

高血圧における皮膚組織レニン・アンジオテンシン系と ナトリウム蓄積の病態生理学的意義

小豆島 健護¹, 田口 慎也¹, 森田 隆太郎¹, 山下 暁朗², 涌井 広道¹, 田村 功一¹

¹ 横浜市立大学医学部循環器・腎臓・高血圧内科学, ² 琉球大学大学院医学研究科先進医療創成科学

概要

皮膚局所における血管収縮やナトリウム貯留が高血圧と密接に関連することが報告され、血圧制御における皮膚組織の重要性が注目を集めている。レニン・アンジオテンシン系(RAS)は代表的な血圧調節機構であり皮膚にもその存在が知られるが、皮膚組織 RAS の血圧調節機構における役割は不明である。我々は、アンジオテンシン II (Ang II) 1 型受容体(AT1 受容体)関連タンパク(ATRAP)が、AT1 受容体の内在化を介して組織 RAS 活性を抑制することを報告してきた。

本研究は高血圧の進展における皮膚組織 RAS の病態生理学的意義の検討を目的とした。遺伝子組換え実験系 Cre/loxP システムを用いて ATRAP を皮膚ケラチノサイト特異的に欠損するマウス(KO:K14^{Cre};ATRAP^{fllox})を作製し、Ang II 誘導高血圧モデルで表現型を解析した。対照群と比較し、KO 群で Ang II 誘導高血圧が増悪するとともに、心肥大の増悪も認めた。KO 群では、Ang II 負荷時の皮膚におけるアンジオテンシノーゲンと AT1 受容体の発現が対照群と比較し上昇しており、皮膚組織 RAS 活性亢進が示唆された。

Ang II 誘導高血圧増悪の機序解明のため、灰化-炎光光度法を用いた皮膚および全身のナトリウム・水分量を評価したが、両群で同等であった。一方で、KO 群では、Ang II 負荷時の経皮水分蒸散(TEWL)および皮膚血流量の有意な減少を認め、皮膚血管収縮の亢進が示唆された。

以上の結果より、皮膚組織 RAS の活性化は皮膚局所における血管収縮の亢進を介して Ang II 誘導高血圧の増悪に寄与する可能性が示唆された。したがって、皮膚組織 RAS が、高血圧予防・治療法開発の新規標的となる可能性があるものと考えられる。

1. 研究目的

高血圧は脳心血管病発症の最大のリスク因子である。本邦では年間約 10 万人の脳心血管病死が高血圧に起因すると報告され、医療経済上も大きな問題となっている¹⁾。しかし、本邦では治療を受けている患者の 2/3 は降圧目標を達成しておらず、その原因として高血圧患者の 90% 程度を占めている本態性高血圧の病態生理が未だ十分に解明されていないことが挙げられる。

近年、生体組織内のナトリウム濃度を測定可能である²³Na-MRI が開発され、高血圧を呈する患者群では皮膚ナトリウム濃度が高く、皮膚ナトリウム濃度が血圧値と相関

することが明らかになった^{2,3)}。その機序として、皮膚などの組織局所に異常に蓄積したナトリウムが免疫応答を介して体液バランスに影響し、高血圧を引き起こす可能性が示唆されている⁴⁾。また、皮膚と皮下組織には腎臓の対向流系に類似した構造が存在し、ナトリウム・水バランスを調節するナトリウムチャンネルも豊富に発現しているため、ケラチノサイトを介した皮膚と皮下組織との間のナトリウム・水バランスの調整が存在している可能性がある。腎尿細管においてナトリウムチャンネルは主にレニン・アンジオテンシン系(RAS)により制御され全身の血圧・体液・電解質の恒常性を保っている一方で、これまでの皮膚における RAS

の知見は「皮膚組織でも RAS 構成因子が発現していることが確認されているのみで⁵⁾、血圧制御における生理学的意義は完全に不明であった。

これに対し我々は、RAS 受容体結合蛋白である ATRAP (AT1 receptor-associated protein) が、腎尿細管 AT1 受容体活性を調整することで血圧制御に寄与すること、また AT1 受容体の生理的情報伝達系には悪影響を与えずに、臓器障害と関連した情報伝達系のみ選択的に抑制できるという機能上の大きな利点をもつ可能性を明らかにしてきた⁶⁻¹⁰⁾。また、AT1 受容体の内在性抑制因子である ATRAP は、各組織における発現を制御することにより組織特異的 RAS 活性型・抑制型モデル動物を作製することが可能であり、本技術は申請者所属の研究室でのみ施行可能な独自性の高い技術である。

本研究では、「組織 RAS 活性抑制因子」である ATRAP を駆使し、「皮膚組織 RAS が皮膚組織機能を調節し、その活性異常により高血圧が生じる」という高血圧の新規病態概念の検証を「皮膚ナトリウム蓄積」と「皮膚血管収縮」に着目して行った。

