

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
松村英樹	主査 教授 玉井 浩
	副査 教授 勝岡 洋治
	副査 教授 窪田 隆裕
	副査 教授 宮崎 瑞夫
	副査 教授 北浦 泰
主論文題名 Protective effect of radical scavenger edaravone against puromycin nephrosis (ピューロマイシン腎症ラットに対するラジカル消去薬エダラボンの保護作用)	
学位論文内容の要旨	
<p>《緒言》</p> <p>ネフローゼ症候群は小児に好発する原発性糸球体疾患であり、高度蛋白尿、低アルブミン血症、浮腫をきたす疾患である。ネフローゼ症候群のモデルラットとして確立された puromycin aminonucleoside (PAN)投与ラットにおいて、superoxide や hydroxyl radical などの活性酸素(reactive oxygen species, ROS)が検出され、その発生は投与直後と投与 9 日目の 2 度のピークを有すると報告されている。本研究では、PAN 腎症の発症メカニズムにおける酸化ストレスの関与を解明していく上で、PAN 投与直後と投与 9 日目の ROS ピークのいずれが蛋白尿の生成により寄与しているかを、ラジカル消去剤として臨床応用されているエダラボンを前半と後半に分けて投与し、蛋白尿およびチオバルビツール酸反応物質 (TBArS)を測定し、群間比較することで明らかにすることを目的としている。</p> <p>《方法》</p> <p>(1)PAN 腎症ラットの作成およびエダラボン投与ラットの作成</p> <p>Wistar 雄ラット(6~7 週令、体重 120~150g)をコントロール群(n=6)、PAN 単独投与群(n=8)、PAN 投与かつエダラボン前半投与群(前半群 n=7)、PAN 投与かつエダラボン後半投与群(後半群 n=7)、PAN 投与かつエダラボン通期投与群(通期群 n=7)の 5 群に分けた。PAN の投与は Day 1 に 50mg/kg を尾静脈内に単回投与した。エダラボンの投与は 1 日 2 回 7.5mg/kg を腹腔内投与し、前半群は Day 0 から Day 4、後半群は Day 5 から Day 9、通期群は Day 0 から Day9 に行った。PAN およびエダラボンを投与しない群には同量の生理食塩水を尾静脈内もしくは腹腔内に投与した。すべての群で Day 3, 6 および Day 9 に 24 時間蓄尿を施行し、Day 10 の屠殺時に採血するとともに腎を摘出し篩法で糸球体を採取し、TBArS測定に供した。</p> <p>(2)化学分析</p> <p>尿の蛋白定量は Bio-Rad の比色法を用いて測定した。糸球体中の thiobarbituric acid reactive substance (TBArS)は Aust 法により測定した。</p>	

#### 《結果》

PAN 単独投与群では PAN 投与後 6 日目 (Day 6) および 9 日目 (Day 9) に顕著な尿蛋白の増加を認めた ( $140.6 \pm 95.5 \text{mg/日}$ ,  $348 \pm 95.5 \text{mg/日}$ )。PAN 投与に加えエダラボンの投与を行った 3 群 (前半群、後半群、通期群) とも、Day 6 および Day 9 には尿蛋白の増加を認めたが、PAN 単独投与群に比し前半群および通期群では Day 6 ( $p < 0.05$ )、Day 9 ( $p < 0.01$ ) ともに有意に尿蛋白が減少し、後半群においては Day 9 ( $p < 0.05$ ) でのみ有意な尿蛋白の減少を認めた。Day 9 においてエダラボンを投与した 3 群間の 1 日尿蛋白量に有意な差は認めなかった。糸球体中の TBARS 値は PAN 単独投与群で有意に上昇したが ( $p < 0.05$ )、エダラボン投与により正常域にまで抑制された。血清クレアチニン値はすべての実験群 (コントロール群、PAN 単独投与群、前半群、後半群、通期群) 間において有意差を認めなかった。

