白である⁴¹⁾。ATRAP は、AT1 受容体の C 末端ドメインに結合することで AT1 受容体の internalization を促進し、細胞膜上の受容体発現を減少させる⁴²⁾。全身性 ATRAP 欠損マウ

スの成績では、Ang II の持続投与に反応して腎での α ENaC 発現増加を伴う Na 再吸収が亢進すること、大動脈における収縮反応が増強することにより、高血圧が増悪することが明らかとなった⁴³⁾。逆に、尿細管(遠位曲尿細管~皮質集合管) ATRAP 過剰発現マウスの検討において、Ang II 持続投与による NCC リン酸化と α ENaC 蛋白発現が抑制される結果、Na 貯留が改善し、高血圧発症が抑制されることも示され⁴⁴⁾、腎尿細管 ATRAP が過剰な食塩摂取による血圧制御に関与することが想定されていた。そこで、上述した ATRAP 尿細管過剰発現マウスにおいて、0.3% 正塩食と 4% 高塩食摂取の影響が検討された。野生型 C57BL/6J マウスと比較すると、ATRAP 過剰発現マウスでは尿中 Na 排泄の増加とともに血圧上昇の抑制を認めた。ATRAP 過剰発現マウスでは NCC のリン酸化や α , β , γ ENaC の蛋白発現には変化がなかったが、アミロライドに不応性であることより、ENaC の trafficking やチャネル活性といった翻訳後修飾に ATRAP が関与していることが推測された⁴⁵⁾。本研究では電気生理学的手法を用いた ATRAP の ENaC に対する直接作用の検討はなされていないため、Ang II-AT1R/ATRAP-ENaC 系の詳細な機序に関する検討が待たれる。しかしながら、ATRAP は食塩感受性高血圧発症において抑制的に作用することが示唆され、ATRAP をターゲットとした高血圧治療戦略の可能性があり、今後の研究の発展が期待される。

おわりに

腎と高血圧の領域において、この 1 年間の進歩のなかから興味深い研究を中心に概説した。臨床研究では、PATHWAY-2 試験が治療抵抗性高血圧の治療として日常診療に有用な研究であり、基礎研究では、いずれの研究も腎での Na 代謝制御にかかわる調節機構の解明という観点から、今後の高血圧治療の新たな戦略となりうる研究である。臨床応用のためにはいまだ問題点を有するが、今後の研究の更なる進展を期待したい。

利益相反自己申告：向山政志／第一三共(講演料, 奨学寄付金), 中外製薬(講演料, 奨学寄付金), 武田薬品工業(講演料, 奨学寄付金), 持田製薬(講演料), 日本ベーリンガーインゲルハイム(講演料), 協和発酵キリン(研究費・助成金, 奨学寄付金), バクスター(奨学寄付金), 大塚製薬(奨学寄付金), 帝人ファーマ(奨学寄付金)