2. 研究方法

2.1 ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスの作製

皮膚特異的 RAS 活性型モデルとして、Cre/loxP システムを用いてケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスの作製を行った。当教室で作製した ATRAP^{fl/fl} マウス (C57BL/6 バックグラウンド) とジャクソン・ラボラトリー・ジャパンより購入した KRT14-Cre⁺ マウス (C57BL/6 バックグラウンド) を掛け合わせ、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウス (K14-Cre⁺/ATRAP^{fl/fl} マウス) を作製し、qPCR により ATRAP の各臓器における発現を対照マウス (K14-Cre⁻/ATRAP^{fl/fl} マウス) と比較した。その際に、皮膚組織は Dispase II (Merck) を用いて表皮 (主にケラチノサイトで構成) と真皮に分離した。また HE 染色を行い、両ジェノタイプ間で皮膚組織に組織学的変化が認められないか評価した。

2.2 アンジオテンシン II (Ang II) 持続投与による高血圧病態モデルの作製

Ang II 持続投与により、高血圧病態モデルの作製を行った。11~13 週齢の雄、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスおよび対照マウスに、麻酔下で背部皮下に浸透圧ポンプを挿入し、生理食塩水もしくは Ang II

(500 ng/kg/min) を 7 日間持続投与した。Ang II 投与開始前と開始後 7 日目に血圧・心拍数測定、また体重測定を行った。Ang II 投与開始後 7 日目の解剖時に組織重量を評価した。本研究では、麻酔後に解剖したマウスから全臓器 (心臓・腎臓・肺・肝臓・腸管など) を摘出し、その後、全皮膚を用手的に剥離し、皮膚とそれ以外の部分 (carcass; 主に筋肉・骨など) に分けた。心臓、腎臓、肝臓、皮膚、carcass の重量を測定し体重で割った値 (組織体重比) を算出した。

2.3 テイルカフ法による血圧と心拍数の測定

Ang II 投与中の収縮期血圧と心拍数をテイルカフ法 (BP-monitor MK-2000; Muromachi Kikai Co.) を用いて測定した。MK-2000 はマウスに過度なストレスを与えることなく、無加温で覚醒下の血圧測定を可能にする非侵襲的血圧測定装置である¹¹⁾。全ての血圧測定は 10 時から 14 時の間に行い、各マウスの測定は最低 8 回行い、その平均を血圧値とした。

2.4 qPCR 法による皮膚組織 RAS 活性の評価

液体窒素により凍結した皮膚組織を、クライオプレス (Microtech Nichion) を使用して粉碎した。RNeasy Universal Mini Kits (Qiagen) を用いて、皮膚、腎臓、心臓から全 RNA を抽出後、SuperScript IV cDNA synthesis kit (Invitrogen) を用いて cDNA を合成した。qPCR 法は、CFX96 Real-Time PCR System (Bio-Rad) を使用して、TaqMan Fast Advanced Master Mix および TaqMan プローブ (Applied Biosystems) を用いて行った (Agtrap; Mm00507771_m1, Agtr1a; Mm01957722_s1, Agt; Mm00599662_m1, Ace; Mm00802048_m1, Ren1; Mm02342887_mH, Nppb; Mm01255770_g1, Acta1; Mm00808218_g1)。mRNA レベルは、Actb (Mm02619580_g1) により調整した。

2.5 灰化-炎光光度法による組織ナトリウム量・水分量の測定

灰化-炎光光度法は生体組織のナトリウム量・水分量を正確に把握することのできる測定系である¹²⁾。皮膚および carcass のナトリウム量・水分量を灰化-炎光光度法で測定した。最初に皮膚および carcass の重量を測定 (wet weight; WW) し、その後 90°C で 72 時間乾燥させた後に重量 (dry weight; DW) を再度測定した。乾燥させた皮膚は 450°C で 30 時間、次いで 600°C で 10 時間燃焼させ完全に灰化した後に 10% 硝酸 5 ml に溶解した。乾燥させた carcass は先ず

450°Cで30時間燃焼させ灰化し、灰化した carcass から骨を分離し、carcass(主に筋肉)と骨の灰にそれぞれ分けた。その後 carcass および骨を600°Cで10時間燃焼させ完全に灰化した後に carcass は5%硝酸10 mlに、骨は20%硝酸10 mlに溶解した。灰化したサンプル溶解液のナトリウム濃度は炎光光度法により測定した(ANA-135, 東京光電)。

2.6 皮膚血流量および経皮水分蒸散量(TEWL: Trans Epidermal Water Loss)の測定

実験の2日前に、マウスの左右背部の除毛を行った。実験当日は、皮膚血流測定用プローブヘッド(FLO-Lab and Type DS prove, Omegawave)を片側の背部皮膚に装着し皮膚血流量を測定するとともに、反対側の背部皮膚よりTEWLの測定を行った(VAPO SCAN, AS-VT100RS, Asch Japan)。実験中、マウスの体温は直腸プローブからのフィードバックシステムを備えた加温パッドによって36.5°Cにコントロールされた(ThermoStar Homeothermic Monitoring System, RWD)。

