

論文の内容の要旨

論文題目 Functional analysis of a novel missense NBC1 mutation and of other mutations causing proximal renal tubular acidosis

和訳 近位尿細管性アシドーシス症例で同定された NBC1 変異体の機能解析

指導教官 藤田敏郎教授

平成 16 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 鈴木正志

腎臓の主要な機能の 1 つとして酸塩基バランスの調節がある。糸球体でろ過された重炭酸イオンは 80%以上が近位尿細管で再吸収され、残りは遠位尿細管で再吸収される。近位尿細管の管腔側では主に Na^+/H^+ exchanger (NHE3)によりナトリウムイオンの再吸収と交換に水素イオンが排出され、基底膜側では $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 共輸送体 (NBC1)によりナトリウムイオンと共に重炭酸が再吸収される。NBC1 の変異により眼症状を伴う重症の近位尿細管性アシドーシスが生じる事が報告されている。これまでの報告によると、変異により NBC1 の輸送活性が 50%以下となると血中重炭酸濃度は 13mEq/l となり、低身長や帯状角膜変性症、緑内障、白内障などの眼症状を伴う重症の近位尿細管性アシドーシスが生じる。また、最近の報告では、NBC1 の輸送活性の低下だけでなく極性を持つ細胞で sorting 異常を示す変異も報告されている。本論文では眼症状をともなう重症の近位尿細管性アシドーシスの患者において、新たな NBC1 のホモ変異 G486R を同定した。*Xenopus* oocyte 発現系において NBC1 の機能解析を行ったところ、この変異は細胞膜に発現せず、NBC1 の輸送活性も見られなかった。一方、ECV304 細胞で機能解析を行ったところ、この変異は野生型と同

様の十分な膜発現が見られ、NBC1 の輸送活性は野生型の約 50%であった。また、極性を持つ Madin-Darby canine kidney (MDCK)細胞では、この変異は野生型と同様に basolateral 側の細胞膜に発現した。そこで既報の変異についても MDCK 細胞、ECV304 細胞において機能解析を行った。T485S は G486R と同様に、*Xenopus* oocyte で膜発現が見られず NBC1 の輸送活性を示さないものの、ECV304 細胞では野生型の約 50%の活性を示す事が報告されている。この T485S について MDCK 細胞での膜発現を観察したところ G486R と同様に basolateral 側に発現が見られた。これらの結果から G486R と T485S は sorting 異常ではなく機能低下型の変異であると考えられた。一方最近報告された L522P も T485S や G486R と同様に *Xenopus* oocyte で膜発現が見られず、NBC1 の輸送活性を示さないと報告されている。この変異について ECV304 細胞において機能解析を行ったところ NBC1 の輸送活性は見られなかった。また、ECV304 細胞と MDCK 細胞で膜発現を観察したところ NBC1 は細胞質にとどまり膜発現は見られなかった。これらの結果から L522P における NBC1 の輸送活性低下は主に細胞膜に到達しないことによると考えられた。NBC1 の変異による病態の解析には、異なる発現系を組み合わせ総合的に考える必要があると考えられた。