

氏名	たか はし かず しげ 高 橋 一 栄
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1872 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Upregulation of H ⁺ -peptide cotransporter PEPT2 in rat remnant kidney (ラット残存腎における H ⁺ 駆動型ペプチドトランスポータ PEPT2 の亢進)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 小 川 修 教 授 福 田 和 彦

論 文 内 容 の 要 旨

腎臓は水、電解質、栄養物質及び薬物などの輸送を主な生理機能としており、体液の恒常性維持を担う極めて重要な臓器である。近位尿細管上皮細胞には種々のトランスポータが発現し、ペプチド、アミノ酸、グルコース、リン酸などの栄養物質の再吸収を媒介している。これまで申請者の研究室では、細胞膜小胞系や培養細胞系を用いた検討から尿細管刷子縁膜に存在する H⁺/ペプチドトランスポータが、β-ラクタム系抗生物質やアンジオテンシン変換酵素阻害薬などペプチド類似薬物を誤認識し、これら薬物の尿細管再吸収に関与することを明らかにしてきた。さらに、クローン化ペプチドトランスポータ PEPT1 及び PEPT2 を用いた解析から、小腸及び腎に発現する PEPT1 は低親和性、腎に発現する PEPT2 は高親和性のトランスポータであることが明確になったが、薬物腎挙動におけるこれらトランスポータの役割は不明のままであった。申請者は科学的基盤に基づく薬物療法への応用を目指し、ペプチド類似薬物の尿細管再吸収におけるペプチドトランスポータの役割について解明を図った。

腎刷子縁膜小胞 (BBMV) における加水分解抵抗性ジペプチド glycylsarcosine (Gly-Sar) 輸送の濃度依存性を検討したところ、親和性の異なる 2 種類のペプチドトランスポータ (Km: 50 μM 及び 1.2 mM) の関与が判明した。また、BBMV に予め種々の β-ラクタム系抗生物質を負荷し、Gly-Sar 輸送に対する trans-stimulation 効果を検討したところ、PEPT2 に対して高親和性のアミノセファロsporin 類による Gly-Sar 輸送の促進が認められたが、低親和性のアニオン性セファロsporin 類による影響は観察されなかった。さらに、Gly-Sar 輸送に対する種々 β-ラクタム系抗生物質の阻害定数 (Ki 値) を算出したところ、PEPT2 の Ki 値と高い相関性 (r=0.98) が認められた。これらの結果から、PEPT2 が尿細管刷子縁膜を介した β-ラクタム系抗生物質輸送の支配因子となることが判明した。

次に、PEPT1 及び PEPT2 の病態生理学的役割を解明するため、慢性腎不全モデルとして 5/6 腎摘出ラットを用い、PEPT1 及び PEPT2 の機能的・分子の変動を検討した。5/6 腎摘出後、2 週間飼育したラットの残存腎から調製した BBMV における Gly-Sar 輸送は、模擬処置ラットに比べて有意に上昇していたが、Km 値の変化は認められなかった。拮抗 PCR 法及びウエスタンブロット解析によって PEPT1 及び PEPT2 の腎発現量を調べたところ、5/6 腎摘出ラットでは模擬処置ラットに比べ、PEPT2 の mRNA 量及び蛋白量ともに顕著に増加していたのに対し、PEPT1 の発現量には変化が認められなかった。これらの結果から、5/6 腎摘出ラットの残存腎における Gly-Sar 輸送活性の上昇は、PEPT2 の発現亢進に起因することが明らかになった。また、腎機能低下患者におけるペプチド類似薬物の排泄遅延には、PEPT2 の発現亢進に基づく尿細管再吸収の増加が、一部関与していることが推察された。

以上の結果は、PEPT1 及び PEPT2 の薬物動態学的並びに病態生理学的役割を明確にし、ペプチド類似薬物の腎機能に応じた投与設計を構築する上で有用な基礎的知見と考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近位尿細管刷子縁膜に発現する H⁺/ペプチドトランスポータ (PEPT1, PEPT2) は、小分子ペプチドのみならず構造的

に類似した β -ラクタム系抗生物質も認識する。一方、これらトランスポータの薬物治療への応用に関する情報は少ない。申請者は、ラット腎刷子縁膜小胞 (BBMV) を用いて系統的な解析を行い、以下の新知見を得た。

BBMV における加水分解抵抗性ジペプチド glycylsarcosine (Gly-Sar) 輸送に対する β -ラクタム系抗生物質の阻害能について調べたところ、PEPT2 に対する阻害定数と相関性 ($r=0.98$) が示され、PEPT2 が刷子縁膜を介した β -ラクタム系抗生物質輸送を支配することが示唆された。次に、PEPT1 及び PEPT2 の病態生理学的役割を解明するため、慢性腎不全モデルとして5/6腎摘出 (Nx) ラットを用いて検討した。Nx ラット残存腎由来の BBMV における Gly-Sar 輸送は、模擬処置群に比べて有意に上昇したが、 K_m 値は変化しなかった。さらに発現量を調べたところ、Nx ラットでは模擬処置ラットに比べ、PEPT2 の mRNA 量及び蛋白量ともに顕著に増加していたが、PEPT1 の発現量には変化が認められなかった。これらの結果から、腎不全の進展に伴う Gly-Sar 輸送の上昇は、PEPT2 の発現亢進に起因することが明らかになった。

以上の研究は、PEPT1 及び PEPT2 の薬物動態学的並びに病態生理学的役割の解明に貢献し、腎機能に応じた薬物投与法の確立に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年1月17日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。