3. 研究結果

3.1 ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスの作製

Cre/loxP システムを用いてケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスの作製を行った。qPCR により ATRAP の各臓器における発現を対照マウスと比較したところ、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスでは主にケラチノサイトで構成されている表皮では ATRAP 発現がほぼ認められない一方で、真皮を含めた他臓器(心臓、腎臓、肝臓など)での ATRAP 発現は両ジェノタイプ間で同等であった。また、組織学的評価でも表皮や真皮の厚さを含めて両ジェノタイプ間で明らかな差異を認めなかった(Fig. 1)。

3.2 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧を増悪させる

生理食塩水群および Ang II 群の収縮期血圧を各々の薬剤の投与前と投与後7日目にテイルカフ法で評価した。生理食塩水群の収縮期血圧は両ジェノタイプ間で投与前後ともに同等であった。一方で、Ang II 群では投与後7日目の収縮期血圧が対照マウスと比較してケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで有意に上昇していた(Fig. 2)。また、収縮期血圧の結果と一致して、心重量/体重比は生理食塩水群においては両ジェノタイプ間で同等であった一方、Ang II 群では対照マウスと比較してケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで有意に増大していた。また、

心肥大マーカーである Nppb と Acta1 の mRNA 発現を qPCR 法で評価したところ、Ang II 群においてケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで有意に増加していた。一方で、心拍数は、生理食塩水群および Ang II 群の両群において両ジェノタイプ間で同等であった(Fig. 2)。

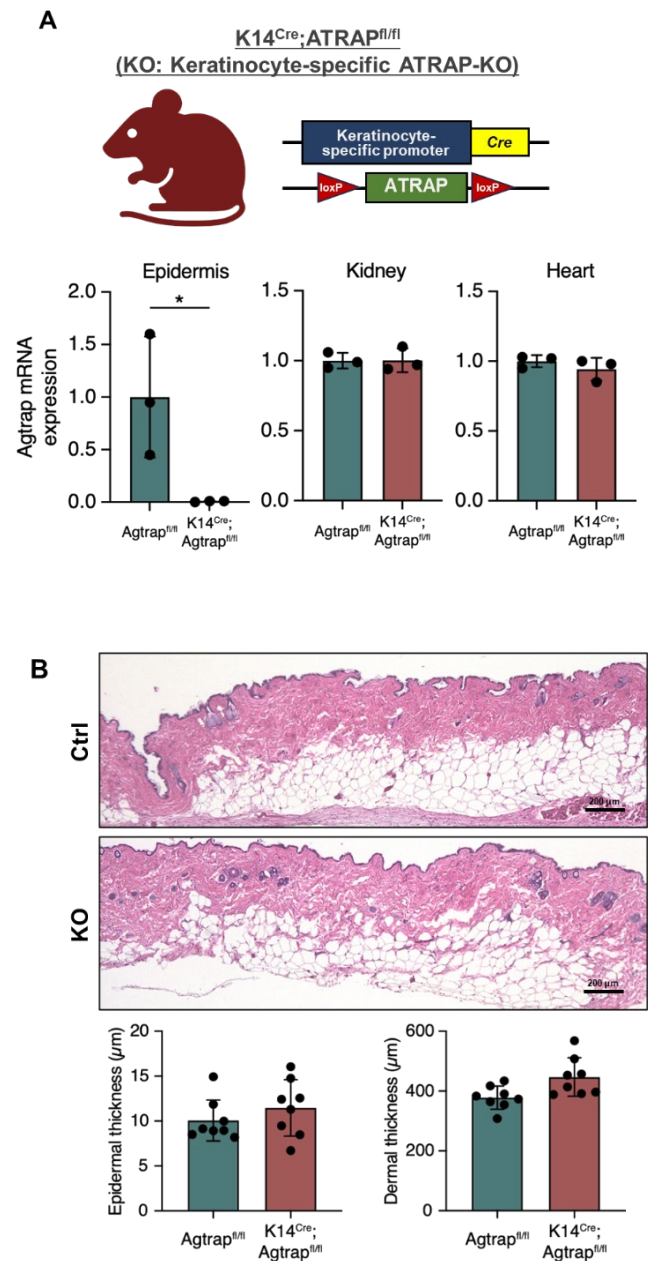


Fig.1 ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスの作製
(A) ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスおよび対照マウスの各臓器における ATRAP mRNA 発現 (n = 3).
(B) ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスおよび対照マウスの皮膚における組織学的評価 (n = 8).
* P < 0.05 vs 対照マウス.

