



Ureteral obstruction reverses glomerular proliferation in immune complex glomerulonephritis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高橋, 博 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1600

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 3 2 3 号	学位授与年月日	平成 1 2 年 9 月 2 2 日
氏 名	高 橋 博		
論文題目	<p>Ureteral obstruction reverses glomerular proliferation in immune complex glomerulonephritis (免疫複合体腎炎において尿管閉塞は増殖性腎炎像を改善する)</p>		

博士(医学) 高橋 博

論文題目

Ureteral obstruction reverses glomerular proliferation in immune complex glomerulonephritis

(免疫複合体腎炎において尿管閉塞は増殖性腎炎像を改善する)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

腎糸球体に沈着する免疫複合体(IC)が、腎炎を惹起することは広く認められている。この際のIC沈着は腎血流の影響を強く受け、惹起される腎炎にはエイコサノイドが関与することも明らかにされている。また尿管閉塞により腎血流・腎組織でのエイコサノイド代謝に大きな変化が生じることも確認されている。今回、免疫複合体腎炎の動物モデルであるNew Zealand B/W F1マウス(B/W F1マウス)を用いて尿管閉塞によりもたらされる腎血流・エイコサノイド代謝の変化が、既に増殖性変化を認める糸球体組織像に及ぼす影響を検討した。

〔材料ならびに方法〕

実験1 右腎の一部(pre)を採取した後に左尿管を結紮した群(UUO)と、露出するのみで結紮しなかった群(sham-UUO)とに分け、8日後の尿管閉塞腎(OK)、非閉塞腎(NOK)組織像を光学顕微鏡にて観察し、糸球体領域面積(G-A)、メサンギウム領域面積(M-A)、糸球体内細胞数(cell)を計測した。また蛍光顕微鏡にてUUO群でのIg G, C3, ラミニン(LN), ファイブロネクチン(FN), 4型コラーゲン(Col IV)の糸球体染色強度を評価した。

さらに尿管結紮後30時間、8日の腎組織中PGE2, 6-keto-PGF1 α (PGF1 α), TXB2濃度を測定し検討した。

実験2 実験1と同様に尿管を結紮し、これを2群[indomethacin投与群(indo-UUO), CV-4151投与群(CV-UUO)]に分け、8日後の糸球体組織像を光学顕微鏡にて計測し検討した。

また尿管結紮後30時間、8日の腎組織中PGE2, PGF1 α , TXB2濃度を測定し検討した。

〔結果〕

実験1

光学顕微鏡所見による形態計測

UUOではOKにおけるM-AはPreに比較して明らかに減少し($p<0.01$)、cellも減少する傾向が認められたが、sham-UUOではOKにおけるM-Aは増加し($p<0.05$)、cellも増加した($p<0.05$)。

蛍光顕微鏡所見による染色強度

尿管閉塞によりOKでのIg G, C3, LN, FN, Col IVの糸球体染色強度は有意に減少した(すべてPre vs OK: $p<0.05$)。NOKでの染色強度はいずれもpreと変化を認めなかった。

尿管結紮後30時間、8日の腎組織中のPGE2, PGF1 α , TXB2濃度

UUOではOKでのTXB2濃度はNOKに比べ30時間後に僅かに増加したのみ($p<0.05$)であり、8日後に変化は認められなかった。PGE2, PGF1 α 濃度はOKにおいて30時間後より増加する傾向が認められ、8日後には有意に増加した(すべて $p<0.01$)。sham-UUOでは腎組織中エイコサノイド濃度には有意な変化は認め

られなかった。

実験2

光学顕微鏡所見による形態計測

OKではM-Aは、indo-UUOにおいては増加する傾向が認められたが、CV-UUOにおいては有意に減少した($p<0.05$)。cellは両群とも減少する傾向を認めたが有意ではなかった。

尿管結紮後30時間、8日の腎組織中のPGE2, PGF1 α , TXB2濃度:

Indo-UUOではUUOと比較した場合30時間後、8日後ともOKおよびNOKでPGE2, PGF1 α , TXB2濃度は有意に抑制されていた。CV-UUOにおいては30時間後、8日後にOKおよびNOKでTXB2濃度は抑制されていたが、8日後のOKにおけるPGE2, PGF1 α 濃度はそれぞれ有意に増加および増加の傾向を認めた(PGE2; $p<0.05$)。

[考察]

尿管閉塞により増殖性腎炎像が改善した。また糸球体に沈着するICや補体の減少の他に、細胞外基質蛋白も減少しており、腎組織中PGE2, PGF1 α , TXB2濃度も変化していることが明らかになった。この組織学的改善にTXA2合成阻害剤投与の影響はなかったが、cyclooxygenase阻害剤投与で改善が消失したので、PGE2, PGI2の関与は疑いがない。これまで一旦完成したB/W F1マウスの増殖性腎炎像が、8日間で改善したとの報告はない。閉塞腎組織中PGE2, PGI2の著しい濃度上昇が腎糸球体を構成する細胞機能に変化を起し腎炎像を改善したと考えられた。

[結論]

B/W F1マウスで8日間の片側尿管閉塞は、閉塞腎糸球体での増殖性腎炎像を改善した。尿管閉塞に伴い閉塞腎組織中のPGE2, PGF1 α 濃度は上昇していた。PGE2, PGI2は片側尿管閉塞による増殖性腎炎像の改善に重要な役割を果たしていると考えられた。

論文審査の結果の要旨

腎糸球体に沈着する免疫複合体(IC)が、腎炎を惹起することは広く認められている。この際のIC沈着は腎血流の影響を強く受け、惹起される腎炎にはエイコサノイドが関与することも明らかにされている。また尿管閉塞により腎血流・腎組織でのエイコサノイド代謝に大きな変化が生じることも確認されている。

