

9544 ステロイドホルモンによるナトリウムポンプ遺伝子の発現、制御

助成研究者：武藤 重明 (自治医科大学 医学部)

共同研究者：江幡 理 (自治医科大学)

大高 亮彦 (自治医科大学)

根本 遵 (自治医科大学)

グルココルチコイド、ミネラルコルチコイドの血管組織ナトリウムポンプ遺伝子の作用機序を検討するため、血管平滑筋細胞でのデキサメサゾン (DEX)、アルドステロン (ALDO) のNa, K-ATPase α 1鎖、 β 1鎖mRNAの発現、制御をNorthern blot法を用いて解析した。DEX (10^{-6} M) 投与により、 α 1鎖mRNAは24時間後をピークに2.5倍に、 β 1鎖mRNAは12時間後をピークに9.9倍に増加した。ALDO (10^{-6} M) 投与でも α 1鎖mRNAは48時間後をピークに2.7倍に、 β 1鎖mRNAは6時間後をピークに10.9倍に増加した。DEX投与後の α 1鎖、 β 1鎖mRNAの発現は濃度依存性に増加し、 EC_{50} は α 1鎖、 β 1鎖ともに $5\text{-}7 \times 10^{-9}$ Mであった。ALDO投与後の α 1鎖、 β 1鎖mRNAの発現も濃度依存性に増加し、 EC_{50} は α 1鎖、 β 1鎖ともに $2\text{-}3 \times 10^{-9}$ Mであった。DEXによる β 1鎖mRNAの発現はグルココルチコイド受容体拮抗薬であるRU38486により抑制されたが、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるspironolactoneでは抑制されなかった。ALDOによる β 1鎖mRNAの発現はグルココルチコイド受容体拮抗薬であるRU38486、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるspironolactoneにより抑制された。細胞外Naの除去やNa/H exchangeの阻害薬 (ethylisopropylamiloride) の投与により、DEXによる β 1鎖mRNAの発現は影響されなかったが、ALDOによる β 1鎖mRNAの発現は抑制された。以上より、1) DEX、ALDOともに時間依存性、濃度依存性に α 1鎖、 β 1鎖mRNAの発現を刺激する、2) DEXによる β 1鎖mRNAの発現はグルココルチコイド受容体のみを介して起るのに対し、ALDOによる β 1鎖mRNAの発現はグルココルチコイド受容体、ミネラルコルチコイド受容体を介して起る、3) DEXによる β 1鎖mRNAの発現は細胞外液Na非依存性に起るのに対し、ALDOによる β 1鎖mRNAの発現の一部は細胞外液Na依存性機序、特にNa/H exchangeの活性化を介して起る、ことが明らかになった。

9544 ステロイドホルモンによるナトリウムポンプ遺伝子の発現、制御

助成研究者：武藤 重明（自治医科大学 医学部）

共同研究者：江幡 理（自治医科大学）

大高 亮彦（自治医科大学）

根本 遵（自治医科大学）

1. 研究の目的

Na, K-ATPaseはATPの水解により生じたエネルギーを利用して、細胞内のNa、K濃度を調節している膜酵素蛋白である。どの細胞にも存在するが細胞により機能は異なり、血管平滑筋細胞（VSMC）においては、血管の収縮、弛緩や増殖に重要な役割を担っている（1）。本酵素は α 鎖（ $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ ）および β 鎖（ $\beta 1$ 、 $\beta 2$ ）の二つのサブユニットより構成されるが、血管においては $\alpha 1$ 鎖、 $\beta 1$ 鎖が主要アイソフォームである。

一方、グルココルチコイドやミネラルコルチコイドは腎臓（2）や大腸（3）において、type I ミネラルコルチコイド受容体やtype IIグルココルチコイド受容体を介して、Na, K-ATPase活性を刺激し、Na再吸収やK分泌を促進することが知られている。VSMCを含む血管組織においても、これら2種類の受容体が存在する（4）ことから、ステロイドホルモンがNa, K-ATPase活性を刺激し、ステロイド誘発性高血圧症、などの各種病態に関与していることが推測されているが、その詳細な機序は検討されていない。そこで、今回われわれは、グルココルチコイドとしてデキサメサゾン（DEX）、ミネラルコルチコイドとしてアルドステロン（ALDO）を選び、VSMCにおけるこれら二つのステロイドホルモンによるナトリウムポンプ遺伝子の発現、制御の機序を検討したので報告する。

2. 研究の方法

2.1. VSMCの培養

Sprague-Dawleyラット（150-200g）の胸部大動脈より酵素法（5）により中膜平滑筋細胞を単離し、10%ウシ胎児血清（FBS）を含むMEM液にて培養後、継代数4~10代のconfluentの細胞を実験に用いた。ステロイドホルモンの投与はFBS freeのMEM液に置換後48時間目に行った。

