

林 和歌 論文内容の要旨

主 論 文

Glomerular Repair Retardation via blocking of angiotensin II type 1a receptor pathway in a Mouse Glomerulonephritis Model

(マウス糸球体腎炎モデルにおけるアンジオテンシン II type 1a レセプター経路の
阻害を介した糸球体修復の遅延)

Waka Hayashi M.D., Yoko Obata M.D., Ph.D., Tomoya Nishino M.D., Ph.D., Shinichi Abe
M.D., Kumiko Io M.D., Akira Furusu M.D., Ph.D., Katsushige Abe M.D., Ph.D., Masanobu
Miyazaki M.D., Ph.D., Takeshi Sugaya Ph.D., Takehiko Koji Ph.D., Shigeru Kohno M.D.,
Ph.D.

(Nephron Experimental Nephrology)

[in press]

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：河野茂教授)

緒 言

レニン・アンジオテンシン系 (RAS) は、血圧の調節のみならず臓器障害にも関与していることが知られている。その中でも、アンジオテンシン II (ATII) は重要な因子であり、特異的受容体である ATII type1 受容体 (AT1R) や ATII type2 受容体に結合して作用を発揮する。近年 ATII の腎への作用は、臓器障害進展と臓器保護作用の両方が報告されており、病態によって異なった作用を発揮することが示唆されている。今回我々は、可逆性メサングウム増殖性糸球体腎炎モデルのハブ毒 (habu snake venom; HSV) 腎炎マウスにおける糸球体障害・修復過程に ATII-AT1R 経路がどのように関与しているかを検討した。

対象と方法

8 週齢オスの C57/BL6 マウス (AT1a+/+) と C57/BL6 バックグラウンドの AT1a ノックアウトマウス (AT1a-/-) を用いた。AT1a+/+ と AT1a-/- にハブ毒 (2 mg/kg) を尾静脈より投与し、ハブ毒腎炎を惹起した群を各々 HSV 群、KO-HSV 群とし、ハブ毒の代わりに同量の生理食塩水を投与した群を control 群、KO-control 群とした。また、KO-HSV 群に血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) (1 µg/body/day) をハブ毒投与翌日から 6 日間腹腔内投与した群を KO-HSV+VEGF 群とした。さらに、HSV 群に AT1R 拮抗薬である TCV-116 (10 mg/kg/day) を経口投与した群を HSV-ARB 群とした。以上のマウスの血液、尿、ならびに腎組織をハブ毒投与前、3 日目、7 日目、28 日目、56 日目に採取し

た。

糸球体の形態学的変化を Periodic acid-Schiff (PAS) 染色で検討し、メサンギウム基質の指標として IV 型コラーゲン、血管内皮細胞のマーカーとして CD31、VEGF の発現をそれぞれ免疫組織化学で検討した。VEGF の発現に関しては、ハブ毒投与前と 7 日目における蛋白発現量を Western blot 法で、VEGF の mRNA レベルを real-time RT-PCR 法で評価した。1 切片あたり 20 個の糸球体を無作為に抽出し、PAS および IV 型コラーゲン陽性領域は画像解析装置で半定量化し、CD31 と VEGF は陽性細胞数を数え、各群間で比較した。

血液検査では尿素窒素 (BUN) を測定し、尿蛋白量は蓄尿で評価した。

結 果

HSV 群では、ハブ毒投与後 3 日目で PAS および IV 型コラーゲン陽性領域は減少したが、7 日目には増加傾向を認め、56 日目にはハブ毒投与前と同レベルに回復した。KO-HSV 群における PAS および IV 型コラーゲン陽性領域は、3 日目には HSV 群と同程度まで減少したが、7 日目から 56 日目においては、同時期の HSV 群やハブ毒投与前に比べて、有意に増加している状態が持続した。CD31 陽性血管数は、HSV 群では 3 日目で減少し、7 日目にはハブ毒投与前と同程度まで回復したが、KO-HSV 群では 3 日目に減少し、7 日目以降の血管数増加を認めなかった。VEGF 陽性細胞数は、HSV 群ではハブ毒投与 7 日目から増加したが、KO-HSV 群では 7 日目以降の VEGF 陽性細胞数増加を認めず、同時期の HSV 群よりも有意に少なかった。また、VEGF 蛋白発現量と mRNA 発現量は、7 日目の HSV 群では増加していたが、KO-HSV 群では HSV 群と比較し、低下していた。そこで、KO-HSV 群で発現が低下していた VEGF の糸球体修復遅延に対する影響を検討するために、VEGF を KO-HSV 群に投与したところ、7 日目における PAS および IV 型コラーゲン陽性領域、CD31 陽性血管数は HSV 群と同程度に回復した。一方、ATII-AT1R 経路を薬剤で阻害した HSV-ARB 群では KO-HSV 群と同様に、HSV 群と比較して糸球体修復の遅延と CD31 陽性血管数の減少を認めた。HSV 群と KO-HSV 群では、全経過を通じて BUN と尿蛋白に有意差を認めなかった。

考 察

本実験では、HSV 群と比較し、KO-HSV 群で糸球体修復の遅延を認めた。KO-HSV 群ではハブ毒投与後の VEGF 発現増加を認めなかったことから、AT1R を介した VEGF の発現誘導低下が糸球体修復遅延に関与していることが示唆された。これは、KO-HSV+VEGF 群で糸球体内の血管数が増加し、糸球体係蹄の修復を認めたことや、HSV-ARB 群で KO-HSV 群と同様に糸球体修復の遅延が見られたことから裏付けられた。以上より、可逆性メサンギウム増殖性糸球体腎炎のモデルであるハブ毒腎炎マウスにおいて、AT1R により誘導される VEGF が血管新生を促進しハブ毒腎炎後の糸球体修復過程に重要な役割を果たしていることが推察された。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。