



Melatonin ameliorates intrarenal renin-angiotensin system in a 5/6 nephrectomy rat model

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-05-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 石垣, さやか メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3355

博士(医学) 石垣 さやか

論文題目

Melatonin ameliorates intrarenal renin-angiotensin system in a 5/6 nephrectomy rat model

(メラトニンは 5/6 腎摘出ラットモデルの腎臓内レニン-アンジオテンシン系を抑制する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

腎臓内のレニン-アンジオテンシン系(RAS)は、循環血漿中の RAS と独立して制御され、高血圧や腎障害の進展に影響する。腎臓内の RAS 活性は、酸化ストレスによって亢進することがわかっている。

メラトニンは暗環境で松果体から分泌され、生体の日内リズムを司る他に、強い抗酸化作用を有する。夜間のメラトニン分泌量は、腎機能の低下に伴い減少することが報告されている。我々は、慢性腎臓病患者において、夜間のメラトニン分泌量と腎臓内 RAS 活性の指標である尿中アンジオテンシノーゲン(AGT)排泄量との間に、独立した負の相関関係を認めることを報告した。しかし、メラトニンを投与することで、腎臓内 RAS 活性を抑制できるか否かは不明である。そこで、慢性腎臓病モデルである 5/6 腎臓摘出(Nx)ラットにメラトニンを投与し、腎臓内酸化ストレス及び腎臓内 RAS 活性への影響を検討した。

[材料ならびに方法]

本研究は浜松医科大学動物実験委員会の承認の下で行った(承認番号: 2015088)。

8 週齢雄性 Sprague-Dawley ラットを 12 時間サイクルの明暗環境下で飼育した。慢性腎臓病モデルである 5/6 腎臓摘出(Nx)ラットは、14 日前に片側腎を摘出、7 日前に対側の 2/3 腎を摘出することで作成し、0 日に Nx 群と Nx+メラトニン投与(Nx+M)群にランダム化した。メラトニンは飲水投与(100 mg/L)した。コントロール(C)群は 14 日前、7 日前に偽手術を行った。各モデルは 28 日に蓄尿、血圧測定を行い、断頭屠殺により血液と腎臓検体を採取した。

各群の血漿メラトニンを RIA 法、尿中の主要なメラトニン代謝物である 6-スルファトキシメラトニン(aMT6s)を ELISA 法で測定した。腎臓内抗酸化物としてスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)活性を、酸化ストレスマーカーとして 8-ヒドロキシ-デオキシグアニシン(8-OHdG)の免疫染色を、腎組織ノルエピネフリン濃度を ELISA 法で測定した。腎臓内 RAS 構成要素[AGT、アンジオテンシン II(AngII)、AngII 1 型受容体(AT1R)]を ELISA 法、ウェスタンブロット法や免疫染色で定量化した。腎組織障害として、腎間質線維化関連マーカー[α 平滑筋アクチン(α-SMA)、I 型コラーゲン、スネイル(Snail)]を免疫染色で評価した。

[結果]

C 群や Nx 群と比較し Nx+M 群では、深夜 2 時の血漿メラトニン濃度と 24 時間の尿中 aMT6s 排泄量が著しく高値であった。C 群と比較し Nx 群では、24 時間の尿中 aMT6s 排泄量が有意に低下していた。

C 群と比較し Nx 群では、血圧の上昇、蛋白尿の増加を認め、腎機能は低下した。Nx 群と比較し Nx+M 群では、収縮期血圧が有意に低下し、蛋白尿や腎機能は有意差を認めないものの改善傾向を認めた(収縮期血圧: C 群 118.0 ± 6.4 mmHg、Nx 群 203.5 ± 8.7 mmHg、Nx+M 群 173.0 ± 8.7 mmHg、蛋白尿: C 群 8.6 ± 1.0 mg/日、Nx 群 189.7 ± 29.9 mg/日、Nx+M 群 124.7 ± 28.3 mg/日、血清クレアチニン: C 群 0.34 ± 0.02 mg/dL、Nx 群 1.21 ± 0.15 mg/dL、Nx+M 群 0.96 ± 0.07 mg/dL)。

C 群と比較し Nx 群では、腎臓内抗酸化物 SOD 活性の低下と酸化ストレス 8-OHdG 陽性細胞数の増加を認め、Nx+M 群ではこれらは有意に改善した。腎臓内ノルエピネフリン濃度は各群に差を認めなかった。

腎臓内 RAS 構成要素は、C 群と比較して Nx 群では尿中 AGT 排泄量の増加、腎臓内 AGT、AngII、AT1R の蛋白発現亢進を認め、Nx+M 群ではこれらの有意な減少を認めた。

腎臓間質線維化関連マーカーである α -SMA、I 型コラーゲン、Snail は C 群と比較し Nx 群で発現の増加を認め、Nx+M 群ではこれらの有意な減少を認めた。

[考察]

我々は以前に、慢性腎臓病では、夜間の内因性メラトニン分泌量が低下している患者ほど、尿中 AGT 排泄量が多いことを報告した。そして本研究により、慢性腎臓病モデルへメラトニンを投与することで、腎臓内酸化ストレスとともに腎臓内 RAS 活性が抑制され、降圧と腎間質線維化の軽減が得られることを確認した。

本研究でメラトニンが腎臓内 RAS 活性を抑制した機序のひとつとして、腎臓内の酸化ストレスを軽減したことがあげられる。既報告では、酸化ストレスを軽減すると、近位尿細管で産生される AGT の mRNA と蛋白発現量が低下することが示されている。また、肝臓で産生され、障害された糸球体から濾過された AGT が腎臓内 AngII の起源となることも報告されており、我々の結果では、メラトニン投与により蛋白尿が減少する傾向を認めていることから、メラトニンによって糸球体から濾過される AGT が減少し、腎臓内 RAS 活性の抑制に影響した可能性もある。

本研究では、メラトニンにより収縮期血圧が有意に低下した。これはメラトニンそのものが有する降圧効果と、腎臓内 RAS 活性が抑制されたことによる降圧、両方の結果と考える。メラトニンによる降圧が腎臓内 RAS 活性を抑制した可能性については、我々の過去の研究で、RAS 非依存性の降圧薬を用いても、腎臓内 RAS 活性と腎障害は抑制されないことを確認しており、影響は少ないと考える。

メラトニンは交感神経を抑制する作用も有しており、腎臓内の交感神経活性を介した腎臓内 RAS 抑制の機序もあり得るが、本研究では腎組織ノルエピネフリン濃度は各群に差を認めず、その関わりを示すことはできなかった。

[結論]

慢性腎臓病モデルラットにおいて、メラトニン投与は、腎臓内酸化ストレス、腎臓内 RAS 活性、腎線維化を抑制することが示された。