

[課程 2]

### 審査の結果の要旨

氏名 山崎 修

Na<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>共輸送体NBCe1は近位尿細管重炭酸再吸収の大半を司り、そのホモ接合体変異は眼症状を伴う近位尿細管性アシドーシス (pRTA) を生じる。最近TSCやNKCC2など腎尿細管Na輸送体で同定された稀なSNP変異が低血圧と相関があることが報告されている。

本研究は近位尿細管性アシドーシスにおいて重要な役割を演じていると考えられるNa<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>共輸送体NBCe1の機能について、NCBIに登録されている単一アミノ酸置換を伴う4種類の腎型輸送体 (NBCe1A) SNP変異体(E122G, S356Y, K558R, N640I)を用いて機能解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. GFPタグなしコンストラクトを用いたアフリカツメカエル卵母細胞発現系機能解析では、E122G, S356Y, N640Iの活性は野生型NBCe1Aと同等であったが、K558Rの活性は野生型の約50%と有意低下を認めた(p < 0.01)。
2. HEK293細胞を用いた機能解析では、E122G, S356Y, N640Iの活性は野生型NBCe1Aと同等であったが、K558Rの活性は野生型の約41-47%と有意な低下を認めた(p < 0.01)。この所見は、GFPタグあり/なしコンストラクトを用いても同様の結果であった。
3. 共焦点レーザー顕微鏡での細胞内局在を観察したところ、4種のSNP変異体はHEK293細胞において野生型と同様の細胞膜発現を呈し、また極性を持ったMDCK細胞においても野生型と同様の基底側膜発現を呈していた。この所見は、GFPタグあり/なしコンストラクトを用いても、同様の結果であった。
4. ビオチン化ウエスタンブロット法を用いたNBCe1Aの膜発現量測定では、4種のSNP変異体はHEK293細胞において野生型と同等の細胞膜発現量を呈していた。

以上、本論文はNa<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>共輸送体NBCe1について、SNP変異体K558Rの機能低下を明らかにした。他の尿細管Na輸送関連遺伝子のSNP変異体のキャリアーが低血圧を惹起することから、本研究は血圧調節異常の発症メカニズム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。