

論文の内容の要旨

論文題目 Thiazolidinediones stimulate renal proximal transport of bicarbonate through nongenomic mechanism

和訳 チアゾリジン誘導体は、近位尿細管の HCO_3^- 輸送を
遺伝子転写調節作用を介さずに亢進する

指導教員 藤田敏郎教授

東京大学大学院医学系研究科
平成 15 年 4 月入学
医学博士課程
内科学専攻

氏名 遠藤陽子

チアゾリン系薬剤 (TZD) は初のインスリン抵抗性改善薬であり、2 型糖尿病患者の治療に非常に有効である。しかし、臨床的には浮腫・心不全などの Na 再吸収亢進に起因する副作用がしばしば問題となる。TZD は核内受容体である PPAR γ を標的とし、転写活性を介して各種遺伝子発現を調節していることが判明している。マウス腎では PPAR γ は主に髓質内層の集合管に強く発現し、TZD によって腎集合管上皮 Na チャンネル (ENaC) の活性化が報告されている。しかし、種によっては、集合管 ENaC 以外の浮腫形成経路の存在も示唆されている。ラットでは、ENaC 阻害剤のアミロライドによっても TZD による体液貯留は阻害されず、ヒトにおいても、TZD が近位尿細管再吸収を亢進することを示唆する報告もある。腎近位尿細管は、糸球体でろ過された NaCl の 60% を再吸収しており、体液バランスに大きな影響を与えると考えられる。

今回、我々は、TZD は腎近位尿細管での Na 再吸収量を増加させるのか、もしそうであれば、その分子学的機構を明らかとすることを目的として、実験を行った。

単離したウサギ腎近位尿細管では、ピオグリタゾンを生理的濃度で投与したところ、非常に短時間（数分のうちに）で $\text{Na}\text{-HCO}_3^-$ 共輸送体（NBC1）を活性化したことを確認した。又、stop-flow 法で解析したこの部位の重炭酸イオンの吸收量も上昇した。この、ピオグリタゾンによる近位尿細管の輸送の亢進作用は、MEK 阻害剤である PD98059 や、PPAR γ 拮抗薬である GW9662 により完全に阻害された。このことから、ピオグリタゾンによるこれらの効果は PPAR γ を介した ERK の活性化に依存していることが強く示唆された。

免疫組織学的解析では、ウサギ腎髄質集合管に強く PPAR γ の発現を認めたが、これに加えて、弱いながら近位尿細管にも PPAR γ の発現を確認した。ウエスタンプロットでも、ウサギ腎皮質・髄質において PPAR γ の存在を確認した。

本来、PPAR γ を介した反応は、遺伝子転写調節作用によるものだが、一連の TZD の近位尿細管作用は極めて早い。PPAR γ が早期の ERK 活性を誘起するかを検討するため、マウス線維芽細胞（EF cell）を用いて実験を行った。

EF cell では、ERK の活性化を介して Na/H 交換体 1（NHE1）が活性化することが知られている。野生型マウス EF cell にピオグリタゾンを投与したところ、ごく短期間に NHE1 を活性化した。しかし、PPAR γ マウスの EF cell では、ピオグリタゾンによる NHE1 の活性化は認めなかつた。次に、この細胞に、アデノウイルスにより PPAR γ 全長、あるいは、DNA 結合領域を除いた PPAR γ 遺伝子を導入したところ、ピオグリタゾンによる短時間での NHE1 活性化は野生型細胞と同程度まで回復した。同様に DNA 結合領域の欠損した PPAR γ のうち、リガンド結合領域に変異 (Q286P) を持つ遺伝子を導入した場合には、NHE1 の活性化は認められなかつた。

これらの結果から、TZD は転写機構を介さずに、短時間で ERK 経路を活性化すること、この ERK 活性化にはリガンド結合領域への TZD の結合が必要であること。また、TZD による腎近位尿細管輸送亢進はこの PPAR γ 依存性 ERK 活性化経路に依存している可能性が高いことが示された。