

Title	Expression of betaine transporter mRNA : Its unique localization and rapid regulation in rat kidney
Author(s)	赤木, 彰子
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40057">https://hdl.handle.net/11094/40057</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	赤木彰子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 12995 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	Expression of betaine transporter mRNA : Its unique localization and rapid regulation in rat kidney (ラット腎におけるベタイン輸送体の発現とその調節)
論文審査委員	(主査) 教授 安東 明夫  (副査) 教授 松沢 佑次 教授 遠山 正彌

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

腎髄質は生体内で唯一極端な高浸透圧にさらされる部位である。腎髄質細胞はこのような細胞外の高浸透圧環境に適応するため、オスモライトと総称される数種類の有機浸透圧物質を細胞内に蓄積することにより細胞外との浸透圧バランスを維持している。哺乳類の腎臓で同定された主なオスモライトとしてベタイン、ミオイノシトール及びソルビトールが知られている。これらの細胞内への蓄積メカニズムは培養細胞を用いて実験により明らかにされつつある。すなわち、細胞外の浸透圧が上昇するとベタインとミオイノシトールはそれぞれに特異的な輸送体(ベタイン輸送体及びミオイノシトール輸送体)活性の亢進により細胞内に蓄積される。ソルビトールはアルドース還元酵素活性の上昇によりグルコースからの合成が亢進することにより蓄積される。これらの輸送体及び酵素活性の亢進は、主にそれぞれの遺伝子の転写が亢進することによる。このように培養細胞系での検討は進んでいるが、生体内での発現及びその調節についての検討はほとんど行われていない。本研究の目的はラット腎におけるベタイン輸送体(betain GABA transporter : BGT-1)の局在とNaCl負荷による発現調節を明らかにし、他のオスモライト関連遺伝子と比較することによりその生理的役割につき検討することである。

#### 【方法ならびに成績】

##### 1) ノザンプロット法によるBGT-1 mRNA レベルの検討

6週齢雄性ウィスターラットに高張1.5M NaCl 1.5ml/100g体重を腹腔内投与した後、経時的にラット腎臓を摘出した。その腎髄質部からRNAを抽出し、ノザンプロット法によりBGT-1 mRNAレベルを観察した。さらに、NaCl再吸収を阻害した際のBGT-1 mRNAレベルの変化を検討するためにフロセミド(20mg/kg)をNaClと同時に負荷した。髄質のBGT-1 mRNA発現はNaCl負荷後急速に増加し、1時間後に有意な増加を認めた。5時間後にはピークに達し、約6.8倍まで増加した。この増加はフロセミドを同時に投与することによりほぼ完全に抑制された。

##### 2) in situ ハイブリダイゼーション法によるBGT-1発現の組織学的検討

NaCl負荷後、経時的にラット腎を灌流固定し、腎切片を作製。\*SでラベルしたBGT-1のcRNAプローブでin situ ハイブリダイゼーションを行った。BGT-1は髄質外層に最も強く発現しており、髄質内層にも発現が認めら

れた。強拡大にて、髄質外層の強いシグナルはヘンレの太い上行脚に、また髄質内層のシグナルは集合管に存在した。ヘンレの太い上行脚のBGT-1発現はNaCl負荷によって急速かつ強力に誘導され、フロセミド投与によりほぼ完全に抑制された。一方、集合管における発現はヘンレの太い上行脚に比して、あまり鋭敏に誘導されなかった。

### 3) マイクロダイセクションRT-PCRによるBGT-1の発現部位の同定

NaCl負荷を行ったラットより腎を摘出し、実体顕微鏡下にネフロン各セグメントを単離し、逆転写酵素(reverse transcriptase; RT)にて各セグメント別のcDNAを作成した。このcDNAにラットBGT-1に特異的なプライマーを用いてPCRを行い、各セグメントごとのBGT-1の発現を検討した。その結果、BGT-1の発現部位はヘンレの太い上行脚と集合管であることが確認された。

### 4) 他のオスモライト関連遺伝子との比較

ミオイノシトール輸送体はBGT-1の発現部位に加えて皮質部のヘンレの太い上行脚及び傍糸球体部にも強い発現が認められた。アルドース還元酵素は髄質内層にのみ発現が認められた。従来より、これらのオスモライト関連遺伝子は浸透圧の最も高い髄質内層に強く発現していると考えられていた。しかし、今回の結果からBGT-1は髄質外層に、ミオイノシトール輸送体は髄質外層に加え、腎皮質にも強く発現しており、特異的な発現パターンを示していることが明らかとなった。

### 【総括】

我々はラット腎におけるBGT-1の発現及びその調節について検討した。BGT-1はヘンレの太い上行脚に最も強く発現しており、集合管にも発現が認められた。ヘンレの太い上行脚のBGT-1発現はNaCl負荷により急速かつ強力に誘導され、フロセミドにより抑制されたことから、この部位におけるBGT-1の発現はNaCl再吸収量に依存していると考えられた。このようにヘンレの太い上行脚においてBGT-1はNaCl再吸収に関連して生理的に重要な役割を果たしていることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

ベタインは腎髄質細胞で同定された主要なオスモライトの一つで、細胞外の高浸透圧に対してベタイン輸送体の活性の亢進により細胞内に蓄積し、細胞内外の浸透圧バランスを保つ働きがある。培養細胞を用いた実験ではベタイン輸送体は高浸透圧刺激に反応して主に遺伝子転写レベルで制御を受けていることが明らかとなっているが、生体内での検討はほとんど行われていなかった。

本研究は生体内でのベタイン輸送体の生理的役割を明らかにするため、ラット腎におけるベタイン輸送体の局在とその発現調節について検討した。ベタイン輸送体はヘンレの太い上行脚に最も強く発現しており、集合管にも発現が認められた。ヘンレの太い上行脚での発現はNaCl負荷により急速かつ強力に誘導されフロセミドにより抑制されたことから、この部位におけるベタイン輸送体の発現はNaCl再吸収量に依存しており、局所の高浸透圧に対応していることが明らかとなった。

これらの結果から、ベタイン輸送体の生体内での生理的役割が明らかとなり、腎生理学において寄与するところ大と期待され、学位に値すると考える。