

偽性低アルドステロン症Ⅱ型

森 崇寧 内田 信一

はじめに

偽性低アルドステロン症 (pseudohypoaldosteronism ; PHA) は 2 つの型に分類される。Ⅰ型 (PHA I) は常染色体優性もしくは劣性遺伝形式をとり、新生児期より発症する疾患で、低ナトリウム血症、高カリウム血症、高クロール性代謝性アシドーシスをきたす。また、血中レニンおよびアルドステロンは高値をとる。その病因としてミネラルコルチコイド受容体 (mineralocorticoid receptor : MR) や上皮型ナトリウムチャネル (epithelial sodium (Na^+) channel : ENaC) の遺伝子異常が同定されている。他方、Ⅱ型 (PHA II) は主に常染色体優性遺伝形式をとる疾患で、高カリウム血症、代謝性アシドーシスに加え高血圧を呈することが特徴である。1964 年に Paver らにより家族性高カリウム性高血圧症 (familial hyperkalemic hypertension : FHHT) として初めて報告され¹⁾、その後 1970 年に Gordon らにより記載されたことから、別名 Gordon 症候群とも呼ばれる。また、Gordon らは腎でのナトリウム再吸収増加が PHA II の本態であるとも報告した^{2,3)}。PHA II では一般に血漿レニン活性および血中アルドステロンも正常から低値を示し、高血圧、塩貯留症状を呈する (塩喪失症状を伴わない) ことからⅠ型と異なり、真の意味では偽性低アルドステロン症の定義にはあてはまらないとも言える。近年、その病因としてセリン・スレオニンキナーゼファミリーである WNK キナーゼのうち WNK1 と WNK4 の遺伝子異常が同定された。本稿では PHA II の病態に関して分子レベルから解説するとともに、腎における電解質出納の新たなメカニズムとしての WNK キナーゼの意義、さらに遺伝性・塩感受性高血圧症の病因・病態生理、WNK キナーゼと臨床に関する最新の知見にも焦点を当て解説する。

PHA II の疫学

常染色体優性遺伝形式をとる家族発症が主であるが孤発例も存在する。現在、世界で約 50 例、本邦では家族発症 1 家計、孤発例 1 例の報告があるに過ぎず、稀な疾患である。男女比は男 : 女 \approx 2 : 1 とやや男性に多い。

臨床所見

腎臓からのカリウム排泄障害により 10~20 歳代で高カリウム血症が必発で、その後ほとんどの症例で高血圧を呈する。また高クロール性代謝性アシドーシスを合併する。血漿レニン活性は NaCl 貯留傾向を反映して低下していることが多く、アルドステロンも抑制されているべきであるが、カリウム上昇の影響もあって見かけ上正常値となっていることもある。腎糸球体機能および副腎機能は一般に正常である。慢性的な高カリウム血症、アシドーシスの影響から低身長、歯や骨の奇形、精神発達遅滞などを合併する場合がある。サイアザイド系利尿薬投与により高血圧のみならず、高カリウム血症、アシドーシスも改善されることが特徴である。

病因としての WNK 変異

1. WNK キナーゼ

PHA II の患者ではサイアザイド系利尿薬が効果的であることから、従来その標的分子である Na^+/Cl^- 共輸送体 (NCC) の遺伝子異常がその原因として考えられていた。しかし 2001 年に Wilson らのグループにより、ポジショナルクローニングを用いて WNK1 と WNK4 の 2 つの遺伝子に異常が同定され、責任遺伝子として注目されるようになった⁴⁾。WNK キナーゼは、セリン・スレオニンキナーゼファミリーの一つであり、キナーゼの catalytic ドメイン中

