

メタボリック症候群モデルラット (SHR/ND mcr-cp) におけるセリンプロテアーゼ阻害薬による糸球体上皮細胞 (ポドサイト) 傷害抑制効果

熊本大学 腎臓内科学 柿添豊、水本輝彦、向山政志

背景・目的

メタボリック症候群 (MetS) は内臓脂肪型肥満、高血圧、耐糖能障害、脂質異常症を特徴とし、生活様式の欧米化に伴い本邦でも大きな健康問題となっている。MetSはしばしば蛋白尿を伴う慢性腎臓病 (CKD) を合併し、蛋白尿は末期腎不全や脳心血管病の危険因子であるため、その抑制は極めて重要である。しかし、減塩などの食事・生活指導やレニン・アンジオテンシン (RA) 系阻害薬等による腎保護療法を行っても、蛋白尿の抑制は不十分であることが多い。糸球体のバリア機能は糸球体内皮細胞、基底膜、上皮細胞 (ポドサイト) から構成されており、特にポドサイトの傷害は蛋白尿の発症において極めて重要である。

SHR/ND mcr-cp (SHR/ND) はSHRと正常血圧ラットとの交配の過程で肥満形質cpを持つSHRが出現し (Obese SHR)、その後肥満の原因がレプチン受容体遺伝子のナンセンス変異であることが明らかとなった。肥満、高血圧、耐糖能障害、脂質異常という典型的なMetSの病態を呈し、蛋白尿は週齢を追う毎にSHRよりも高度となり、その差は食塩負荷によりさらに顕著となる。これにはレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の活性化や酸化ストレス、炎症細胞浸潤などの多彩な要因によるポドサイト傷害が関与している¹。

私たちはこれまでにセリンプロテアーゼ (SP) と高血圧・腎障害の関係について研究を続けてきた。腎集合尿管の上皮型Naチャンネル (ENaC) はγサブユニットの細胞外ループがSPにより切断されることで活性型となり、Na再吸収が亢進する。私たちは合成セリンプロテアーゼ阻害薬メシル酸カモスタット (CM) がSPによるENaCの活性化を阻害し降圧効果を発揮することを報告した^{2,3}。さらにCMは各種腎疾患モデル動物において抗炎症・線維化・酸化ストレス等の作用により腎保護効果を有することを報告している^{4,7}。CMは特に食塩感受性高血圧において降圧と蛋白尿減少効果が顕著であり^{2,4}、本研究において食塩負荷SHR/NDに対するCMの降圧効果とポドサイト保護効果を検討した。

研究方法・結果

13週齢のSHR/NDを正常食塩群 (0.3%NaCl食, NS)、高食塩群 (8.0%NaCl食, HS)、高食塩+CM投与群 (HS+CM)、高食塩+血管拡張薬ヒドララジン投与群 (HS+Hyd) の4群に分け、4週間の飼育後に解析を行った。CMにより尿中Na/K比の上昇 (ENaC抑制の指標) を伴う有意な降圧を認めた。CMとHydの降圧効果は同等であったが、CMはHydよりも有意に尿蛋白と糸球体硬化を抑制した (図1)。CMは食塩負荷によるポドサイトマーカー (ネフリン、シナプトポジン、WT-1) の減少および糸球体内アポトーシス細胞の増加 (TUNEL染色) や腎組織中のアポトーシスシグナルの亢進 (Bax/Bcl-2比とcleaved caspase-3の上昇) を抑制し、その効果は

