

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
松田拓久	主査 教授 勝 岡 洋 治 副査 教授 窪 田 隆 裕 副査 教授 朝 日 通 雄 副査 教授 出 口 寛 文
<p>主論文題名</p> <p>Inhibitory effects of T/L-type calcium channel blockers on tubulointerstitial fibrosis in obstructed kidneys in rats</p> <p>(尿管結紮ラットモデルにおける T/L 型カルシウム拮抗薬と L 型カルシウム拮抗薬による尿細管間質の線維化抑制効果の比較検討)</p>	
学位論文内容の要旨	
<p>《目 的》</p> <p>慢性片側尿管結紮 (UUO)モデルは、尿細管間質の線維化動物モデルで、レニン・アンジオテンシン系の活性化、物理的ストレスや、腎血流量の低下に伴う低酸素状態をトリガーとして病態が形成される。</p> <p>このモデルを使用し、エホニジピンによる腎間質の線維化抑制作用についてニフェジピン (L 型カルシウム拮抗薬) と比較検討する。</p> <p>《方 法》</p> <p>6 週齢の雄性 Sprague Dawley ラットを 1) vehicle 群(n=12); 2) ニフェジピン群(20mg/kg)(n=9); 3) エホニジピン群(50mg/kg)(n=9); の 3 群に分けた。UUO 手技は麻酔下に左側尿管二か所に二重結紮を加えて行なった。UUO 手技前日から 6 日目まで投薬を行い、7 日目に両側腎を採取し犠牲死させた。ホルマリン固定した腎皮質を用い、シリウスレッド染色による組織線維化の評価と 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) 染色による脂質の過酸化反応の評価を行った。また、採取後に瞬間凍結したそれぞれの腎皮質を用い、線維形成に関わる</p>	

transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)、monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)や connective tissue growth factor (CTGF)、またミネラルコルチコイド受容体シグナル活性化の指標である serum and glucocorticoid regulated kinase 1 (sgk-1)、酸化ストレスの指標となる NADPH oxidase コンポーネントである p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, gp91<sup>phox</sup> の mRNA 発現量を RT-PCR 法にて評価した。

#### 《結 果》

7日間の尿管結紮の結果、vehicle群の結紮腎では非結紮腎に比べ、間質の線維化が増加し(p<0.01)、4-HNE染色の増強と p22<sup>phox</sup> (p<0.01), p47<sup>phox</sup> (p<0.01), gp91<sup>phox</sup> (p<0.01), TGF- $\beta$ 1 (p<0.01)のmRNA発現量の増加を認めた。エホニジピン群の結紮腎ではvehicle群の結紮腎に比べ、間質の線維化が減少し(p<0.01)、4-HNE染色の減弱と p22<sup>phox</sup> (p<0.01), gp91<sup>phox</sup> (p<0.01), TGF- $\beta$ 1 (p<0.05), CTGF (p<0.01)のmRNA発現量の低下を認めた。一方、ニフェジピン群の結紮腎ではvehicle群の結紮腎に比べ、p22<sup>phox</sup> (p<0.01)のmRNA発現量は低下したが、間質の線維化は減少せず(p=0.88)、4-HNE染色の減弱やgp91<sup>phox</sup> (p=0.12), TGF- $\beta$ 1 (p=0.91), CTGF (p=0.17)のmRNA発現量の低下は認めなかった。sgk-1のmRNA発現量や血漿アルドステロン濃度は、尿管結紮やエホニジピン投与、ニフェジピン投与による影響を受けなかった。

#### 《結 論》

UUO 作成により酸化ストレスや線維化形成シグナルと、尿細管間質線維化の増加を認めた。これらの変化は、エホニジピンで抑制されるもニフェジピンでは抑制されなかった。また、エホニジピン投与とニフェジピン投与で血漿アルドステロン濃度は上昇し、両者の間に差はなかった。5/6 腎摘ラットへエホニジピンの R(-) 光学異性体 (選択的 T 型カルシウム受容体拮抗薬) を投与する事で、血圧低下を伴うことなく Rho-kinase や TGF- $\beta$ を抑制し、腎尿細管間質の線維化を抑制

したとの報告があり、T型カルシウム受容体拮抗による抗線維化作用が示唆される。エホニジピンがニフェジピンより効果的に線維化を抑制した理由として、1) 酸化ストレスの抑制 2) T型カルシウム受容体拮抗による抗線維化効果。などが推定された。

#### 《結 語》

エホニジピン (T/L 型カルシウム拮抗薬) はニフェジピン (L 型カルシウム拮抗薬) に比べ、腎尿細管間質の酸化ストレスと線維化を抑制した。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第号	氏名	松田拓久
論文審査担当者		主査教授 勝岡 洋治	
		副査教授 窪田 隆裕	
		副査教授 朝日 通雄	
		副査教授 出口 寛文	
主論文題名			
<p style="text-align: center;">Inhibitory effects of T/L-type calcium channel blockers on tubulointerstitial fibrosis in obstructed kidneys in rats</p> <p style="text-align: center;">(尿管結紮ラットモデルにおける T/L 型カルシウム拮抗薬と L 型カルシウム拮抗薬による尿細管間質の線維化抑制効果の比較検討)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>閉塞性腎症は、レニン・アンジオテンシン系の活性化や、腎血流量の低下に伴う低酸素状態などがトリガーとなり、尿細管間質領域に線維化が形成され、最終的には腎不全へと至る疾患である。カルシウム拮抗薬は、薬剤ごとに異なる特性をもってカルシウム受容体を阻害する。T型カルシウム受容体への特異度が高いカルシウム拮抗薬のうち、一部のものでは、腎疾患を合併する高血圧症例において蛋白尿が減少したという臨床試験の報告もある。本研究では、エホニジピン（T/L型カルシウム拮抗薬）投与が、尿管閉塞にともなう腎線維化に与える影響について、ニフェジピン（L型カルシウム拮抗薬）投与と比較している。</p> <p>申請者は6週齢の雄性 Sprague Dawley ラットに7日間の片側尿管結紮を行い、尿管結紮にともなう腎組織の酸化ストレス、線維形成性サイトカイン、尿細管間質の線維化について観察している。さらに、エホニジピン投与による閉塞腎への影響をニフェジピン投与と比較検討している。</p>			

尿管結紮の結果、NADPH oxidase コンポーネント (p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, gp91<sup>phox</sup>) や線維形成マーカー (TGF-β1, CTGF) の mRNA 発現量と、尿細管間質の線維化が増加したことを示した。さらに、これらの変化は、非降圧用量のエホニジピンにより抑制され、ニフェジピンでは抑制されなかったことを示した。この結果は、エホニジピンが T 型カルシウム受容体拮抗作用を有することで、尿管閉塞にともなう尿細管間質の線維化や腎組織における酸化ストレスを抑制していることを示唆している。

本研究は、尿管閉塞モデルにおいて生じる、尿細管間質の線維化と酸化ストレスが、エホニジピン投与により抑制されることを証明しており、エホニジピンが閉塞性腎症にともなう腎線維化に対し、抑制効果を発揮する可能性を有することを示した。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 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。

(主論文公表誌)

Urology 77(1): 249.e9-249.e15, 2011