#### 《考察》

本研究では、ネフローゼ症候群モデルラットである PAN 投与ラットを用いてフリーラジカル消去剤であるエダラボンの投与時期を変えることで、PAN 腎症ラットにおける蛋白尿発現機序に対する ROS の関与を明らかとしたものである。Day 6 における各群の尿蛋白量の検討では、前半群、通期群では有意な尿蛋白の減少を認めたものの、後半群では、有意な蛋白尿減少効果を認めなかった。このことは、PAN 腎症ラットにおける酸化障害による蛋白尿出現機序には PAN 投与直後に生じる ROS が非常に重要であり、二次的に PAN 投与 9 日目の ROS ピークが生じていることを示唆する。一方、Day 9 では後半群でも明らかな尿蛋白の減少が認められ、エダラボン投与各群間に差を認めなかった。10 日目の屠殺時の糸球体で測定した TBARS が各群間でコントロール群に比し有意な差を認めなかったことから、本研究では PAN の投与量が比較的少量であったために、PAN 投与直後の ROS ピークそのものの影響は Day 9～10 においては、ほぼ生体内の抗酸化システムにより消去され、蛋白尿発現に寄与する酸化ストレスは主に PAN 投与後 9 日目の ROS ピークが関与していることを示唆する。後半群ではこの二度目の ROS ピークが消去され、前半群、通期群と有意差のないレベルまで蛋白尿の減少効果が得られたものと考えられる。

本研究で最も注目すべき点の一つは、エダラボンの後半群においても蛋白尿の抑制が認められた点である。後半群でエダラボンが開始された時点 (Day 5) は PAN 腎症ラットにおいて蛋白尿が顕性化する時期であり、臨床に鑑みるとネフローゼ症候群が発症した時点に一致する。蛋白尿顕性化後に開始した抗酸化剤投与が蛋白尿抑制効果を有するかを検討した報告は本報が最初であり、この結果は蛋白尿が顕性化した後での抗酸化療法の開始でも蛋白尿の軽減を図れる可能性を示唆する。加えて、抗酸化剤として検討した薬剤がエダラボンであり、現在すでに脳梗塞時におけるラジカル消去剤として臨床使用されている薬剤であることを考慮すると、ネフローゼ症候群に対する抗蛋白尿効果を期待できる新しい治療戦略を提供する可能性を示唆するものである。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	松村英樹
論文審査担当者		主査 教授 玉 井 浩	
		副査 教授 勝 岡 洋 治	
		副査 教授 窪 田 隆 裕	
		副査 教授 宮 崎 瑞 夫	
		副査 教授 北 浦 泰	
主論文題名			
Protective effect of radical scavenger edaravone against puromycin nephrosis (ピューロマイシン腎症ラットに対するラジカル消去薬エダラボンの保護作用)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究では、ネフローゼ症候群のモデルラットとして確立された puromycin aminonucleoside (PAN)投与ラットを用いてフリーラジカル消去剤であるエダラボンの投与時期を変えることで、PAN 腎症ラットにおける蛋白尿発現機序に対する Reactive oxygen species (ROS)の関与を検討したものである。</p> <p>申請者はエダラボンの投与時期を前半と後半に分けて、蛋白尿およびチオバルビツール酸反応物質(TBArS)を測定し、群間比較することでPAN 投与直後と投与9日目のROSピークのいずれが蛋白尿の生成により関与しているかを検討した。その結果、</p> <p>(1) PAN 腎症ラットにおける酸化障害による蛋白尿出現機序にはPAN 投与直後に生じるROSが非常に重要であり、二次的にPAN 投与9日目のROSピークが生じていると考えられる。</p> <p>(2) 蛋白尿顕性化後に開始した抗酸化剤投与が蛋白尿抑制効果を有する。</p> <p>を明らかにした。以上、本研究はネフローゼモデルであるPAN 腎症における蛋白尿出現に対するROSの関与を明らかとするばかりでなく、蛋白尿が顕性化した後に開始された抗酸化療法が蛋白尿の軽減を図り、ネフローゼ症候群に対する抗酸化療法の有用性を示唆したものである。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Clinical Nephrology 66(6): 405-410, 2006</p>			