



## Serotonergic Measures in Cyclosporine A Treated Rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 上田, 大介 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1477">http://hdl.handle.net/10271/1477</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 200号	学位授与年月日	平成 7年 3月 3日
氏 名	上 田 大 介		
論文題目	Serotonergic Measures in Cyclosporine A Treated Rats (シクロスポリン A 投与ラットの血中セロトニンの変動)		

博士(医学) 上 田 大 介

## 論文題目

Serotonergic Measures in Cyclosporine A Treated Rats

(シクロスポリンA投与ラットの血中セロトニンの変動)

## 論文の内容の要旨

選択的な helper-T cell の抑制剤であるシクロスポリンA (Cyclosporine A : CyA) は、臓器移植に導入されて以来飛躍的に臨床成績を改善した。しかし副作用としての腎毒性が臨床上大きな問題となっており、その詳細なメカニズムはいまだに解明されていない。血管攣縮に伴う腎皮質の虚血が CyA による腎毒性の機序と密接な関係をもつものではないかと重視されているが、その原因としては CyA の直接作用による細動脈やメサングウム細胞の攣縮、CyA によるトロンボキサン<sub>2</sub>やエンドセリン等の血管収縮物質の産生誘導、さらにはプロスタグランジン E<sub>2</sub>やプロスタグランジン<sub>12</sub>等の血管拡張物質の産生低下などが示唆されている。一方では CyA が血小板凝集を亢進するという報告があり、CyA 投与後に大量のセロトニン (5-hydroxytryptamine : 5 HT) が血小板から放出される可能性が考えられる。また他方では、5 HTの皮下大量投与によりメサングウム細胞や輸入細動脈が攣縮して、腎皮質の虚血が発生するという報告がある。以上から本研究は、CyA 投与後の腎血流低下あるいは CyA 腎毒性の発症に血液中の 5 HTが関与するか否かについて検討した。

## 【方法】

6 週齢の雄 Wistar rat (n=30、体重 ; 130±1.8g) を 3 群に分け、I 群には 0.1ml の生理食塩水を、II 群には 5 mg/kg の CyA を、III 群には 10mg/kg の CyA をそれぞれ腹腔内投与した。14日間連日投与の後、ペントバルビタールの腹腔内投与による麻酔で開腹して水素イオン・クリアランス法により腎皮質血流量の測定をした。その後左心室穿刺により採血して Anderson らの変法による HPLC をもちいて血中 5 HTとその主な代謝産物である 5-ハイドロキシインドール酢酸 (5-hydroxyindoleacetic acid : 5 HIAA) を、光電比色法により血清クレアチニンを、さらに抗 CyA モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法により全血 CyA 濃度を測定した。その後両側腎を摘出して HE 染色を施行し、病理組織学的に検討した。

## 【結果】

全実験期間を通じて実験動物の体重には、各群間に有意差はなかった。血清クレアチニン値は各群間に有意差はなく、さらに摘出腎病理組織所見にも明らかな差は見られなかった。しかし腎皮質血流量は、I 群と比較して II 群および III 群で dose-dependent に減少していた ( $p < 0.001$ )。さらに、全血 5 HT、血漿 5 HT および 5 HIAA は、それぞれ I 群と比較して II 群および III 群で dose-dependent に増加していた ( $p < 0.001$ )。また CyA 投与群において全血 5 HT は、全血 CyA 濃度と相関していた。(相関係数 = 0.555、 $p < 0.01$ )。また腎皮質血流量は、全血 5 HT (相関係数 = -0.713、 $p < 0.001$ )、血漿 5 HT (相関係数 = -0.738、 $p < 0.001$ ) および全血 5 HIAA (相関係数 = -0.543、 $p < 0.01$ ) と負の相関を示していた。