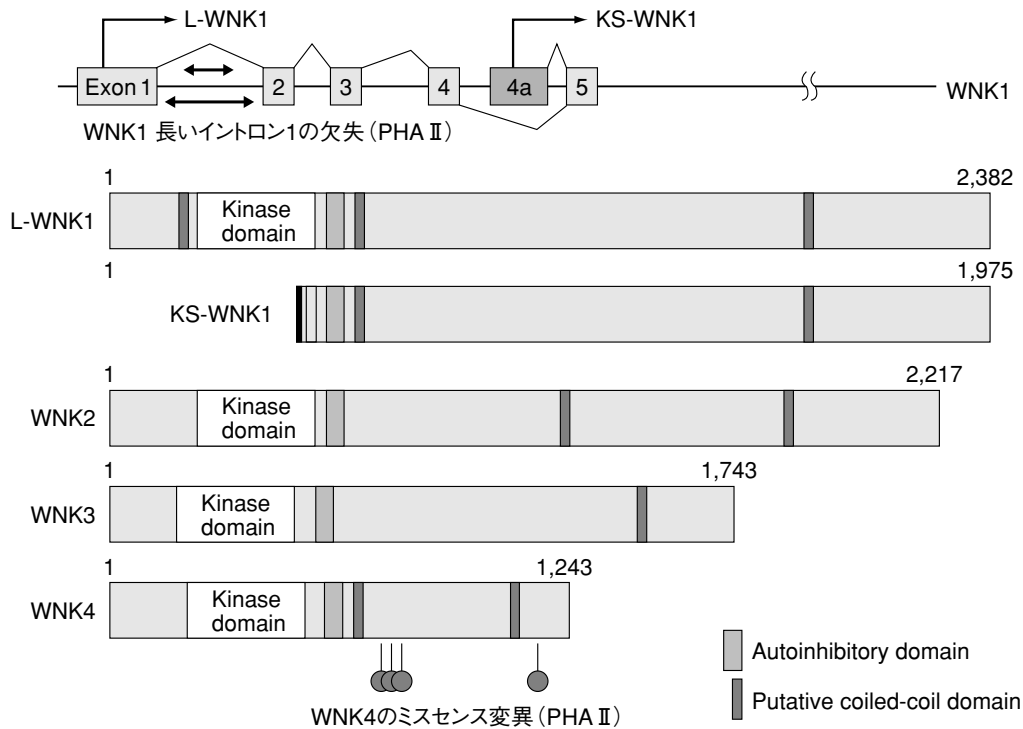


図 1 WNK キナーゼの構造と PHA II における変異
L-WNK1: 全長型 WNK1, KS-WNK1: 腎臓特異的 WNK1

の保存されているリジン(K)残基がシステインに置き換わっているため、With No Lysine(K)kinase と命名された⁵⁾。図 1 に WNK キナーゼの構造を示した。現在、哺乳類では WNK1~4 の 4 種類の WNK キナーゼが同定されている。これらは互いに kinase catalytic ドメインに相同性があり、2つの coiled-coil ドメイン、2つのフェニルアラニン残基をもつ autoinhibitory ドメイン、短い acidic ドメインをもっている。現在までのところ、WNK2, WNK3 のヒトの疾患における遺伝子異常の報告はない。

2. PHA II と WNK 変異

PHA II 患者では WNK1 および WNK4 の 2 つの遺伝子に異常が同定されている⁴⁾。WNK1 変異は長いイントロン 1 の欠損であり、WNK4 は 4 種類のミスセンス変異であった(図 1)。

1) WNK4 変異

WNK4 における 4 つのミスセンス変異のうち 3 つの変異が前半の coiled-coil ドメイン近傍に集中していた。他の 1 つも coiled-coil ドメイン近傍にあることから、これらの変異により他の蛋白との結合が変化することでキナーゼとしての機能変化を起こすことが推測された。また、WNK キナーゼが腎臓の輸送体、特に NCC に対してどのような制御をかけるかについて種々の検討がなされた。当初より

アフリカツメガエル卵母細胞への強制発現実験などから、WNK4 は NCC の負の制御因子であるとする説^{6,7)}が唱えられているが、われわれはより正確な病態生理の把握には *in vivo* での解析が必要不可欠と判断し、ヒトの変異と同じ変異を持つ WNK4D561A ノックインマウスを作製し解析を行った。このマウスはヘテロ接合体、つまり片方の遺伝子座に変異を持つだけで、通常食下で高カリウム血症、アシドーシス、高血圧症を示し、そのすべての症候がサイアザイド系利尿薬投与で是正され、優性遺伝形式のヒト PHA II モデルマウスであることが確認された⁸⁾。このマウスを用いて分子病態を解析するにあたり、まず第一に NCC に焦点を当てた。ウェスタンブロットでも免疫染色像でも、NCC はノックインマウスで増加していた。また、同時期に WNK の生理的な基質として OSR1/SPAK というやはりセリン・スレオニンキナーゼが同定された⁹⁾。われわれは WNK4 がこの OSR1/SPAK を活性化し、それがさらに NCC をリン酸化して活性化させているというカスケードを証明した(WNK-OSR1/SPAK-NCC カスケード)。つまり、PHA II 患者では WNK4 変異によりこのカスケードを介した NCC の機能亢進状態があり、ナトリウム再吸収増加からの高血圧症を呈していると判明したのである。われわれはさらに、野生型 WNK4 の生理的機能を解明するため

