

学 位 論 文 要 旨

博士課程 甲・乙	第 号	氏 名	三小田 伸之
<p>[論文題名]</p> <p>A bell-shaped pattern of urinary aquaporin-2-bearing extracellular vesicle release in an experimental model of nephronophthisis. ネフロン癆モデル DBA/2-FG pcy マウスにおける尿中エクソソームアクアポリン排泄量の解析 Physiological Report May;7(9)e14092.p1-p13 2019 DOI: 10.14814/phy2.14092.</p> <p>[要 旨]</p> <p>Aquaporin(AQP)は、水チャネルとも呼ばれる細胞膜に存在するタンパク質で、細胞内外への水分子の輸送に関与している。AQP は哺乳類においては、AQP0～AQP12 までの 13 種類の分子種が知られている。そのうち腎臓は AQP1、AQP2、AQP3、AQP4、AQP6、AQP7 および AQP11 の 7 種類が部位特異的に発現している。AQP1 は近位尿細管およびヘンレループの細い下行脚に、AQP7 および AQP11 は近位尿細管に、AQP2、AQP3 および AQP4 は集合管の主細胞に、AQP6 は集合管の間在細胞にそれぞれ発現する。</p> <p>AQP2 は、バソプレッシンで調節される AQP で、生体内の水分量を決定する上で、必須の分子である。腎集合管主細胞がバソプレッシンに反応すると、細胞内小胞から AQP2 が細胞膜へ移動するため、水の再吸収が促進される。AQP2 は尿においても検出され、尿全体の AQP2 の 80%以上は尿中エクソソーム (uEV) に存在することが報告されている。</p> <p>DBA/2-FG pcy (pcy) マウスは nphp3 遺伝子に変異を有するネフロン癆のモデルマウスであり、加齢により多発性嚢胞腎を発症する。近年、バソプレッシン 2 (V2) 受容体アンタゴニストの投与により、pcy マウスの腎嚢胞が縮小することが報告されている。しかしながらこれまでに、pcy マウスにおける腎および uEV 中の AQP2 (uEV-AQP2) 量の加齢による変化については検討されていない。そこで今回、腎および uEV 中の AQP2 (uEV-AQP2) 量の加齢による変化を調べて、それらの関係性について考察した。</p> <p>加齢に伴い、pcy マウスの尿の濃縮能の低下および尿量の増加が観察された。uEV-AQP2 については、コントロールマウスである DBA/2 マウスと比較して 16 週齢までは加齢に伴い増回したが、21 週齢においては、両群間に有意な差はみられなかった。uEV の数の指標である TSG101 ならびに Alix について調べたところ、uEV-AQP2 と同様に、16 週齢までは加齢とともに増加したが、21 週齢においては、DBA/2 マウス</p>			

との間の差が消失した。次に、イムノブロット法を用いて、腎における AQP2 発現量を調べた。その結果、21 週齢までの pcy マウスの AQP2 発現量は、加齢とともに増加した。免疫組織化学により、16 週齢のマウスの腎を調べたところ、イムノブロット法により観察された腎 AQP2 発現量の増加は、発現強度の増加によるものではなく、AQP2 陽性細胞数の増加によることが示された。続いて、腎に発現している AQP1、AQP2、AQP3、AQP4、AQP6、AQP7、AQP11 および V2 受容体の mRNA 発現量を調べた。その結果、1) AQP1、AQP2、AQP3、AQP4、AQP6 および V2 受容体 mRNA は 21 週まで漸増し、2) AQP7 および AQP11 mRNA 発現量は漸減した。AQP1 mRNA については、どの週齢においても、pcy とコントロールマウスとの間に有意な差は見られなかった。最後に、腎の浸透圧について調べた。その結果、pcy マウスの腎髄質の浸透圧が低下していることを観察した。

以上の結果から、pcy マウスにおいて、

- 1) 腎における AQP2 発現量は加齢とともに増加し、その増加は AQP2 陽性細胞数の増加によってもたらされること、
- 2) uEV-AQP2 の排泄量は、腎の発現量の増加と関連する時期と、関連しない時期があること、
- 3) uEV-AQP2 の排泄量は、どの週齢においてもエクソソームの数の指標と関連すること、
- 4) 腎 AQP2 発現量が増加しているにも関わらず、尿濃縮能が低下する原因として、腎髄質の浸透圧が低下することなどが考えられた。

以上から、腎の AQP2 発現量と uEV-AQP2 排泄量とが必ずしも関連するとは限らないことが分かった。uEV-AQP2 発現量を腎の AQP2 発現量を推測する上での有用なバイオマーカーとして利用する可能性が報告されている。しかし今回の結果は、nphp3 遺伝子に変異を有するネフロン癆においては、この利用に注意が必要であることを示している。