

## 審査結果の要旨

氏名 齋藤 幹

本研究はレニン-アンジオテンシン系の中心物質であるアンジオテンシン II (ANG II)と、酸化ストレスに影響を与えていると推測される鉄動態の関連について、ラットによる動物モデルを用いて検討を行なったものであり、下記の結果を得ている。

<実験1> ANG II 投与がラットの腎臓で抗老化遺伝子である *klotho* 遺伝子の発現を低下すること、ANG II の投与により腎尿細管に鉄の沈着が認められるがカテコラミンの投与では認められないことが報告されている。実験1ではANG II 投与による腎での *klotho* 遺伝子の発現低下が鉄のキレーターとラジカル・スカベンジャーで抑制されるかどうか、逆に鉄の負荷により *klotho* 遺伝子が抑制されるかどうかについて検討した。

ANG II 投与ラットでは、腎での *klotho* 発現は低下した。鉄負荷モデルも ANG II と同程度まで *klotho* 発現が低下した。また ANG II による *klotho* の発現低下は鉄のキレーター (DFO) とラジカル・スカベンジャー (T-0970) により緩和された。これらの結果から ANG II 投与による *klotho* の発現低下には、腎における鉄動態異常が関与していることを示唆している。また、ANG II 投与ラットヘラジカル・スカベンジャーを投与することにより *klotho* の発現低下が抑制されたことから、活性酸素種 (ROS) の増加が ANG II 投与による *klotho* 遺伝子の発現に重要な影響を与えている可能性が示唆された。

<実験2> ANG II による腎障害には腎臓での TGF- $\beta$  の発現が関与していると考えられている。実験2では鉄のキレーターとフリー・ラジカル・スカベンジャーが ANG II 投与による腎の TGF- $\beta$  や collagen 遺伝子の発現亢進に対する影響について検討した。

ANG II の投与により腎臓で TGF- $\beta$  1, collagen type I, collagen type IV の発現が亢進すること、またこの現象が鉄のキレーターとラジカル・スカベンジャーにより抑制されることが示された。逆に

鉄負荷はこれらの遺伝子発現を亢進した。以上から ANG II 投与による TGF- $\beta$  1, collagen type I, collagen type IV の腎での発現亢進の少なくとも一部は、腎での鉄の動態異常とそれに伴う酸化ストレスの亢進の結果によるものと推測された。

これらの結果から鉄動態異常により増加した酸化ストレスが、ANG II 投与ラットモデルの腎臓での TGF- $\beta$  1 発現亢進の原因のひとつとして考えられた。

<実験3>実験2では ANG II 投与によるスーパーオキシドの発現増加が腎尿細管の顆粒状物質の周辺で起こること、さらに腎尿細管での TGF- $\beta$  1 の発現亢進が鉄陽性細胞とは一致しなかったことが示された。実験3ではこの顆粒状物質が脂質ではないかと推測し ANG II 投与により尿細管に認められる顆粒状の物質について同定を行い、またこの物質が DFO と T-0970 により集積が緩和されるかについて検討を行った。

ANG II 投与により腎尿細管に脂質の集積が認められた。また、位相差顕微鏡により認められた顆粒状物質は脂質と確認された。脂質の集積はノルエピネフリンでは認めず、DFO および T-0970 の投与にて軽減した。また、脂質集積細胞の周囲でのスーパーオキシドの産生増加が確認された。TGF- $\beta$  1 による *in situ* hybridization を行い、脂質沈着と一致して腎尿細管に TGF- $\beta$  1 の発現が確認された。これらの結果から ANG II 投与ラットでは腎尿細管に脂質が集積し、集積した細胞よりスーパーオキシドの産生が増加し TGF- $\beta$  の発現が亢進していることが明らかとなった。

以上、本論文ではアンジオテンシン II 投与ラットの腎臓において、鉄の動態異常が酸化ストレスを亢進し *klotho* 遺伝子や TGF- $\beta$  1, collagen 遺伝子に影響を与えること、また腎臓の脂質動態にも影響を与えることを明らかにした。アンジオテンシン II による腎障害における鉄動態異常と酸化ストレス、および脂質動態異常に関してはいまだ不明な部分も多く、本研究はその解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。