〈記録〉第31回 日本臨床薬理学会年会 2010年12月1~3日 京都
シンポジウム19:CKDと新たな治療戦略

4. 腎障害とミネラルコルチコイド

長瀬 美樹*

1. アルドステロンは糸球体足細胞障害を介して蛋白尿を惹起する

アルドステロンは従来、腎臓の遠位ネフロンに作用して電解質・循環血液量、血圧調節を司るホルモンと考えられてきた。ところが近年、アルドステロン研究における大きなパラダイムシフトが生じ、心腎血管系臓器障害のメディエーターとしてのアルドステロンの役割がクローズアップされている。腎臓ではアルドステロンは蛋白尿、糸球体硬化、腎線維化などを惹起する。

我々は、アルドステロン慢性投与ラットにおける蛋白尿のメカニズムとして、糸球体における蛋白濾過バリアとして重要な糸球体足細胞の障害につき検討した¹⁾。本ラットは激しい蛋白尿を生じ、このとき正常足細胞のマーカーであるネフリン、ポドシンの発現は蛋白尿発症早期より激減しており、逆に足細胞障害マーカーであるデスミンの発現は増強し、電顕所見からも足突起の消失など足細胞障害の存在が示された。足細胞にはアルドステロンの受容体である鉱質コルチコイド受容体(MR)が発現しており、アルドステロンによる蛋白尿増加の少なくとも一部は足細胞に対する直接障害作用による可能性が考えられた。

2. メタボリックシンドロームモデル動物の腎障害と内因性アルドステロン

次に我々は、メタボリックシンドロームモデルとしてSHR/NDmcr-cp (SHR肥満ラット)を用いて、内因性アルドステロンと足細胞障害、蛋白尿について検討した²⁾。このラットは、自然発症高血圧ラット(SHR)にレプチン受容体遺伝子異常が導入されたもので、メタボリックシンドロームの構成要素を併せもっている。

SHR肥満ラットでは蛋白尿が早期より増加しており、これに関連して足細胞障害がみられた。またSHR肥満ラットの血中アルドステロン濃度を測定したところ、非肥満SHRに比し有意に上昇しており、血中アルドステロン濃度と蛋白尿の間には正の相関がみられた。アルドステロンのエフェクターであるSgk1の糸球体、腎臓における発現もSHR肥満ラットで有意に亢進していた。そしてSHR肥満ラットにMR拮抗薬エプレレノンを投与したところ、

足細胞障害、尿蛋白はともに著明に抑制された。このことから、本モデルではアルドステロン過剰が見られ、腎臓や糸球体におけるアルドステロン作用の亢進が足細胞障害、蛋白尿などの病態を引き起こしているものと考えられた。アルドステロン上昇のメカニズムとしては、本稿では詳しく述べないが、我々は肥満脂肪細胞より分泌されるアルドステロン分泌刺激物質の関与に注目し、検討を行っている。

3. メタボリックシンドロームにおける食塩の害とアルドステロン

臨床的に、肥満者では食塩過剰摂取により臓器障害が悪化しやすいことが知られている。SHR肥満ラットを高食塩食で飼育した場合にも、足細胞障害、蛋白尿は著しく増悪した³⁾。興味深いことに食塩による足細胞障害、蛋白尿の悪化はMR拮抗薬により完全に回復した。このことは食塩による腎障害の病態にアルドステロン/MRシグナリングが極めて重要な役割を担う可能性を強く示唆する。実際高食塩食により腎臓におけるMRシグナリングが亢進し、確かに食塩がMR活性を増強するものと考えられた。その一因として、レニン-アンジオテンシン系によって制御されるアルドステロン産生は食塩により抑制されるが、脂肪由来因子によるアルドステロン産生は食塩により抑制されず、食塩摂取量に比しアルドステロンが不適切に高いことが関与している可能性が考えられる。

4. MR活性化の新たなメカニズム

ここまでアルドステロン値が高いモデルにおける足細胞障害とMR拮抗薬の保護効果をみてきたが、MR拮抗薬が有効であるのは必ずしもアルドステロン高値例に限ったことでないことは臨床的にも動物モデルでも知られている。すなわち、血中アルドステロン濃度が高くなくても標的臓器におけるMRシグナリングの亢進がみられ、MR拮抗薬が著効を示すこともあるのである⁴⁾。

アルドステロン非依存性のMR活性化のメカニズムについては従来ほとんど解明されていなかったが、MRは核内受容体で、リガンドが結合すると核へ移行し、標的遺伝子のプロモーターのホルモン応答配列に結合し、標的遺伝子発現を引き起こす、という見地から考えると、血中リガンドレベルの変化以外にもさまざまな要因によって活性が制御されている可能性がある。実際研究が進んでいる他のステロイド受容体に関しては種々の細胞内シグナル因子が

