

副腎皮質細胞におけるアルドステロンブレイクスルー現象と BMP-6 の関与

大谷 寛之*, 大塚 文男, 槇野 博史

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

キーワード：アルドステロンブレイクスルー, BMP-6, MAPK, 副腎皮質細胞

Aldosterone breakthrough caused by chronic blockage of angiotensin II type 1 receptors in human adrenocortical cells: possible involvement of bone morphogenetic protein-6 actions

Hiroyuki Otani*, Fumio Otsuka, Hirofumi Makino

Department of Medicine and Clinical Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

現在, Angiotensin converting enzyme (ACE) 阻害薬・Angiotensin II type 1 receptor (AT1 受容体) 拮抗薬 (ARB) は高血圧治療の主流となってきた。しかしながらこれらの長期投与によって生じる血中 Aldosterone (Aldo) 濃度の再上昇, いわゆるアルドステロンブレイクスルーが臨床上的の問題となってきた¹⁻⁵⁾。この発症機序については AT2 受容体・カリウム・ACTH・エンドセリンなどの関与が示唆されているが^{3,6)}, その病態はまだ明らかにされていない。

一方, これまでに我々は, Angiotensin II (Ang II) 刺激による Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路: Extracellular signal-regulated kinase (ERK) の

活性化を介した副腎皮質 Aldo 産生機序について報告し, Bone Morphogenetic Protein (BMP) -6 が Smad 1,5,8 を介して ERK 活性化を増強して Aldo 産生を刺激することを明らかにした^{7,8)}。

そこで我々は本研究において, ヒト副腎皮質細胞 H295R を用いて, Ang II 刺激下での Aldo 産生に及ぼす ARB (Candesartan: 以下 CV) の長期的な影響について検討し, 1) Aldo 分泌抑制からのエスケープ現象の有無と, 2) その発生機序における BMP-6 の関与について検討した。

副腎皮質細胞 H295R におけるアルドステロンブレイクスルー現象

AT2 受容体を欠き, Aldo 産生能を有するヒト副腎皮質細胞株である H295R を用いて検討した。24時間での Aldo 産生に対する影響の検討では, Ang II 刺激により濃度反応性に Aldo 産生を促進し, ARB (CV) 処理によって濃度反応性にこれを抑制した (図 1A)。そして, Ang II = 10 nM に対する CV の IC₅₀ = 1.0 nM

平成22年1月受理

*〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-7235 FAX: 086-222-5214

E-mail: tm_ocean@hotmail.com

プロフィール



大谷 寛之

昭和52年1月4日生

平成14年3月 岡山大学医学部卒業

平成19年6月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科修了

平成19年7月 岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科 研修登録医

平成19年10月 岡山大学病院 腎・免疫・内分泌代謝内科 医員

平成20年10月 岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科 研修登録医

現在に至る

の条件で、検討を行った。

ARB 長期処理下での Aldo 蓄積量の経時的变化を見ると、Ang II 刺激による Aldo 産生を抑制する ARB の作用は、培養13-15日で減弱した (図 1 B)。また Ang II, ARB 連日処理による24時間の Aldo 産生能を経時的に見ると、Ang II 刺激による Aldo 産生への ARB の抑制効果は培養7日目から減弱が認められ (図 2 A), また ARB あるいは Ang II を前処理した副腎皮質細胞においても同様の反応が認められた (図 2 B, C)。

これまで *in vivo* においてアルドステロンブレイクスルーが報告されてきたが、以上の結果から細胞レベルにおいてもアルドステロンブレイクスルー現象の可能性が示唆された。

アルドステロンブレイクスルーと BMP-6 の関与

Bone Morphogenetic Protein (BMP) は、異所性骨化を誘導する因子として同定されたが、初期発生における中胚葉の腹側化因子、外胚葉の神経化抑制因子として作動する TGF- β スーパーファミリー分子であり、約20種類のリガンドが報告されている。最近の研

