

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 淳司

本研究は、近位尿細管におけるナトリウム・酸塩基輸送機構の詳細を明らかにするために、動物とヒトとの比較を交えて管腔側の酸塩基輸送体の解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. マウス腎臓から単離した近位尿細管を灌流し、灌流液の Na 濃度を変化させた際の近位尿細管上皮細胞内 pH の変化を蛍光色素 BCECF/AM を用いて測定した。灌流液の Na 除去により pH 低下、Na 再添加により pH 上昇がみられ(NHE 様活性)、Na 依存性に酸塩基輸送が行われていることが示された。
2. 単離近位尿細管に split-open 法を用いて管腔側を露出した場合と、露出しなかった場合とで比較を行い、管腔側を露出した近位尿細管の NHE 様活性は管腔側の輸送体機能を反映すると考えられた。
3. 管腔側を露出した単離近位尿細管で、灌流液の Na 除去により pH が急速に低下した後、徐々に pH が上昇する反応が観察された。この Na 非依存性の pH 変化は V-ATPase 特異的阻害剤 bafilomycin の添加で完全に抑制された。
4. マウス・ラット・ヒトの単離近位尿細管に NHE 阻害薬 EIPA を添加して同様の灌流実験を行い、管腔側 NHE 様活性に対する阻害効果を検討した。マウス、ラットに対してヒトでは EIPA による阻害率が有意に低かった。また陰イオン阻害薬 DIDS を添加した検討では、マウス、ラットに対してヒトでは DIDS による阻害率が有意に高かった。ヒトでは陰イオン輸送体の関与が大きいことが示唆された。
5. マウス単離近位尿細管に NHE3、NHE8 に対する siRNA を導入して遺伝子発現抑制を行った近位尿細管の管腔側 NHE 様活性を評価した。その結果、管腔側に存在する NHE は主に NHE3 であり NHE8 の関与はほとんどないことが示された。またラット NBCn2 に対する siRNA を導入した単離近位尿細管の NHE 様活性を測定することで、管腔側 NBCn2 の輸送体機能を間接的に評価した。
6. ラット肝臓・腎臓・脳における NBCn2 蛋白の発現を Western blotting で評価したところ、NBCn2 は脳・腎臓に豊富に発現していたが肝臓には発現していなかった。加えて免疫組織化学染色では、NBCn2 は水チャネル AQP-1 と同様に近位尿細管上皮細胞膜に発現していることが示された。ヒト腎臓でも同様に NBCn2 の発現と腎臓内の局在が確認された。

以上より、ラット近位尿細管管腔側において NHE3 以外に NBCn2 が Na 依存性酸塩基輸送を担っていることが示された。またヒトではマウス、ラットと比して NBCn2 が Na 依存性酸塩基輸送により強く関与している可能性が示唆された。本論文はヒト高血圧発症や酸塩基平衡異常の機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。