

第 39 回腎臓セミナー・Nexus Japan プロシーディング

YIA 受賞記念講演 3

慢性腎臓病における高血圧発症  
—腎 ATRAP の決定的な役割—

A critical role of angiotensin II type 1 receptor-binding molecule in hypertension  
in a chronic kidney disease model

小林 竜 涌井広道 田村功一

Ryu KOBAYASHI, Hiromichi WAKUI, and Kouichi TAMURA

はじめに

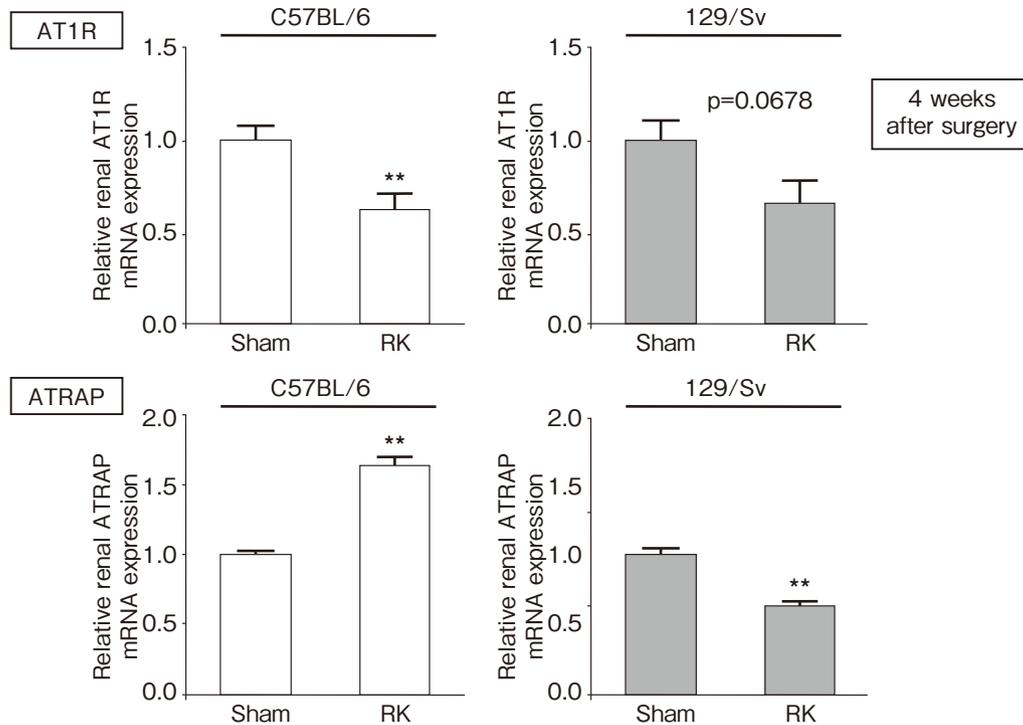
慢性腎臓病(chronic kidney disease: CKD)患者はしばしば高血圧を合併し、高血圧は CKD をさらに進行させるという悪循環を形成する。CKD で高血圧が生じる主な機序として、糸球体濾過量(GFR)の低下によるナトリウム・体液の貯留、交感神経活性の亢進、そして主にアンジオテンシン II タイプ1(AT1)受容体(AT1R)を介した腎組織局所でのレニン・アンジオテンシン系(RAS)の亢進の関与などが指摘されているが、いまだ不明な点が多い。したがって、CKD に高血圧が合併するメカニズムを明らかにし、その進展制御法を開発することは大きな課題である。

AT1 receptor-associated protein (ATRAP)は、AT1 受容体 C 末端の直接結合分子として単離・同定された。ATRAP は主にエンドソームに存在し、AT1R を持続的に細胞内で捕捉することにより、AT1R 情報伝達系の一部の系 P38MAPK などを選択的に阻害して、組織の生理的な機能には影響を与えず、病的な過剰活性化を抑制する方向に働く可能性がある<sup>1,2)</sup>。ATRAP の体内での分布を調べたところ、ヒトの検討では腎臓で高発現であり、腎尿細管で特に高発現であることがわかっており<sup>3)</sup>、腎生検で得られたヒト IgA 腎症における検討では、腎尿細管 ATRAP 発現は eGFR 低下とともに低下を認めており、腎機能と腎 ATRAP 発現の相関が認められた<sup>4)</sup>。以上の背景から、本研究では 5/6 腎摘出術

(remnant kidney model)を用いて作製した CKD モデルを用いて、「CKD における高血圧発症に腎 ATRAP 発現のダウンレギュレーションが関与し、腎 ATRAP 発現を制御することで、CKD における高血圧発症を抑制できる」という作業仮説を検証した。