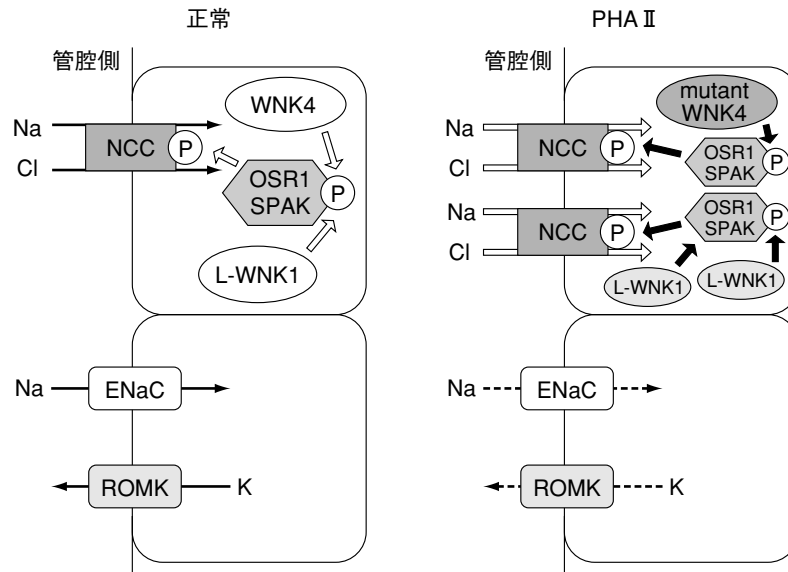


図 2 遠位尿細管における PHA II の病態生理

WNK4 ノックアウトマウスの作製を行った。完全な WNK4 ノックアウトのホモ接合体は致死的であるため、キナーゼ活性の減弱した hypomorphic mice を作製し解析を行った¹⁰⁾。結果、このマウスでは低血圧や塩喪失、OSR1/SPAK, NCC リン酸化の低下がみられ、野生型 WNK4 はこのカスケードにおいて正の制御因子であることを示した。この結果は、WNK4 は NCC に対する負の制御因子で、WNK4 変異によりこの制御が外れて NCC 機能が亢進するとしていた従来の他の研究グループとは異なる結果であった。さらに最近われわれは、OSR1 および SPAK キナーゼを不活化したノックインマウスに PHA II 病態モデルである WNK4D561A ノックインマウスを交配させたトリプルノックインマウスを作製し、腎臓における NCC のリン酸化と PHA II の症状について検討した。その結果、NCC リン酸化および PHA II の症状は OSR1 および SPAK の活性に完全に依存していることも示した (J Cell Sci. in press)。また、最近作製した SPAK ノックアウトマウスでは、NCC が抑制され Gittelman 症候群様、つまり PHA II と mirror image の表現型を示すことも示され¹¹⁾、key molecule としての根拠をさらに強める結果であった。

PHA II における高カリウム血症に関しては、図 2 に示すように、遠位尿細管で活性化した NCC が多くのナトリウムを再吸収してしまうため、その下流の ENaC からのナトリウム流入量が減少し、ENaC に機能依存しているカリウムチャネル (ROMK) を介しての K^+ および H^+ の分泌が低下するために高カリウム血症が起こることも示した⁸⁾。野

生型マウスを高塩食下におくと、通常この WNK-OSR1/SPAK-NCC カスケードは抑制されるが、変異 WNK4 ノックインマウスではその抑制がみられなかった。すなわち、このことが PHA II で持続的にナトリウム再吸収が増加している原因となっていると考えられた。さらに、高塩食によってこのカスケードを抑制した状態でも外因性にアルドステロンを投与するとこの系は活性化され、逆に低塩食により系が賦活化された状態でもスピロラクトンで抑制されることがわかり、アルドステロンがこの系の上流にあることを明らかにした¹²⁾。従来の ENaC を介したアルドステロン作用経路に加えて、この系も腎臓でのアルドステロン機能発現系であることが明らかとなった。

2) WNK1 変異

冒頭でも述べた通り、PHA II における WNK1 変異は、長いイントロン 1 の欠失であった。イントロン 1 には WNK1 遺伝子の発現量を制御する領域が存在していると考えられており¹³⁾、その欠失により WNK1 の発現量が変化すると推測された。事実、PHA II 患者白血球からの逆転写 PCR 法では WNK1 の発現量は 5 倍程度増加しており⁴⁾、また、イントロン 1 の欠損を再現した PHA II 病態モデルマウスにおいても、WNK1 発現量の増加を認めた¹⁴⁾。図 1 に示したように、WNK1 には全長型 WNK1 (L-WNK1) と、キナーゼドメインを欠如した腎臓特異的 WNK1 (KS-WNK1) が存在するとされている。L-WNK1 は全身にユビキタスに、とりわけ腎臓では低いレベルで広く発現している一方、KS-WNK1 は遠位尿細管 (distal convoluted tubule : DCT) に限局

