

| | |
|---------------|---|
| 氏 名 | 横 幕 由喜代 |
| 学 位 の 種 類 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 博 士 第 5 6 4 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 2 0 年 3 月 2 5 日 |
| 学 位 論 文 題 目 | Asialoerythropoietin Prevents the Development of Contrast Medium-Induced Nephropathy. (アシアロエリスロポエチンは造影剤腎症の発症・進展を抑制する) |
| 審 査 委 員 | 主 査 教 授 村 田 喜 代 史 副 査 教 授 陣 内 皓 之 祐 副 査 教 授 野 田 洋 一 |

論文内容要旨

| | | | |
|--|--|---------------|--------------------|
| ※整理番号 | 569 | (ふりがな) 氏 名 | よこまく ゆきよ 横幕 由喜代 |
| 学位論文題目 | Asialoerythropoietin Prevents the Development of Contrast Medium-Induced Nephropathy. (アシアロエリスロポエチンは造影剤腎症の発症・進展を抑制する) | | |
| <p>【目的】 造影剤腎症は、臨床において、急性腎不全を来す最も重要な疾患の一つであるが、その予防・治療法は確立されていない。 腎性貧血の治療薬であるエリスロポエチン (EPO) は、各種臓器における虚血性モデル動物において、造血機序に依存せず、抗アポトーシス作用を介した臓器保護作用を有する事が報告されている。しかしながら、その多量投与は多血症を来す懸念から、貧血以外の臨床応用に至っていない。近年、造血を来さない事を目的として、EPO の糖鎖末端のシアル酸を除去し精製されたアシアロエリスロポエチン (AsialoEPO) が、虚血による神経障害を抑制すると報告されている。 そこで今回、造影剤による急性腎不全モデルに対し、EPO 並びに AsialoEPO が、抗アポトーシス作用を介し腎保護効果をもたらさうかを検討した。</p> <p>【方法】 インドメタシン (10 mg/kg BW) 、L-NAME (10 mg/kg BW) を前投与した雄性 SD ラットに、非イオン性造影剤 Ioversol (IVS) (2.9 g iodine/kg BW) を静脈内投与し、造影剤腎症モデルを作成した。AsialoEPO もしくは EPO (80 ng/g BW) は、IVS の1時間前に投与した。 IVS 投与 24 時間後に血清クレアチニン (SCr) 、尿素窒素 (BUN) 、24 時間クレアチニンクリアランス (Ccr) を測定した。摘出腎においては、組織学的変化、並びにアポトーシス評価のため TUNEL 染色と Caspase-3 活性を検討した。又、AsialoEPO 及び EPO 投与 5 分から 24 時間後のラット腎における情報伝達を、Western Blot (WB) 法にて検討した。 次いで、培養近位尿細管細胞 (LLC-PK1 細胞) を用いて、IVS による直接毒性に対する AsialoEPO の治療効果を検討した。LLC-PK1 細胞に IVS (100 mg iodine/ml) 30 分附置した後、IVS を除去し 24 時間後に細胞を回収、Caspase-3 活性を測定した。AsialoEPO もしくは EPO (25 ng/ml) は、IVS 刺激 1 時間前に附置した。又、LLC-PK1 細胞において、AsialoEPO 及び EPO 投与 5 分から 24 時間後の細胞内情報伝達経路を WB 法にて検討した。</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。

(続 紙)

【結果】

IVS 投与 24 時間後、Control 群の Scr、BUN は有意に上昇し、Ccr は有意に低下した。これらの変化は、AsialoEPO 及び EPO 前投与により有意に抑制された。腎組織学的所見は、Control 群において、急性腎障害の特徴である尿細管の赤血球円柱や鬱血、近位尿細管の空胞変性が認められたが、これらは AsialoEPO 及び EPO 前投与により改善が認められた。アポトーシスの検討では、Control 群で TUNEL 陽性細胞が有意に増加し、AsialoEPO 及び EPO 前投与において有意に抑制された。また腎蛋白の Caspase-3 活性と Cleaved caspase-3 免疫染色においても、Control 群でこれらは有意に増加し、AsialoEPO 及び EPO 前投与により改善が認められた。ラット腎におけるシグナルの検討では、AsialoEPO 及び EPO 投与 5 分後に JAK2/STAT5 リン酸化が有意に増加し、1 時間後に HSP70 蛋白発現が有意に増強した。

細胞実験では、LLC-PK1 細胞において IVS 附置により Caspase-3 活性は有意に増加し、AsialoEPO 及び EPO 前投与により有意に抑制された。又、LLC-PK1 細胞において、AsialoEPO 及び EPO 附置 5 分後に JAK2/STAT5 リン酸化が有意に増加し、1 時間後には HSP70 蛋白発現が有意に増強した。更に、AsialoEPO の IVS 附置によるアポトーシス抑制機構を検討するため、JAK2 阻害薬を AsialoEPO 投与の 1 時間前に附置し、Caspase-3 活性を検討した。結果、JAK2 阻害薬により AsialoEPO の抗アポトーシス効果は、有意に阻害された。

【考察】

以上の結果から、EPO、もしくは AsialoEPO は、造影剤によって引き起こされる近位尿細管上皮のアポトーシス、ひいては腎組織障害を抑制し、更に、腎機能を保護することが示された。その機序として、ラット腎及び培養近位尿細管細胞において、AsialoEPO は EPO 同様に、JAK2/STAT5 経路活性化を介して HSP70 蛋白発現を増強させることにより、造影剤によるアポトーシスの抑制に関与していると考えられた。

【結果】

EPO 並びに AsialoEPO は、近位尿細管上皮のアポトーシスを抑制し、造影剤による腎障害を抑制した。AsialoEPO は生物学的造血活性を有しておらず、血栓症発症等のリスクが低いと考えられ、造影剤腎症等の急性腎障害の治療に有用であ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 | 569 | 氏名 | 横幕 由喜代 |
| 論文審査委員 | | | |
| (学位論文審査の結果の要旨) | | | |
| <p>本研究は、アシアロエリスロポエチン(AEPO)の造影剤腎症に対する腎保護効果を検討したものである。</p> <p>EPO 誘導体であるAEPO は、造影剤腎症ラットにおいて腎機能・組織障害とアポトーシスを抑制した。その分子機構解明するため培養近位尿細管細胞を用いた検討を行ったところ、AEPO の抗アポトーシス作用には HSP70 蛋白発現の増強が必要であり、更に、HSP70 蛋白発現の増強は JAK2/STAT5 リン酸化を介していた。以上より、AEPO は JAK2/STAT5-HSP70 経路を介した抗アポトーシス作用により、造影剤腎症発症を予防した可能性が示唆された。</p> <p>本論文は、造血作用を有しない AEPO が造影剤腎症発症を予防すること、またその分子機構を明らかにしたものであり、今後臨床において、AEPO が新たな治療薬となり得る可能性を示唆したものである。よって博士(医学)の学位を授与するに値すると評価された。</p> <p>なお、本学位授与申請者は2008年1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20年2月5日) | | | |