

## 関 健博 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

プロスタシンによるアルドステロン産生誘導の検証

(Verification of adrenal aldosterone production regulated by serine protease prostaticin)

上皮型 Na チャネル(ENaC)は糸球体で濾過された Na の最終的な排泄量を調節するチャネルである。プロスタシンは ENaC を活性化する調節因子であり、生体において高血圧、Na 代謝に関与する事が示唆されている。プロスタシンによる Na 再吸収、血圧調節の分子基盤の解明は、新規作用機序による降圧薬や利尿薬の開発につながる。アルドステロンは副腎皮質球状層においてアルドステロン合成酵素により合成され、腎遠位尿細管のミネラルコルチコイド受容体(MR)に作用して ENaC を活性化し、Na や水を体内に維持する作用を持つ。アデノウイルスを用いてヒトプロスタシンをラットに過剰発現させると高血圧が発症し、さらに血漿アルドステロン濃度が上昇することが報告されている。本研究は、副腎に対するプロスタシンの生理的役割を解明することを目的とし、組換え活性型プロスタシン蛋白および組換え非活性型プロスタシン蛋白を作成し、ヒト副腎皮質腺腫細胞(H295R cells)を用いてアルドステロン産生に与える影響について検討したものである。

活性型プロスタシンを H295R cells に作用させ、アルドステロン合成酵素遺伝子(CYP11B2)プロモーター活性を luciferase assay で、CYP11B2 mRNA 発現量を real time PCR で、培養上清中のアルドステロン分泌量を EIA で測定した。プロテアーゼ活性を消失させた非活性型プロスタシンでも同様の解析を行なった。その結果、活性型プロスタシンは H295R cells において CYP11B2 プロモーター活性、CYP11B2 mRNA の発現およびアルドステロン分泌量を増加させた。この作用は、T 型/L 型 カルシウムチャネル拮抗薬と protein kinase C (PKC) 阻害薬により抑制された。一方、トリプシンが protease-activated receptor (PAR) を活性化してアルドステロン産生を増加させる事が知られているが、siRNA によって H295R cells の PAR をノックダウンしても、また蛋白分解酵素阻害薬 camostat mesilate を投与しても、活性型プロスタシンによる CYP11B2 発現量増加は抑制されなかった。さらに非活性型プロスタシンを作用させた場合も、活性型プロスタシンと同様に CYP11B2 発現量とアルドステロン分泌量が増加した。

これらの成績より、副腎皮質においてプロスタシンがアルドステロン産生を誘導する可能性が示された。このアルドステロン産生誘導機序の一部に、カルシウムチャネルおよび PKC が関与することが示唆された。また、プロスタシンによるアルドステロン産生誘導は、プロスタシンのプロテアーゼ活性を介さない可能性が考えられ、細胞外のプロスタシンを感受する未知のシグナルの存在が示唆された。

審査の過程において、原発性アルドステロン症における血中、尿中プロスタシンの変化とその産生部位、プロスタシン過剰発現動物におけるアルドステロン上昇の機序、プロスタシンと他のアルドステロン産生増加刺激との違い、レニン-アンジオテンシン系の関与の有無、プロスタシンの血圧調整機序が ENaC を介するのかアルドステロン産生調節を介するのか、プロスタシンが作用するカルシウムチャネルや PKC の種類、CYP11B2 転写活性化の分子機序、食塩感受性高血圧におけるプロスタシンとアルドステロンの寄与度、プロテアーゼ活性を介さないシグナルの詳細、などについて質疑応答がなされ、申請者からは適切な回答や考察がなされた。

本研究は、プロスタシンによるアルドステロン産生誘導機序の一端を明らかにしたものであり、今後プロスタシンが作用する分子機序の詳細を解明することにより Na 代謝異常や高血圧症に対する新たな治療薬の開発にもつながるものとして評価された。

審査委員長 代謝内科学担当教授

荒木 栄一

## 審査結果

学位申請者: 関 健博

専攻分野: 腎臓内科学

学位論文名: プロスタシンによるアルドステロン産生誘導の検証  
(Verification of adrenal aldosterone production regulated by serine protease prostaticin)

指導: 富田 公夫 教授

判定結果:

可

不可

不可の場合: 本学位論文での再審査

可

不可

平成 22年 2月 2日

審査委員長

代謝内科学担当教授

荒木栄一

審査委員

生体機能薬理学担当教授

光山勝慶

審査委員

循環器病態学担当教授

小川久雄