

学位論文要旨

氏名 金羽木 有紀子



論文題目

「腎集合管バソプレシン V1a 受容体の局在と機能」

指導教授承認印

阿原克雅



腎集合管バソプレシン V1a 受容体の局在と機能

氏名 金羽木 有紀子

腎臓は、単位機能ユニットであるネフロン集合体で、細胞外液(ECF)の量・浸透圧・pH ならびに電解質組成を調節している。腎ネフロン最後に位置する集合管は、少なくとも3種類の細胞(主細胞、間在細胞 type-A、間在細胞 type-B)で構成され、異なった役割を担っている。主細胞は主に水再吸収(水輸送)、間在細胞 type-A は酸分泌、間在細胞 type-B はアルカリ分泌を行っている。

主細胞の水輸送は、基底膜側にあるバソプレシン(VP)V2 受容体(V2R)-cAMP-AQP2 軸のシグナルにより調節され、V1a 受容体(V1aR)-Ca²⁺-PKC 系を介して修飾されている(Bankir L, Cardiovasc Res, 2001)。一方、Tashima らは、V1aR mRNA 発現量は酸負荷で増加、飲水制限で低下することを報告した(Pflugers Arch. 2001)。V1aR の集合管内局在を再精査するため、我々は高感度 In situ hybridization 法 (ISH) とセグメント特異的マーカーによる免疫染色法(IHC)を用いた。その結果、マウス V1aR mRNA は糸球体、ヘンレループの太い上行脚、マクラデンサ、遠位曲尿細管、集合管に発現していた (ISH)。集合管においては、V1aR mRNA (ISH 法)と主細胞のマーカーである AQP3 蛋白 (IHC) との二重染色を用い、V1aR は主細胞ではなく間在細胞 (type-A, type-B, non-A, non-B) に発現していた。

Koshimizu らが作出した V1aR KO (KO)マウスは、循環血液量が減少し (Koshimizu TA, PNAS, 2006)、糸球体濾過量が低下した(Aoyagi T, Am J Physiol, 2008)。我々は、KO マウスの腎集合管の水再吸収機序を調べるため、飲水制限を行い、Wild type (WT)マウスと比較した。飲水制限時の KO マウスの血漿浸透圧(354.3 ± 1.3 vs. 342.5 ± 1.5 mOsm/kgH₂O, $P < 0.001$)、血漿 VP 濃度(48.8 ± 4.8 vs. 22.1 ± 2.4 pg/ml, $P < 0.001$)は有意に高かった。また、KO マウスの尿浸透圧(膀胱尿)は、標準飼育時(1,197 ± 144.1 vs. 1639.3 ± 130.6 mOsm/kgH₂O, $P < 0.05$)、飲水制限時(3,360 ±

138 vs. 3,610 ± 47 mOsm/kgH₂O, $P < 0.05$)共に有意に低く、WT マウスよりも尿濃縮能が低いことを示した。KO マウスの尿濃縮能低下の原因を調べるため、AQP2 の発現量・管腔膜移行量について調べた。KO マウスの AQP2 発現量は、WT マウスより有意に低かったが(34.3 ± 15.0 vs. 100 %, $P < 0.005$)、飲水制限時には WT と同様に増加した(147.9 ± 26.9 vs. 285.6 ± 49.2 %, $P < 0.05$)。AQP2 の管腔膜移行は、飲水制限刺激で KO マウスは WT マウスと同程度に移行することが観察された (IHC 法)。以上のことから、間在細胞の V1aR は何らかの経路を介し、主細胞 AQP2 の基礎的発現量に貢献していた。

次に、V1aR は間在細胞に発現し、V1aR KO マウスは IV 型アシドーシスを示した(Izumi Y, et al. J Am Soc Nephrol. 2011)ので、酸負荷 (0.28M NH₄Cl/2% sucrose, 6 日間)によるマウス V1aR mRNA の発現量の変化を ISH 法により調べた。酸負荷後、V1aR mRNA は髄質外層内帯のヘンレループ (MTAL_{is}) (297.5 ± 13.9 %, $P < 0.005$)および集合管 (OMCD_{is}) (199.9 ± 15.1 %, $P < 0.05$)において増加した。次に、KO マウスの酸排泄能と集合管の組織学的変化を調べた。KO マウスの血液・尿成分は、標準飼育下では WT マウスと有意な差はなかったが、酸負荷後の血漿 pH (7.27 ± 0.02 vs. 7.35 ± 0.02, $P < 0.005$)と血漿 HCO₃⁻濃度 (14.8 ± 0.8 vs. 20.8 ± 1.0 mmol/L, $P < 0.005$)は有意に低かったのに対し、尿 pH は有意に高く(5.92 ± 0.02 vs. 5.85 ± 0.02, $P < 0.05$)、酸排泄能の低下を示していた。以上のことから、V1aR シグナルは、酸負荷時に間在細胞 type-A において酸分泌 (尿酸性化) に貢献していると考えられた。

結論：V1aR は、腎集合管において間在細胞 type-A に発現し、酸負荷時の酸分泌を亢進した。一方、主細胞 AQP2 の基礎的発現量の維持に寄与していることが示唆された。