高血圧感受性の差異に ATRAP が関与するか

まず、高血圧感受性の差異に ATRAP が関与するか調べるため、C57BL/6 および 129/Sv の 2 系統のマウスに対して、remnant kidney model を作製し比較検討した。術後 4 週後に評価したところ、両系統のマウス共に、Sham 手術群と比較して remnant kidney model では、クレアチニンクリアランス(Ccr)の低下を認めたが、C57BL/6 では 5/6 腎摘後に血圧上昇を認めないものの、129/Sv では有意な血圧上昇を認めた<sup>5)</sup>。AT1R および ATRAP の発現を qRT-PCR で調べたところ、AT1R の発現は、C57BL/6 で減少を認め、129/Sv では有意差ではないものの減少傾向を認めており、共に発現の減少を認めた。一方 ATRAP の発現を調べたところ、血圧の変わらなかった C57BL/6 では、Sham 手術群と比較して remnant kidney model で ATRAP 発現の増加を認め、血圧上昇を認めた 129/Sv では、ATRAP 発現の減少を認めた(図 1)。次に免疫染色で ATRAP 発現を評価したところ、PCR の結果と同様に、remnant kidney model において、C57BL/6 では ATRAP 発現の増加を認めたが、129/Sv では ATRAP 発現の低下を認めた。2 系統のマウスを用いた検討により、



Unpaired-t test values are means  $\pm$  SEM (n=7~9), \*p<0.05, \*\*p<0.01, vs Sham

図1 5/6腎摘(RK)により、C57BL/6では腎 ATRAP 発現が増加するものの、129/Svでは減少する

マウス種の高血圧感受性の有無に AT1R ではなく、ATRAP が関与することが示された。

### CKD 合併高血圧における ATRAP 欠損の影響

次に、高血圧抵抗性である C57BL/6 を背景に全身性 ATRAP 欠損マウスを作製し、CKD 病態における血圧を比較検討した。全身性 ATRAP 欠損マウスは、ベースラインの血圧に変化はなく、腎形態異常および腎機能障害を認めなかった。また、mRNA レベルでの AT1R 発現も野生型 C57BL/6 と差は認めなかった。野生型 C57BL/6 マウスおよび全身性 ATRAP 欠損マウスに対して、remnant kidney model を作製し比較検討した。術後の血圧経過を追ったところ、野生型 C57BL/6 では血圧は不変だったが、5/6 腎摘を行った全身性 ATRAP 欠損マウスで有意な血圧上昇を認めた。有意な血圧上昇の認められた術後 4 週の時点で解析を行ったところ、腎機能低下の程度は、野生型 C57BL/6 マウスと全身性 ATRAP 欠損マウスは同等であったが、Evans blue 法にて循環血漿量を測定したところ、5/6 腎摘を行った野生型 C57BL/6 マウスでは循環血漿量は不変だったが、5/6 腎摘を行った全身性 ATRAP 欠損マウスで有意な増加を認め、血

圧上昇の機序と考えられた(図2)。本結果から、Ccr の低下だけでは循環血漿量の増加をきたさず、ATRAP が欠損することで初めて循環血漿量が増加することが示された。循環 RAS を調べたところ、血漿レニン活性は remnant kidney model において両群で上昇を認めたが、野生型 C57BL/6 マウスと全身性 ATRAP 欠損マウス間で有意差は認めなかった。また、アルドステロン濃度および尿中カテコラミン排泄量についても有意差は認めず、体重や腎重量、尿量などの生理的パラメータについても、野生型 C57BL/6 マウスと全身性 ATRAP 欠損マウス間で有意差は認めなかった。

また、腎細胞膜分画において AT1R 発現を調べたところ、全身性 ATRAP 欠損マウスにおいて、腎細胞膜分画 AT1 受容体発現が増加していることが確認され、内在性 ATRAP が発現している野生型 C57BL/6 マウスにおいて、AT1R のインターナリゼーションが確認された。

次に、循環血漿量の増加の機序を調べるべく、Na<sup>+</sup>チャネルの発現を調べたところ、NHE(Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger)3、NKCC(Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter)2、リン酸化 NCC(Na<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> cotransporter)の発現は、全身性 ATRAP 欠損マウスと野生型 C57BL/6 マウスは同様だったが、全身性 ATRAP 欠損マウスでは、5/6 腎摘により ENaC(上皮型 Na<sup>+</sup> transporter)  $\alpha$  分