2.2. Northern blot

100mmのdishに培養したVSMCからTotal RNAをチオシアン酸グアニジン法（6）にて抽出した。1%アガロースホルムアルデヒドゲルにて電気泳動を行い、ナイロン膜（hybond N, Amersham）に転写した。 $\alpha 1$ 鎖、 $\beta 1$ 鎖遺伝子に特異的ラットcDNAを用いてハイブリダイズした。ナイロン膜を洗浄後（2xSSC、0.1%SDS、室温2回；0.1xSSC、0.1%SDS、45℃1回）、オートラジオグラフィーを行い、mRNAの発現量をデンストメーターにて定量し

た。また、上記ナイロン膜をラット特異的glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) cDNAを用いてハイブリダイズ、オートラジオグラフィーを行い、internal controlとした。

3. 研究結果

3.1. DEX、ALDO投与後の α 1鎖、 β 1鎖mRNAの経時的変化

DEX 10^{-6} M投与後48時間の α 1鎖、 β 1鎖mRNAレベルの経時的変化をFig. 1 (上段は典型例、下段はサマリー)に示す。 α 1鎖mRNAレベルはDEX投与後緩徐に上昇し、24時間後をピークに2.5倍に増加した。一方、 β 1鎖mRNAレベルは投与3時間後より上昇しはじめ、12時間後をピークに9.9倍に達した。その後は緩徐に低下し、48時間後には6.3倍に達した。ALDO 10^{-6} M投与後48時間の α 1鎖、 β 1鎖mRNAレベルの経時的変化をFig. 2 (上段は典型例、下段はサマリー)に示す。 α 1鎖mRNAレベルはALDO投与後緩徐に上昇し、48時間後をピークに2.7倍に増加した。一方、 β 1鎖mRNAレベルは投与3時間後より上昇しはじめ、6時間後をピークに10.5倍に達した。その後は緩徐に低下し、48時間後には4.2倍に達した。

3.2. 濃度依存性

DEXまたはALDOを種々の濃度で12時間投与した後のmRNAレベルのdose-response curveをFig. 3 (A: α 1鎖mRNA; B: β 1鎖mRNA)に示す。DEX、ALDOはともに濃度依存性に α 1鎖、 β 1鎖mRNAの発現を刺激した。EC₅₀はDEXでは α 1鎖、 β 1鎖mRNAともに $5-7 \times 10^{-9}$ Mであるのに対し、ALDOでは $2-3 \times 10^{-9}$ Mであった。

3.3. 蛋白合成阻害薬の作用

DEXまたはALDOによる α 1鎖、 β 1鎖mRNAの発現が蛋白合成を介しているかどうかを、蛋白合成阻害薬であるcycloheximide (CHX)を用いて検討した。CHX (20 μ g/ml)はDEXまたはALDOを投与する30分前に、その後DEXまたはALDO (10^{-6} M)を12時間投与した。結果をFig. 4 (A:DEX、B:ALDO)に示す。CHX単独で α 1鎖mRNAレベルは6.5倍に増加したが、 β 1鎖mRNAレベルは変化しなかった。CHX存在下では、DEXまたはALDOによる α 1鎖mRNA発現刺激作用の増強は観察されなかった。一方、DEXまたはALDOによる β 1鎖mRNA発現刺激作用はCHXの前投与によって抑制されなかった。

3.4. グルココルチコイド受容体拮抗薬またはミネラルコルチコイド受容体拮抗薬の作用

前述のごとく、DEXまたはALDOによる β 1鎖mRNAの発現の程度は α 1鎖mRNAに比し、はるかに大きいので、以後の検討は β 1鎖mRNAについて行った。DEXまたはALDOによる β 1鎖mRNAの増加作用がグルココルチコイド受容体を介しているのか、ミネラルコルチコイド受容体を介しているのかを、グルココルチコイド受容体拮抗薬、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬を用いて検討した。グルココルチコイド受容体拮抗薬であるRU38486 (RU)

(10^{-5} M) またはミネラルコルチコイド受容体拮抗薬である spironolactone (SPR) (10^{-5} M) を DEX または ALDO (10^{-6} M) と同時に12時間投与した時の β 1鎖mRNAの発現、変動を Fig. 5 (A、Bは典型例;Cはサマリー;DはRUの濃度依存性;EはSPRの濃度依存性) に示す。RU単独またはSPR単独投与では β 1鎖mRNAレベルは不変であった。一方、RUはDEXおよびALDOによる β 1鎖mRNA増加作用を完全に抑制した。SPRはDEXによる β 1鎖mRNA増加作用には影響を与えなかったが、ALDOによる β 1鎖mRNA増加作用は部分的に抑制した。

