

[304]

氏 名 (本籍)	かね こ しゅう ぞう 金 子 修 三 (東 京 都)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 5825 号		
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	Different pattern of increase in NHE3 expression between S1 and mTAL at early phase of glomerular hyperfiltration in rats (ラット糸球体 hyperfiltration 早期における S1 と mTAL での NHE3 の発現増加パターンには違いがある)		
主 査	筑波大学教授	博士 (医学)	田 中 誠
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	上 杉 憲 子
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	村 越 伸 行
副 査	筑波大学教授 (連携大学院)	薬学博士	澤 田 光 平

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

糸球体過剰ろ過 (glomerular hyperfiltration, GH) は腎移植後のドナー / レシピエントや糖尿病性腎症を含めた種々の慢性腎臓病で認められる病態である。GH は糸球体硬化ならびに尿細管・間質の障害を促進することが明らかとされており、近年慢性腎臓病の進行過程における重要な要因と認識されている。GH の腎障害進行のメカニズムの研究が進む一方で、GH の進行過程における各尿細管の機能変化についての知見は乏しくセグメント毎の検討は皆無である。本研究では、ラット腎を用いて GH の発生からの進行過程において、尿細管での Na 再吸収において重要な役割を果たしているとされる $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換輸送体 3 ($\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchanger3, NHE3) のセグメント毎の発現と機能活性を検討した。

(対象と方法)

10 ~ 12 週齢の雄性 Wistar ラットの左腎摘を行い、右腎に GH を誘導した。無手術群と偽手術群を対照とした。左腎摘出後にそれぞれ 1 日、3 日、7 日、14 日、28 日後 (それぞれ 1d、3d、7d、14d、28d 群) に右腎を摘出した。右腎摘出 24 時間前に代謝ケージで管理し、尿量、クレアチニンクリアランス (CCR)、Na 排泄分画 (FENa) の各パラメーターを評価した。右腎の組織切片から皮質領域の平均糸球体面積を算出し、組織学的に GH 発生と経時的な進行の評価を行った。NHE3 mRNA の発現解析は、尿細管各セグメントを用手的に単離し採取した検体から抽出した RNA を用いて real-time PCR 法で行った。また、NHE3 蛋白発現は、抗ラット NHE3 抗体を用いて、免疫組織学的に発現の局在評価を行った上で、皮質および髄質外層組織から抽出した蛋白からウェスタンブロットを行い評価した。さらに管腔側 NHE 活性を細胞内 pH の変化勾配を定量化して行った。NHE3 発現が確認された近位尿細管 S1 セグメントと髄質部太い上行脚 (medullary thick ascending limb of Henle's loop, mTAL) の両セグメントで行い、前者は管腔側の NH_4^+ プレパルス法で、後者は管腔内 Na 持続負荷して行った。

(結果)

糸球体平均面積は各群の比較から、腎摘後に経時的に有意に増大し組織学的に GH の発生と経時的な進行を確認した。GH の増大速度は腎摘後 1d、3d で最大であった。また、CCR と FENa は 1d 群で一過性にそれぞれ低下、増加したがその後徐々に回復した。NHE3 mRNA 発現では S1 セグメントと mTAL での発現増加パターンが明らかに異なった。S1 セグメントでは 3d ~ 28d 群まで経時的に増加し持続した（対照群 vs 3d 群 : $p < 0.05$, 7d、14d、28d 群 : $p < 0.01$ ）のに対して、mTAL では 3d 群を最大にしてその後減少（有意差なし）に転じ、28d 群では対照群と有意差がなくなった。両セグメントにおける NHE3 の蛋白発現および管腔側 NHE 活性評価における定量的評価においても類似したパターンであった。

(考察)

GH の発生からの進行過程において、同時相で S1 と TAL の両セグメント毎の評価を行い、NHE3 の発現増加・活性上昇のパターンが両者で異なることを新たに見出した。GH の進行という特殊な病態下におけるこの両者の違いは非常に示唆に富む結果である。S1 セグメントで NHE3 発現が経時的に増加し、持続したことは、GH 進行に伴う管腔内への過剰な Na 流入量に対する慢性的な代償反応と考えられた。一方 TAL での一過性の上昇した後の減少については、TAL の Na 再吸収のリザーバー機能としての役割の変化をみているのか、尿流量の変化率に応答した反応が加わっているのか、あるいは過度な GH 進行を制限するための（TAL の終末部でおこる）尿細管糸球体フィードバックを亢進させるような変化に関連した反応なのか、などいくつかの機序が想定された。

(結論)

ラット腎における NHE3 の発現および機能は腎摘後の GH の初期の進行していく段階では増加した。これらの変化は S1 での経時的な増加と mTAL での一過性の増加とセグメントで経時的にパターンが異なっていた。これらの適応は GH での尿細管間質の機能変化の病態を考える上で重要な知見と考えられた。また FENa の変化には S1 より mTAL での変化が大きく影響していた

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文の内容は、ラットの片腎モデルを用いて糸球体過濾過における急性期障害を $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換輸送体の機能活性を中心に、経時的、セグメントごとに定量・評価したもので、これまでの腎障害のメカニズムにおいて極めて知見が乏しい研究領域である。本研究の結果は尿細管間質の機能変化の基礎的メカニズムを解明する上で示唆に富み、また今後の腎不全治療の進歩に寄与する重要な基礎研究と考えられる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。