

Title	Dietary salt with nitric oxide deficiency induces nocturnal polyuria in mice via hyperactivation of intrarenal angiotensin II-SPAK-NCC pathway
Author(s)	関井, 洋輔
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87908
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	関井洋輔
論文題名 Title	Dietary salt with nitric oxide deficiency induces nocturnal polyuria in mice via hyperactivation of intrarenal angiotensin II-SPAK-NCC pathway (NO欠乏下での塩分過剰摂取は腎臓内アンジオテンシンII-SPAK-NCC経路の過剰活性化を介し、マウスの夜間多尿をひき起こす)
論文内容の要旨(Abstract of Thesis)	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>夜間多尿の病態解明、治療法開発には動物モデルを用いた基礎研究が必須である。しかしヒトの夜間多尿を模した夜間多尿動物モデルは確立されていない。近年、塩分摂取に伴い夜間多尿指数が増加することが注目されている。しかし、塩分摂取量は年代で差を認めないが夜間多尿指数は老化とともに悪化することから、我々は老化が塩分摂取量と夜間多尿の関係に影響を与えると考えた。老化に伴うNO(nitric oxide)欠乏と高塩分食の組合せが夜間多尿を引き起こすとの仮説を立て、動物モデルの確立と病態解明を目指した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/ Results)〕</p> <p>19週齢C57BL6/J雄マウスをL-NAME(NO合成酵素阻害薬)投与の有無と標準食(NSD, normal salt diet)もしくは1%高塩分食(HSD, high salt diet)でNSD群、HSD群、L-NAME群、L-NAME+HSD群の4群に分類し、以下の項目を検討した。1. マウスの排尿記録を元に、ヒトの夜間多尿指数に相当する非活動期尿指数(DPi, Diurnal Polyuria index=非活動期尿量/1日尿量)を算出した。2. 尿中Na排泄量を代謝ケージで蓄尿し測定した。3. 遠位尿細管のNCC (Na⁺-Cl⁻-共輸送体)、NCCの上流に存在するSPAK、集合管ENaCのタンパク量をwestern blotで評価した。4. 全身RAS系(レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系)の活性を血清アルドステロンで評価した。腎臓の尿細管間質にはSPAK-NCC経路を制御する一因子であるアンジオテンシンIIを生成するのに必要な要素が存在し、その基質であるアンジオテンシノーゲンが腎局所のRAS系活性を表すため、アンジオテンシノーゲンをwestern blotで評価した。</p> <p>1. DPiは0.12、0.13、0.23、0.29(NSD、HSD、L-NAME、L-NAME+HSD)でL-NAME+HSD群でL-NAME群と比較して有意に増加した(P<0.01)。2. 活動期尿中Na排泄量(mEq)は0.11、0.20、0.10、0.16でありL-NAME投与により塩分負荷時の尿中Na排泄の増加は抑制された(P<0.05)。3. 尿中Na排泄の制御に重要な働きをする腎NCCの活性型であるリン酸化NCCはL-NAME投与により塩分負荷時の発現の低下を認めなかった。リン酸化SPAKも同様の変化であり、LNAME投与によりSPAK-NCC経路が過剰活性化することが示唆された。ENaCは4群で差を認めなかった。4. 血清アルドステロン値はL-NAME投与の有無に関わらず塩分負荷すると抑制されるのに対し、アンジオテンシノーゲンはL-NAME投与下で抑制されないことが示唆された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>NO欠乏と高塩分食を組み合わせることで新規夜間多尿動物モデルの確立に成功した。本モデルの夜間多尿の病態は腎臓内RAS系-SPAK-NCC経路の過剰活性化による活動期尿中Na排泄の低下と考えられた。腎臓内RAS系-SPAK-NCC経路は夜間多尿の有望な治療ターゲットと考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 関井 洋輔

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 野々村 祐夫
	副 査	大阪大学教授 木村 正
	副 査	大阪大学教授 奥村 宏典

論文審査の結果の要旨

夜間多尿の病態解明、治療法開発には動物モデルを用いた基礎研究が必須である。我々は加齢に伴うNO低下と高塩分食の組合せが夜間多尿を引き起こすとの仮説をたてた。この仮説をもとに新規夜間多尿動物モデルを確立し、さらにその病態解明を目指した。19週齢C57BL6/J雄マウスをL-NAME(NO合成酵素阻害薬)投与の有無で分け、さらに標準食(normal salt diet, NSD)もしくは1%高塩分食(high salt diet, HSD)の組合せでNSD群、HSD群、L-NAME群、L-NAME+HSD群の4群に分類し、以下の4つの項目を比較検討した。1. 非活動期尿指数DPi(非活動期尿量/1日尿量)、2. 活動期の尿中Na排泄量3. 活動期の遠位尿細管SPAK、NCC、集合管ENaCのタンパク量 4. 全身と腎局所のRAS系活性

1. DPiは0.12、0.13、0.23、0.29(NSD、HSD、L-NAME、L-NAME+HSD)でL-NAME+HSD群で有意に増加した。2. 活動期尿中Na排泄量(mEq)は0.106、0.200、0.104、0.158でL-NAME投与により塩分負荷時の活動期尿中Na排泄が抑制された。3. NCCの活性0.993、0.680、0.862、0.779とL-NAME+HSD群はL-NAME群と比較し有意な低下を認めなかった。L-NAME投与により塩分負荷時にNCCが過剰活性化することが示唆された。ENaCの活性は4群で有意な変化を認めなかった。4. 全身のRAS系はL-NAME投与の有無に関わらず塩分負荷すると抑制されるのに対し、腎局所のRAS系はL-NAME投与下に塩分負荷すると抑制されないことが示唆された。新規夜間多尿動物モデルの確立に成功した。本モデルの夜間多尿の病態は、腎臓内RAS-SPAK-NCC経路の過剰活性化による活動期Na排泄の低下と考えられた。腎臓内RAS-SPAK-NCC経路は夜間多尿の有望な治療ターゲットと考えられた。上記の研究により学位の授与に値すると考えられる。