

氏 名（本籍） ^{すず}鈴 ^き木 ^{みち}倫 ^こ子

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 博 第 2 2 1 1 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 7 年 3 月 2 5 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 腎尿細管ヘンレープ上行脚に局限して発現する
腎臓特異的 Na トランスポーター（BSC1）の発
現調節機序とその意義についての基礎的及び臨床
的検討

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 西 條 康 夫 教授 柳 澤 輝 行

教授 丸 山 芳 夫

論文内容要旨

第1部：基礎研究

腎臓における尿濃縮には、腎尿細管の集合管に発現する水チャンネル（AQP2）と、ヘンレループ上行脚に発現するNaトランスポーター（BSC1）の発現が重要である。AQP2は抗利尿ホルモン（AVP）依存性に発現し、adenylate cyclase（AC）の活性化が、その発現に結びつく事が判明しているが、BSC1発現機構の詳細は不明である。そこで本研究では、まずBSC1発現のAVP依存性の程度を検討してAVP非依存性のBSC1発現の有無を明らかにし、次にBSC1発現におけるAVP依存性の機序について、さらなる検討を進めた。

まず、AVP刺激のない状態でAQP2とBSC1の発現を比較する為、AVP分泌欠損ラット（Brattleboro rat；BB rat）に水制限を行い、この時の尿濃縮の有無とAQP2、BSC1発現を検討した。その結果、AQP2発現には変化がなかったが、BSC1発現は有意に増加し、弱いながらも明らかな尿濃縮があった。更にBB ratに脱水のない状態でデスマプレッシン（dDAVP）を投与したところ、AQP2とBSC1が共に増加し、尿が濃縮された。これより、BSC1発現の調節には、AVP依存性と非依存性の2つの異なった調節機序が存在することが判明した。

次にBSC1・AQP2間の、AVP依存性発現機序における違いを検討する為、BB ratにdDAVPを投与してAVP刺激を一定にした後、AVP受容体阻害剤もしくはadenylate cyclase（AC）阻害剤への反応を観察した。結果、両群間で尿浸透圧には差がないものの、尿量に違いが認められた。さらに、前者ではAQP2・BSC1とも発現が低下しているのに対し、後者ではAQP2発現は強く抑制されているが、BSC1の発現増加が保存されていた。これらの結果は、AVP依存性のBSC1発現におけるAC活性を介さない細胞内シグナル伝達系の存在を示唆した。

第2部：臨床研究

Ca受容体（calcium sensing receptor：CaSR）は、副甲状腺や腎臓に多く発現し、特に腎では血中のCa濃度維持を目的とした尿中Caの再吸収にとどまらず、AQP2やBSC1と連動して尿管管腔内のCa²⁺濃度も調節し、Ca²⁺の結晶化による腎石灰化を予防するとされている。このCaSR遺伝子に異常が生じると、CaSRの機能変化をおこし、多彩な臨床像を呈する。私達は、低Ca血症を主症状とし、尿濃縮障害や腎石灰化を伴った症例に遭遇した。今回、この症例の遺伝子異常の検索と、AQP2・BSC1に関する知見による病態解析及び治療法の見直しを行った。

遺伝子解析の結果、CaSR遺伝子にアミノ酸変異を伴う機能亢進型変異（Cl31F）を認めた。この変異により高Ca尿症性の低Ca血症をきたしており、腎石灰化へと進行していると考えられた。CaSRは尿中のCa²⁺濃度上昇を抑制する目的で、BSC1の働きを抑えて尿濃縮力を低下

させる。CaSR の機能が異常に亢進すると、BSC1 の作用が強力に抑制され、尿濃縮力が異常に低下するとともに、この部位で NaCl の再吸収が減少するため、より遠位に存在するサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体 (Thiazide sensitive sodium chloride cotransporter : TSC) へ多くの NaCl が供給される。ここで NaCl 再吸収が促進されると、この部位では Na⁺ 再吸収が Ca²⁺ 再吸収を低下させ、尿中 Ca²⁺ の濃度を上昇させることとなる。そこで、本症例に対し、十分な hydration をおこなった上で、サイアザイド利尿剤投与を行ったところ、尿中への Ca 排泄量及び尿中 Ca 濃度の著明な低下を認めた。

