

論文内容要旨

論文題目

Deterioration of Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Renal Failure in SOD1-deficient Mice

(SOD1 欠損マウスでは虚血再灌流による急性腎不全は悪化する)

責任講座： 第2生化学 講座

氏名： 山辺 拓也

【内容要旨】

【目的】腎臓に血液が十分に供給されない虚血状態では、その臓器に低酸素による障害が生じるが、再灌流によりさらに重篤な臓器障害が惹起され、これらの障害は腎移植における初期の移植片機能不全の病因として重要であり、この障害を軽減することは移植腎の長期生着のためにも重要である。腎臓の虚血/再灌流では、活性化された好中球から活性酸素種が産生され、この活性酸素種が急性腎不全の発生に大きく関与している。抗酸化剤の投与が、腎不全を改善することはよく知られているが、内因性の抗酸化システムの寄与については、知られていない。そこで、我々は活性酸素の消去酵素である SOD-1 の欠乏が虚血再灌流による腎不全を悪化させるかどうかについて検討した。【方法】SOD-1 ノックアウトマウスまたは Wild type のマウスについて、最初に右の腎臓を摘出、その2週間後に左腎臓の腎動静脈を血流遮断クリップで45分間クリッピングした後、クリップを外し血流を再開した。虚血再灌流手術後7日後に血清の尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cr)を測定し、左腎臓を摘出して免疫組織学的検討、イムノプロットを行った。【結果】虚血再灌流後1週間後の検討では、BUNではSOD-1 ノックアウトマウスで有意に高値であり、Crについても高値となる傾向であった。また、虚血再灌流後24時間後の検討では若いマウス(10-12週齢)では、SOD-1 ノックアウトマウス Cr が有意に高値であり BUN が高値傾向であった。老齢のマウス(24-28週齢)では BUN, Cr 共に SOD-1 ノックアウトマウスで有意に高値であり、SOD-1 ノックアウト群では急性腎不全が高度であると考えられた。また、腎臓の組織標本においても、SOD-1 ノックアウトマウスで尿細管の拡張、尿細管上皮の空胞状変化、及び尿細管上皮の脱落といったダメージがより顕著であった。また、免疫組織染色では DNA の酸化ストレスの指標である 8-OHDG の発現が虚血再灌流を行った SOD-1 ノックアウトの群で高くなっていた。これらの、野生型マウスと SOD-1 ノックアウトマウスとの間の障害の程度は老齢のマウスで特に顕著であった。【結論】今回、炎症によって惹起された活性化好中球から産生される活性酸素種を消去する SOD-1 の欠乏が腎不全を悪化させることが明らかとされた。活性酸素種は、それ自体の直接の臓器障害だけでなく、一酸化窒素の合成を誘導することなども知られている。一酸化窒素が虚血再灌流障害に不利に働くか有利に働くかは未だに議論の残るところではあるが、活性酸素の消去が腎不全に有利に働くことが示された。これらの結果は、臓器移植時などにみられる虚血再灌流による急性腎不全に対して抗酸化剤や抗炎症剤の投与が有効である可能性を示唆するものである。

平成 18 年 / 月 25 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 山辺拓也

論文題目：Deterioration of Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Renal Failure in SOD1-deficient Mice

審査委員：主審査委員 久保田 功 印

副審査委員 小谷 直樹 印

副審査委員 浅尾 裕信 印

審査終了日：平成 18 年 / 月 23 日

【論文審査結果要旨】

腎臓の虚血再灌流障害は、腎移植を含め腎血流を遮断して行う手術の際に生ずる術後早期の腎機能低下の重要な病因である。虚血再灌流障害の原因として、活性化好中球から産生される活性酸素種が重要な役割を果たしていると考えられているが、内因性の活性酸素消去酵素である SOD1 が腎虚血再灌流障害の抑制にどの程度関与しているかは明らかではない。

野生型または SOD1 ノックアウトマウスの右腎摘出 2 週間後に左腎動脈の血流を遮断し、45 分後に再灌流を行い、虚血再灌流腎における SOD1 の役割を検討した。再灌流 24 時間後に血清尿素窒素とクレアチンを測定、1 週間後に左腎臓を摘出、免疫組織学的検討等を行った。

野生型マウスとノックアウトマウスの間に、コントロール時には、腎臓重量、尿素窒素、クレアチニン値に差異を認めなかった。抗酸化酵素、redox 酵素の蛋白発現 (SOD1, SOD2, GPX1, GR, AR, AL, Prx1, Prx4) を野生型とノックアウトマウス、sham 群と虚血再灌流群で検討したが、ノックアウトマウスで SOD1 が欠如している以外に差異を認めなかった。虚血再灌流後の尿素窒素とクレアチニン値はノックアウトマウス群が野生型に比べ有意に高値であった。虚血再灌流後に尿細管の拡張、尿細管上皮の空胞化といった急性尿細管壊死像が認められたが、ノックアウトマウス群でより顕著であった。酸化ストレスの指標としての 8-OHdG の免疫組織染色では、虚血再灌流後に糸球体での発現が増強したが、ノックアウトマウス群では尿細管にも発現がみられた。以上より SOD1 の欠乏は通常の状態では腎機能に影響を与えないが、虚血再灌流障害のように活性酸素種が過剰に存在する状況下ではそれに起因する急性腎不全を悪化させると結論された。

本論文は内因性の活性酸素消去酵素である SOD1 が腎臓の虚血再灌流障害抑制作用を有することを始めて明らかにした。腎虚血再灌流障害の予防法の開発につながる研究で学問的貢献度は高く、学位審査委員会は、博士 (医学) を授与するに値するものと判定した。

(1,200 字以内)