## 【結論】

5 HT は CyA 投与後の腎皮質血流低下、さらには CyA 腎毒性発症に関与している可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

選択的な helper-T cell の抑制剤であるシクロスポリン A (Cyclosporin A) は臓器移植の臨床成績を飛躍的に改善したが、副作用としての腎毒性が大きな問題となっている。シクロスポリン A の腎毒性の機構として、血管攣縮による腎皮質の虚血が注目されているが、シクロスポリン A を投与すると何故血管攣縮が起こるかについては定説がない。一方、血小板に含まれるセロトニン (5 HT) は血小板の粘着時に放出され、血小板の凝集および毛細血管の収縮により止血機構に関与することはよく知られている。申請者は本研究において、シクロスポリン A 投与後の腎血流低下あるいはシクロスポリン A 腎毒性の発症に血液中の 5 HT が関与するか否かを検討した。

5 mg/kg 体重 (n = 9) あるいは 10 mg/kg 体重 (n = 10) のシクロスポリン A を 14 日間連日投与 (i.p.) したラット、および対照としてシクロスポリン A の代わりに生理食塩水を投与したラット (n = 8、ラットはいずれも体重約 130 g の雄) を用いて実験が行われた。その結果、実験動物の体重と血清クレアチニン値には各群間で有意差はなく、またシクロスポリン A 投与群の摘出腎にはシクロスポリン A 腎障害に特徴的な病理組織所見は観察されなかった。しかし、腎皮質血流量はシクロスポリン A 投与群において用量依存的に減少 ( $p < 0.001$ ) し、全血 5 HT、全血 5 HIAA (5-hydroxyindoleacetic acid、5 HT の主な代謝産物) および血漿 5 HT 値はいずれも用量依存的に有意に増加 ( $p < 0.001$ ) していた。しかも、シクロスポリン A 投与群において、全血シクロスポリン A 濃度は全血 5 HT 値と正の相関を (相関係数 = 0.555、 $p < 0.01$ )、腎皮質血流量と負の相関 (相関係数 = -0.46、 $p < 0.05$ ) を示し、腎皮質血流量は、全血 5 HT (相関係数 = 0.713、 $P < 0.001$ )、血漿 5 HT (相関係数 = -0.738、 $p < 0.001$ ) および全血 5 HIAA (相関係数 = -0.543、 $p < 0.01$ ) と負の相関を示した。申請者はこれらの実験結果に基づいて、シクロスポリン A 投与後の腎皮質血流低下、さらにはシクロスポリン A 腎毒性発症に 5 HT が関与しているのではないかと提唱した。

審査委員会は、以上の内容の口頭発表の過程および終了後に次のような質疑、試問を行った。

- 1) 末梢器官 5 HT の由来、分布、動態および門脈血、動脈血、静脈血中における血小板 5 HT と血漿 5 HT の量比
- 2) シクロスポリン A 投与動物における全血 5 HT 増加の機構
- 3) 血漿 5 HT 測定において血小板損傷による漏出 5 HT の識別の方法
- 4) 血小板から放出された 5 HT の行方、代謝等
- 5) 腎皮質血流量測定の手技の実際、および測定結果の再現性
- 6) 臨床的に用いているシクロスポリン A の量と動物実験での投与量との比較
- 7) シクロスポリン A 投与量とこれによる腎障害の病理組織像との関係、シクロスポリン A による腎障害の検出法
- 8) シクロスポリン A の直接の標的器官、部位、この部位への作用と腎障害との因果関係、およびシクロスポリン A の血管内皮細胞に対する作用、腸のエンテロクロマフィン細胞に対する作用について
- 9) 腎皮質血流量と腎機能との直接の因果関係、および血流量の低下が腎機能障害の原因である場合、直接の要因は酸素の低下か活性酸素種による障害か

これらの質問に対する申請者の応答は概ね適切であり、また研究そのものもシクロスポリン A 投与ラットにおいて全血 5 HT レベルが上昇していることを初めて明らかにしたよい研究と評価された。以上により、本論文は博士 (医学) の学位授与に値する内容を備えていると論文審査委員全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	市	山	新								
	副査	教授	菅	野	剛	史	副査	教授	馬	場	正	三	
	副査	教授	藤	田	公	生	副査	助教授	浦	野	哲	盟	