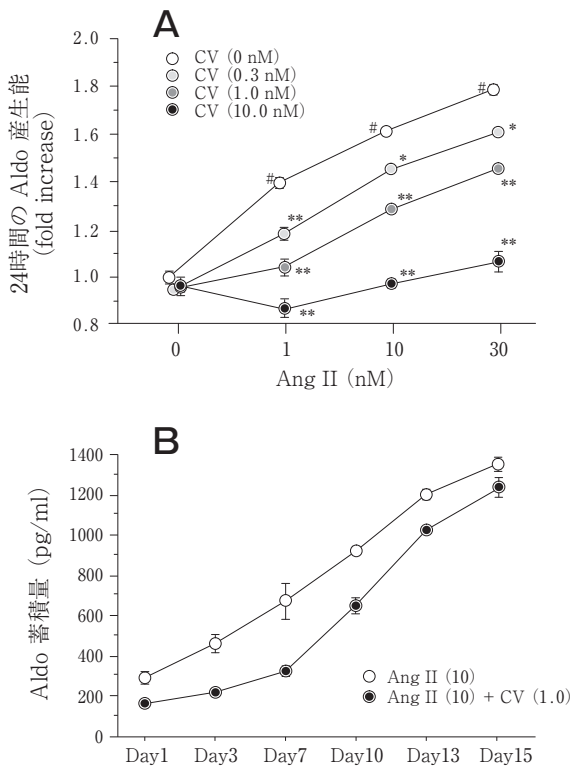


図 1

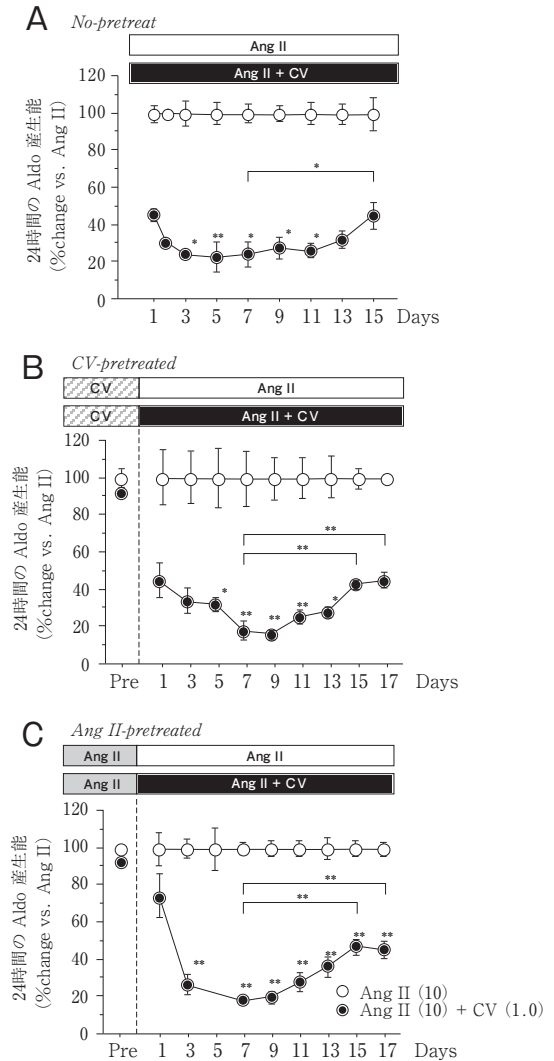


図 2

究では、骨・軟骨組織のみならず、下垂体^{9,10}・甲状腺¹¹・副腎^{7,8}・卵巣¹²⁻¹⁴などの内分泌組織においても様々な生理学的作用が明らかとなってきた。