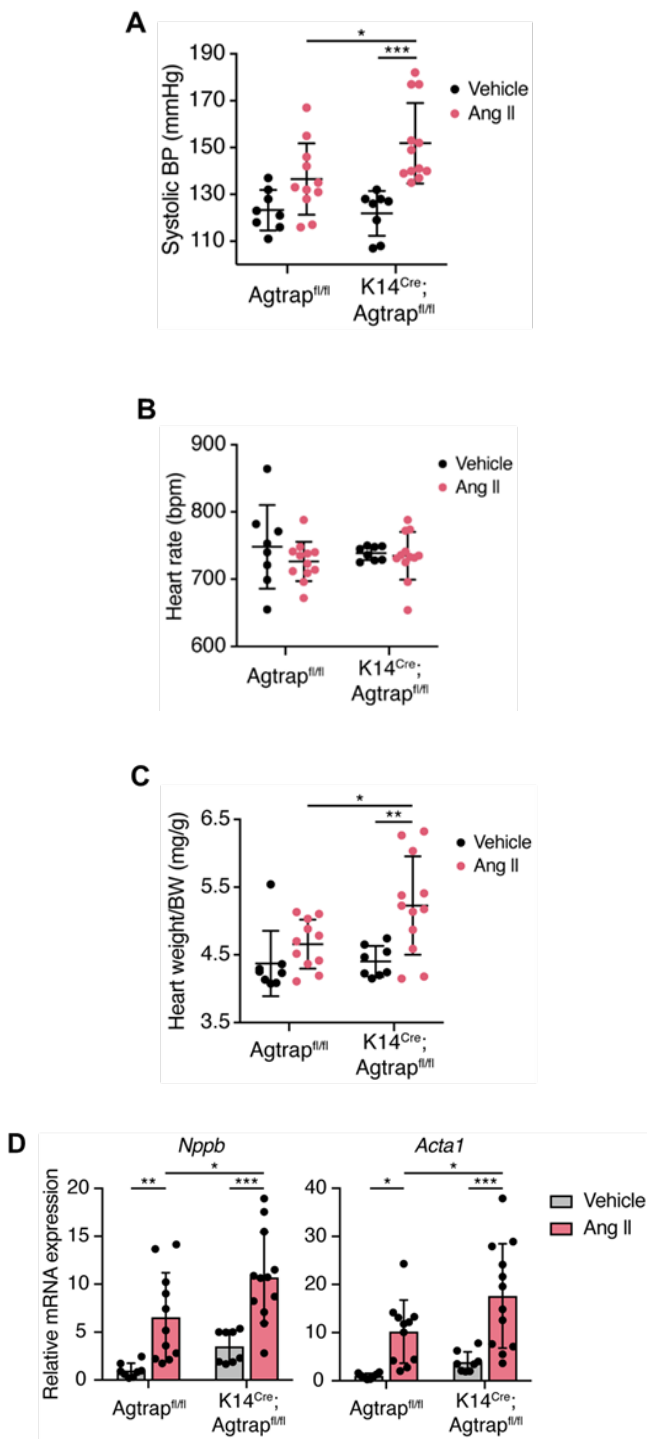


Fig.2 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧を増悪させる。

- (A) テールカフ法により測定された収縮期血圧 (n = 8-12)
 (B) テールカフ法により測定された心拍数 (n = 8-12).
 (C) 心重量/体重比 (n = 8-12).
 (D) 心肥大マーカーの心臓における mRNA 発現 (n = 8-12).
 * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001 vs 対照マウス.

3.3 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は皮膚組織 RAS を活性化させる

ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損が皮膚組織 RAS 活性に与える影響を検討するために、皮膚組織における RAS 構成因子の mRNA 発現を qPCR 法により評価した。生理食塩水群では、RAS 構成因子の mRNA 発現に両ジェノタイプ間で明らかな差を認めなかった (Fig. 3)。一方で、Ang II 群では、Ace(ACE)と Ren1(レニン)の mRNA 発現に両ジェノタイプ間で明らかな差を認めなかったものの、Agt1a(AT1 受容体)と Agt(アンジオテンシノーゲン)の mRNA 発現は、対照マウスと比較してケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで有意に増加しており、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損が皮膚組織 RAS を活性化している可能性が示唆された (Fig. 3)。

3.4 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧モデルにおいて皮膚ナトリウム蓄積に影響を与えない

ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損が皮膚ナトリウム・水分量に与える影響を検討するために、Ang II 群の対照マウスおよびケラチノサイト特異的欠損マウスの皮膚組織におけるナトリウム量と水分量を灰化-炎光光度法を用いて測定した。結果、皮膚ナトリウム量および皮膚水分量は両ジェノタイプ間で同等であり (Fig. 4)、ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧モデルにおいては、皮膚ナトリウム蓄積に影響を与えないことが明らかとなった。

3.5 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧モデルにおいて皮膚血管収縮を増強させる

ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで Ang II 誘導高血圧が増悪する病態生理学的機序に関して、皮膚血管収縮に着目した。皮膚血流量と TEWL は皮膚血管収縮を反映するため、両者の測定を行った。対照マウスと比較して、Ang II 投与時の皮膚血流量と TEWL は両者ともにケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで有意に低下していた (Fig. 5)。本結果は、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで Ang II 誘導高血圧が増悪する病態生理学的機序として、皮膚血管の過剰収縮が寄与している可能性を示唆している。

