

審査の結果の要旨

氏名 孫 大輔

本研究は、慢性腎不全における低酸素の果たす病態生理学的役割について明らかにするために慢性低酸素性腎障害モデル動物のプロテオミクス解析を行い、さらに腎障害を悪化させている酸化ストレス亢進を来たす因子について動物及び細胞実験を用いて解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 片側腎動脈を 7 日間狭窄させた慢性低酸素性腎障害モデルラットを用い、腎組織のプロテオミクス解析を行い著明に変化している蛋白を同定したところ、酸化ストレス防御系酵素である Cu/Zn-SOD が低下していることが示された。
2. これまで急性腎不全モデルである虚血再灌流障害動物では Cu/Zn-SOD の低下が多数報告されていたものの、慢性腎不全モデル動物での報告は少なかった。Cu/Zn-SOD の低下は蛋白レベルとともに遺伝子レベルでも抑制されていることが Western blotting 解析と real-time PCR 解析にて示され、慢性低酸素は腎障害の進行において酸化ストレスに対し腎を脆弱にしていることが示唆された。
3. Cu/Zn-SOD の局在を調べるために免疫組織化学染色を施行し、また LCM (laser capture microdissection) 法を用いて遺伝子局在を解析したところ、いずれも糸球体より尿細管領域に多く存在することが示され、低酸素性腎障害の障害部位と一致していた。
4. 慢性低酸素性腎障害ラットに、減少している SOD 類似物質 (tempol) を補ったところ腎障害が軽減し酸化ストレスも低下していることが示されたことで、慢性低酸素が Cu/Zn-SOD の低下を惹起し酸化ストレス防御系の破綻を惹起することで腎障害を増悪させている、という仮説が検証された。
5. 慢性低酸素性腎障害において、いかにして Cu/Zn-SOD の RNA 発現の抑制が引き起こされるのかはこれまで知られていなかった。今回の実験において、近位尿細管培養細胞 (RPTEC) を用いて低酸素刺激、angiotensin II 刺激、TNF- α 刺激などを行ったところ、TNF- α が直接的な Cu/Zn-SOD の mRNA 抑制を惹起することが示された。さらに in vivo でも TNF- α をモノクローナル抗体で阻害することで Cu/Zn-SOD 蛋白抑制の回復を認め、慢性低酸素による Cu/Zn-SOD 抑制の機序に TNF- α が関与していることが証明された。

以上、本論文は慢性腎不全進行機序としての慢性低酸素と酸化ストレス防御系の破綻の関係について、モデル動物におけるプロテオミクス解析また培養細胞実験などの手法を用いて新たな知見を示し、慢性腎不全の病態解明に重要な貢献をなしたと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。