これまでに我々は、副腎皮質細胞に Activin receptor-like kinase (ALK) -2, -3, -4・Activin type II receptor (ActR II)・BMP type II receptor (BMPRII) および内因性 BMP-6 が発現しており、副腎皮質細胞における BMP システムの存在を報告した⁷。そして Ang II は ERK の活性化を介して副腎皮質での Aldo 産生を刺激しており、さらに BMP-6 は Smad 1,5,8 を介して ERK 活性化を増強することで Aldo 産生を刺激することを報告した⁸。

そこで、まず ARB の慢性刺激による ERK 活性化への影響を Western blot 法を用いて検討した。ARB の

慢性刺激によっても Ang II による ERK 活性化は抑制されたが, Ang II および BMP-6 による ERK 活性化は ARB 存在下でも維持された (図 3). これは BMP-6 が Smad 1,5,8 を介して ERK を活性化するためと考えられた.

BMP 応答性の promoter である BRE を用いた Reporter assay では, 副腎皮質細胞に対する15日間の Ang II の慢性刺激によって BMP シグナルは抑制されたが, ARB の共存下では対照群と同レベルに維持されていた (図 4).

また Ang II および ARB の慢性的な処理でも, 副腎皮質細胞における AT1 受容体発現レベルには影響し

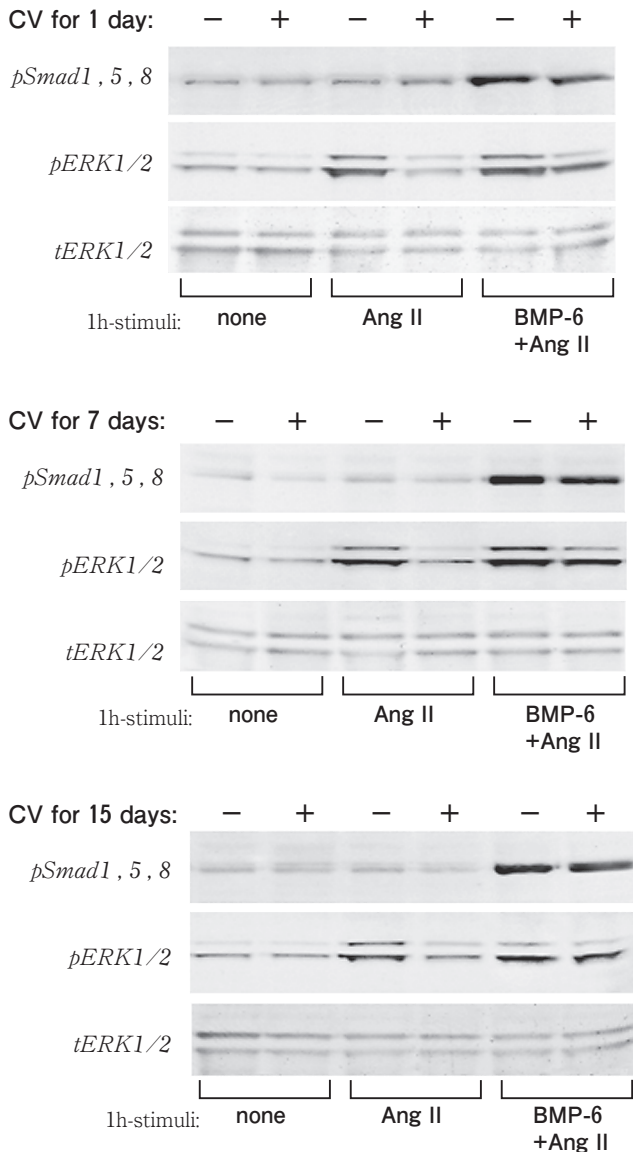


図 3

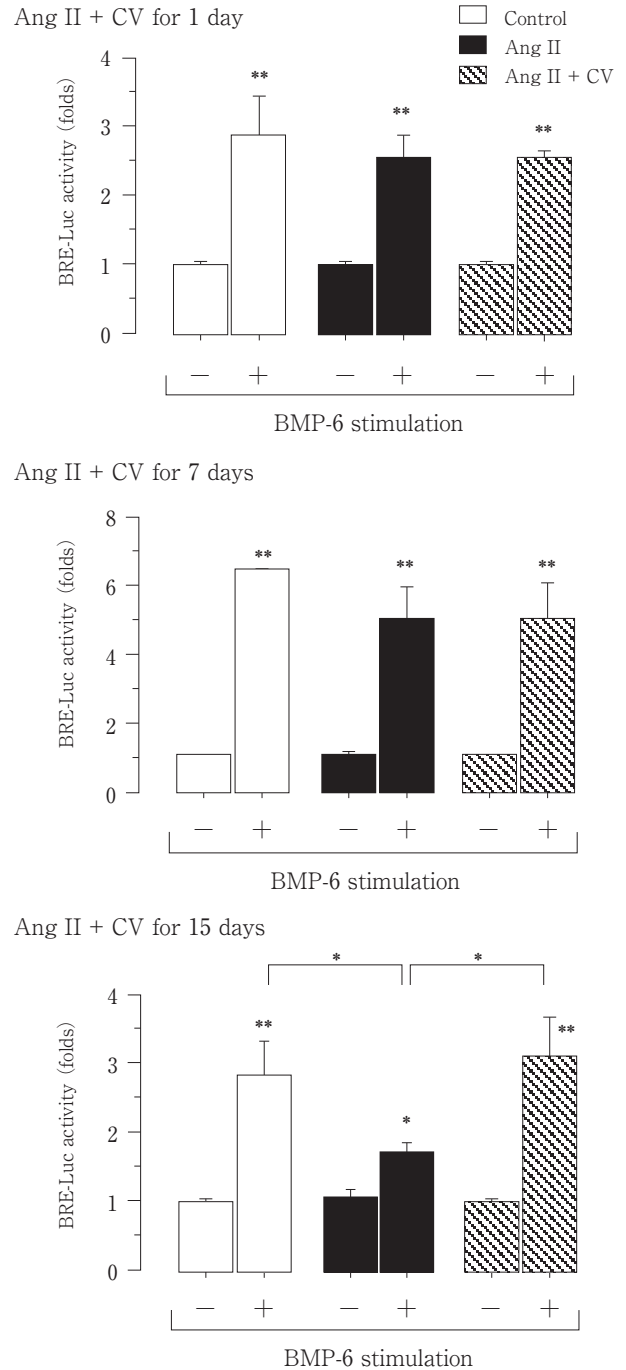


図 4

なかった. 一方, Ang II による CYP11B2 の発現上昇に対する ARB の抑制効果は15日間の慢性的な処理によって減弱した (図 5). また, Ang II の慢性刺激により BMP-6 およびその受容体である ALK-2・ActR II の発現レベルは減少したが, ARB の存在下ではこれらの抑制は解除された (図 6).

さらに, BMP-6 type I receptor である ALK-2 の

細胞外ドメインおよびBMP-6の中和抗体で処理すると、ARBによるブレイクスルー現象は減弱した(図7)。

以上の結果から、BMP-6は、Ang IIによるERK活性化を増強してAldo産生を促進するが、Ang IIの長期刺激により副腎皮質におけるBMP-6システムは抑制されると考えられた。これに対して、ARBの慢性投与では、副腎皮質細胞において本来抑制されるべき「Ang IIによるBMP-6システムの抑制」が解除されることにより、Aldo産生抑制が減弱する可能性が示唆された(図8)。

