

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 原 千晶

本研究は腎近位尿細管細胞におけるイオン輸送機構を解析するため、ヒト腎近位尿細管由来の培養細胞株 HKC-8 細胞を用いて、その輸送体活性の解析を試みた。また、近位尿細管重炭酸再吸収に $\text{Na}^+\text{-HCO}_3^-$ 共輸送体 (NBC1) のどの variants が重要であるかを決定するために、HKC-8 細胞及びヒト正常腎において、NBC1 variants の発現を比較検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. pH 感受性蛍光色素 BCECF を用いた細胞内 pH (pHi) 測定法により解析した結果、HKC-8 細胞には Na^+/H^+ exchanger (NHE)、NBC および $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger 活性が発現していることを確認した。このうち、NHE については、AML に対する感受性から NHE1 および/又は NHE2 に加え NHE3 の存在が示唆された。また、NBC については、起電性及び Cl 非依存性から NBC1 の存在が支持された。さらに、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger については Na 非依存性の anion 交換輸送体 (Anion Exchanger: AE) の存在が示唆され。
2. NBC1 variants に特異的領域に対するプライマーを用いた RT-PCR 法にて解析したところ、HKC-8 細胞では腎臓型 (kNBC1) と膵臓型 (pNBC1) mRNAs の発現を認めた。

3. NBC1 variants に特異的な抗体を用いた Western Bolt 法にて解析した結果、HKC-8 細胞では kNBC1 と pNBC1 蛋白の発現を確認したが、腎癌患者から入手した正常ヒト腎臓では kNBC1 蛋白の発現のみを検出した。

以上、本論文は初めてヒト由来の培養細胞株 HKC-8 細胞の輸送活性を解析し、その輸送特性から、HKC-8 細胞はヒト腎近位尿細管の輸送機構を解析する上で極めて有用な細胞株であることと考えられた。また、ヒト腎臓においては、蛋白レベルでは kNBC1 のみが発現していることを初めて明らかにした。この結果は五十嵐らが発見した kNBC1 と pNBC1 の共通部分の遺伝子変異と kNBC1 の特異的な部分の遺伝子変異が、共に近位尿細管性アシドーシスを呈するという知見をよく説明すると考えられた。本研究は、基礎的及び臨床的に重要な研究と考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。