

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 有賀 誠 司

尿路結石の生成の抑制因子であるクエン酸の尿中排泄が代謝性アシドーシス、低カリウム血症において減少し、慢性アルカリ負荷において尿中クエン酸排泄が増加することが知られているが、本実験ではラットを用い上記3状態において近位尿細管管腔側の刷子縁上に存在するクエン酸トランスポーター Na^+ -citrate cotransporter(NaDC-1)の遺伝子、蛋白レベルの検討を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ラット慢性酸負荷においては尿中クエン酸の低下が酸負荷投与後2日目より認められその後も続いた。低カリウム血症ラットでは無カリウム食開始後血清カリウム値の低下に伴い尿中クエン酸排泄の低下が認められた。また、慢性アルカリ負荷ラットにおいては尿中クエン酸排泄量の増加が認められた。
2. Western blot を用いた実験では慢性酸負荷ラットにおいて酸負荷後4日目以降にNaDC-1 蛋白発現量の増加が認められ、7日、14日後ではコントロールに比べて有意に増加した。低カリウム血症ラットでも7日、14日後にコントロールに比べてNaDC-1 蛋白発現の増加が認められた。慢性アルカリ負荷では NaDC-1 蛋白量に変化は見られなかった。
3. Northern blot を用いた実験では慢性酸負荷において、NaDC-1mRNA が負荷後1日目より増加し、4日目までコントロールに比べて有意の増加を示した。低カリウム血症においても有意な増加が無カリウム食投与開始後7日後より認められた。慢性アル

カリ負荷ラットでは蛋白同様 NaDC-1 mRNA 発現量はコントロールに比べて変化がなかった。

4. NaDC-1 mRNA の発現の増加が1日目からみられ、また発現量も最大であったことより、この変化がtranscriptionalな増加によるものなのかを調べるためにNuclear runon assay を行った。ポジティブコントロールの PEPKCK は酸負荷にて増加を示したものの、NaDC-1 は増加を示さなかった。以上より酸負荷における NaDC-1 mRNA の増加は transcriptional な増加によるものではないと考えられた。

以上、本論文は代謝性アシドーシス（慢性酸負荷）、低カリウム血症において、尿中クエン酸排泄が減少する機序として近位尿細管管腔側刷子縁上の NaDC-1 が遺伝子、蛋白の発現増加する結果、尿中でのクエン酸の再吸収の増加、尿中クエン酸排泄の減少につながることを証明した。本研究は尿路結石生成の抑制因子であるクエン酸の尿中排泄が代謝性アシドーシス（慢性酸負荷）、低カリウム血症においてクエン酸のトランスポーター NaDC-1 の遺伝子、蛋白レベルでの変化に起因していることを明かにした。尿路結石の生成のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。