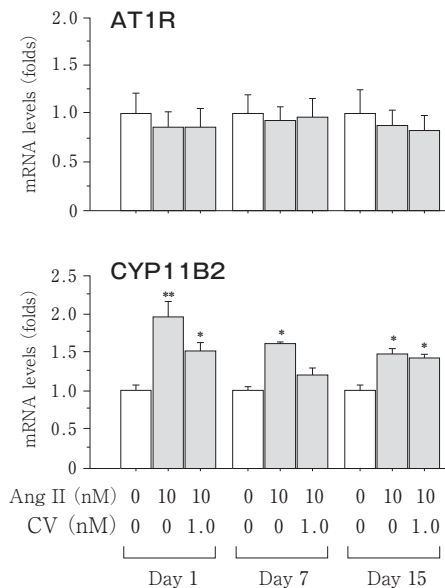


図5

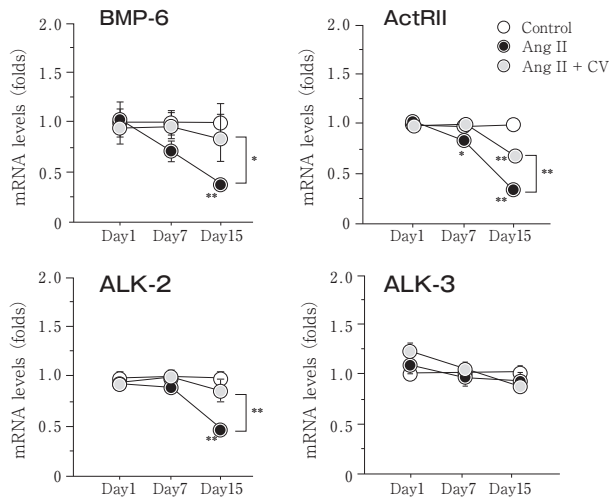


図6

まとめ

副腎皮質細胞レベルにおいても、AT1受容体の慢

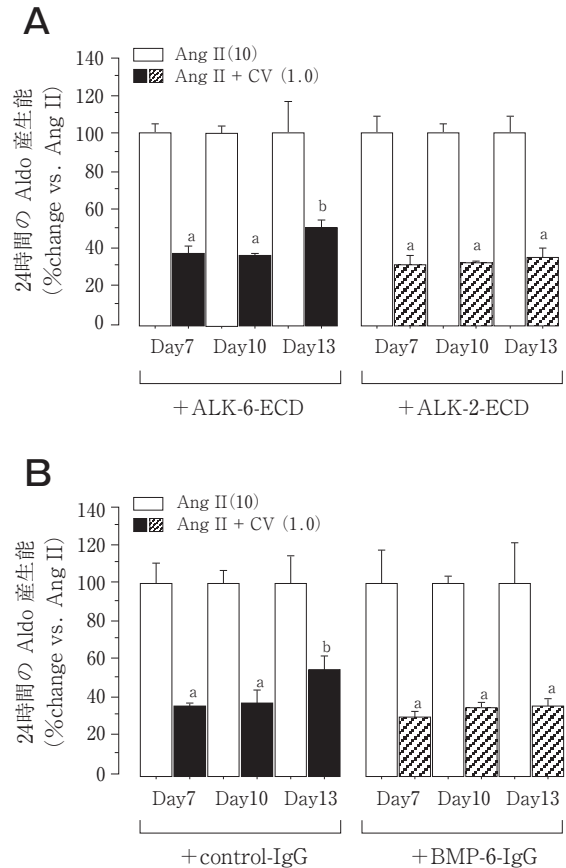


図7

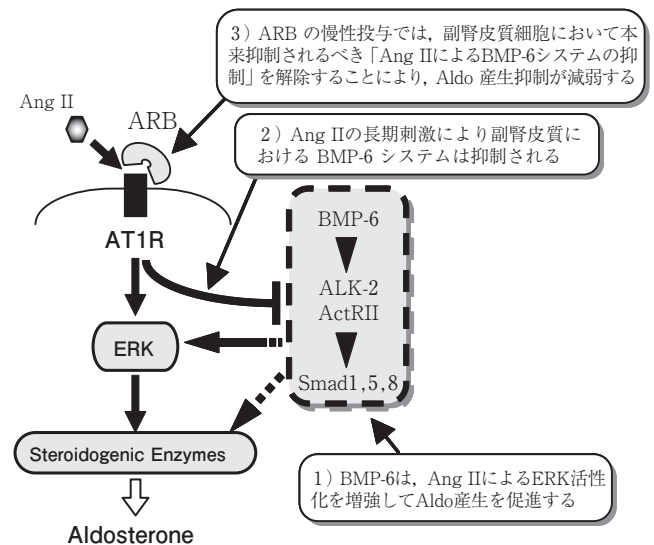


図8

性的な抑制によるアルドステロンブレイクスルーの存在が示唆された。また BMP-6 は Ang II による副腎皮質の Aldo 分泌を MAPK シグナルを介して増強することから、内因性 BMP-6 の bioavailability の変化がアルドステロンブレイクスルー現象の発生に寄与している可能性が考えられた。

謝 辞

今回の砂田賞受賞にあたり榎野博史教授、大塚文男准教授、稲垣兼一先生、鈴木二郎先生、加納義浩先生に多大なる御指導を賜りましたことを、この場をお借りして深謝申し上げます。

文 献

- 1) Staessen J, Lijnen P, Fagard R, Verschueren LJ, Amery A : Rise in plasma concentration of aldosterone during long-term angiotensin II suppression. *J Endocrinol* (1981) 91, 457-465.
- 2) Lijnen P, Staessen J, Fagard R, Amery A : Increase in plasma aldosterone during prolonged captopril treatment. *Am J Cardiol* (1982) 49, 1561-1563.
- 3) Naruse M, Tanabe A, Sato A, Takagi S, Tsuchiya K, Imaki T, Takano K : Aldosterone breakthrough during angiotensin II receptor antagonist therapy in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* (2002) 40, 28-33.
- 4) Sato A, Saruta T : Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in essential hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *J Int Med Res* (2001) 29, 13-21.
- 5) Sato A, Hayashi K, Naruse M, Saruta T : Effectiveness of aldosterone blockade in patients with diabetic nephropathy. *Hypertension* (2003) 41, 64-68.
- 6) Sato A, Saruta T : Aldosterone breakthrough during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. *Am J Hypertens* (2003) 16, 781-788.
- 7) Suzuki J, Otsuka F, Inagaki K, Takeda M, Ogura T, Makino H : Novel action of activin and bone morphogenetic protein in regulating aldosterone production by human adrenocortical cells. *Endocrinology* (2004) 145, 639-649.