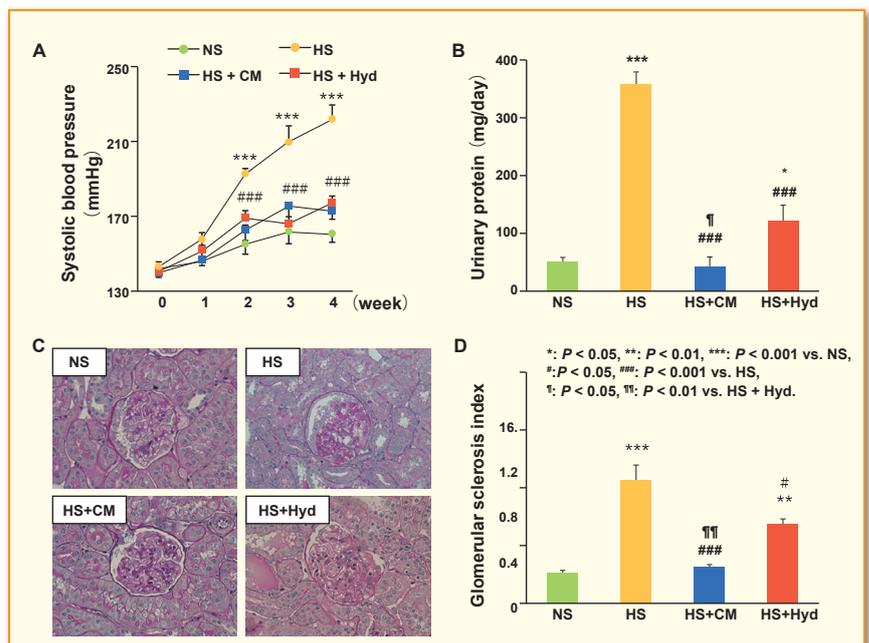


図1. 食塩負荷SHR/NDにおけるCMによる降圧と尿蛋白抑制効果
A. 収縮期血圧. B. 4週時の24時間尿蛋白排泄量. C, D. 糸球体硬化 (PAS染色).

Hydよりも有意に強かった(図2)。CMは血液中のレニン活性・アルドステロン濃度、腎組織中のアルドステロンシグナル(SGK1の発現)、耐糖能障害、脂肪組織のアディポサイトカインの発現には影響を及ぼさなかった。CMは脂質代謝を一部改善したが、尿蛋白減少効果に伴うものと考えられた⁸。

次に培養ポドサイトを用いた検討では、アルドステロンや高糖負荷によるアポトーシスの亢進をCMは抑制した。HtrA2/Omiはアポトーシスを誘導する細胞内セリンプロテアーゼであり、腎障害に関与している報告があるため、HtrA2がCMの標的プロテアーゼになるかについてin vitroで検討を行ったが、CMはHtrA2の酵素活性を抑制しなかった⁸。

考察

食塩負荷SHR/NDは著明な高血圧とともに、ポドサイト傷害による糸球体硬化と高度蛋白尿を呈し、実臨床においては概して食塩摂取量が多いMetSにおける、蛋白尿の機序解明と治療法の開発の研究に適したモデル動物であると考えられる。

本研究では、CM群で尿中Na/K比の上昇を伴う有意な降圧を認め、降圧効果の一部は尿細管のENaC抑制によるものと考えられた。さらにCMはアポトーシス抑制効果を介したポドサイト傷害の抑制により、糸球体硬化と蛋白尿を同程度の降圧効果を持つHydよりも有意に抑制した。本研究においてCMの標的SPは同定できていない。アポトーシスを誘導するSPであるHtrA2/Omiを候補として検討したが、CMはHtrA2の酵素活性を抑制しなかった。私たちは他の食塩感受性高血圧モデルラットにおいて腎組織中で線溶系のSPであるプラスミン活性が亢進し、CMはプラスミンの抑制とポドサイト保護効果を持つことを報告している⁴。近年、尿蛋白を呈する病態においては糸球体から漏出したプラスミンが直接ポドサイトに作用し、酸化ストレス、エンドセリン等の発現亢進によりポドサイトのアポトーシスを誘導すること⁹、さらに凝固系SPのトロンビンはprotease activated receptor-1 (PAR-1)の活性化を介してポドサイトのアポトーシスを誘導することが報告されている¹⁰。CMはプラスミン、トロンビンの酵素活性をともに抑制するため、食塩負荷SHR/NDにおいてもこれらのSPによるポドサイト傷害を効果的に抑制している可能性がある。