申請者の論文内容は、免疫複合体腎炎の動物モデルであるNew Zealand B/W F1マウス(B/W F1マウス)を用いて尿管閉塞によりもたらされる腎血流・エイコサノイド代謝の変化と糸球体組織像との関連に関するものである。この実験システムはすでに、共著者の木村らが、数年前に実験操作中に偶然発見した現象であり、今回さらにその機構について詳細な考察を加えたものである。この論文は次のふたつの実験からなる。

実験1: 右腎の一部(pre)を採取した後に左尿管を結紮した群(UUO)と、露出するのみで結紮しなかった群(sham-UUO)とに分け、8日後の尿管閉塞腎(OK)、非閉塞腎(NOK)組織像を光学顕微鏡にて観察し、糸球体領域面積(G-A)、メサンギウム領域面積(M-A)、糸球体内細胞数(cell)を計測した。また蛍光顕微鏡にてUUO群でのIgG, C3, ラミニン(LN), ファイブロネクチン(FN), 4型コラーゲン(Col)の糸球体染

色強度を評価した。さらに尿管結紮後30時間、8日の腎組織中PGE2, 6-keto-PGF1 α (PGF1 α), TXB2濃度を測定し検討した。

実験2：実験1と同様に尿管を結紮し、これを2群、インドメサシン投与群(indo-UUO)、CV-4151投与群(CV-UUO)に分け、8日後の糸球体組織像を光学顕微鏡にて計測し検討した。また尿管結紮後30時間、8日の腎組織中PGE2, PGF1 α , TXB2濃度を測定し検討した。

これらの実験の結果は以下のごとくである。

実験1の結果：光学顕微鏡所見による形態計測 UUOではOKにおけるM-AはPreに比較して明らかに減少し($p<0.01$)、cellも減少する傾向が認められたが、sham-UUOではOKにおけるM-Aは増加し($p<0.05$)、cellも増加した($p<0.05$)。蛍光顕微鏡所見による染色強度、尿管閉塞によりOKでのIg G, C3, LN, FN, Colの糸球体染色強度は有意に減少した(すべてPre vs OK： $p<0.05$)。NOKでの染色強度はいずれもpreと変化を認めなかった。尿管結紮後30時間、8日の腎組織中のPGE2, PGF1 α , TXB2濃度、UUOではOKでのTXB2濃度はNOKに比べ30時間後に僅かに増加したのみ($p<0.05$)であり、8日後に変化は認められなかった。PGE2, PGF1 α 濃度はOKにおいて30時間後より増加する傾向が認められ、8日後には有意に増加した(すべて $p<0.01$)。sham-UUOでは腎組織中エイコサノイド濃度には有意な変化は認められなかった。

実験2の結果：光学顕微鏡所見による形態計測 OKではM-Aは、indo-UUOにおいては増加する傾向が認められたが、CV-UUOにおいては有意に減少した($p<0.05$)。cellは両群とも減少する傾向を認めたが有意ではなかった。尿管結紮後30時間、8日の腎組織中のPGE2, PGF1 α , TXB2濃度：Indo-UUOではUUOと比較した場合30時間後、8日後ともOKおよびNOKでPGE2, PGF1 α , TXB2濃度は有意に抑制されていた。CV-UUOにおいては30時間後、8日後にOKおよびNOKでTXB2濃度は抑制されていたが、8日後のOKにおけるPGE2, PGF1 α 濃度はそれぞれ有意に増加および増加の傾向を認めた(PGE2； $p<0.05$)。

以上の結果をもとに申請者は、尿管閉塞により増殖性腎炎像が改善したとし、また糸球体に沈着するICや補体の減少の他に、細胞外基質蛋白の減少や腎組織中PGE2, PGF1 α , TXB2濃度の変化もみとめられ、これらを腎炎の改善の傍証として示した。組織学的改善がcyclooxygenase阻害剤投与で消失したことより、この過程にはPGE2, PGI2の関与していることを証明した。これまで一旦完成したB/W F1マウスの増殖性腎炎像が、8日間で改善したとの報告はなく、また、本研究によりはじめて、その機構としてPGE2, PGI2が片側尿管閉塞による増殖性腎炎像の改善に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

審査委員会は高橋氏の論文内容について以下の質問をおこなった。

- 1) 実験に用いたラミニンおよびタイプIVコラーゲンにたいする抗体の性格について
- 2) この実験でもちいたインドメサシンのかわりにアスピリンではどうであったか
- 3) この実験でもちいたCV-4151が臨床的に使われなかった理由は
- 4) cyclooxygenase阻害剤の量の調節はどのようにおこなったか
- 5) インドメサシンとCV-4151の用量を設定した根拠は
- 6) 実験中輸液をおこなったか、またそのときの塩濃度は
- 7) 使用するマウスの年齢(月令)により結果はことなるか
- 8) 実験中もちいたマウスの腎機能のモニターはどうするのか
- 9) 結果にみられるボーマン嚢の拡張所見は特異的なものか
- 10) この実験において腎血流のおちている可能性はないか

- 11) この実験結果は尿管完全閉塞によって、糸球体から濾過される免疫複合体の負荷がなくなったためではないか
- 12) 画像解析で細胞数を数えているが、そのうち好中球(多核白血球)はどのくらいか
- 13) 腎内でプロスタグランディンの局在はどうなっているのか
- 14) この実験系で、レニン—アンギオテンシン系はうごくか

これらの質問に対し、申請者の解答はおおむね適当であり、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、審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梶	村	春	彦	
	副査	藤	田	公	生	副査 近 藤 一 直