- 8) Inagaki K, Otsuka F, Suzuki J, Kano Y, Takeda M, Miyoshi T, Otani H, Mimura Y, Ogura T, Makino H : Involvement of bone morphogenetic protein-6 in differential regulation of aldosterone production by Angiotensin II and potassium in human adrenocortical cells. *Endocrinology* (2006) 147, 2681-2689.
- 9) Takeda M, Otsuka F, Suzuki J, Kishida M, Ogura T, Tamiya T, Makino H : Involvement of activin/BMP system in development of human pituitary gonadotropinomas and nonfunctioning adenomas. *Biochem Biophys Res Commun* (2003) 306, 812-818.
- 10) Otsuka F, Shimasaki S : A novel function of bone morphogenetic protein-15 in the pituitary : selective synthesis and secretion of FSH by gonadotropes. *Endocrinology* (2002) 143, 4938-4941.
- 11) Suzuki J, Otsuka F, Takeda M, Inagaki K, Miyoshi T, Mimura Y, Ogura T, Doihara H, Makino H : Functional roles of the bone morphogenetic protein system in thyrotropin signaling in porcine thyroid cells. *Biochem Biophys Res Commun* (2005) 327, 1124-1130.
- 12) Otsuka F, Yao Z, Lee TH, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S : Bone morphogenetic protein-15 : Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem* (2000) 275, 39523-39528.
- 13) Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF : The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr Rev* (2004) 25, 72-101.
- 14) Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S : Biological function and cellular mechanism of bone morphogenetic protein-6 in the ovary. *J Biol Chem* (2001) 276, 32889-32895.