実臨床ではMetSのように耐糖能障害と蛋白尿を伴う高血圧に対してRA系阻害薬が第一選択薬となるが、腎障害の抑制は不十分であることが多い。私たちは、CKDモデルラットにおいてCMとアンジオテンシンII受容体阻害薬との併用は、単独投与に比較してさらに尿蛋白を減少させ、腎不全の進行を抑制することを報告している¹¹。過去にはCMが糖尿病性腎症患者において尿蛋白を減少させることが報告されており¹²、SP阻害薬とRA系阻害薬の併用がヒトのMetSに伴う腎障害に対しても有用である可能性がある。

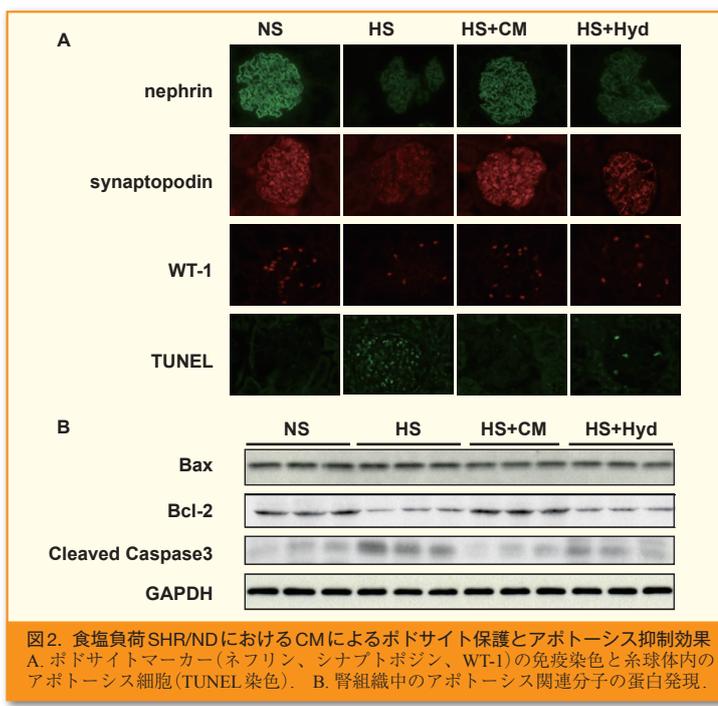


図2. 食塩負荷SHR/NDにおけるCMによるポドサイト保護とアポトーシス抑制効果
A. ポドサイトマーカー(ネフリン、シナプトポジン、WT-1)の免疫染色と糸球体内のアポトーシス細胞(TUNEL染色)。B. 腎組織中のアポトーシス関連分子の蛋白発現。

参考文献

- 1) Nagase M, et al. Hypertension. 2007;50: 877-883.
- 2) Maekawa A, et al. J Hypertens. 2009;27: 181-189.
- 3) Uchimura K, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2012;303: F939-943.
- 4) Kakizoe Y, J Pharmacol Sci. 2016;132: 145-153.
- 5) Morinaga J, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2013;305: F173-181.
- 6) Ueda M, et al. Nephron. 2015;129: 223-232.
- 7) Hayata M, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2012;303: F1126-1135.
- 8) Mizumoto T, et al. J Pharmacol Sci. 2021;146: 192-199.
- 9) Raij L, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2016;311: F1308-F1317.
- 10) Sharma R, et al. J Am Soc Nephrol. 2017;28: 2618-2630.
- 11) Narita Y, et al. J Pharmacol Sci. 2016;130: 110-116.
- 12) Ikeda Y, et al. J Diabetes Complications. 1999;13: 56-58.