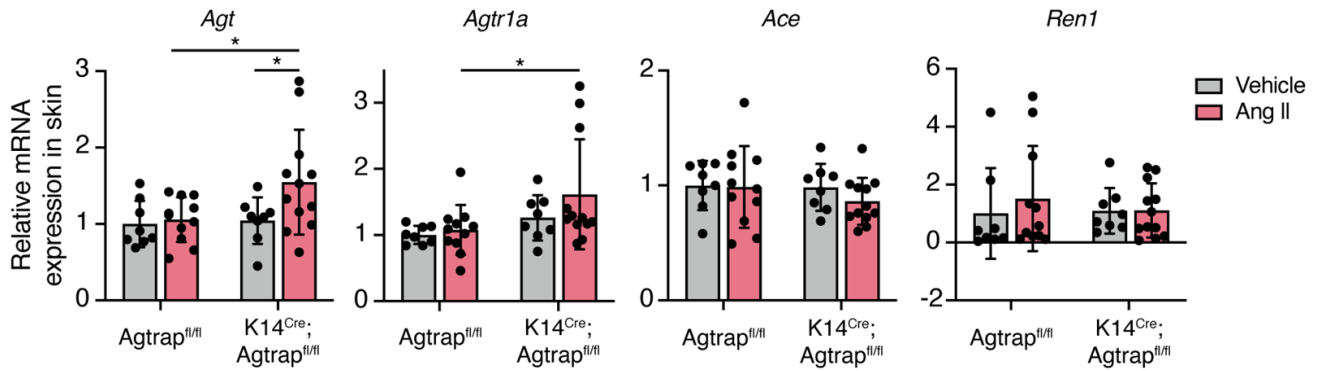


Fig.3 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は皮膚組織レニン・アンジオテンシン系 (RAS) を活性化させる。

RAS 構成因子の皮膚組織における mRNA 発現。

Agt: アンジオテンシノーゲン, *Agtr1a*: AT1 受容体, *Ace*: アンジオテンシン変換酵素, *Ren1*: レニン (n = 8-12).

* $P < 0.05$ vs 対照マウス.

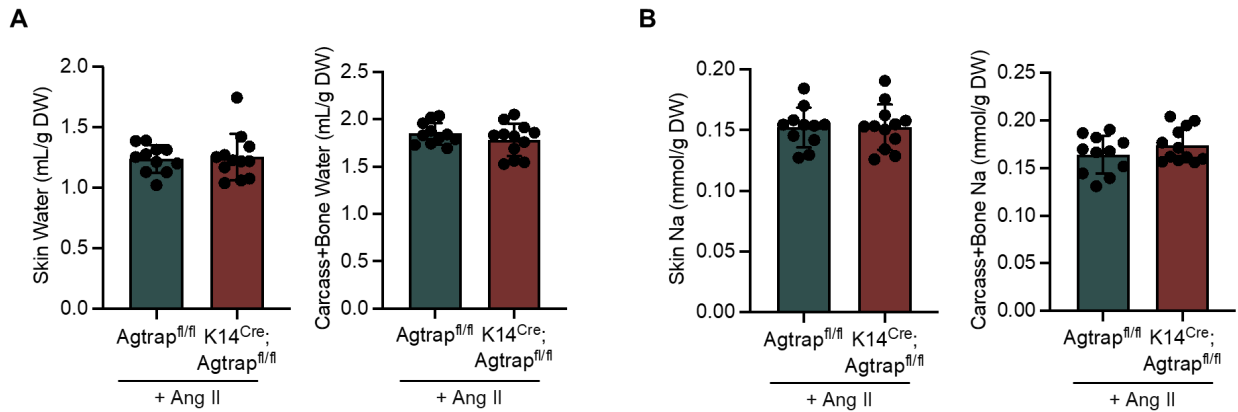


Fig.4 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧モデルにおいて皮膚ナトリウム蓄積に影響を与えない。

(A) 灰化-炎光光度法により測定された組織水分量 (n=11-12).

(B) 灰化-炎光光度法により測定された組織ナトリウム量 (n=11-12).

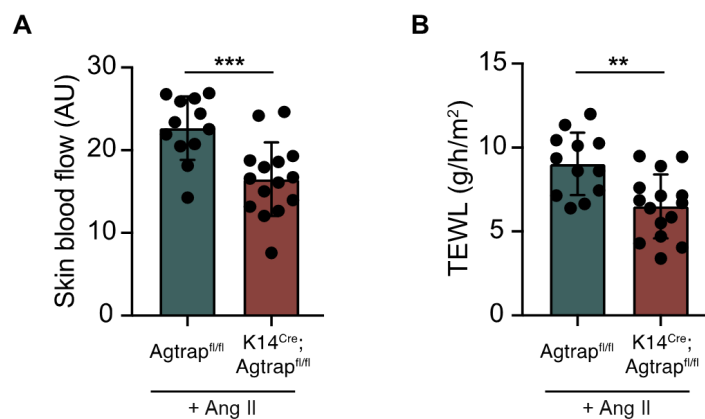


Fig.5 ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損は Ang II 誘導高血圧モデルにおいて皮膚血管収縮を増強させる。

(A) 皮膚血流量 (n = 11-15).