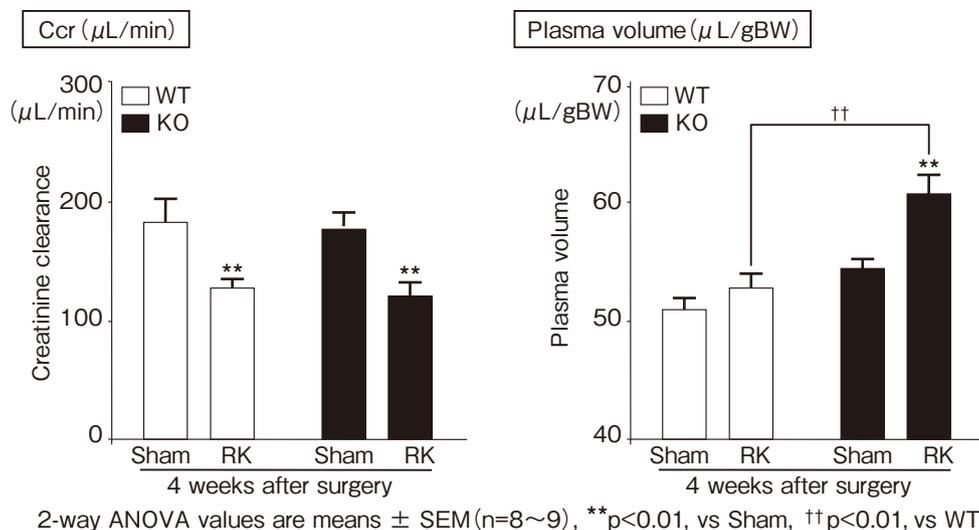


図 2 全身性 ATRAP 欠損マウス (KO) では、5/6 腎摘による腎機能低下は野生型 C57BL/6 マウス (WT) と同等だが、5/6 腎摘により循環血漿量が増加する

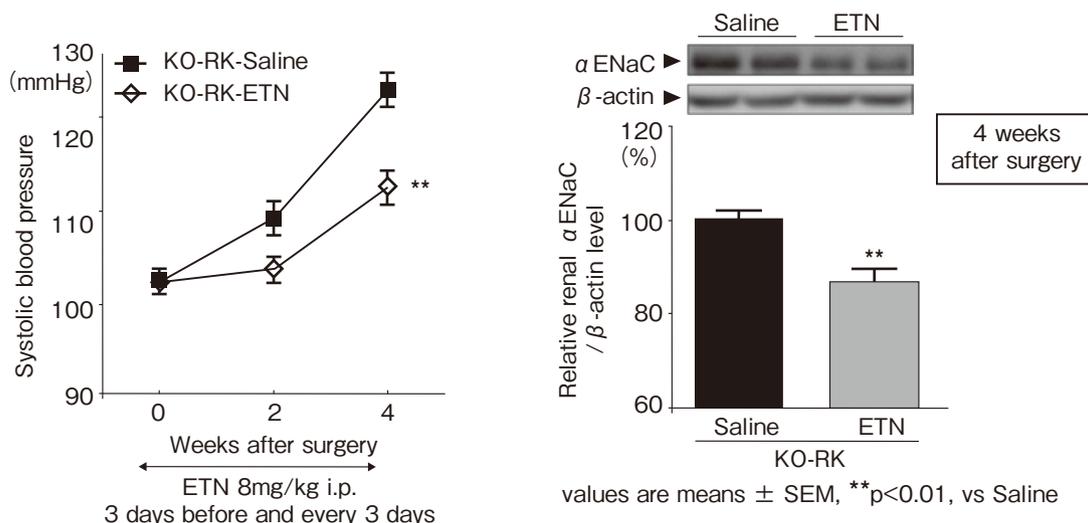


図 3 TNF-α 阻害分子標的薬エタネルセプト (ETN) は、5/6 腎摘による全身性 ATRAP 欠損マウス (KO-RK) における高血圧および腎 αENaC 発現増加を抑制する

画の発現の増強を認め、循環血漿量増加の一因と考えられた。

### CKD 合併高血圧における炎症の関与

炎症の関与があるか調べるべく、炎症性サイトカインを qRT-PCR にて調べたところ、MCP-1, CD68, F4/80, IL-1β, IL-6 については全身性 ATRAP 欠損マウスと野生型 C57BL/6 マウスは同等だったが、全身性 ATRAP 欠損マウス

