



Dietary salt intake modulates progression of anti-thymocyte serum nephritis through alteration of glomerular angiotensin II receptor expression

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 洋行 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1210

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 357号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏名	鈴木洋行		
論文題目	Dietary salt intake modulates progression of anti-thymocyte serum nephritis through alteration of glomerular angiotensin II receptor expression (抗胸腺抗体腎炎において塩分摂取量の多寡が糸球体アンジオテンシン II レセプターの発現変化を介して糸球体病変の進行に及ぼす影響)		

博士(医学) 鈴木 洋行

論文題目

Dietary salt intake modulates progression of anti-thymocyte serum nephritis through alteration of glomerular angiotensin II receptor expression

(抗胸腺抗体腎炎において塩分摂取量の多寡が糸球体アンジオテンシン II レセプターの発現変化を介して糸球体病変の進行に及ぼす影響)

論文の内容の要旨

[目的]

慢性糸球体腎炎の進行に及ぼす食塩摂取量の影響に関連して、高血圧を来たす程度の食塩の過剰摂取が、腎障害の進展を促進する可能性が有ることは良く知られているが、血圧に影響しない程度の食塩摂取量の変化が腎障害の進展に及ぼす影響についてはほとんど知られていない。近年、各種腎炎での糸球体や尿管間質における過剰の細胞外基質の蓄積がその進行に重要な役割を果たすこと、その蓄積にTGF- β が関与することが知られるようになり、TGF- β の発現調節による腎疾患の進行抑制が期待されている。アンジオテンシン変換酵素阻害薬が腎障害進行モデルでTGF- β の発現抑制とともに糸球体硬化性病変の改善を認めたとする報告など、レニン・アンジオテンシン系(以下 RA 系)がTGF- β の発現を刺激することを示唆する報告が出されているが、一方で deoxycorticosterone (DOCA) - 食塩高血圧ラットでは RA 系が抑制されているにも拘わらず TGF- β mRNA の増加が認められており、腎疾患における RA 系と TGF- β との関係については不明な点が多い。腎疾患において RA 系が TGF- β に及ぼす可能性を明らかにすることは、腎疾患患者において、RA 系に影響することが明らかである食塩摂取量を決める上で必要な情報である。

抗胸腺抗体(anti-thymocyte serum ; ATS)腎炎は、メサンジウム細胞増殖と基質の増加を起こす糸球体腎炎モデルであり、TGF- β 1、タイプ I およびタイプ II TGF- β 受容体(以下 T β RI, T β RII)の発現が糸球体硬化の発現に重要であることが知られている。本研究では、このモデルを用い、RA 系の抑制もしくは刺激が腎糸球体内 TGF- β 系の発現と腎病変の進行に及ぼす影響を調べることを目的とする。

[方法]

雄 Wistar ラット、体重100g を用い、以下の4群に分ける。A 群：通常塩分食(0.39%) + 蒸留水投与。B 群：furosemide 2mg/kg を7日前に腹腔内投与し、低塩分食(0.03%) + 蒸留水投与。C 群：DOCA 10mg/kg を14, 7日前に皮下投与し、通常塩分食 + 1%食塩水投与。D 群：C 群にアンジオテンシン II タイプ I 受容体(以下 AT $_1$ R)拮抗薬である candesartan cilexetil(以下 candesartan) 1 mg/kg 連日経口投与。各群に ATS を静注してこれを day 0 として、day 0, 3, 7, 14, 28 で尿蛋白排泄量、血圧、糸球体病変(PAS 染色)、糸球体内 ED1 陽性マクロファージ浸潤(免疫染色)、血中レニン活性(RIA)、腎内レニン(免疫染色)、単離糸球体の TGF- β 1 産生(ELISA)、T β RI, T β RII(Western blot)、単離糸球体内アンジオテンシン II(AII)濃度(RIA)、AT $_1$ -R(Western blot)を検討した。

[結果]

血圧に有意差は見られなかった。PAS 染色における腎糸球体病変は、A 群では、day 7 をピークとしてメサンジウム細胞および細胞外基質の増加を生ずる一過性の腎炎を示すが、B 群では、腎炎の程度は軽

度であった。C群では、day 7におけるメサンジウム細胞、細胞外基質の増加はともに顕著になり、candesartan投与(D群)は、これを軽減させた。尿蛋白排泄量はA群において、day 3をピークとする一過性の増加を示したのに対し、B群では有意に抑制された。C群ではday 14をピークとして有意に増加し、Candesartan投与(D群)ではこれを抑制した。糸球体のTGF- β 1産生量はA群ではday 7をピークとして一過性に発現が増加し、day 28までに元のレベルに復した。B群ではday 3から14にかけては増加が少なく、C群ではA群との差は見られなかった。D群では、day 3, 14において、C群に比して増加が抑制された。糸球体のレセプターの発現は、day 7において、T β RIは、A群に比しB群において増加が少なく、一方、C群、D群では著明に増加した。T β RIIは、A群と比べB群では変化がなかったものの、C群では増加、またD群ではこの増加は抑えられた。

一方、血漿および腎内レニン、腎炎発症後、A群ではday 7に一過性に減少する傾向を示し、B群では有意に高値を持続した。C、D群では、経過を通じて抑制されたままであった。単離糸球体内AII濃度は、A群に比し、B群では高値、C群では低値と、腎内レニンと同様の変動を示したが、D群においては、検出感度以下までに低下していた。また、糸球体内AT $_1$ -RはA群ではday 7をピークとして一過性に発現が増加した。B群ではA群との差は見られなかったが、C、D群においては著明に増加した。