(B) 経皮水分蒸散量 (TEWL) (n = 11-15).

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs 対照マウス.

4. 考察

血圧は「心拍出量」と「末梢血管抵抗」により規定され、これら 2 因子は主に心、腎、血管、脳神経系により調節されると考えられてきた。しかし近年、「皮膚へのナトリウム貯留」や「皮膚局所における血管収縮」が高血圧と密接に関連することが見出され、生体における最大の臓器である皮膚が高血圧の新規成因として注目されている^{13, 14)}。一方で、そのメカニズムに関しては未だ不明な点が多い。

RAS は主要な血圧調節機構であり、血中の Ang II が各臓器に作用し昇圧効果を発揮する「循環 RAS」に加え、循環 RAS から独立して各臓器で RAS 活性の制御を行う「組織 RAS」が存在し、高血圧や臓器障害の進展に寄与していることが知られている¹⁵⁾。これまでに、皮膚組織にもほとんどの RAS 構成因子が発現していることが報告されているが⁵⁾、血圧調節における役割や病態との関連は完全に不明であった。我々は、AT1 受容体関連タンパクとして ATRAP を同定し、ATRAP が AT1 受容体に直接結合して同受容体の細胞内取り込みを促進することで組織 RAS 活性を抑制し、高血圧を含めた生活習慣病を改善することを報告してきた^{16, 17)}。

本研究では、高血圧における皮膚組織 RAS の病態生理学的意義に関して、「組織 RAS 活性抑制因子」である ATRAP を駆使して、「皮膚ナトリウム蓄積」と「皮膚血管収縮」に着目して検討した。本研究目的を遂行するために、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスを作製し、高血圧病態モデルとして Ang II 誘導高血圧モデルを採用した。ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスは、Ang II を投与しない定常状態において、血圧を含めた生理学的パラメーターは対照マウスと同等であった。一方、Ang II 投与により、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスは対照マウスと比較してより有意な血圧上昇とともに心肥大の増悪を認めた。興味深いことに、Ang II を投与したケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスの皮膚組織において、アンジオテンシノーゲンや AT1 受容体の mRNA 発現が亢進しており、皮膚組織 RAS の過剰活性化が示唆された。一方で、灰化-炎光光度法にて測定した皮膚ナトリウム量および皮膚水分量は両ジェノタイプ間で同等であり、Ang II 誘導高血圧モデルにおいては、「皮膚ナトリウム蓄積」が病態機序として関与していない可能性が考えられた。しかしながら、皮膚血管収縮を反映する皮膚血流量と TEWL は

皮膚特異的 ATRAP 欠損マウスで有意に減少していたことから、本マウスにおける Ang II 誘導高血圧増悪の病態機序には「皮膚血管収縮」が関与している可能性が示唆された。

体内最大の器官である皮膚には、血管平滑筋細胞を備えた豊富な前毛細血管細動脈が存在する¹⁸⁾。これらの細動脈は皮膚の血流を調節するとともに、全身血圧を調節する末梢血管抵抗として機能することが報告されている¹⁸⁾。Ang II 投与マウスの皮膚における低酸素誘導因子(HIF)が、皮膚の一酸化窒素(NO)産生を調節することによって全身血圧に影響を及ぼすことが報告されている¹⁹⁾。また最近、乾癬および腎障害モデル動物において、皮膚および腎臓からの水分喪失が代償性皮膚血管収縮を引き起こして TEWL を抑制し、血圧上昇につながることも報告されている^{20, 21)}。本研究では、対照マウスと比較してケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスで Ang II 誘導高血圧が増悪するとともに、皮膚血流量と TEWL の有意な減少を示した。したがって、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスにおける Ang II 誘導高血圧増悪の背景に、皮膚血管収縮の亢進がある可能性が示唆される。

アンジオテンシノーゲン、レニン、ACE など、Ang II 合成に必要な RAS 成分はすべて皮膚で発現しており、過去の *in vitro* 研究では、ケラチノサイトが Ang II を生成する可能性が言及されている⁵⁾。さらに、表皮および真皮血管内皮細胞における AT1 受容体の存在は、皮膚が Ang II の供給源および標的の両方として機能することを示唆している。本研究では、Ang II 投与により、皮膚組織における RAS 構成因子の発現が増強し、皮膚組織 RAS の過剰活性化が示唆された。本研究結果は、Ang II 誘発性高血圧の進展に対する皮膚組織 RAS 活性化の実質的な効果を示したが、ケラチノサイトにおける ATRAP 欠損がどのように皮膚組織の RAS 活性を増強したかは依然不明である。しかし、ケラチノサイト特異的 ATRAP 欠損マウスでは、皮膚局所での組織 RAS 活性化が皮膚での Ang II 産生を亢進させ、皮膚血管収縮の亢進に寄与した可能性は考えられる。

