24. 囊胞腎マウス (DBA/2FG-*pcy*) 囊胞内液中に存在する 熱抵抗性の尿細管細胞水輸送能促進因子

山口 太美雄¹⁾

Jared J. Grantham¹⁾

高橋 久英²⁾

University of Kansas Medical Center, Nephrology¹⁾,

藤田保健衛生大学総合医科学研究所 実験動物センター²⁾

囊胞腎症 (PKD) は、代表的な遺伝性腎疾患として知られているが、その発現機序には不明な点が多い。囊胞の発現には、尿細管-集合管系上皮細胞の水輸送能促進と、その異常増殖が関与していると考えられている。今回我々は、遺伝性囊胞腎症モデル DBA/2FG-*pcy* マウスの腎囊胞内液をイヌ尿細管由来 MDCK 細胞に作用させ、その水輸送量に与える影響を検討した。

方 法

実験には、18~34 週齢の DBA/2FG-*pcy* マウス 11 匹を使用した。これらの動物をエーテル麻酔下で脱血後、両腎を摘出して囊胞内液を採取・プールした。尿細管水輸送能のモデルは、イヌ尿細管由来 MDCK 細胞をメンブラン・フィルタ (Transwell-Col®, Costar, 4.7 cm²) 上に単層培養して作成した。培養液には Dulbecco MEM (5% FBS 添加) を使用し、プールした囊胞内液を 5% (v/v) 添加して細胞の basal surface 側から apical surface 側へ移動する単位時間あたりの水輸送量を測定した。また、100°C で 30 分間加熱処理した囊胞内液についても同様の検討を行った。

結 果

囊胞内液添加群の水輸送量は 0.085 ± 0.009 ($\mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$)、加熱処理囊胞内液添加群では 0.080 ± 0.008 ($\mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$) であり、非添加群の 0.004 ± 0.001 ($\mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$) と比較して著しい増加がみられた (Mean $\pm$ SD, $n=6$: 各群メンブラン・フィルタ 6 個使用)。

考 察

DBA/2FG-*pcy* マウスにおいては、胎仔期に腎に多数の微小囊胞が発生し、加齢とともにサイズが増大し

て著しい腎の腫大を招き、約 7~10 月齢で尿毒症で死に至る¹⁻³⁾ため、有用な囊胞腎モデル動物として各種の研究に応用されている。一方、囊胞腎症における囊胞内部への液体移動の促進要因については、樹立細胞株を用いて *in vitro* で検討が試みられてきた^{4,5)}。我々は腎疾患モデル動物 (*in vivo* model) 由来の検体を腎細胞機能モデル (*in vitro* model) に作用させて、生体内における囊胞形成のメカニズムを理解することを試みた。今回の実験から、遺伝性囊胞腎症モデルマウス由来の腎囊胞内液中に、熱抵抗性の水輸送能促進因子の存在が示唆された。現在は、囊胞内液をプロテアーゼで処理して水輸送能促進因子の活性がどう変化するか検討している。MDCK 細胞では、細胞内 cyclic AMP 産生促進に伴ってその水輸送量の増加がみられると報告されており⁶⁾、今後はマウス由来囊胞内液による膜内 adenylate cyclase の活性化と、それに伴う細胞内 cyclic AMP の増加の有無について検討することが重要であると考えられる。

文 献

- 1) Takahashi, H. *et al.* : *J. Am. Soc. Nephrol.*, **1**, 980 (1991)
- 2) Yamaguchi, T. *et al.* : *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **69**, 335 (1990)
- 3) 山口太美雄, ほか: アニテックス, **4**, 327 (1992)
- 4) Grantham, J.J. *et al.* : *Kidney Int.*, **35**, 1379 (1989)
- 5) Neufeld, T.K. *et al.* : *Kidney Int.*, **41**, 1222 (1992)
- 6) Mangoo-Karim, R. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6007 (1989)