して発現していることが *in situ* hybridization 法により示された¹³⁾。図2に示したように L-WNK1 は WNK4 同様に SPAK および OSR1 をリン酸化し NCC を活性化すると考えられている^{9,15,16)}ため、PHA II 患者における L-WNK1 発現量の増加はナトリウム再吸収増加、高血圧症の主要因となっていることが理解できる。他方、KS-WNK1 は図1に示したごとく、キナーゼドメインを欠如している以外には基本的に L-WNK1 と同じ構造を持つため、dominant negative effect により L-WNK1 に対して競合的に作用するといわれている¹⁷⁾。KS-WNK1 に関して、最近フランスのグループによりそのノックアウトマウスが作製された¹⁸⁾。本来 L-WNK1 に対して競合的に作用するはずの KS-WNK1 が欠損した場合、抑制のとれた L-WNK1 がさらに賦活されるという発想に基づき、確かにこのマウスではタンパク質レベルで NCC およびリン酸化(p)NCC の発現量増加が認められた。しかし一方で NCC の下流に存在する ENaC の発現量は低下していた。これは代償性変化とも考えられるが、従来 L-WNK1 は ENaC に対しても正の制御因子であるという説¹⁹⁾も唱えられていただけに、KS-WNK1 の解釈には注意が必要である。この KS-WNK1 の存在意義を含め、腎の膜輸送体に対する WNK1 の作用機序についてはいまだ統一見解のない部分も多く、更なる検証が必要であると考えられる。

3. WNK キナーゼと臨床

WNK 変異の意義は、この PHA II という稀な疾患の病因遺伝子という限定された範囲にとどまらない。この遺伝子変異が発見された当初より、単一遺伝子異常により高血圧を呈するという重要な特徴に注目が集められていた。近年、米国やカナダに居住するドイツ系移民集団アーミッシュにおける血圧と遺伝子変異の検討で、高血圧傾向のヒトに SPAK 変異が関与していたとする報告²⁰⁾や、新疆ウイグル自治区に居住するカザフ民族の検討では、一般高血圧集団群で WNK4 の一塩基多型変異が有意に多く起こっていたことが報告された²¹⁾。このことから、本態性高血圧の原因遺伝子の一つとして注目すべきものであると言える。もう一つ注目すべきは、WNK がインスリンシグナルカスケードにも関与していることである。近年話題を集めているメタボリックシンドロームなどに代表されるように、肥満患者では塩分感受性高血圧が多いことが報告されている²²⁾。一方、その詳細なメカニズムは解明されていない。われわれは発症機序が不明であった PHA II 変異の一つである変異 WNK4 R1185C の解析を行い、WNK4 S1190 の過剰なリン酸化が PHA II の原因であることを解明した。さら

に、この WNK4 S1190 のリン酸化がインスリンによって制御されていることを細胞実験で発見した。高インスリン状態のマウス腎臓において WNK4 S1190-OSR1/SPAK-NCC カスケードのリン酸化が亢進することを確認し、インスリンが WNK4-OSR1/SPAK-NCC リン酸化カスケードを制御していることを明らかにした(現在投稿中)。この新規インスリン-WNK4-NCC カスケードは、肥満など高インスリン状態における塩分感受性高血圧症のメカニズムに関与していることが考えられ、今後、更なる検討が期待される領域である。

おわりに

PHA II の遺伝子異常からその病態生理を研究することで、WNK-OSR1/SPAK-NCC を介した新たな電解質出納機構が明らかとなった。日本人の国民病とでも言うべき塩分感受性高血圧症は、腎不全を含めたさまざまな血管疾患の予防という観点からも、重要な治療課題の一つであることは言うまでもない。近年、降圧治療に対する利尿薬の役割が大きく見直され、ARB とサイアザイド系利尿薬の合剤も臨床で広く使用されるに至っている。前述した通り、塩分感受性高血圧には遠位尿管における NCC の機能亢進状態の関与が疑われ、この意味からも高血圧治療に対するサイアザイド系利尿薬の有効性が窺える。最近インスリンと WNK4 との関連性が見出されたように、この遺伝子は血圧以外にも生命維持に重要なシグナルを送っている可能性がある。降圧薬のターゲットのみならず、他の有望な治療薬の発見へつながる可能性があり期待される場所である。

