

(甲)

学位論文抄録

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)

関 健博

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻腎臓内科学

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〕 プロスタシン (PRSS8) は尿細管管腔側において上皮型ナトリウムチャンネル (ENaC) を活性化するセリンプロテアーゼである。これまでの研究によりプロスタシンが生体内において高血圧、ナトリウム代謝に関与している可能性が示唆されている。アルドステロン (Aldo) は副腎皮質球状層において、デオキシコルチコステロンを基質としてミネラルコルチコイド受容体に作用して ENaC を活性化し、ナトリウムや水を体内に維持する作用が知られている。以前私たちは、Aldo 投与ラットにおいて尿中 PRSS8 排泄量が増加することを報告した。また、アデノウイルスを用い、ラットに PRSS8 を強制発現した際に血中 PRSS8 濃度が上昇し、血中 Aldo 濃度も上昇することが報告されている。今回、私たちは PRSS8 の生理的役割を解明するために組換え PRSS8 蛋白を作成し、ヒト副腎皮質腺腫細胞 (H295R cells) でのアルドステロン産生に与える影響について検討した。

〔方法〕 組換え蛋白分解酵素活性型 PRSS8 蛋白 (活性型 PRSS8)、組換え蛋白分解酵素非活性型 PRSS8 蛋白 (非活性型 PRSS8) を作成した。PRSS8 蛋白を H295R cells に作用させ、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 Aldo 分泌量を EIA で測定した。

〔結果〕 活性型 PRSS8 は H295R cells の CYP11B2 プロモーター活性、CYP11B2 mRNA の発現および Aldo 分泌量を増加させることが判明した。siRNA を用いての H295R cells の Protease-activated receptor (PAR) ノックダウンは、活性型 PRSS8 による CYP11B2 発現量増加を抑制しないことがわかった。蛋白分解酵素阻害薬である camostat mesilate を共に投与した場合や、非活性型 PRSS8 を作用させた場合も同様に CYP11B2 発現量および Aldo 分泌量が増加することを確認した。T 型/L 型 カルシウムチャンネル拮抗薬と protein kinase C (PKC) 阻害薬は、活性型 PRSS8 による Aldo 分泌量を抑制することがわかった。

〔考察〕 PRSS8 により副腎での Aldo 産生誘導が示唆された。そのメカニズムの一部にカルシウムチャンネルおよび PKC の関与が示唆された。また PRSS8 の持つ蛋白分解酵素活性は関与しておらず、細胞外に存在する PRSS8 の刺激を感受する、未知の細胞内メカニズムが存在する可能性が考えられた。また PRSS8 と Aldo との間に positive feedback が存在する可能性が示唆された。

〔結論〕 蛋白分解作用を介さない PRSS8 による H295R cells での Aldo 産生が誘導されることが示された。PRSS8 の蛋白分解酵素作用に非依存的な作用が存在し、循環血液中の PRSS8 の新たな役割が存在する可能性がある。