3.5. 細胞内へのNa流入阻止による作用

DEXまたはALDOによる β 1鎖mRNA増加作用が細胞内へのNaの流入を介しているかどうかを、細胞外液Naの除去によって検討した。細胞外液Naの除去はNaをcholineに置換することによって行った。細胞外液Na非存在下、存在下で、DEXまたはALDO (10^{-6} M) を12時間投与した時の β 1鎖mRNAの発現、変動を Fig. 6 (Aは典型例;Bはサマリー) に示す。細胞外液Na非存在下では、controlの β 1鎖mRNAレベルは有意な変化を示さなかった。一方、細胞外液Naの除去はDEXによる β 1鎖mRNAの発現に影響を与えなかったが、ALDOによる β 1鎖mRNAの発現は部分的に抑制した。VSMCでは細胞内へNaの流入は主にNa/H exchange (NHE) を介して起ることが知られている (7)。したがって、DEXまたはALDOによる β 1鎖mRNA発現がNHEを介して起るかどうかを、NHEの特異的阻害薬である ethylisopropylamiloride (EIPA) ($100 \mu\text{M}$) を用いて検討した。EIPA ($100 \mu\text{M}$) 存在下、または非存在下で、DEXまたはALDO (10^{-6} M) を12時間投与した時の β 1鎖mRNAの発現、変動を Fig. 7 (A、Bは典型例;Cはサマリー) に示す。EIPA単独では β 1鎖mRNAは有意な変化を示さなかった。一方、EIPA存在下では、DEXによる β 1鎖mRNAの発現には影響を与えなかったが、ALDOによる β 1鎖mRNAの発現は部分的に抑制された。

4. 考察

本研究はVSMCにおけるDEX、ALDOによるナトリウムポンプ遺伝子の発現、制御の機序を比較検討することを目的とした。DEX、ALDOともに時間依存性、濃度依存性に α 1鎖mRNA、 β 1鎖mRNAの発現を刺激するが、ステロイド受容体、細胞外液Na依存性において、その機序は全く異なっていた。DEXはグルココルチコイド受容体のみを介して β 1鎖mRNAの発現を調節しているのに対し、ALDOはグルココルチコイド受容体、ミネラルコルチコイド受容体の両受容体を介して β 1鎖mRNAの発現を調節していた。また、DEXによる β 1鎖mRNA発現刺激作用は細胞内へのNaの流入とは無関係に出現するのに対し、ALDOによる β 1鎖mRNA発現刺激作用は一部、細胞内へのNaの流入、特にNHEの活性化を介して起ることが明らかとなった。

Fig. 3に示すように、CHX単独で α 1鎖mRNAの発現増強が認められた。同様の所見はラットのliver cell lineでも報告されている (8)。現在、その機序は不明であるが、VSMCでは

$\alpha 1$ 鎖mRNAの発現を抑制する蛋白の存在が推測され、今後検討が必要である。CHX存在下では、DEXまたはALDOは更なる $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現増強は認められなかった。この現象の解釈は少なくとも二つある。一つはステロイドによる $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現はCHXによって抑制された、という解釈である。この場合、ステロイドによる $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現には蛋白合成が必要ということになる。二つ目はCHXによる $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現増強作用が強いため、ステロイドによる $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現がマスクされた、という解釈である。いずれの解釈が正しいかは今後の検討を待たざるをえない。 $\alpha 1$ 鎖mRNAの発現とは対照的に、 $\beta 1$ 鎖mRNAの発現はCHX存在下で全く影響されなかった。このことから、ステロイドによる $\beta 1$ 鎖mRNAの発現は蛋白合成を介さずに出現することが考えられる。