利益相反：申告すべきものなし

文献

1. Paver WK, Pauline GJ. Hypertension and hyperpotassaemia without renal disease in a young male. *Med J Aust* 1964 ; 2 : 305-306.
2. Gordon RD, Geddes RA, Pawsey CG, O'Halloran MW. Hypertension and severe hyperkalaemia associated with suppression of renin and aldosterone and completely reversed by dietary sodium restriction. *Australas Ann Med* 1970 ; 19 : 287-294.
3. Gordon RD. Syndrome of hypertension and hyperkalemia with normal glomerular filtration rate. *Hypertension* 1986 ; 8 : 93-102.
4. Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, et al. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science* 2001 ; 293 : 1107-1112.
5. Xu B, English JM, Wilsbacher JL, et al. WNK1, a novel mam-

- malian serin/threonine protein kinase lacking the catalytic lysine in subdomain II. *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 16795-16801.
6. Wilson FH, Kahle KT, Sabath E, et al. Molecular pathogenesis of inherited hypertension with hyperkalemia : the Na-Cl cotransporter is inhibited by wild-type but not mutant WNK4. *Proc Natl Acad Sci* 2003 ; 100 : 680-684.
 7. Lalioti MD, Zhang J, Volkman HM, et al. Wnk4 controls blood pressure and potassium homeostasis via regulation of mass and activity of the distal convoluted tubule. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 1124-1132.
 8. Yang SS, Morimoto T, Rai T, et al. Molecular pathogenesis of pseudohypoaldosteronism type II : generation and analysis of a Wnk4 (D561A/+) knockin mouse model. *Cell Met* 2007 ; 5 : 331-344.
 9. Vitari AC, Deak M, Morrice NA, Alessi DR. The WNK1 and WNK4 protein kinases that are mutated in Gordon's hypertension syndrome phosphorylate and activate SPAK and OSR1 protein kinases. *Biochem J* 2005 ; 391 : 17-24.
 10. Ohta A, Rai T, Yui N, et al. Targeted disruption of the Wnk4 gene decreases phosphorylation of Na-Cl cotransporter, increases Na excretion and lowers blood pressure. *Hum Mol Genet* 2009 ; 18 : 3978-3986.
 11. Yang SS, Lo YF, Wu CC, et al. SPAK-knockout mice manifest Gitelman syndrome and impaired vasoconstriction. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 : 1868-1877.
 12. Chiga M, et al. Dietary salt regulates the phosphorylation of OSR1/SPAK kinases and the sodium chloride cotransporter through aldosterone. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 1403-1409.
 13. Delaloy C, Lu J, Houot AM, et al. Multiple promoters in the WNK1 gene : one controls expression of a kidney-specific kinase-defective isoform. *Mol Cell Biol* 2003 ; 23 : 9208-9221.
 14. Delaloy C, Elvira-Matelot E, Clemessy M, et al. Deletion of WNK1 first intron results in misregulation of both isoforms in renal and extrarenal tissues. *Hypertension* 2008 ; 52 : 1149-1154.
 15. Zagórska A, et al. Regulation of activity and localization of the WNK1 protein kinase by hyperosmotic stress. *J Cell Biol* 2007 ; 176 : 89-100.
 16. Richardson C, Rafiqi FH, Karlsson HK, et al. Activation of the thiazide-sensitive Na⁺-Cl⁻ cotransporter by the WNK-regulated kinases SPAK and OSR1. *J Cell Sci* 2008 ; 121 : 675-684.
 17. Subramanya AR, Yang CL, Zhu X, et al. Dominant-negative regulation of WNK1 by its kidney-specific kinase-defective isoform. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006 ; 290 : F619-624.
 18. Hadchouel J, Soukaseum C, Büsst C, et al. Decreased ENaC expression compensates the increased NCC activity following inactivation of the kidney-specific isoform of WNK1 and prevents hypertension. *Proc Natl Acad Sci* 2010 ; 107 : 18109-18114.
 19. McCormick JA, Yang CL, Ellison DH. Hypertension. WNK kinases and renal sodium transport in health and disease : an integrated view. *Hypertension* 2008 ; 51 : 588-596.
 20. Wang Y, O'Connell JR, McArdle PF, et al. From the Cover : Whole-genome association study identifies STK39 as a hypertension susceptibility gene. *Proc Natl Acad Sci* 2009 ; 106 : 226-231.
 21. Cao F, Zhang H, Wang F, et al. Association of the C1155547T polymorphism in WNK4 gene with essential hypertension in Xinjiang Kazakhs. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2010 ; 27 : 546-549.
 22. Chen J, Gu D, Huang J, et al. Metabolic syndrome and salt sensitivity of blood pressure in non-diabetic people in China : a dietary intervention study. *Lancet* 2009 ; 373 (9666) : 829-835.