

氏 名 (本 籍) 金 崎 雅 美 (広 島 県)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 5 1 2 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 7 年 9 月 1 4 日

学 位 論 文 題 目 Estrogen and Raloxifene, a Selective Estrogen Receptor Modulator,
Ameliorate Renal Damage in *db/db* Mice

(エストロゲンとラロキシフェン(選択的エストロゲン受容体モジュレーター)
は糖尿病 *db/db* マウスの腎病変を改善する)

審 査 委 員 主 査 教 授 野 田 洋 一

副 査 教 授 佐 藤 浩

副 査 教 授 岡 村 富 夫

論文内容要旨

*整理番号	518	(ふりがな) 氏 名	かな さき まさ み (旧姓 ちん) 金 崎 雅 美 (旧姓 陳)
学位論文題目	Estrogen and Raloxifene, a Selective Estrogen Receptor Modulator, Ameliorate Renal Damage in <i>db/db</i> Mice (エストロゲンと Selective Estrogen Receptor Modulator のラロキシフェンは、 <i>db/db</i> マウスの腎障害を改善する)		
<p>【目的】慢性腎疾患の予後は男性に比べて女性の方が良好であることが多く、女性ホルモン(エストロゲン)の腎保護作用が示唆されている。また、エストロゲンが培養メサンギウム細胞の増殖とコラーゲン合成を抑制するという報告もある。一方、糖尿病モデルラット(<i>obese Zucker rat</i>)では、エストロゲンが腎障害を悪化させるという報告も有り、糖尿病性腎症に対するエストロゲンの作用は未だ明らかではない。最近ではホルモン補充療法の大規模臨床試験の結果、発癌性などの有害作用が明らかになり、エストロゲンの臨床応用は限られているのが現状である。Selective Estrogen Receptor Modulator のひとつであるラロキシフェンは、閉経後女性の骨粗鬆症に対する治療薬として日本でも臨床的に使用されているが、腎臓に対する作用は明らかではない。そこで、エストロゲン及びラロキシフェンが2型糖尿病モデルマウスである <i>db/db</i> マウスの腎病変に及ぼす影響を検討した。</p> <p>【方法】実験1: 10週齢の雌性 <i>db/db</i> マウスに両側卵巣摘出術(OVX)を施行し、偽薬あるいは17β-estradiol(E₂)ペレットを皮下に埋没し、Sham群、OVX群、OVX+E群の3群に分けた。非糖尿病コントロールとして <i>db/m</i> マウスを用いた。8週間後、体重・血糖・血圧・腎重量・尿中アルブミン排泄量を測定した。また、腎臓の組織標本を作製しPAS染色およびフィブロネクチン免疫染色にてメサンギウム領域の拡大および細胞外基質の増減について検討した。さらに腎組織からRNAを抽出し、定量的RT-PCR法を用いてfibronectin mRNAの発現を検討した。実験2: 10週齢の雌性 <i>db/db</i> マウスにラロキシフェン(RLX)あるいは偽薬を8週間皮下注射にて投与し、実験1と同様に体重・血糖・血圧・腎重量・尿中アルブミン排泄量および腎組織学的変化を評価した。実験3: 培養マウスメサンギウム細胞を用いて、RLX有無の条件で、TGF-β1刺激後のfibronectin geneあるいは転写因子AP-1の転写活性をLuciferase assayにて検討した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】実験 1 : 18 週齢時、*db/db* マウスの体重と血糖値は、*db/m* マウスに比して著明に増加したが、OVX+E 群では、Sham 群・OVX 群に比して有意に低値であり、特に血糖値は E₂ 投与により正常化した。OVX+E 群の食餌量は、Sham 群・OVX 群と比較して減少した。血圧および腎重量は E₂ 投与により変化を認めなかった。*db/m* マウスに比して *db/db* マウス (Sham 群・OVX 群) の尿中アルブミン排泄量は増加したが、OVX+E 群では有意に減少した。腎組織標本の PAS 染色を行いメサンギウム領域を定量したところ、*db/m* マウスと比較して *db/db* マウス (Sham 群・OVX 群) のメサンギウム領域は増大したが、OVX+E 群ではその増加は軽減した。腎糸球体 fibronectin 沈着を免疫染色法を用いて半定量した結果、同様に E₂ 投与により軽減し、定量的 RT-PCR 法で測定した腎 fibronectin mRNA 発現量も減少した。実験 2 : 体重・血糖・血圧・腎重量・尿中アルブミン排泄量は両群間に有意差を認めなかったが、メサンギウム領域、糸球体 fibronectin 沈着、腎 fibronectin mRNA 発現量は RLX 投与群で有意に減少した。実験 3 : 培養マウスメサンギウム細胞において、RLX は TGF-β1 刺激による fibronectin レポーター活性を濃度依存性に抑制した。また、RLX は TGF-β1 刺激による転写因子 AP-1 の転写活性を抑制した。

【考察】E₂ は *db/db* マウスの腎障害の発症・進展を抑制し、そのメカニズムは高血糖や肥満などの代謝状態の改善と、腎臓に対する直接的な細胞外基質産生抑制作用の双方によると推測された。E₂ の血糖改善作用の詳細は明らかではないが、視床下部に作用して食欲を抑制する効果と、インスリン抵抗性を改善する効果の両作用が考えられた。一方、RLX は肥満と高血糖を改善しなかったにもかかわらず、腎糸球体細胞外基質の沈着を改善させ、*in vitro* でも TGF-β1 刺激による fibronectin および AP-1 転写活性亢進を抑制したことから、腎臓、特にメサンギウム細胞に対して RLX がエストロゲンアゴニストとして作用して fibronectin の産生を抑制したものと推察した。

【結論】E₂ は *db/db* マウスの高血糖・肥満・腎障害を改善し、RLX は血糖・体重には影響を及ぼさずに腎障害を改善した。共に糖尿病性腎症の発症・進展を抑制する可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	518	氏名	金崎 雅美
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>糖尿病性腎症に対するエストロゲンの作用については未だ明らかではない。本研究は、17β-estradiol (E) および選択的エストロゲン受容体モジュレーターのひとつであるラロキシフェン(RLX)の糖尿病性腎症に対する効果について検討したものである。</p> <p>db/db マウスに E を投与することにより、食餌摂取量が減少し、肥満と耐糖能異常・インスリン抵抗性が改善した。その結果、尿中アルブミン排泄量の増加、腎糸球体メサングウム領域の拡大および fibronectin 発現の増加がいずれも改善した。一方、RLX 投与の場合には、肥満・高血糖は改善しなかったが、腎病変は有意に改善した。また、RLX は培養メサングウム細胞における TGF-β1 刺激による fibronectin 転写活性亢進を抑制した。このことから、E および RLX は糖尿病性腎症の発症進展を抑制する可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は、糖尿病性腎症の新たな治療法開発に重要と考えられ、博士(医学)の授与に値するものと判定された。なお、本学位授与申請者は 2005 年 8 月 31 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け合格と認められた。</p>			
(平成 17 年 9 月 5 日)			