多くの細胞において、細胞内Na濃度がNa, K-ATPase mRNAやNa, K-ATPase活性を調節していることはよく知られている。本研究において、細胞外液のNaを除去することによって、ALDOによる $\beta 1$ 鎖mRNA発現は一部抑制されたが、DEXによる $\beta 1$ 鎖mRNA発現は不変であった。このことから、ALDOによる $\beta 1$ 鎖mRNA発現には一部細胞内へのNaの流入が関与していることが示唆された。同様の所見はウサギ腎皮質集合管でも報告され（9）、ALDOは管腔側膜からのNaの流入を介して基底側膜Na, K-ATPase活性を刺激することが知られている。しかし、ウサギ腎皮質集合管でのNa流入経路は管腔側膜のNa channelであり（9）、VSMCとは異なっている。VSMCではNHEを介して細胞内に入ったNaがNa, K pump活性を調節していることが報告されている（7）。EIPAを用いた実験結果から、ALDOは一部NHEの活性化を介して、 $\beta 1$ 鎖mRNA発現を制御していることが明らかになった。ALDOとは対照的に、EIPAはDEXによる $\beta 1$ 鎖mRNA発現に影響を与えなかった。このことから、DEXによる $\beta 1$ 鎖mRNA発現にはNHEの活性化は関与しないことが示唆された。最近、NHEは種々のアイソフォームがクローニングされている。なかでもVSMCを含むどの細胞にも存在し、細胞内のpHの調節に関与しているのがNHE1である（10）。それに対し、腎（11）、腸管（12）細胞の管腔側膜に主に限局し、経上皮性のNa, H輸送に関与するのがNHE3である。DEXはNHE3を活性化するが、NHE1には影響しない（11、12）。このことはわれわれの結果を指示するものと思われる。

5. 今後の課題

本研究では、二つのステロイドホルモンのナトリウムポンプへの作用をmRNAレベルで行ったが、今後、蛋白レベル、活性レベルにおいても同様の検討を行い、更に詳細な機序を解明していきたい。また、ALDOがVSMCのNHEを活性化することも証明する必要がある。DEXまたはALDOによる $\alpha 1$ 鎖、 $\beta 1$ 鎖mRNA発現刺激作用が転写の亢進によるのか、破壊の遅延によるのか、も検討する必要があるだろう。

6. 文献

1. Fleming, W.W. The electrogenic Na, K-pump in smooth muscle: physiologic and pharmacologic significance. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20:129-149, 1980.
2. El Mernissi, G., and A. Doucet. Short-term effects of aldosterone and dexamethasone on Na-K-ATPase along the rabbit nephron. *Pfluegers Arch.* 399:147-151, 1983.
3. Turnamian, S.G., and H.J. Binder. Regulation of active sodium and potassium transport in the distal colon of the rat. Role of the aldosterone and glucocorticoid receptors. *J. Clin. Invest.* 84:1924-1929, 1989.
4. Meyer, W.J., and N.R. Nichols. Mineralocorticoid binding in cultured smooth muscle cells and fibroblasts from rat aorta. *J. Steroid Biochem.* 264:4613-4618, 1989.
5. Ohara, T., K. Takeda, and Y. Asano. Stimulation of Na/H exchange induced by angiotensin II in cultured vascular smooth muscle cells: role of Ca and C-kinase. *Japan. Circ. J.* 56:133-141, 1992.
6. Chomczynski, P., and N. Sacchi. Single-step method of RNA isolation by acid guanidine thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Chem.* 162:156-159, 1987.
7. Little, P.J., E.J. Cragoe, and A. Bobik. Na-H exchange is a major pathway for Na influx in rat vascular smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 251:C707-C712, 1986.
8. Ferez, C., A. Bhutada, and F. Ismail-Beibi. Induction of Na-K-ATPase subunit mRNAs by cycloheximide in a rat liver cell line. *Am. J. Physiol.* 260:C417-C423, 1991.
9. Sansom, S.C., S. Muto, and G. Giebisch. Na-dependent effects of DOCA on cellular transport properties of CCD from ADX rabbits. *Am. J. Physiol.* 253:F753-F759, 1987.
10. Rao, G.N., C. Sardet, J. Pouyssegur, and B.C. Berk. Differential regulation of Na/H antiporter gene expression in vascular smooth muscle cells by hypertrophic and hyperplastic stimuli. *J. Biol. Chem.* 265:19393-19396, 1990.
11. Baum, M., O. W. Moe, D.L. Gentry, and R. J. Alpern. Effect of glucocorticoids on renal cortical NHE-3 and NHE-1 mRNA. *Am. J. Physiol.* 267:F437-442, 1994.
12. Yun, C.H.C., S. Gurubhagavatula, S.A. Levine, J.L.M. Montgomery, S.R. Brant, M.E. Cohen, E.J. Cragoe, Jr., J. Pouyssegur, C.M. Tse, and M. Donowitz. Glucocorticoid stimulation of ileal Na absorptive cell brush border Na/H exchange and association with an increase in message for NHE-3, and epithelial Na/H exchanger isoform. *J. Biol. Chem.* 268:206-211, 1993.

