



The roles of apoptosis and its regulation system in uranyl acetate-induced acute renal failure

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐野, 晃司 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1121

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	医博第 268号	学位授与年月日	平成11年 3月26日
氏 名	佐 野 晃 司		
論文題目	The roles of apoptosis and its regulation system in uranyl acetate – induced acute renal failure (酢酸ウラニウム誘発急性腎不全におけるアポトーシスの役割とその調節機構)		

博士(医学) 佐野晃司

論文題目

The roles of apoptosis and its regulation system in uranyl acetate-induced acute renal failure
(酢酸ウラニウム誘発急性腎不全におけるアポトーシスの役割とその調節機構)

論文内容の要旨

〔はじめに〕

近年、細胞死には壊死とは異なるアポトーシスという細胞死の存在が明らかとなってきた。酢酸ウラニウム (UA) は腎毒性物質として知られており、これまで主に近位尿細管細胞壊死により急性腎不全が惹起されると考えられてきた。UA による急性腎不全時にアポトーシスが生じるか否か、また生じるとすればその病態生理学的意義は何かについては検討されていない。UA 誘発急性腎不全では耐性獲得がおこることが知られている。これはラットに UA を静注し急性腎不全を誘発させ、回復期に再度 UA を静注すると腎機能障害の程度が軽減する現象である。今回この実験系を用い、UA 誘発急性腎不全モデルおよび耐性獲得モデルにおけるアポトーシスの存在とその病態生理学的意義についての検討を行った。

〔材料ならびに方法〕

雄 S. D. ラットに UA (5mg/kg) を一回静注したものを 1 群、一回静注後 14 日目に同量の UA を再静注したものを 2 群とし、血清クレアチニンで腎機能を、腎 PAS 染色標本で尿細管組織障害度を評価した。アポトーシスに関しては、電顕にてアポトーシス細胞を、また電気泳動で DNA ladder 現象を確認し、半定量的評価を TUNEL 法で行った。細胞増殖度に関しては、一近位尿細管あたりの細胞数を PAS 染色を用いて評価した。また増殖細胞核抗原 (PCNA) と bromodeoxyuridine (BrdU) を用いて免疫組織染色を行い、陽性細胞数を経時的に評価した。アポトーシス抑制蛋白として知られる Bcl-2 と、促進蛋白である Bax の免疫組織染色を行い陽性細胞数を経時的に評価した。

〔結果〕

1 群では、血清クレアチニン上昇と組織障害度は、UA 静注後 5 日目に極期に達し、14 日後には前値に戻った。一方 2 群では、1 群に比しこれらの変化は有意に軽度であった。1 群 5 日目にアポトーシス細胞の存在と DNA ladder を確認した。TUNEL 陽性細胞数は、1 群では UA 静注後 5 日目と 14 日目を極期として 2 峰性に上昇した。一方 2 群では UA 再投与 3～7 日目を極期として増加したが、1 群に比し有意に低値であった。一尿細管あたりの細胞数は 1 群 5 日目で減少の極期となり、7 日目で増加の極期となり、21 日までに正常数となった。2 群では 1 群よりも軽度増加していた。BrdU 陽性細胞数は 1、2 群でともに血清クレアチニン、組織障害度と同様の変化をとり、PCNA 陽性細胞もほぼ同様の変化を示した。Bcl-2 および Bax 陽性細胞数は、1、2 群とも 10～14 日目に著しく増加した。

〔考察〕

アポトーシスの程度と腎障害の程度は並行しており、アポトーシスは酢酸ウラニウムによる急性腎不全時の腎機能障害と組織障害に重要な役割をする可能性がある。またアポトーシスは急性腎不全からの回復期では修復過程で過剰に増殖した尿細管細胞の間引きに関与している可能性があり、このアポトー

シスの発現調節に Bcl-2, Bax の関与が示唆された。2 群でのアポトーシスは 1 群に比し軽度であり耐性獲得との関連が示唆された。

〔結論〕

酢酸ウラニウム誘発急性腎不全ではアポトーシスが 2 峰性に発現することが確認され、前者は尿細管障害の進展に、後者はその回復期の過剰な細胞増殖の間引きに関与し、後者には Bcl-2, Bax の関与が示唆された。また耐性獲得にはアポトーシスの減少が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

近年、細胞死には壊死とは異なるアポトーシスという細胞死の存在が明らかとなり、各分野で研究が進められている。しかし急性腎不全に関するアポトーシスの意義についてはほとんどわかっていない。酢酸ウラニウム (UA) は腎毒性物質として知られており、これまで主に近位尿細管細胞壊死により急性腎不全が惹起されると考えられてきた。UA による急性腎不全時にアポトーシスが生じるか否か、また生じるとすればその病態生理学的意義は何かについては検討されていない。UA 誘発急性腎不全ではいわゆる耐性獲得がおこることが知られている。これはラットに UA を静注し急性腎不全を誘発させ、回復期に再度 UA を静注すると腎機能障害の程度が軽減する現象である。今回この実験系を用い、UA 誘発急性腎不全モデルおよび耐性獲得モデルにおけるアポトーシスの存在とその病態生理学的意義についての検討を行った。