CaSR 機能亢進型変異症例における、十分な hydration が、以下の 3 つの理由で重要と考えられた。1) Ca 補充による細胞外 Ca 濃度の上昇は、腎臓における CaSR を活性化させて BSC1 や AQP2 の働きを抑制し、尿濃縮力を低下させる。2) サイアザイドは利尿作用を有する為、水分喪失を助長する。3) 十分な hydration により尿量自体を増加させると、尿中 Ca 濃度を希釈し、尿管管腔内での Ca²⁺ の結晶化の危険性を低下させることができる。

第 1 部・第 2 部の総括

BSC1 を中心とする腎尿細管の基礎研究により、尿濃縮機能の詳細が更に明らかになった。また、CaSR は腎の構造・機能を保持する為に BSC1 や AQP2 と非常に密接に連動しており、BSC1 や AQP2 についての知識を踏まえて、CaSR の機能異常を検討したことがよりよい治療に結びつき、改めて基礎研究が臨床においても重要であることが認識された。

審査結果の要旨

体液量維持を目的とした水の体内保持と骨格形成に必要なカルシウムイオン (Ca^{2+}) の体内保持はヒトを含む陸上動物の生命活動を支える基本機能と考えられ、これらはともに腎臓において調節を受けている。近年、腎尿細管における水再吸収に最も強く影響を与える腎尿細管ヘンレループ上行脚の腎特異的ナトリウムトランスポーター (BSC1) と集合管における腎特異的水チャンネル (AQP2) が同定され、さらに腎尿細管で Ca^{2+} 再吸収を調節する Ca^{2+} 受容体 (CaSR) がヘンレループ上行脚と集合管に存在することも明らかとなった。その結果、水再吸収に影響する BSC1 と AQP2 がともに CaSR と機能的に連携していることも判明した。

本論文の第1部では基礎的に BSC1 の発現調節に焦点を当て、BSC1 発現の変化が尿濃縮に直結することを証明するとともに、BSC1 と AQP2 とでは発現調節機序において、特に抗利尿ホルモン反応性に違いがあることも見出している。つまり、抗利尿ホルモン (AVP) の非存在下の条件においても、体液量が減少すると BSC1 のみが発現増加を起し、腎髄質の浸透圧勾配を亢進させ、水の再吸収を高めることを実験的に証明し、次に、BSC1 発現機序が AQP2 発現機序と異なり、AVP 非依存性が強いのみならず、AVP 依存性においても複数の受容体が存在する可能性も示した。これらの結果は体液量維持を目的とした尿濃縮機構の機序を詳細に解明する上で重要な知見と考えられ、その一部は英文学術雑誌 (Kidney International) に掲載された (参考論文)。

次に、本論文の第2部では CaSR 遺伝子に異常が生じたために、低 Ca 血症と腎臓の石灰化が生じた患者を研究対象とし、遺伝子上の変異点とそれによる機能変化を明らかにした。さらに、第一部の研究を土台とした最新の腎尿細管機能の知識に基づき、新規の治療法を考案し、治療効果を上げたことを報告している。つまり、CaSR 遺伝子の C131F 変異が、CaSR の機能亢進を引き起こし、これが BSC1 と AQP2 の機能を抑制し、水と Ca^{2+} の再吸収を低下させ、高 Ca 尿症を伴った低 Ca 血症、脱水傾向、及び高 Ca 尿症による腎石灰化が生じることを証明した。その後、腎尿細管の特性も考慮し、水負荷とサイアザイド系利尿剤を組み合わせることで治療することにより、腎尿細管での Ca^{2+} 再吸収を高め、高 Ca 尿症を改善させ、腎石灰化の進行を阻止することができた。この臨床研究も英文学術雑誌 (Clinical Nephrology) に掲載された (基礎論文)。

この1部と2部を通じた一連の研究の流れは最新の基礎研究の知見が臨床の病態把握、治療法の開拓に確実に結びついていくことを示しており、本論文は論文審査、最終審査において博士論文としてふさわしいものとの審査結果を得た。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。