5. 今後の課題

本研究は皮膚組織 RAS 活性が高血圧の病態機序として関与し得ることを示したが、その因果関係は未だ明らかになっていない。また、「皮膚血管収縮」が Ang II 誘導高

血圧モデルにおいて病態機序として部分的に関与している可能性も示されたが、「皮膚ナトリウム蓄積」の病態生理学的役割は依然として不明である。この点において、他の高血圧病態モデル(5/6 腎摘出術, 高塩分投与, 高脂肪食投与など)を用いてさらに検討していく必要があるものと考ええる。

6. 文献

1. 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会(編):高血圧治療ガイドライン 2019, 日本高血圧学会, 2019.
2. Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Müller DN, Schmieder RE, Cavallaro A, Eckardt KU, Uder M, Luft FC, Titze J. ²³Na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension*. 2013 Mar;61(3):635-40.
3. Schneider MP, Raff U, Kopp C, Scheppach JB, Toncar S, Wanner C, Schlieper G, Saritas T, Floege J, Schmid M, Birukov A, Dahlmann A, Linz P, Janka R, Uder M, Schmieder RE, Titze JM, Eckardt KU. Skin sodium concentration correlates with left ventricular hypertrophy in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Jun;28(6):1867-1876.
4. Wiig H, Luft FC, Titze JM. The interstitium conducts extrarenal storage of sodium and represents a third compartment essential for extracellular volume and blood pressure homeostasis. *Acta Physiol (Oxf)*. 2018 Mar;222(3). doi: 10.1111/apha.13006.
5. Steckelings UM, Wollschläger T, Peters J, Henz BM, Hermes B, Artuc M. Human skin: source of and target organ for angiotensin II. *Exp Dermatol*. 2004 Mar;13(3):148-54.
6. Wakui H, Tamura K, Masuda S, Tsurumi-Ikeya Y, Fujita M, Maeda A, Ohsawa M, Azushima K, Uneda K, Matsuda M, Kitamura K, Uchida S, Toya Y, Kobori H, Nagahama K, Yamashita A, Umemura S. Enhanced angiotensin receptor-associated protein in renal tubule suppresses angiotensin-dependent hypertension. *Hypertension*. 2013 Jun;61(6):1203-10.
7. Ohsawa M, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Dejima T, Kanaoka T, Azushima K, Uneda K, Tsurumi-Ikeya Y, Kobayashi R, Matsuda M, Uchida S, Toya Y, Kobori H, Nishiyama A, Yamashita A, Ishikawa Y, Umemura S. Deletion of the angiotensin II type 1 receptor-associated protein enhances renal sodium reabsorption and exacerbates angiotensin II-mediated hypertension. *Kidney Int*. 2014 Sep;86(3):570-81.
8. Wakui H, Uneda K, Tamura K, Ohsawa M, Azushima K, Kobayashi R, Ohki K, Dejima T, Kanaoka T, Tsurumi-Ikeya Y, Matsuda M, Haruhara K, Nishiyama A, Yabana M, Fujikawa T, Yamashita A, Umemura S. Renal tubule angiotensin II type 1 receptor-associated protein promotes natriuresis and inhibits salt-sensitive blood pressure elevation. *J Am Heart Assoc*. 2015 Mar 19;4(3):e001594.
9. Kobayashi R, Wakui H, Azushima K, Uneda K, Haku S, Ohki K, Haruhara K, Kinguchi S, Matsuda M, Ohsawa M, Toya Y, Nishiyama A, Yamashita A, Tanabe K, Maeshima Y, Umemura S, Tamura K. An angiotensin II type 1 receptor binding molecule has a critical role in hypertension in a chronic kidney disease model. *Kidney Int*. 2017 May;91(5):1115-1125.
10. Haruhara K, Suzuki T, Wakui H, Azushima K, Kurotaki D, Kawase W, Uneda K, Kobayashi R, Ohki K, Kinguchi S, Yamaji T, Kato I, Ohashi K, Yamashita A, Tamura T, Tsuboi N, Yokoo T, Tamura K. Deficiency of the kidney tubular angiotensin II type 1 receptor-associated protein ATRAP exacerbates streptozotocin-induced diabetic glomerular injury via reducing protective macrophage polarization. *Kidney Int*. 2022 May;101(5):912-928.
11. Wakui H, Tamura K, Tanaka Y, Matsuda M, Bai Y, Dejima T, Masuda S, Shigenaga A, Maeda A, Mogi M, Ichihara N, Kobayashi Y, Hirawa N, Ishigami T, Toya Y, Yabana M, Horiuchi M, Minamisawa S, Umemura S. Cardiac-specific activation of angiotensin II type 1 receptor-associated protein completely suppresses cardiac hypertrophy in chronic angiotensin II-infused mice. *Hypertension*. 2010 May;55(5):1157-64.