〔結論〕

高塩分食では血中や腎内レニン、糸球体内AII濃度は低下しているにも拘わらず、ATS腎炎は悪化し、糸球体のAT $_1$ -R、T β R発現が亢進していた。この高塩分食による腎病変増悪はAT $_1$ -Rアンタゴニストによって軽減することより高塩分食で生ずる糸球体のAT $_1$ -R発現増加を介するAII感受性の増加が、腎病変進行、糸球体T β R発現亢進に関与することが考えられた。一方、低塩分食におけるATS腎炎病変軽減は、糸球体でのAT $_2$ -R発現亢進などの他因子の関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

慢性糸球体腎炎の進行に及ぼす食塩摂取量の影響に関連して、血圧に影響しない程度の食塩摂取量の変化が腎障害の進展に及ぼす影響についてはほとんど知られていない。また、腎疾患におけるレニン・アンジオテンシン系(以下RA系)と、糸球体における過剰の細胞外基質の蓄積に重要な役割を果たすTGF- β との関係については未だ解明されていない部分も少なくない。申請者はこれらを解析する目的で抗胸腺抗体腎炎モデルラットを用い、食事の塩分を変化させ(通常塩分食群、低塩分食群、高塩分食群、高塩分食+candesartan群)、腎組織病変、RA系及びTGF- β システムについて解析し、以下の結果を得た。

- 1) 4群間の血圧に有意差は見られなかった。
- 2) PAS染色で評価した腎糸球体病変は、通常塩分食群では、day 7をピークとしてメサンジウム細胞および細胞外基質の増加を生ずる一過性の腎炎像を示すが、低塩分食群では、腎炎の程度は軽度であった。高塩分食群では、day 7におけるメサンジウム細胞、細胞外基質の増加は通常塩分食群よりも顕著になったが、candesartan投与により軽減された。
- 3) 尿蛋白排泄量は通常塩分食群において、day 3をピークとする一過性の増加を示したのに対し、低塩分食群では有意に抑制された。高塩分食群ではday 14をピークとして有意に増加し、candesartan投与群ではこれを抑制した。
- 4) 単離糸球体からのTGF- β 1産生量は通常塩分食群ではday 7をピークとして一過性に産生量が増加

し、day28までに元のレベルに復した。低塩分食群ではday3から14にかけては通常塩分食群に比し産生量が少なく、高塩分食群では通常塩分食群との差は見られなかった。candesartan群では、day3、14において、高塩分食群に比して増加が抑制された。

- 5) 糸球体のレセプターの発現は、day7において、T β RIは、通常塩分食群に比し低塩分食群において増加が少なく、一方、高塩分食群、candesartan投与群では著明に増加した。T β RIIは、通常塩分食群と比べ低塩分食群では変化がなかったものの、高塩分食群では増加、またcandesartan投与群ではこの増加は抑えられた。
- 6) 血漿および腎内レニン活性は、腎炎発症後、通常塩分食群ではday7に一過性に減少する傾向を示し、低塩分食群では有意に高値を持続した。高塩分食群、candesartan投与群では、経過を通じて抑制されたままであった。単離糸球体内AII濃度は、通常塩分食群に比し、低塩分食群では高値、高塩分食群では低値と、腎内レニン活性と同様の変動を示したが、candesartan投与群においては、検出感度以下までに低下していた。
- 7) 糸球体内AT $_1$ -Rは通常塩分食群ではday7をピークとして一過性に発現が増加した。低塩分食群では通常塩分食群との差は見られなかったが、高塩分食群、candesartan投与群においては著明に増加した。

これらの観察結果から申請者の導き出した結論は以下のとおりである。

高塩分食では血中や腎内レニン活性、糸球体内AII濃度は低下しているにも拘わらず、ATS腎炎は悪化し、糸球体のAT $_1$ -R、T β R発現が亢進していた。この高塩分食による腎病変増悪はAT $_1$ -Rアンタゴニストによって軽減することより高塩分食で生ずる糸球体のAT $_1$ -R発現増加を介するAII感受性の増加が、腎病変進行、糸球体T β R発現亢進に関与することが考えられる。一方、低塩分食におけるATS腎炎病変軽減は、糸球体でのAT $_2$ -R発現亢進などの他因子の関与が示唆される。

審査委員会では、塩分摂取量の多寡が腎炎モデルでの腎糸球体病変の程度に強く影響すること、それらがAIIとTGF- β およびそれらの受容体の発現を介していることを示したことを高く評価した。さらに本研究に関して以下のような質問をした。

- 1) AT $_1$ -Rの腎内における分布と発現機構について
- 2) 腎炎、腎不全ではAT $_1$ -Rは変化するのか
- 3) アンジオテンシン変換酵素は腎のどこに分布しているか
- 4) ATS腎炎は、どうして修復されるのか
- 5) 他の腎炎モデルにはどのようなものがあるのか
- 6) ATS腎炎モデルと他の腎炎モデルとの相違点について
- 7) 糸球体の単離方法について
- 8) 実験群でfurosemide, deoxycorticosteroneを使用する理由
- 9) 糸球体におけるTGF- β 1、TGF- β タイプI、IIレセプターとAIIとの関係について
- 10) 糸球体内と全身のアンジオテンシンの値の相違について
- 11) 塩分制限でTGF- β が減少する理由
- 12) 塩分負荷によりAIIの作用が亢進する理由

- 13) AII と AT₁-R または AT₂-R との結合係数について
- 14) AT₂-R を測定できなかった理由について
- 15) 腎炎進展における TGF- β 以外のサイトカインの関与について

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 林 秀 晴
副査 浦 野 哲 盟 副査 渡 邊 裕 司