

審査結果の要旨

氏名 白井 雅弓

論文題目 **Effects of angiotensin II specific to human renal proximal tubule transport**
(アンジオテンシン II のヒト近位尿細管特異的作用の解析)

本研究は高血圧発症の重要な因子であるアンジオテンシン II (Ang II) のヒト近位尿細管 Na 輸送に対する作用を検討したもので、以下のヒト近位尿細管に特異的な Ang II 作用を見出している。

1. 従来 of 報告通り、マウス・ラットの NBCe1 に対し、Ang II は低濃度 (10^{-10} M) で刺激、高濃度 (10^{-6} M) で抑制の二相性の調節作用を有することを確認した。これに対して、ヒト近位尿細管では、Ang II は NBCe1 に対して濃度依存的な亢進作用を示すことが判明した。これらの作用は AT₁ 受容体阻害剤 valsartan でほぼ抑制された。以上のことから、Ang II の作用はヒトでもマウス・ラットでも AT₁ 受容体を介していることが示された。
2. MEK 阻害剤 PD98059 により、マウスでの Ang II 低濃度における NBCe1 刺激作用、およびヒトにおける Ang II の濃度依存的亢進作用はほぼ完全に抑制された。また、Western blotting ではマウスにおける Ang II 低濃度投与時の ERK リン酸化の亢進とヒトにおける Ang II 全ての検討濃度 (10^{-10} M ~ 10^{-6} M) による ERK のリン酸化の亢進が確認された。以上のことから、Ang II の作用はヒトでもマウス・ラットでも NBCe1 促進作用には ERK が関与していることが示された。
3. マウスで高濃度 AngII の抑制作用を媒介するアラキドン酸および 5,6-EET (5,6-epoxyeicosatrienoic acid) はヒト NBCe1 活性に対して抑制作用を示さなかった。このことから、ヒトでは、マウスと異なり、cPLA2/アラキドン酸/5,6-EET 経路が抑制経路として機能していないことが、Ang II の抑制作用が欠如している一因であると考えられた。
4. マウスでは L-NAME 存在下で Ang II を投与すると、全ての濃度の Ang II 投与で NBCe1 活性の亢進作用を認めた。これとは対照的にヒトでは L-NAME は Ang II の亢進作用を消失させた。また SNP はマウス・ラットの近位尿細管 NBCe1 に対し抑制的に、ヒト近位尿細管 NBCe1 に対しては亢進的に作用した。sGC 阻害剤である ODQ 存在下ではマウス近位尿細管 NBCe1 に対する高濃度 Ang II の抑制作用は亢進作用に転じた。これに対してヒトでは ODQ 存在下では Ang II の刺激作用が消失をした。さらに 8Br-cGMP はマウス NBCe1 活性を抑制したが、ヒト NBCe1 活性を逆に亢進させた。このことから、NOS/NO/sGC/cGMP 経路がマウス・ラット NBCe1 では抑制的に働いているのに対し、ヒト NBCe1 では刺激的に働いていることが、Ang II に対する反応性の

違いの主因であると考えられた。

5. NOS/NO/sGC/cGMP 経路の下流であるとされる cGKII の蛍光染色を行った。cGKII は、マウスおよびラットでは核膜・細胞質の両方に発現しているが、ヒトでは核膜周囲にのみ発現していた。cGKII のさらに下位である GSK3 β について、Western blotting による検討を行ったところ、SNP、cGMP 投与下でマウス・ラットでは GSK3 β のリン酸化の亢進が認められ cGKII の活性化が確認された。しかしヒトでは GSK3 β のリン酸化を認められなかった。また、マウス・ラットでは Ang II の全濃度で GSK3 β のリン酸化の増強が認められるのに対しヒトでは Ang II による GSK3 β のリン酸化は認められなかった。以上から、NOS/NO/sGC/cGMP 経路の作用の相違に cGKII の関与の有無が関連していることが示唆された。
6. cGKII KO マウスでは確かに全ての濃度の Ang II が NBCe1 に対して刺激作用を示しており、マウスにおいては cGKII が Ang II の抑制作用に関与することが確認された。
7. cGKII KO マウスでは SNP, 8Br-cGMP は刺激作用を示さなかった。このことから、cGKII ノックアウトマウスでは、NBCe1 に対する抑制作用の消失を認めるのみで、マウスにおける cGKII の欠損はヒトにおける Ang II の特異的反応を全て再現するものではなく、cGKII 以外のプロテインキナーゼがヒトとマウスとの Ang II の作用の相違に関わっていることが示唆された。

以上、本研究で、他の種と異なりヒトでは Ang II が近位尿細管 Na 輸送を濃度依存性に亢進することが明らかになった。こうした相違には cGKII だけではなく、cGKII 以外のプロテインキナーゼが関与していることが示唆された。ヒト高血圧発症機構において Ang II が特異的かつ、極めて重要な役割を持つことが示唆された研究であり学位授与に値するものと考えられる。