

## 審査の結果の要旨

氏名 堀田 晶子

アンジオテンシン II(AngII)は心・血管系ならびに腎臓に作用し、血圧・体液量の調節において極めて重要な作用を及ぼしている。本研究は、AngII の近位尿細管基底側における作用について、特に議論が分かれていた高濃度( $10^{-6}$ mol/l)の AngII による抑制作用に関して、AT<sub>1A</sub>受容体と AT<sub>1B</sub>受容体のどちらを介したものが明らかにするため、野生型及び AT<sub>1A</sub>欠損マウスを用いて、AngII が作用する受容体の特定を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウスから単離した近位尿細管を微小灌流し、管腔側を collapse させた状態にして蛍光色素を用いて細胞内 pH を測定することにより近位尿細管基底側 NBC ( $\text{Na}^+\text{-HCO}_3^-$  cotransporter) 活性を測定し、基底側への AngII 添加の作用を検討した。野生型マウスにおいて NBC 活性は  $10^{-10}$  mol/l の AngII 添加により 28%増加したが、 $10^{-8}$  mol/l の AngII により変化せず、 $10^{-6}$  mol/l の AngII により 28%減少した。
2. AT<sub>1</sub>受容体の選択的阻害剤である valsartan および AT<sub>2</sub>受容体の選択的阻害剤である PD123,319 を添加し、同様の実験を行ったところ、AngII の二相性作用は共に valsartan により完全に消失したが、PD123,319 により全く影響を受けなかった。
3. AT<sub>1A</sub>欠損マウスを用いて同様の実験を行ったところ、 $10^{-10}$ 、 $10^{-8}$  mol/l の AngII による作用は完全に消失したが、 $10^{-6}$  mol/l の AngII により NBC 活性は 18%増加した。valsartan により  $10^{-6}$  mol/l の AngII による NBC 活性化作用は完全に消失したが、PD123,319 はこの作用に全く影響を及ぼさなかった。
4. 基底側 AngII による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) の変化を検討した。野生型マウスにおいて  $10^{-8}$ 、 $10^{-6}$  mol/l の AngII はスパイク状の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇反応を生じ、この反応は valsartan によりほぼ完全に抑制されたが、PD123,319 により影響を受けなかった。一方、AT<sub>1A</sub>欠損マウスにおいては AngII による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇反応を全く認めなかった。
5. AngII の近位尿細管作用において重要と考えられている細胞内情報伝達経路に対する反応性を調べる目的で、PKC1 活性化物質 (PMA) とアラキドン酸 (A.A.) に対する反応を検討した。その結果、野生型と AT<sub>1A</sub>欠損マウスにおいて PMA による NBC 促進作用に差は認めず、また A.A.による NBC 抑制作用にも差を認めなかった。これらの結果は、AT<sub>1A</sub>欠損マウスの尿細管においては、PMA, A.A.に対する反応は野生型と同様に保たれていることを

示している。

以上、本論文により、**AngII** の近位尿細管基底側からの二相性作用は **AT<sub>1A</sub>** 受容体によることが示され、**AT<sub>2</sub>** 受容体の関与を支持する結果は得られなかった。

本研究は、これまで論争となっていた、近位尿細管基底側からの **AngII** の二相性作用について、**AT<sub>1</sub>** 受容体が媒介し、**AT<sub>2</sub>** 受容体が関与する証拠は認められないことを示した。また、近位尿細管再吸収、高血圧発症のメカニズムにおいて **AngII**、**NBC**、**valsartan** の役割を明らかにした。本研究は、高血圧の予防、治療において重要な貢献をするものと考えられ、学位の授与に値すると考えられる。