スでは、野生型 C57BL/6 マウスと比較して 5/6 腎摘による TNF-α 発現の増加が増強していた。TNF-α の影響を調べるべく、5/6 腎摘を行った全身性 ATRAP 欠損マウスに対して、TNF-α 受容体制剤であるエタネルセプトの腹腔内投与を行い、TNF-α 阻害を行った。エタネルセプト投与群は、コントロール群と比較して有意な血圧の低下を認めた。術後 4 週の時点で Na<sup>+</sup> チャネル αENaC の発現を調べたところ、エタネルセプト投与群で αENaC 発現の低下を認め、高血圧改善の機序の一因と考えられた (図 3)。

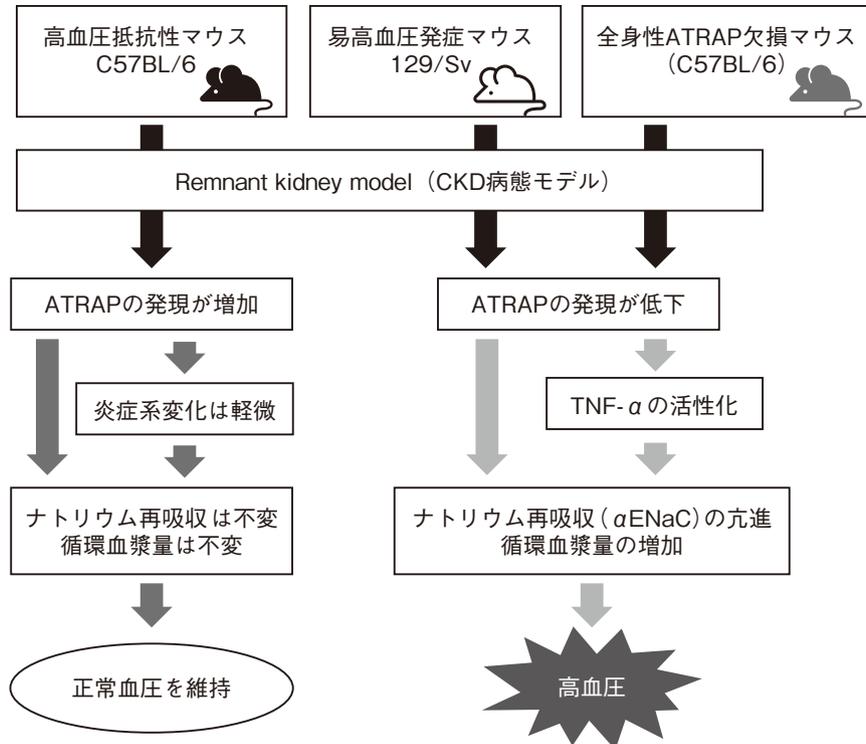


図4 ATRAPとCKD合併高血圧のかかわり

### おわりに

本研究において、CKD病態においてATRAPが欠損することで、AT1R-TNF- $\alpha$ - $\alpha$ ENaCを介した経路により、循環血漿量の増加ならびに血圧の増悪が示された(図4)。つまり、CKD病態における循環血漿量の増加は、腎機能(GFR)の低下の程度によらず、腎ATRAP発現の減少による尿細管でのNa<sup>+</sup>再吸収亢進がその本質であることが示された。

今後の展望として、腎組織局所でのATRAPの発現増加あるいは活性化は、CKD合併高血圧に対する新たな治療的介入となりうる可能性がある。

### 謝辞

最後に、この研究を支えてくださった田村功一先生、涌井広道先生、山下暁朗先生、岡山大学 田邊克幸先生、前島洋平先生、香川大学 西山成先生、また、横浜市立大学医学部 循環器・腎臓・高血圧内科学の先生方に心より感謝申し上げます。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

### 文献

1. Tamura K, Wakui H, Maeda A, et al. The physiology and pathophysiology of a novel angiotensin receptor-binding protein ATRAP/Agtrap. *Curr Pharm Des* 2013 ; 19 : 3043-3048.
2. Wakui H, Tamura K, Tanaka Y, et al. Cardiac-specific activation of angiotensin II type 1 receptor-associated protein completely suppresses cardiac hypertrophy in chronic angiotensin II-infused mice. *Hypertension* 2010 ; 55 : 1157-1164.
3. Tsurumi Y, Tamura K, Tanaka Y, et al. Interacting molecule of AT1 receptor, ATRAP, is colocalized with AT1 receptor in the mouse renal tubules. *Kidney Int* 2006 ; 69 : 488-494.
4. Masuda S, Tamura K, Wakui H, et al. Expression of angiotensin II type 1 receptor-interacting molecule in normal human kidney and IgA nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010 ; 299 : F720-F731.
5. Ma LJ, Fogo AB. Model of robust induction of glomerulosclerosis in mice: importance of genetic background. *Kidney Int* 2003 ; 64 : 350-355.