



## RENAL BLOOD FLOW, FIBRINOLYSIS, AND PLATELET AGGREGATION FOLLOWING TACROLIMUS (FK506) TREATMENT IN RATS

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 麦谷, 荘一 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1510">http://hdl.handle.net/10271/1510</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 233号	学位授与年月日	平成 8年 3月 8日
氏 名	麦 谷 莊 一		
論文題目	<p>RENAL BLOOD FLOW, FIBRINOLYSIS, AND PLATELET AGGREGATION FOLLOWING TACROLIMUS(FK 506) TREATMENT IN RATS (タクロリムス投与ラットにおける腎血流と血小板凝集および線溶 系の検討)</p>		

博士(医学) 麦 屋 莊 一

## 論文題目

RENAL BLOOD FLOW, FIBRINOLYSIS, AND PLATELET AGGREGATION FOLLOWING TACROLIMUS (FK506) TREATMENT IN RATS

(タクロリムス投与ラットにおける腎血流と血小板凝集および線溶系の検討)

## 論文の内容の要旨

免疫抑制剤であるシクロスポリン A (CyA) の投与により、血栓塞栓性合併症の発生頻度が増加することが以前より指摘されている。その原因としては、CyA による血小板凝集能の亢進や線溶系の障害などが報告されている。一方タクロリムス (FK506) は日本で開発された新しい免疫抑制剤で、CyA 同様な生物活性を有するとされているが、血栓塞栓性合併症の報告は少ない。最近 FK 506 の投与により CyA と同様に腎血流量が低下すると報告されているが、その詳細な機序については解明されていない。また *in vitro* において FK 506 が、ヒト血小板凝集を抑制したと報告されているが、*in vivo* における報告はみられない。以上から本研究に於いてわれわれは、FK 506 の腎毒性を解明する目的で、FK 506 投与ラットにおける腎皮質血流量と血小板凝集および線溶系の関与について検討した。

## 【方法】

8 週齢雄の Wistar 系ラット 20 匹を各群 5 匹の 4 群に分け、I 群 (生食のみ投与)、II 群 (FK506 を 4 mg/kg 投与)、III 群 (FK506 を 6 mg/kg 投与)、IV 群 (FK506 を 8 mg/kg 投与) とし、各群に連日 14 日間皮下投与した。投与終了後ウレタン麻酔下にて開腹し、腎皮質血流量を水素イオン・クリアランス法にて測定した。次いで採血し血清クレアチニン、全血の血小板凝集能 (コラーゲン惹起、インピーダンス法)、組織型プラスミノゲンアクチベーター (tPA) 活性、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI) 活性を測定した。その後両側腎を摘出し HE 染色を施行し、病理組織学的に検討した。

## 【結果】

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みられなかった。しかし腎皮質血流量は FK 投与群では対照群に比し有意な ( $P < 0.01$ ) 低下を認め、用量依存性に低下していた。また血小板凝集能は FK 投与群では対照群に比し有意な ( $P < 0.05$ ) 低下を認めた。tPA は有意差は認められなかったが FK 投与群では用量の増加とともに低下傾向を示した。一方 PAI は FK 投与群では対照群に比し有意な ( $P < 0.01$ ) 増加を認め、用量依存性に増加していた。

## 【考察・結論】

CyA と同様に、FK 506 による腎皮質血流低下が認められた。血小板凝集は FK 506 により抑制され CyA と異なった機序が考えられた。FK 506 により PAI の増加と tPA の低下を認めたことより、FK 506 による線溶系の抑制が示唆された。病理組織学的に異常所見を認めずその詳細な機序については不明だが、線溶系の障害により腎の細動脈にフィブリンが沈着し、腎皮質血流が低下したものと考えられた。以上より FK 506 による線溶系の抑制が腎皮質血流低下に関与していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

免疫抑制剤の開発により臓器移植の成功率は一段と飛躍したが、それに伴う副作用は未解決のままである。免疫抑制剤であるシクロスポリン A (CyA) の投与により、血栓塞栓性合併症の発生頻度が増加するが、その原因としては、CyA による血小板凝集能の亢進、トロンボキサン A<sub>2</sub> などの血管収縮物質の産生誘導、線溶系の抑制などが示唆されている。また CyA 腎毒性は腎皮質血流量の低下によるものであり、その原因として血中セロトニン (5-hydroxytryptamine: 5 HT) の増加などが関与していると報告されている。一方タクロリムス (FK506) は日本で開発された新しい免疫抑制剤で、CyA と同様な生物活性を有し、血栓塞栓性合併症の報告は少ないものの、CyA と同様に腎血流量が低下するとも報告されている。タクロリムス (FK506) はシクロスポリン A (CyA) とは化学構造が全く異なるが、その免疫抑制作用機序は CyA と同様に感作 T 細胞からの IL-2 産生抑制による T 細胞の活性化および増殖の抑制であることが知られている。また、その臨床使用においては、CyA と同様に高頻度に腎毒性が認められ、腎血漿流量と糸球体濾過率の減少、および腎血管抵抗の増加が主な原因と報告されているが、その詳細な機序については解明されていない。そこで申請者は FK506 の腎毒性を解明する目的で、FK506 投与ラットにおける腎皮質血流量と血小板凝集および線溶系、および血中セロトニン代謝の関与について検討した。