雄 Sprague-Dawley ラットに UA (5mg/kg) を 2 回静注したものを 1 群、1 回静注後 14 日目に同量の UA を再静注したものを 2 群とし、血清クレアチニンで腎機能を、腎 PAS 染色標本で尿細管組織障害度を評価した。アポトーシスに関しては、電顕にてアポトーシス細胞を、また電気泳動で DNA ladder 現象を確認し、半定量的評価を TUNEL 法で行った。細胞増殖度に関しては、一近位尿細管あたりの細胞数を PAS 染色を用いて評価した。また増殖細胞核抗原 (PCNA) と bromodeoxyuridine (BrdU) を用いて免疫組織染色を行い、陽性細胞数を経時的に評価した。アポトーシス抑制蛋白として知られる Bcl-2 と、促進蛋白である Bax の免疫組織染色を行い陽性細胞数を経時的に評価した。

1 群では、血清クレアチニン上昇と組織障害度は、UA 静注後 5 日目に極期に達し、14 日後には前値に戻った。一方 2 群では、1 群に比しこれらの変化は有意に軽度であった。1 群 5 日目にアポトーシス細胞の存在と DNA ladder を確認した。TUNEL 陽性細胞数は、1 群では UA 静注後 5 日目と 14 日目を極期として 2 峰性に上昇した。一方 2 群では UA 再投与 3～7 日目を極期として増加したが、1 群に比し有意に低値であった。尿細管 1 断面あたりの脱落していないで残っている細胞数は 1 群 5 日目で極小となり、7 日目で極大となり、21 日までに正常値に戻った。2 群では 1 群よりも軽度増加していた。BrdU 陽性細胞は 1、2 群とともに血清クレアチニン、組織障害度と同様の変化をとり、PCNA 陽性細胞もほぼ同様の変化を示した。Bcl-2 および Bax 陽性細胞数は、1 群での 14 日目の著しい増加が有意であった。2 群では、むしろ Bax 陽性細胞の増加が維持されていて、Bcl-2 はもとの値に戻った。

アポトーシスの程度と腎障害の程度は並行しており、アポトーシスは酢酸ウラニウムによる急性腎不全時の腎機能障害と組織障害に重要な役割をする可能性がある。またアポトーシスは急性腎不全からの回復期では修復過程で過剰に増殖した尿細管細胞の間引きに関与している可能性があり、このアポトーシスの発現調節に Bcl-2, Bax の関与が示唆された。2 群でのアポトーシスは 1 群に比し軽度であり耐性獲得との関連が示唆された。

以上のことから、酢酸ウラニウム誘発急性腎不全ではアポトーシスが2峰性に発現することが確認された。はじめのピークは尿細管障害そのものの進展に相関し、後のピークでは尿細管障害回復期の過剰な細胞増殖の間引きに関与しさらに、このときの Bcl-2、Bax の動態もここでおこっているアポトーシスに対応するものであった。またいわゆる耐性獲得という現象はアポトーシスの減少という機構で理解しうることを示した。

この発表の際、申請者の研究について以下のような質問がなされた。

- 1) オクラトキシンA はどのような物質か
- 2) いくつかのアポトーシスモデルの差異、とくに再現性についての特徴はなにか
- 3) このモデルでみられる耐性獲得という現象はそのほかのモデルでもみられるのか、また、やはり HSP 73 が関与しているのか
- 4) この研究でみられる耐性獲得はどのくらいの期間つづくのか
- 5) 組織障害のマーカーはいくつ用いられたのか
- 6) 組織切片上にみられる落屑した尿細管上皮と TUNEL 法による陽性像との対応はどうか
- 7) 基底膜の PAS 染色性の減弱の意義
- 8) PCNA 染色が BrdU のとりこみによる細胞の標識よりも多くみられるのは何故か
- 9) 酢酸ウラニウムモデルをマウス、ウサギ、ラットに適用した場合にそれぞれの特徴はどうか
- 10) このモデルにみられるようなアポトーシスと組織障害の2相性という現象はその他の臓器でも同様におこるのか
- 11) 酢酸ウラニウムモデルはシスプラチンやゲンタマイシンの障害と比較してどのような違いがあるか
- 12) この系を用いて Fas-Fas ligand の変化はどのような状況が予想されるか
- 13) このモデルにもっとも近い臨床的現象はなにか

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全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 梶 村 春 彦

副査 教授 大 橋 京 一 副査 助教授 馬 場 聡