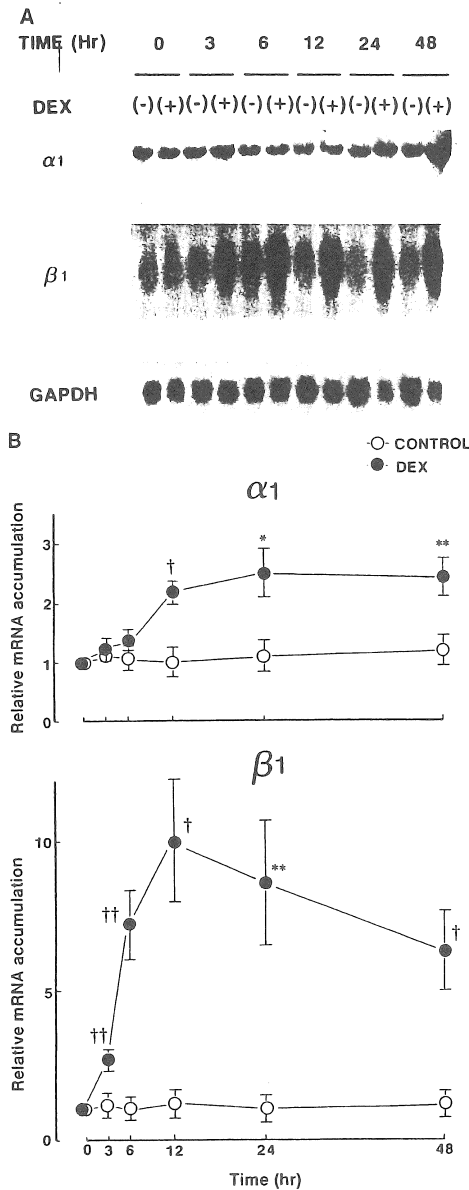


Fig. 1. Time course of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ α_1 - and β_1 -mRNA accumulation by dexamethasone (Dex) in vascular smooth muscle cells (VSMC). A: Northern blot analyses. GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. B: quantitations of Northern blot. Abundance of mRNA is expressed as units of densitometry relative to time 0; each point is mean \pm SE of 5 separate experiments. Compared with control: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; † $P < 0.005$; †† $P < 0.001$.

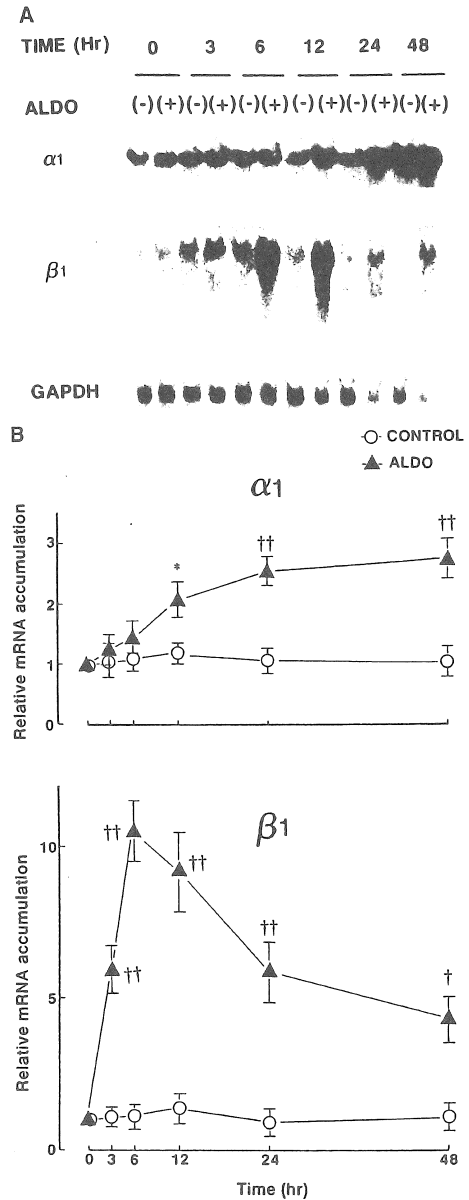


Fig. 2. Time course of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ α_1 - and β_1 -mRNA accumulation by aldosterone (Aldo) in VSMC. A: Northern blot analyses. B: quantitations of Northern blot. Abundance of mRNA is expressed as units of densitometry relative to time 0; each point is mean \pm SE of 5 separate experiments. Compared with control: * $P < 0.05$; † $P < 0.005$; †† $P < 0.001$.