文献

1. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, D'Agostino R, Flack JM,

- Katzen BT, Leon MB, Liu M, Mauri L, Negoita M, et al. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med* 2014 ; 370 (15) : 1393-1401.
2. Vink EE, Goldschmeding R, Vink A, Weggemans C, Bleijs RL, Blankestijn PJ. Limited destruction of renal nerves after catheter-based renal denervation : results of a human case study. *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 (8) : 1608-1610.
 3. Sievert H, Schofer J, Ormiston J, Hoppe UC, Meredith IT, Walters DL, Azizi M, Diaz-Cartelle J, Cohen-Mazor M. Renal denervation with a percutaneous bipolar radiofrequency balloon catheter in patients with resistant hypertension : 6-month results from the REDUCE-HTN clinical study. *EuroIntervention* 2015 ; 10 (10) : 1213-1220.
 4. Garg AX, Nevis IF, McArthur E, Sontrop JM, Koval JJ, Lam NN, Hildebrand AM, Reese PP, Storsley L, Gill JS, et al. Gestational hypertension and preeclampsia in living kidney donors. *N Engl J Med* 2015 ; 372 (2) : 124-133.
 5. Abe T, Ichimaru N, Okumi M, Imamura R, Isaka Y, Takahara S, Kokado Y, Okuyama A. Pregnancy after renal transplantation : a single-center experience. *Int J Urol* 2008 ; 15 (7) : 587-592.
 6. Schrier RW. Hypertension and autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2011 ; 57 (6) : 811-813.
 7. Orskov B, Sørensen VR, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S. Changes in causes of death and risk of cancer in Danish patients with autosomal dominant polycystic kidney disease and end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012 ; 27 (4) : 1607-1613.
 8. Chapman AB, Johnson A, Gabow PA, Schrier RW. The renin-angiotensin-aldosterone system and autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1990 ; 323 (16) : 1091-1096.
 9. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Strandgaard S, Kamper AL, Maschio G, Becker G, Perrone RD, Levey AS, for the ACE Inhibition in Progressive Renal Disease (AIPRD) Study Group. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibitors on progression of advanced polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005 ; 67 (1) : 265-271.
 10. Schrier RW, Abebe KZ, Perrone RD, Torres VE, Braun WE, Steinman TI, Winklhofer FT, Brosnahan G, Czarnecki PG, Hogan MC, et al. Blood pressure in early autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2014 ; 371 (24) : 2255-2266.
 11. Myat A, Redwood SR, Qureshi AC, Spertus JA, Williams B. Resistant hypertension. *BMJ* 2012 ; 345 : e7473.
 12. Williams B. Resistant hypertension : an unmet treatment need. *Lancet* 2009 ; 374 (9699) : 1396-1398.
 13. Yokoyama H, Araki S, Watanabe S, Honjo J, Okizaki S, Yamada D, Shudo R, Shimizu H, Sone H, Haneda M. Prevalence of resistant hypertension and associated factors in Japanese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2015 ; 110 (1) : 18-25.
 14. Achelrod D, Wenzel U, Frey S. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of resistant hypertension in treated hypertensive. *Am J Hypertens* 2015 ; 28 (3) : 355-361.
 15. Dahal K, Kunwar S, Rijal J, Alqatahni F, Panta R, Ishak N, Russell RP. The effects of aldosterone antagonists in patients with resistant hypertension : a meta-analysis of randomized and non-randomized studies. *Am J Hypertens* 2015 ; 28 (11) : 1376-1385.
 16. Williams B, MacDonald TM, Morant S, Webb DJ, Sever P, McInnes G, Ford I, Cruickshank JK, Caulfield MJ, Salisbury J, et al. Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2) : a randomised, double-blind, crossover trial. *Lancet* 2015 ; Sep.18 pii : S0140-6736 (15) 00257-3. doi : 10.1016/S0140-6736(15)00257-3. [Epub ahead of print]
 17. Heitman J, Movva NR, Hall MN. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science* 1991 ; 253 (5022) : 905-909.
 18. Sabatini DM, Erdjument-Bromage H, Lui M, Tempst P, Snyder SH. RAFT1 : a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell* 1994 ; 78 (1) : 35-43.
 19. Loewith R, Jacinto E, Wullschlegel S, Lorberg A, Crespo JL, Bonenfant D, Oppliger W, Jenoe P, Hall MN. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Mol Cell* 2002 ; 10 (3) : 457-468.
 20. Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, King JE, Latek RR, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sabatini DM. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 2002 ; 110 (2) : 163-175.
 21. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR : from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011 ; 12 (1) : 21-35.
 22. Feldman ME, Shokat KM. New inhibitors of the PI3K-Akt-mTOR pathway : insights into mTOR signaling from a new generation of Tor Kinase Domain Inhibitors (TORKinibs). *Curr Top Microbiol Immunol* 2010 ; 347 : 241-262.
 23. Canessa CM, Schild L, Buell G, Thorens B, Gautschi I, Horisberger JD, Rossier BC. Amiloride-sensitive epithelial Na⁺ channel is made of three homologous subunits. *Nature* 1994 ; 367 (6462) : 463-467.
 24. Debonneville C, Flores SY, Kamynina E, Plant PJ, Tauxe C, Thomas MA, Münster C, Chraïbi A, Pratt JH, Horisberger JD, et al. Phosphorylation of Nedd4-2 by Sgk1 regulates epithelial Na⁺ channel cell surface expression. *EMBO J* 2001 ; 20 (24) : 7052-7059.
 25. Lu M, Wang J, Jones KT, Ives HE, Feldman ME, Yao LJ, Shokat KM, Ashrafi K, Pearce D. mTOR complex-2 activates ENaC by phosphorylating SGK1. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 (5) : 811-818.
 26. Gleason CE, Frindt G, Cheng CJ, Ng M, Kidwai A, Rashmi P, Lang F, Baum M, Palmer LG, Pearce D. mTORC2 regulates renal tubule sodium uptake by promoting ENaC activity. *J Clin*

