

# 27AB-pm219

腎培養細胞を用いた AQP2 代謝動態の検討

○高橋 由衣<sup>1</sup>, 嶋田 貴之<sup>1</sup>, 酒井 柁<sup>1</sup>, 田中 靖子<sup>1</sup>, 石橋 賢一<sup>1</sup>, 佐々木 成<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>明薬大)

## 【背景・目的】

AQP2 は尿濃縮に必須の水チャネルであり、バソプレシンに依存して細胞内から細胞表面に移動し、集合管の水透過性を高める。AQP2 はエクソソームに含まれて尿中に排出されると考えられているが、その生理的役割、排泄調節は不明である。そこで AQP2 発現細胞の培養実験と尿での共免疫沈降の実験を行った。

## 【方法】

- 1、MDCK-ヒト AQP2 発現細胞を、Transwell にて 4 日間培養後、AQP2 分泌刺激因子と抑制因子を添加する 3h 前と、添加した 3h 後の apical 側の培養液中の AQP2 の蛋白濃度を ELISA 法により測定した。
- 2、ヒト尿エクソソーム分画を用いて共免疫沈降を行い、エクソソーム中の AQP2 が特定の蛋白と共存しているかを Western Blot 法で調べた。

## 【結果】

- 1、Forskolin ( $10^{-5}$ M)、高浸透圧刺激 (NaCl:100mM) で AQP2 の蛋白量が増加し、高浸透圧刺激の方では 0.1ng/ml から 1.37ng/ml へ増加し、有意な差が認められた。
- 2、尿エクソソームでは AQP2, TSG101, ALIX,  $\beta$ -actin, ENaC を確認することができ、AQP2 抗体による共免疫沈降では TSG101 を確認することができた。

## 【結語・考察】

尿中への AQP2 排泄はエクソソームを介し、その調節には浸透圧が働き、cAMP 系の関与も示唆された。