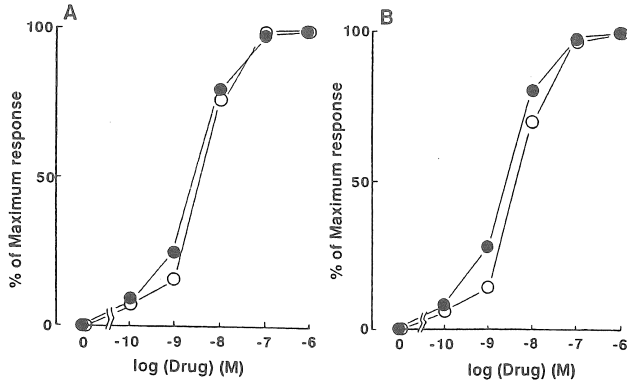


Fig. 3. Concentration-response relationships for effects of Dex (O) or Aldo (●) on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase } \alpha_1\text{-}$ (A) and $\beta_1\text{-}$ (B) mRNA accumulation in VSMC. Data are expressed as percentage of an increase in $\alpha_1\text{-}$ or $\beta_1\text{-}$ mRNA accumulation compared with maximum response. Each point is mean of 4-5 separate experiments.

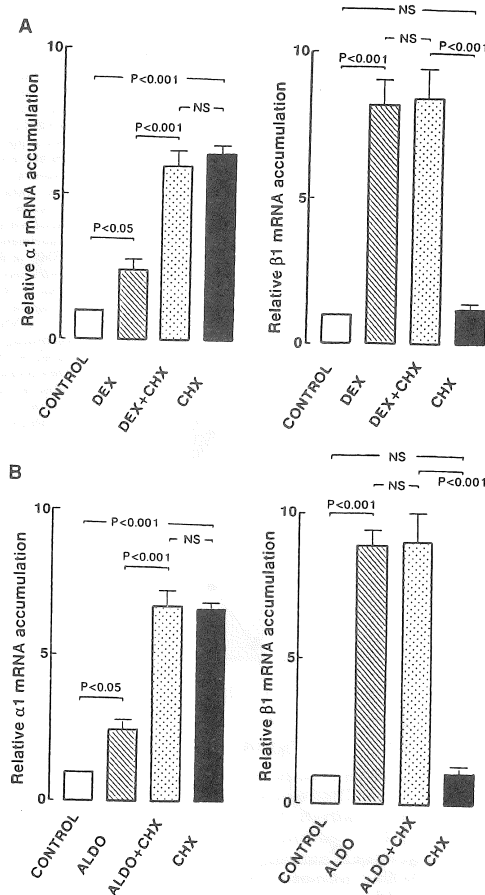


Fig. 4. Effects of a protein synthesis inhibitor, cycloheximide (CHX), on Dex- or Aldo-induced upregulation of α_1 - and β_1 -mRNA accumulation in VSMC. A: quantitations of Northern blot for Dex-supplemented medium. Data are means \pm SE of 5 separate experiments, expressed as a relative increase in mRNA expression compared with control samples. B: quantitations of Northern blot for Aldo-supplemented medium. Data are means \pm SE of 4 separate experiments, expressed as a relative increase in mRNA expression compared with control samples. NS, not significant.

