

学位論文抄録

生体内でのアルドステロンによる上皮型 Na チャネル (ENaC) 活性化に対する
セリンプロテアーゼの関与

(In vivo contribution of serine proteases to the proteolytic activation of γ ENaC
by aldosterone)

内 村 幸 平

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻腎臓内科学

指導教員

富田 公夫 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻腎臓内科学

学位論文抄録

[目的] 上皮型 Na チャンネル (ENaC) は腎臓において Na の再吸収を行うことで体液量と血圧の維持に重要な役割を果たしている。ENaC は α 、 β 、 γ の各サブユニットが $1\alpha 1\beta 1\gamma$ のヘテロ 3 量体を形成し、生体内では主にアルドステロンにより発現増加と活性化の調節を受けている。正常血圧の SD ラットにアルドステロンを皮下投与すると、ENaC α サブユニットの発現増加を認め、さらに γ サブユニットの 85kDa から 70kDa への molecular weight shift を認める。近年、*in vitro* の実験系において γ サブユニットの細胞外ループの 1 か所をセリンプロテアーゼのフューリンが、もう 1 か所をプロスタシンが切断することで inhibitory peptide が切り出され、この molecular weight shift が起こることが報告された。この切断は ENaC 活性化に極めて重要であると考えられ、ENaC 活性化へのセリンプロテアーゼの強い関与が示唆されている。しかしこれまでに生体において、 γ ENaC の切断・活性化に対するセリンプロテアーゼの関与を蛋白レベルで検討した報告はない。そこで、経口投与可能なセリンプロテアーゼ阻害薬であるメシル酸カモスタット (CM) を用いて、*in vivo* における γ ENaC の切断・活性化に対するセリンプロテアーゼの関与を検討した。

[方法] 8 週齢の SD ラット (雄) を以下の群 (n=6) に分けて 10 日間飼育後屠殺した。

- ①コントロール群
- ②アルドステロン投与群 (200 μ g/day 皮下持続投与)
- ③アルドステロン+CM 投与群 (12mg/day 皮下持続投与)

評価項目

24 時間蓄尿 (7 日目) : 尿 Na/K 比

採血 : 血清 Na、Cl、K

リアルタイム PCR : 腎皮質の ENaC

イムノブロットング : 腎皮質の ENaC、プロスタシン、尿中プロスタシン

ザイモグラフィー : KHYR-MCA を基質として腎皮質中のセリンプロテアーゼ活性を測定。

[結果] CM はアルドステロンによる ENaC の活性化 (尿中 Na/K 比の低下、血清 Na の上昇、血清 K と Cl の低下) を抑制した。CM は ENaC の mRNA 発現や α β ENaC の蛋白発現には影響を及ぼさなかったが、アルドステロンにより誘導された γ ENaC の molecular weight shift を部分的に抑制し、75kDa に新たなバンドを出現させた。アルドステロンによって尿中プロスタシン排泄が増加したが、CM によって尿中プロスタシン排泄は著明に抑制された。CM は腎臓においてプロスタシン前駆体から活性型へのプロセッシングを抑制していた。

[考察] アルドステロン投与下で γ ENaC はフューリンとプロスタシンにより 2 箇所切断され活性化されるが、CM はプロスタシンによる切断のみを抑制し、ENaC の活性化を抑制したと考えられた。アルドステロン投与による腎臓プロスタシンの発現量増加はみられなかったが、尿中プロスタシン排泄は亢進していたことから、アルドステロンによって誘導されたプロスタシンは、ENaC を切断した後、速やかに尿中へ分泌されると推察される。本実験では CM によって腎臓におけるプロスタシンの前駆体から活性型へのプロセッシングが阻害され、その結果 γ ENaC の切断・活性化の抑制および尿中プロスタシンの著明な減少が観察されたのではないかと考えられた。

[結論] 生体においてセリンプロテアーゼ阻害薬がプロスタシンの活性化を抑制し、 γ ENaC の切断・活性化を抑制したと考えられ、セリンプロテアーゼ阻害薬が新規降圧利尿薬となる可能性が示唆された。