12. Titze J, Krause H, Hecht H, Dietsch P, Rittweger J, Lang R, Kirsch KA, Hilgers KF. Reduced osmotically inactive Na storage capacity and hypertension in the Dahl model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002 Jul;283(1):F134-41.
13. Kitada K, Nishiyama A. Revisiting blood pressure and body fluid status. *Clin Sci (Lond)*. 2023 May 18;137(9):755-767.
14. Kitada K, Nishiyama A. Potential Role of the Skin in Hypertension Risk Through Water Conservation. *Hypertension*. 2024 Mar;81(3):468-475.
15. Te Riet L, van Esch JH, Roks AJ, van den Meiracker AH, Danser AH. Hypertension: renin-angiotensin-aldosterone system alterations. *Circ Res*. 2015 Mar 13;116(6):960-75.
16. Azushima K, Morisawa N, Tamura K, Nishiyama A. Recent Research Advances in Renin-Angiotensin-Aldosterone System Receptors. *Curr Hypertens Rep*. 2020 Feb 29;22(3):22.
17. Tamura K, Azushima K, Kinguchi S, Wakui H, Yamaji T. ATRAP, a receptor-interacting modulator of kidney physiology, as a novel player in blood pressure and beyond. *Hypertens Res*. 2022 Jan;45(1):32-39.
18. Cracowski JL, Roustit M. Human Skin Microcirculation. *Compr Physiol*. 2020 Jul 8;10(3):1105-1154.
19. Cowburn AS, Takeda N, Boutin AT, Kim JW, Sterling JC, Nakasaki M, Southwood M, Goldrath AW, Jamora C, Nizet V, Chilvers ER, Johnson RS. HIF isoforms in the skin differentially regulate systemic arterial pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Oct 22;110(43):17570-5.
20. Wild J, Jung R, Knopp T, Efentakis P, Benaki D, Grill A, Wegner J, Molitor M, Garlapati V, Rakova N, Markó L, Marton A, Mikros E, Münzel T, Kossmann S, Rauh M, Nakano D, Kitada K, Luft F, Waisman A, Wenzel P, Titze J, Karbach S. Aestivation motifs explain hypertension and muscle mass loss in mice with psoriatic skin barrier defect. *Acta Physiol (Oxf)*. 2021 May;232(1):e13628.
21. Kovarik JJ, Morisawa N, Wild J, Marton A, Takase-Minegishi K, Minegishi S, Daub S, Sands JM, Klein JD, Bailey JL, Kovalik JP, Rauh M, Karbach S, Hilgers KF, Luft F, Nishiyama A, Nakano D, Kitada K, Titze J. Adaptive physiological water conservation explains hypertension and muscle catabolism in experimental chronic renal failure. *Acta Physiol (Oxf)*. 2021 May;232(1):e13629.

Pathophysiology of Skin Renin-Angiotensin System and Sodium Accumulation in the Development of Hypertension

Kengo Azushima¹, Shinya Taguchi¹, Ryutaro Morita¹, Akio Yamashita², Hiromichi Wakui¹, and
Kouichi Tamura¹

¹Department of Medical Science and Cardiorenal Medicine, Yokohama City University Graduate School of Medicine, ²Department of Investigative Medicine, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus

Summary

Recent studies suggest skin sodium accumulation and vasoconstriction are associated with hypertension. The skin has a localized renin-angiotensin system (RAS), a key regulator of blood pressure (BP), but its functional role remains unclear. We have shown that ATRAP (type-1 angiotensin II (Ang II) receptor (AT1R)-associated protein), which selectively inhibits pathological AT1R signaling, prevents the development of non-communicable diseases, including hypertension. This study aims to investigate the role of skin RAS in hypertension with a focus on “skin sodium accumulation” and “skin vasoconstriction”. To investigate the relationship between skin RAS and hypertension, mice lacking ATRAP in keratinocytes (KO: K14^{Cre}; ATRAP^{fl^{ox}}) were generated. Ang II (500 ng/kg/min)-induced hypertension and related cardiac hypertrophy were exacerbated in KO mice compared to their littermate control mice. KO mice showed increased skin expression of angiotensinogen and AT1R, suggesting enhancement of tissue RAS activity in the skin. Unexpectedly, skin water and sodium amounts estimated by the ashing method were compatible between the genotypes with Ang II treatment. On the other hand, skin blood flow and transepidermal water loss (TEWL) were significantly decreased in KO mice compared to their controls, suggesting “skin vasoconstriction” is associated with the exacerbated Ang II-induced hypertension in KO mice. In conclusion, enhanced skin RAS activity may be associated with BP elevation via skin vasoconstriction. Further studies are necessary to elucidate the causal relationship between skin RAS and hypertension.