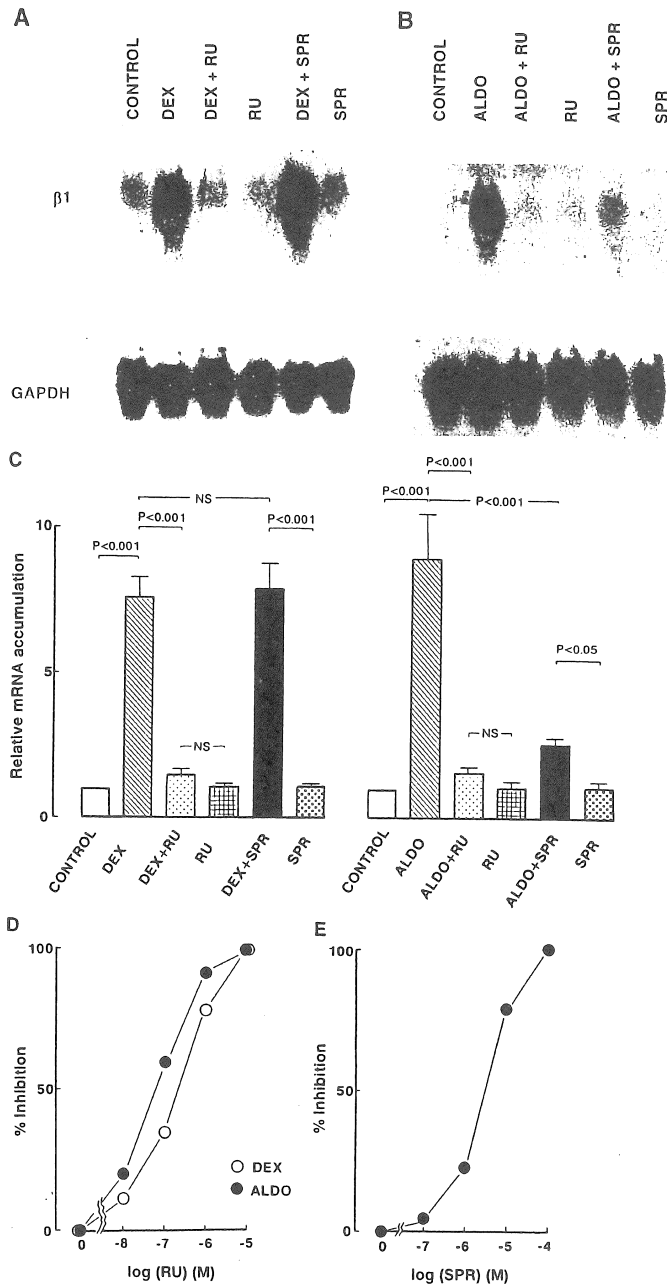


Fig. 5. Effects of glucocorticoid receptor (GR) antagonist, RU-38486 (RU), or mineralocorticoid receptor (MR) antagonist, spironolactone (SPR), on Dex- or Aldo-induced upregulation of β_1 -mRNA in VSMC. **A:** Northern blot analyses for Dex-supplemented medium. **B:** Northern blot analyses for Aldo-supplemented medium. **C:** quantitations of Northern blot. Data are expressed as a relative increase in mRNA expression compared with control samples. Number of experiments for Dex- or Aldo-treated VSMC is 6 and 4, respectively. **D:** concentration-response relationships for effects of RU on Dex- or Aldo-induced upregulation of β_1 -mRNA accumulation in VSMC. Data are expressed as percentage of β_1 -mRNA levels compared with those observed in Dex- or Aldo-treated VSMC without RU. Each point is mean of 3-4 separate experiments. **E:** concentration-response relationships for effects of SPR on Aldo-induced upregulation of β_1 -mRNA accumulation in VSMC. Data are expressed as percentage of β_1 -mRNA levels compared with those observed in Aldo-treated VSMC without SPR. Each point is mean of 3 separate experiments.

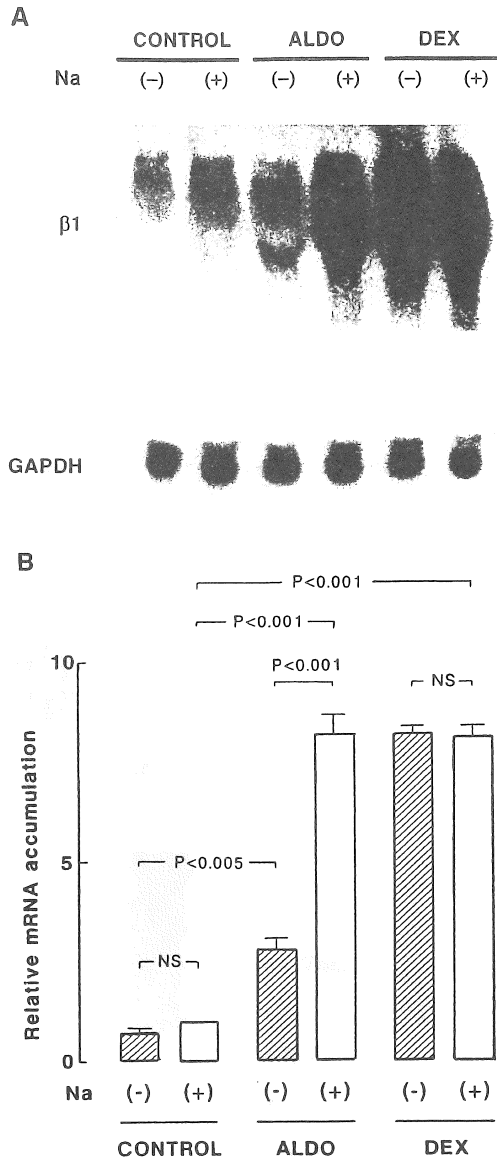


Fig. 6. Effects of removal of Na^+ from culture medium on Dex- or Aldo-induced upregulation of β_1 -mRNA in VSMC. Na^+ -free medium was isosmotically replaced with choline. *A*: Northern blot analyses in VSMC exposed for 12 h to control medium or Dex- or Aldo-supplemented medium in presence or absence of extracellular Na^+ . *B*: quantitations of Northern blot. Data are means \pm SE of 6 separate experiments, expressed as a relative increase in mRNA expression compared with Na^+ -containing control samples.

