

(49)

氏名(生年月日)	ニシ 西	ムラ 村	ヒデ 英	キ 樹
本 籍				
学位の種類	博士(医学)			
学位授与の番号	乙第1777号			
学位授与の日付	平成9年7月18日			
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)			
学位論文題目	<b>Mechanism of elevated local oxidant stress in early anti-basement membrane nephritis: An evaluation of oxidant production and superoxide dismutase expression</b> (抗基底膜抗体腎炎の発症早期における局所酸化ストレス:局所活性酸素産生系とSODの検討)			
論文審査委員	(主査) 教授 二瓶 宏			
	(副査) 教授 相川 英三, 武田 佳彦			

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

糸球体腎炎の発症進展における活性酸素種の生成あるいは防御機構としての抗酸化系の破綻の関与を解明する。

#### 〔対象および方法〕

体重200~250gの雄Sprague-Dawleyラットに抗ラット糸球体基底膜家兔血清(NTS)を静注して抗基底膜抗体腎炎を作製し, 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24時間後の腎臓(各n=4)を用いた。

#### 1. 活性酸素の産生系の検討

1) セリウム塩法を用い, NTS静注2時間後の腎臓の過酸化水素の産生を正常腎と比較した。

2) ホモジネートした腎皮質から脂質を抽出し, 高速液体クロマトグラフィー法を用いてPC-OOHを測定した。

#### 2. 活性酸素に対する生体の防御系の検討

1) 腎皮質の総SOD様活性をxanthine-xanthine oxidase系により測定した。

2) 腎糸球体におけるMn-SODおよびCu/Zn-SOD蛋白濃度をELISAにより定量した。

3) Mn-SODおよびCu/Zn-SOD mRNAの腎糸球体における発現量の推移と腎内局在をそれぞれNorthern blot analysisおよびin situ hybridizationを用いて検討した。

#### 〔結果〕

#### 1. 腎炎発症初期の局所活性酸素産生の評価

正常の腎組織では, ほとんど過酸化水素の産生を認めないのに対し, NTS静注2時間後には糸球体係蹄に多数の多核白血球浸潤を認め, この時期に一致して糸球体内皮細胞および多核白血球の表面に著しい過酸化水素の産生を認めた。また, 抗基底膜抗体腎炎の腎皮質PC-OOHの濃度は, NTS静注後1時間後に既にコントロールの6倍に増加した。

#### 2. 活性酸素に対する生体の防御系の検討

腎皮質のSOD活性は抗基底膜抗体腎炎の早期に有意に低下し, 24時間後に正常レベルまで回復した。糸球体のMn-SOD蛋白も同時期に有意な低下を示し, 12時間後に正常レベル程度に復した。これに対し, 糸球体のMn-SOD mRNAはNTS静注後有意に発現し, 特に3時間目で著明であった。この発現の増強は, 糸球体内皮細胞および上皮細胞と思われる部位に特に著しかった。一方, Cu/Zn-SOD mRNAの発現は, 軽微であった。

#### 〔考察〕

セリウム塩法およびPC-OOH測定の結果より, 抗基底膜抗体腎炎の急性期において多核好中球の他に内皮細胞も活性酸素を産生し, 組織障害を与えている可能性が示唆された。また代表的な抗酸化酵素である

SOD 活性の低下 Mn-SOD 遺伝子の発現誘導といった生体防御系の活性化が同時に起きることは、生体反応としては合目的であり、同時に治療手段解明への手がかりの1つになるものと推察された。

〔結論〕

1. 抗基底膜抗体腎炎の急性期においては、抗酸化能

の低下とこれに反応した Mn-SOD 遺伝子の発現誘導といった生体防御系の活性化が観察された。

2. 浸潤好中球の他に糸球体固有細胞が産生放出する活性酸素は、抗基底膜抗体腎炎の発症進展に重要な役割を演じているものと判断された。

## 論文審査の要旨

活性酸素の生成と抗酸化系との平衡状態の破綻が、糸球体腎炎の発症進展に影響を及ぼし、組織障害を起こすと考えられている。抗ラット糸球体基底膜抗体家兎血清 (NTS) を用いて腎炎ラットを作製し、経時的に腎組織を採取して活性酸素の産生系と防御系の検討を行なった。腎炎の急性期では、多数の多核白血球の浸潤と活性酸素種の産生を認めた。腎皮質の SOD 活性や糸球体 Mn-SOD 蛋白は早期から低下し、少し遅れて Mn-SOD mRNA の発現が増加した。活性酸素は浸潤細胞に加え、内皮細胞など糸球体固有でも産生され、組織障害を起こすと考えられた。実験腎炎での障害機序に示唆を与えただけでなく、組織内での活性酸素の証明や末梢血内での定量法を確立した、臨床的にも価値ある論文である。

### 主論文公表誌

Mechanism of elevated local oxidant stress in early anti-basement membrane nephritis: An evaluation of oxidant production and superoxide dismutase expression (抗基底膜抗体腎炎の発症早期における局所酸化ストレス：局所活性酸素産生系と SOD の検討)

Japan Journal Nephrology Vol 38 No 10  
441-448頁 (1996年10月25日発行) 西村英樹, 佐中 孜, 二瓶 宏, 西川 恵, 相川英三

### 副論文公表誌

1) Chimeric mice carrying 'regional' targeted deletion of the angiotensin type 1A receptor gene (アンギオテンシンタイプ1A レセプターの局所ノックアウトマウス). J Clin Invest 98: 1867-1877 (1996) Matsusaka T, Nishimura H, Utsunomiya H, Kakuchi J, Niimura F. Inagami

T, Fogo A, Ichikawa I

- 2) Angiotensin-independent mechanism for aldosterone synthesis during chronic extracellular fluid volume deletion (慢性の細胞外液減少によるアンギオテンシン非依存アルドステロン合成). J Clin Invest 99: 855-860 (1997) Okubo S, Niimura F, Nishimura H, Takemoto F, Fogo A, Matsusaka T, Ichikawa I
- 3) VII. 全身疾患と腎 尿酸. 腎と透析 臨増(臨床検査法・疾患での意義): 466-469 (1993) 西村英樹, 佐中 孜
- 4) 腎と妊娠 腎生検と治療による計画妊娠の有用性. 腎と透析 37(5): 947-951 (1994) 佐中 孜, 西村英樹, 内藤 隆, 大図弘之, 二瓶 宏
- 5) 透析療法と生理機能検査. Clin Eng 5(9): 629-636 (1994) 久保和雄, 西村英樹