

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 原 将 之

主論文 1 編

Robust circadian clock oscillation and osmotic rhythms in inner medulla reflecting cortico-medullary osmotic gradient rhythm in rodent kidney.
Scientific Reports 7, Article number: 7360, 2017

審 査 結 果 の 要 旨

哺乳類において概日時計はほとんどの臓器や組織で機能することが知られており，糸球体濾過量や水・電解質の排泄等の多くの腎機能が概日リズムを示すことが明らかになっている．現在まで分子振動体を構成する時計遺伝子の発現がげっ歯類の腎臓において概日リズムを示すことが報告されているが，腎臓局所の概日時計の果たす役割の解明は十分でない．申請者らは本研究で概日時計の腎臓における局在性について検討し，腎髄質の浸透圧調節における概日時計の役割を明らかにした．

申請者らはまず腎臓における概日時計の局在性を検討した．時計遺伝子 PER2 にホタルルシフェラーゼ遺伝子を挿入した PER2::Luciferase ノックインマウスから腎臓を採取し発光イメージングシステムを用い発光像を撮影したところ，髄質に強固かつ明瞭な概日リズムを認めた．このことは髄質における何らかの生理機能に概日時計が関与していることを示唆すると考えられ，申請者らは水の再吸収に関与する要素の一つである皮質髄質の浸透圧勾配に着目した．

次に申請者らはラットの腎臓を継時的に採取し，皮質と髄質内層の浸透圧を測定した．皮質では浸透圧に概日リズムが検出できなかったが，髄質内層では夜間にピークを持つ明瞭な概日リズムが検出できた．また皮質と髄質内層の浸透圧比にも同様の明瞭な概日リズムが検出された．

さらに申請者らは髄質内層における高浸透圧の形成と，水の再吸収に関与する遺伝子発現量について概日リズム性を検討した．野生型 (WT) マウスの腎臓を 4 時間おきに採取し，定量的 PCR 法で遺伝子発現を確認したところ，バゾプレシン受容体 (V1aR, V2R)，尿素運搬体 (UT-A2)，水チャンネル (Aqp2) の発現に有意な日内リズムを認めた．

最後に，申請者らは概日時計の浸透圧勾配の概日リズム形成に対する重要性を検討する目的で，時計遺伝子の一つである *Bmal1* 欠損マウスを用いた検討を行った．第一に，WT マウス，*Bmal1* 欠損マウスのそれぞれから 6 時間おきに腎臓を採取し，髄質内層の遺伝子発現を定量的 PCR 法で確認した．V1aR, V2R, UT-A2, Aqp2 の発現の有意な概日リズムは *Bmal1* 欠損マウスでは消失していた．第二に，昼間 (休息期) および夜間 (活動期) において WT マウス，*Bmal1* 欠損マウスの腎臓を採取し，皮質・髄質の浸透圧を測定した．WT マウスではラットで観察されたのと同様，皮質での昼夜差は検出されなかったが髄質内層の夜間の浸透圧が昼間より有意に高値であり，皮質髄質浸透圧勾配にも昼夜差が観察された．一方で *Bmal1* 欠損マウスでは，皮質，髄質内層における浸透圧の両方で，昼夜差が観察されず，皮質髄質浸透圧勾配にも昼夜差は見られなかった．

これらのことから腎臓髄質における概日時計により皮質髄質浸透圧勾配に概日リズムが生じ，水・電解質の再吸収の日内変動に関与する事が示唆された．

以上が本論文の要旨であるが，腎臓局所の概日時計が果たす役割の一端を明らかにした点で，医学上価値のある研究と認める．

平成 29 年 9 月 21 日

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 伊 東 恭 子 ㊞

審査委員 教授 的 場 聖 明 ㊞