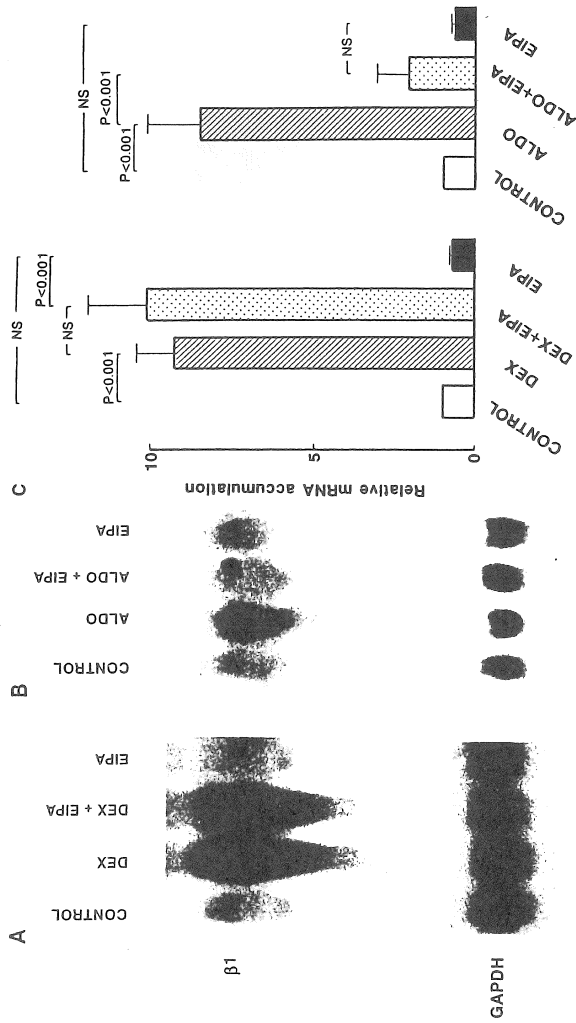


Fig. 7. Effects of Na⁺/H⁺ exchange inhibitor, ethylisopropylamiloride (EIPA), on Dex- or Aldo-induced upregulation of β_1 -mRNA in VSMC. A: Northern blot analyses in VSMC exposed to Dex-supplemented medium in absence or presence of 100 μ M EIPA. B: Northern blot analyses in VSMC exposed to Aldo-supplemented medium in absence or presence of 100 μ M EIPA. C: Quantitations of Northern blot. Data are expressed as a relative increase in mRNA expression compared with control samples. Number of experiments for Dex- or Aldo-treated VSMC is 5 and 4, respectively.

Regulation of Na, K-ATPase gene expression by steroid hormones

Shigeaki Muto, Satoru Ebata, Akihiko Ohtaka, and Jun Nemoto

Department of Nephrology, Jichi Medical School

Summary

To determine whether gluco- and mineralocorticoids have specific actions on Na, K-ATPase gene expression in vascular tissue, we used Northern blot analysis to compare the effects of dexamethasone (DEX) and aldosterone (ALDO) on Na, K-ATPase α 1- and β 1-subunit mRNA expression in cultured vascular smooth muscle cells from rat aortae. DEX at 10^{-6} M increased α 1-mRNA level 2.5-fold at 24 h and β 1-mRNA level 9.9-fold at 12 h. ALDO at 10^{-6} M increased α 1-mRNA level 2.7-fold at 48 h and β 1-mRNA level 10.9-fold at 6h. The half-maximal stimulation of both α 1- and β 1-mRNA levels occurred at a concentration of $5-7 \times 10^{-9}$ M DEX, whereas it occurred at a concentration of $2-3 \times 10^{-9}$ M ALDO. The glucocorticoid receptor antagonist RU38486 inhibited both DEX- and ALDO-mediated induction of β 1-mRNA. The mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone inhibited ALDO-mediated induction of β 1-mRNA, whereas it had no effect on DEX-mediated induction of β 1-mRNA. Removal of Na from the extracellular medium caused no effect on DEX-mediated induction of β 1-mRNA, whereas it inhibited ALDO-mediated induction of β 1-mRNA. Addition of a specific inhibitor of the Na/H exchange, ethylisopropylamiloride, had no effect on DEX-mediated induction of β 1-mRNA, whereas it resulted in a significant inhibition of ALDO-mediated induction of β 1-mRNA. We conclude that 1) both DEX and ALDO induce Na, K-ATPase α 1- and β 1-mRNA expression in a time- and dose-dependent manner; 2) DEX-mediated induction of β 1-mRNA occurs only through glucocorticoid receptors, whereas ALDO-mediated induction of β 1-mRNA occurs through both gluco- and mineralocorticoid receptors; and 3) DEX-mediated induction of β 1-mRNA occurs through Na-independent mechanisms, whereas ALDO-mediated induction of β 1-mRNA, at least in part, occurs through Na-dependent mechanisms, including stimulation of the Na/H exchange.