

論文内容要旨

Na⁺-Cl⁻ cotransporter-mediated chloride uptake contributes to hypertension and renal damage in aldosterone-infused rats

(Na⁺-Cl⁻共輸送体を介したクロライド輸送はアルドステロン投与ラットの血圧上昇と腎障害に関与する)

American Journal of Physiology-Renal Physiology, in press.

主指導教員：正木 崇生教授

(広島大学病院 腎臓内科学)

副指導教員：茶山 一彰教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

副指導教員：松原 昭郎教授

(医歯薬保健学研究科 腎泌尿器科学)

山内 崇宏

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

(背景・目的)

食塩の摂取は高血圧の進展に寄与する重要な因子であるが、食塩に対する感受性は個々によって異なることが明らかになっている。食塩は化学的にはナトリウムとクロライドからなり、その吸収は主として近位尿細管によって行われるが、最終的な調整は、遠位から集合管にかけて行われる。したがって、食塩感受性高血圧の成因および進展には、後者に存在する輸送体であるナトリウム-クロライド共輸送体(NCC)や上皮ナトリウムチャネル(ENaC)、ペンドリン(pendrin)が関与すると考えられる。

これまでにナトリウムの高血圧への関与について報告は多数あるが、食塩の代わりに炭酸水素ナトリウムを投与した実験では、血圧の上昇が軽微であることが報告されている。これらの結果は、食塩感受性高血圧の成因にクロライドの存在が重要であることを示唆しているが、クロライド自体のナトリウムやクロライドの輸送体に対する効果は明らかではない。

近年、食塩の過剰摂取が腎臓において Th17 細胞由来のインターロイキン-17A (IL-17A) を介した炎症を引き起こすことが示されている。さらにわれわれは、アルドステロン投与によって食塩感受性を亢進させたラットで、高血圧の進展に炎症が重要な働きを示すことを報告した。したがって、クロライドが炎症を惹起する経路について解明することが、食塩感受性高血圧の病態解明に必要である。

本研究では、アルドステロンによって誘導された食塩感受性高血圧モデルにおいて、遠位尿細管～集合管輸送体のナトリウム/クロライド輸送と血圧上昇、炎症、および腎障害への関与を検討した。

(方法)

8 週齢雄性 Sprague-Dawley ラットに対して片腎摘出後に皮下に浸透圧ポンプを植え込むことで、アルドステロン持続投与モデルを作製した。

実験 1 ; 通常飼料 (含有食塩量 0.3%) を摂取させた条件で、1.0%食塩、1.44%炭酸水素ナトリウム、蒸留水を各群ラットに飲水させて血圧測定を行い、6 週間後の腎組織を検討した。

1), 収縮期血圧, 尿蛋白量, および尿中電解質の定量を行った。

2), 膜分画における輸送体蛋白 α ENaC, pendin, NCC, リン酸化 NCC の発現をイムノブロットで比較した。

3), 固定染色 (Hematoxylin Eosin 染色, Periodic acid-Schiff 染色, Masson-Trichrome 染色) で組織の障害を比較した。さらに Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling 法で細胞死の評価を, 免疫組織染色で線維化マーカーである平滑筋 α アクチン (α SMA), 1 型コラーゲン (collagen type1) の比較を行った。また, α SMA の蛋白発現をイムノブロットで比較した。

4), CD3 (T 細胞), CD68 (マクロファージ) を免疫組織染色で, IL-17A の蛋白発現をイムノブロットで比較した。

実験 2 ; アルドステロン持続投与ラットに調製食を与え同様に観察・比較した。調整食は 8.0% 高塩分食と, 含有クロライドが半分になるようにクエン酸ナトリウムを調整して作製した半クロライド食との比較を行った。

5), 観察期間中の収縮期血圧, 食餌摂取量を測定した。膜分画における α ENaC, pendin, NCC, リン酸化 NCC の蛋白発現をイムノブロットで比較した。

実験 3 ; アルドステロン/食塩ラットに hydrochlorothiazide を投与し, NCC 阻害による病態改善効果を検討した。

6), 収縮期血圧, 尿蛋白量および α SMA, IL-17A の蛋白発現をイムノブロットで比較した。

7), 膜分画におけるナトリウム, クロライドの輸送体 (α ENaC, pendin, NCC, リン酸化 NCC) の発現をイムノブロットで比較した。

(結果)

1), 炭酸水素ナトリウム群では食塩群と比較して血圧上昇, 尿蛋白量は軽度であった。

2), 炭酸水素ナトリウム群では食塩群と比較して NCC やリン酸化 NCC の膜分画への誘導は低下した。一方で α ENaC や pendin は有意な差を認めなかった。

34), 炭酸水素ナトリウム群では食塩群と比較して組織の障害, 線維化, 細胞死, 炎症マーカーは軽減していた。

5), リン酸化 NCC の膜分画への誘導は, ほぼ同等のナトリウムの摂取条件下においてクロライドの摂取量に依存していた。

67), NCC の阻害は高血圧性の腎障害および T 細胞を介した炎症とともに, リン酸化 NCC の膜分画への誘導を強力に抑制した。

(考察)

本研究において, α ENaC や pendin に比較して NCC が血圧上昇や炎症, 腎障害に関連していることが明らかとなり, また NCC 阻害薬である hydrochlorothiazide の投与により NCC, リン酸化 NCC の発現の抑制と共に血圧上昇および腎障害が抑制された。アルドステロン/食塩による腎障害には NCC の活性化が重要であることが示唆された。