

氏 名	かす の けん じ 糟 野 健 司
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2701 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Protective roles of thioredoxin, a redox-regulating protein, in renal ischemia/reperfusion injury (虚血再灌流におけるレドックス調節タンパク・チオレドキシンの腎保護作用に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 横 出 正 之 教 授 小 川 修 教 授 淀 井 淳 司

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】腎虚血・再灌流は急性腎不全の発症、慢性腎不全の進行過程や移植腎症の病態生理に深く関わっている。特に腎皮髄境界部髄質の medullary thick ascending limb (mTAL) は局所の酸素分圧が低いにも関わらず、ATP 依存性再吸収が盛んに行われる部位であり、虚血・再灌流障害に最も弱い部位と言われている。近年、虚血・再灌流の病態生理には活性酸素の産生とレドックスバランスの破綻が大きく関与している事が報告されている。チオレドキシシン (TRX) はレドックス制御機能を持つ生体内低分子量タンパクであり、種々の酸化ストレスによって誘導され、抗酸化作用を有することが知られている。今回、腎虚血再灌流障害における TRX の役割を明らかにするために検討を行った。

【対象と方法】C57BL/6 マウス、及びヒト TRX 遺伝子導入マウスの腎動脈クリップを用いた虚血・再灌流モデルにおいて免疫染色、ウェスタンブロッティング、ELISA を用いて TRX タンパクの発現を観察した。in situ ハイブリダイゼーション、ノザンブロッティングにて TRX mRNA の発現を観察した。ヒト TRX 遺伝子導入マウスと C57BL/6 マウスの間で虚血再灌流後の腎機能を BUN、血清クレアチニンを測定することにより評価した。

【結果】C57BL/6 マウス、及びヒト TRX 遺伝子導入マウスの非虚血コントロールでは TRX タンパクは腎全体の尿細管細胞の細胞質全体にび慢性に認められた。虚血15分後の再灌流にて、内因性マウス TRX タンパク、及び遺伝子導入されたヒト TRX タンパクの両方が皮髄境界部及び髄質の mTAL に観察され、皮質ではそれらの染色性が低下した。再灌流後、60分で皮質部近位尿細管の TRX は尿腔側へ移動し、さらに90分後には尿腔に認めた。ウェスタンブロッティングによる蛋白量定量では mTAL を含む髄質ではコントロールと虚血・再灌流後の間で TRX の発現量に変化なかったものの、皮質では TRX の発現量が減少していた。さらに再灌流後第一尿中 TRX の排泄が一過性に増加し、72時間後に虚血前の値まで回復した。これら TRX 蛋白の変化は mTAL 発現量の変化を伴わなかった。ヒト TRX 遺伝子導入マウスでは野生型マウスに比べ虚血再灌流後の BUN、血清クレアチニンの上昇が有意に抑制された。組織学的検討によりヒト TRX 遺伝子導入マウスは野生型マウスに比べ mTAL の虚血・再灌流障害が特異的に抑制されている事が観察された。

【結論】腎虚血・再灌流によって TRX は早期に腎臓器内での局在が変化する。虚血・再灌流に最も弱いとされる皮髄境界部髄質 mTAL では細胞内に保持され、皮質の近位尿細管細胞からは尿中へ分泌されることが観察された。虚血早期の TRX の分布変化は虚血再灌流における mTAL に起こる障害に対し腎保護的に働いている可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

チオレドキシシン (TRX) はレドックス制御機能を持つ生体内低分子量タンパクである。今回、腎虚血再灌流障害における TRX の役割を明らかにするために TRX 遺伝子導入マウスを用いて検討を行った。

腎動脈クリップを用いた虚血・再灌流モデルにおいて、ヒト TRX 遺伝子導入マウスは野生型マウスに比べ虚血再灌流後の血清クレアチニン、血中尿素窒素の上昇が有意に抑制された。組織学的検討によりヒト TRX 遺伝子導入マウスは野生型

マウスに比べ、最も虚血性再灌流障害が起こりやすいとされる皮髄境界部のmTALの障害を特異的に抑制する事が観察された。

遺伝子導入されたヒト TRX タンパク及び内因性マウス TRX タンパクの両方は虚血15分で、腎臓器内での局在が変化することが観察された。皮髄境界部のmTALではTRXが細胞内に保持され、皮質の近位尿細管細胞からはTRXが尿中へ分泌されることが組織学的に観察され、実際に尿中排泄されることも確認した。この変化は予想に反してmTALの変化を伴わなかったことから、TRXは虚血早期に皮髄境界部のmTALで部位選択的にユニークなメカニズムで細胞質内に保持されることにより、皮髄境界部のmTALに起こる虚血再灌流障害を軽減し、腎保護的に働いている可能性が示唆された。

以上の研究は移植腎症や急性腎不全の発症、慢性腎炎の進展などに関わる虚血再灌流障害に対してTRXが腎保護的に関与していることを遺伝子導入マウスを使用して示したものであり、同疾患の治療応用に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年1月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。