* 東京大学大学院医学系研究科腎臓・内分泌内科慢性腎臓病(CKD)学講座

〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1

活性化因子として働くことが示されている。我々は、低分子重 G 蛋白 Rac1 による MR 活性化機構を見いだした⁵⁾。

まず、Rac1 が MR 活性化を引き起こすか否か、*in vitro* の系で検討を行った。HEK293 細胞に恒常活性型 Rac1 (CA-Rac1) を遺伝子導入し、MR 活性化の指標として、MR の核移行を GFP (緑色蛍光蛋白質) 標識 MR の導入により、MR 依存性転写の促進をルシフェラーゼアッセイにより評価した。培養細胞に GFP で標識した MR をトランスフェクションさせると、アルドステロンがない状態では MR はおもに細胞質に局在し、アルドステロンを添加すると核への移行が観察される。この際、恒常活性型 Rac1 を遺伝子導入しておくとも MR の核移行が起りやすくなることが示された。また、MR 転写活性をルシフェラーゼアッセイにて評価すると、アルドステロン添加により MR 転写活性は上昇するが、恒常活性型 Rac1 を遺伝子導入しておくともこの反応が増強することがわかった。すなわち、活性型 Rac1 により MR 活性化が生じることが *in vitro* の系において示された。

そこで次に『Rac1 による MR 活性化』が *in vivo* での腎障害のメカニズムにも関与しているか否か、腎臓で Rac1 の活性化が生じる Rho GDIαKO マウスを用いて検討した。Rho GDI は不活性型の Rho GTPase に結合してその不活性化状態の維持に関与すると考えられているが、このモデルでは腎臓特異的に Rac1 の活性化が生じていた。このマウスでは生後徐々に腎障害が進行し、12 週齢では著明なアルブミン尿、足細胞障害、糸球体硬化を呈した。そして Rac 阻害薬を投与すると、このようにアルブミン尿、腎障害は改善した。アルドステロン・MR 系を調べてみると、Rac1 活性化マウスでは血中アルドステロン濃度、血圧はいずれも野生型マウスと同等であったが、腎臓における MR 発現、シグナル下流の Sgk1 発現は増加しており、アルドステロン非依存的に MR activation が生じていることが示唆された。さらに、Rac 阻害薬を投与すると、腎臓において亢進していた MR 活性化が抑えられること、このマウスに MR 拮抗薬を投与するとアルブミン尿、腎病理所見が改善することから、Rac1 による MR 活性化が本モデルの腎障害の本体であると考えられた。

この Rac1 過剰モデルは人為的なモデルであるが、一般的な腎障害モデルとして、食塩感受性高血圧モデルやメタボリックシンドロームに伴う腎障害などにおいても、Rac1 の過剰活性化が病態に寄与していることが示されている。

5. むすび ～MR 活性制御をターゲットとした腎障害の新たな治療法の探索 (Fig.)

以上、腎障害とアルドステロン/MR 系の過剰活性化について、とくにメタボリックシンドロームにおける役割や、慢性腎臓病の新たな治療薬としての Rac 阻害薬の可能性を示した。アルドステロンが高い病態においては糸球体足細胞障害、蛋白濾過バリアの破壊により蛋白尿が引き起こされる。アルドステロンが高くない場合にも、たとえば

Fig. メタボリックシンドロームの腎障害と、MR 活性制御をターゲットとした新たな治療法の探索

メタボリックシンドロームに伴う腎障害の発症メカニズムとして、アルドステロン依存性・非依存性機序によるミネラルコルチコイド受容体 (MR) 過剰活性化が重要な役割を果たしている。しかしながら、MR 拮抗薬は多くの慢性腎臓病患者では使用できず、MR 活性制御をターゲットとした新たな腎臓病治療薬として、Rac 阻害薬、脂肪細胞由来アルドステロン分泌促進物質 (ARF) の阻害薬、選択的 MR モジュレーターなどの創製に期待がもたれる。

Rac1 の活性化によりアルドステロンに対する MR の感受性が高まり、蛋白尿を生じうる。いずれの場合にも MR 拮抗薬が有用である。しかしながら、現状では高 K 血症の懸念により多くの慢性腎臓病患者 (アルブミン尿を伴う糖尿病患者、中等度以上の腎機能障害患者) で MR 拮抗薬は使用禁忌となっている。今後、MR 活性を制御するような新たな腎保護薬として、Rac 阻害薬、高 K 血症を来さないような選択的 MR モジュレーターの創製に期待がもたれる。

文 献

- 1) Shibata S, Nagase M, Yoshida S, Kawachi H, Fujita T. Podocyte as the target for aldosterone : roles of oxidative stress and Sgk1. *Hypertension*. 2007 ; 49(2) : 355-64.
- 2) Nagase M, Yoshida S, Shibata S, Nagase T, Gotoda T, Ando K, et al. Enhanced aldosterone signaling in the early nephropathy of rats with metabolic syndrome : possible contribution of fat-derived factors. *J Am Soc Nephrol*. 2006 ; 17(12) : 3438-46.
- 3) Nagase M, Matsui H, Shibata S, Gotoda T, Fujita T. Salt-induced nephropathy in obese spontaneously hypertensive rats via paradoxical activation of the mineralocorticoid receptor : role of oxidative stress. *Hypertension*. 2007 ; 50(5) : 877-83.
- 4) Nagase M, Shibata S, Yoshida S, Nagase T, Gotoda T, Fujita T. Podocyte injury underlies the glomerulopathy of Dahl salt-hypertensive rats and is reversed by aldosterone blocker. *Hypertension*. 2006 ; 47(6) : 1084-93.
- 5) Shibata S, Nagase M, Yoshida S, Kawanazaki W, Kurihara H, Tanaka H, et al. Modification of mineralocorticoid receptor function by Rac1 GTPase : implication in proteinuric kidney disease. *Nat Med*. 2008 ; 14(12) : 1370-6.