実験方法としては 8 週齢雄の Wistar 系ラット 20 匹を各群 5 匹の 4 群に分け、I 群 (生食のみ投与)、II 群 (FK506 を 4 mg/kg 投与)、III 群 (FK506 を 6 mg/kg 投与)、IV 群 (FK506 を 8 mg/kg 投与) とし、各群に連日 14 日間皮下投与した。投与終了後ウレタン麻酔下にて開腹し、腎皮質血流量を水素イオンクリアランス法にて測定した。ついで採血し、血清クレアチニン、全血の血小板凝集能 (コラーゲン惹起、インピーダンス法)、組織型プラスミノゲンアクチベーター (tPA) 活性、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI) 活性を測定した。また申請者が本論文と共に提出した副論文 (RENAL BLOOD FLOW AND SEROTONIN METABOLISM IN TACROLIMUS TREATED RATS. International Journal of Urology, in press) における研究では、高速液体クロマトグラフィーを用いて血中 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-hydroxyindole acetic acid: 5 HIAA) を測定した。また、その後両側腎を摘出し HE 染色を施行し、病理組織学的に検討している。

その結果、FK506 投与により腎皮質血流量は FK 投与群では対照群に比し有意な ( $p < 0.01$ ) 低下を認め、用量依存性に低下していた。血清クレアチニン値は各群間に有意差はなく、さらに摘出腎の病理組織所見にも明らかな差はみられなかった。線溶系の変化としては、tPA は有意差は認められなかったが FK 投与群では用量の増加とともに低下傾向を示し、一方 PAI は、FK 投与群では対照群に比し有意な ( $p < 0.01$ ) 増加を認め、用量依存性に増加していた。血小板凝集能については FK 投与群では対照群に比し有意な ( $p < 0.05$ ) 低下を認めた。血中 5 HT は各群間に有意差はなかったが、全血 5 HIAA、および血漿 5 HIAA は FK 投与群では対照群に比し有意な ( $p < 0.001$ ) 増加を認め、用量依存性に増加していた。本研究により、新しく開発された FK506 は CyA と同様に腎皮質血流を低下させることが明らかとなり、その原因として線溶系の抑制やセロトニン代謝が腎皮質血流量の低下に関与している可能性が示唆された。一方、血小板凝集は FK506 により抑制され、CyA において報告されている成績とは異なっていた。FK506 による血栓塞栓性合併症の報告は CyA に比し少ないことと関連があるかもしれないとの示唆を得た。

本研究は免疫抑制剤 FK506 の副作用、殊に腎毒性が腎皮質血流量の低下によることを明らかに

し、その機序について検討したものである。本研究は臓器移植における免疫抑制剤の使用法の改善に示唆を与えるものであり、その意義は大きいものと高く評価された。

申請者の発表に対し、次のような質疑が行われた。

- 1) 腎血流量測定法（水素イオンクリアランス法）の原理と測定上の問題点について
- 2) 腎血流量と血栓形成の部位との関係
- 3) FK506投与期間、および投与後の期間と腎毒性発生との関係について
- 4) FK506投与後の全身状態（例えば体重）や局所（例えば腎重量）の変化について
- 5) 全血 5 HIAA と血小板数との関係について
- 6) 臨床に用いられる使用量と本実験に用いた量との関係について
- 7) 腎血漿流量、糸球体濾過率、腎血管抵抗について測定したか
- 8) BUN が上昇したにもかかわらずクレアチニンには有為な変化が認められなかったのは何故か
- 9) 腎の病理学的所見に明らかな変化が認められなかったのは何故か
- 10) CyA と FK506の構造上の差異について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員が全員一致して評価した。

論文審査担当者 主査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 馬 場 正 三 副査 教授 山 下 昭

副査 助教授 菱 田 明 副査 講師 中 辻 理 子