- Invest 2015 ; 125 (1) : 117-128.
27. Wilson FH, Disse-Nicodème S, Choate KA, Ishikawa K, Nelson-Williams C, Desitter I, Gunel M, Milford DV, Lipkin GW, Achard JM, et al. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science* 2001 ; 293 (5532) : 1107-1112.
 28. Moriguchi T, Urushiyama S, Hisamoto N, Iemura S, Uchida S, Natsume T, Matsumoto K, Shibuya H. WNK1 regulates phosphorylation of cation-chloride-coupled cotransporters via the STE20-related kinases, SPAK and OSR1. *J Biol Chem* 2005 ; 280 (52) : 42685-42693.
 29. Vitari AC, Deak M, Morrice NA, Alessi DR. The WNK1 and WNK4 protein kinases that are mutated in Gordon's hypertension syndrome phosphorylate and activate SPAK and OSR1 protein kinases. *Biochem J* 2005 ; 391 (Pt1) : 17-24.
 30. Yang SS, Morimoto T, Rai T, Chiga M, Sohara E, Ohno M, Uchida K, Lin SH, Moriguchi T, Shibuya H, et al. Molecular pathogenesis of pseudohypoaldosteronism type II : generation and analysis of a Wnk4(D561A/+) knockin mouse model. *Cell Metab* 2007 ; 5 (5) : 331-344.
 31. Richardson C, Rafiqi FH, Karlsson HK, Moleleki N, Vandewalle A, Campbell DG, Morrice NA, Alessi DR. Activation of the thiazide-sensitive Na⁺-Cl⁻ cotransporter by the WNK-regulated kinases SPAK and OSR1. *J Cell Sci* 2008 ; 121 (Pt5) : 675-684.
 32. Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Dietary salt intake regulates WNK3-SPAK-NKCC1 phosphorylation cascade in mouse aorta through angiotensin II. *Hypertension* 2013 ; 62 (5) : 872-878.
 33. Zeniya M, Morimoto N, Takahashi D, Mori Y, Mori T, Ando F, Araki Y, Yoshizaki Y, Inoue Y, Isobe K, et al. Kelch-like protein 2 mediates angiotensin II-with no lysine 3 signaling in the regulation of vascular tonus. *J Am Soc Nephrol* 2015 ; 26 (9) : 2129-2138.
 34. Chiga M, Rai T, Yang SS, Ohta A, Takizawa T, Sasaki S, Uchida S. Dietary salt regulates the phosphorylation of OSR1/SPAK kinases and the sodium chloride cotransporter through aldosterone. *Kidney Int* 2008 ; 74 (11) : 1403-1409.
 35. Sohara E, Rai T, Yang SS, Ohta A, Naito S, Chiga M, Nomura N, Lin SH, Vandewalle A, Ohta E, et al. Acute insulin stimulation induces phosphorylation of the Na-Cl cotransporter in cultured distal mpkDCT cells and mouse kidney. *PLoS One* 2011 ; 6 (8) : e24277.
 36. Nishida H, Sohara E, Nomura N, Chiga M, Alessi DR, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway activates the WNK-OSR1/ SPAK-NCC phosphorylation cascade in hyperinsulinemic db/db mice. *Hypertension* 2012 ; 60 (4) : 981-990.
 37. Talati G, Ohta A, Rai T, Sohara E, Naito S, Vandewalle A, Sasaki S, Uchida S. Effect of angiotensin II on the WNK-OSR1/SPAK-NCC phosphorylation cascade in cultured mpkDCT cells and *in vivo* mouse kidney. *Biochem Biophys Res Commun* 2010 ; 393 (4) : 844-848.
 38. Castañeda-Bueno M, Cervantes-Pérez LG, Vázquez N, Uribe N, Kantesaria S, Morla L, Bobadilla NA, Doucet A, Alessi DR, Gamba G. Activation of the renal Na⁺ : Cl⁻ cotransporter by angiotensin II is a WNK4-dependent process. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 (20) : 7929-7934.
 39. Mori T, Kikuchi E, Watanabe Y, Fujii S, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Chemical library screening for WNK signalling inhibitors using fluorescence correlation spectroscopy. *Biochem J* 2013 ; 455 (3) : 339-345.
 40. Kikuchi E, Mori T, Zeniya M, Isobe K, Ishigami-Yuasa M, Fujii S, Kagechika H, Ishihara T, Mizushima T, Sasaki S, Sohara E, Rai T, Uchida S. Discovery of novel SPAK inhibitors that block WNK kinase signaling to cation chloride transporters. *J Am Soc Nephrol* 2015 ; 26 (7) : 1525-1536.
 41. Daviet L, Lehtonen JY, Tamura K, Griese DP, Horiuchi M, Dzau VJ. Cloning and characterization of ATRAP, a novel protein that interacts with the angiotensin II type 1 receptor. *J Biol Chem* 1999 ; 274 (24) : 17058-17062.
 42. Cui T, Nakagami H, Iwai M, Takeda Y, Shiuchi T, Tamura K, Daviet L, Horiuchi M. ATRAP, novel AT1 receptor associated protein, enhances internalization of AT1 receptor and inhibits vascular smooth muscle cell growth. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ; 279 (3) : 938-941.
 43. Ohsawa M, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Dejima T, Kanaoka T, Azushima K, Uneda K, Tsurumi-Ikeya Y, Kobayashi R, et al. Deletion of the angiotensin II type 1 receptor-associated protein enhances renal sodium reabsorption and exacerbates angiotensin II-mediated hypertension. *Kidney Int* 2014 ; 86 (3) : 570-581.
 44. Wakui H, Tamura K, Masuda S, Tsurumi-Ikeya Y, Fujita M, Maeda A, Ohsawa M, Azushima K, Uneda K, Matsuda M, et al. Enhanced angiotensin receptor-associated protein in renal tubule suppresses angiotensin-dependent hypertension. *Hypertension* 2013 ; 61 (6) : 1203-1210.
 45. Wakui H, Uneda K, Tamura K, Ohsawa M, Azushima K, Kobayashi R, Ohki K, Dejima T, Kanaoka T, Tsurumi-Ikeya Y, et al. Renal tubule angiotensin II type 1 receptor-associated protein promotes natriuresis and inhibits salt-sensitive blood pressure elevation. *J Am Heart Assoc* 2015 ; 4 (3) : e001594.