

氏名(生年月日)	モト 本	ジマ 島	マサル 英
本籍			
学位の種類	博士(医学)		
学位授与の番号	乙第2286号		
学位授与の日付	平成16年10月15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>Uremic toxins of organic anions up-regulate PAI-1 expression by induction of NF-<math>\kappa</math>B and free radical in proximal tubular cells</b> (尿毒症毒素で有機アニオンであるものは NF- $\kappa$ B とフリーラジカルを誘導し、近位尿細管細胞の PAI-1 発現を増大させる)		
主論文公表誌	Kidney International 第63巻 第4号 1671-1680頁 2003年		
論文審査委員	(主査) 教授 丸 義朗 (副査) 教授 吉岡 俊正, 江崎 太一		

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

尿毒症毒素は慢性腎不全の進行を促す因子のひとつであると考えられている。我々は有機アニオントランスポーターを強制発現させた腎尿細管上皮細胞では、このトランスポーターによって細胞内に取り込まれた尿毒症毒素が酸化ストレスを増大させることを示した。しかしながら、増大した酸化ストレスが細胞にどんな変化を引き起こすのかは不明であった。一方で、保存期の慢性腎不全においては、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) や NF- $\kappa$ B が誘導されて尿細管間質線維化を引き起こし、腎不全の進行を助長すると考えられている。

本研究では尿毒症毒素によって引き起こされるフリーラジカル産生が、ヒト近位尿細管細胞 (HK-2) において NF- $\kappa$ B 活性化や PAI-1 の誘導を引き起こすかどうか検討した。

### 〔対象および方法〕

HK-2 において酸化ストレスの増大、活性化や PAI-1 発現の誘導を引き起こすものを検索した。PAI-1 の発現量は ELISA と Northern blotting により測定した。ヒト PAI-1 プロモーター活性と NF- $\kappa$ B 活性化についてはルシフェラーゼ レポーター遺伝子 アッセイにより測定した。NF- $\kappa$ B 活性化は EMSA による確認も行った。

### 〔結果〕

尿毒症毒素の中でインドキシル硫酸とインドール酢酸は HK-2 でのフリーラジカル産生量を増加させた。インドキシル硫酸によるフリーラジカル産生の増強は、非特異的なトランスポーター阻害剤であるプロベネシドによって抑制された。PAI-1 mRNA と PAI-1 分子の発現量は、インドキシル硫酸あるいはインドール酢酸の添加によって濃度依存的に増加した。インドキシル硫酸とインドール酢酸は NF- $\kappa$ B とヒト PAI-1 プロモーターを活性化した。インドキシル硫酸による PAI-1 プロモーターの活性化は、抗酸化剤もしくは NF- $\kappa$ B 阻害剤の添加により抑制された。

### 〔考察〕

以上の結果からインドキシル硫酸とインドール酢酸という尿毒症毒素による PAI-1 の誘導は近位尿細管細胞におけるトランスポーターを介する毒素の取り込みによるフリーラジカル産生が引き金となっていると考えられた。その後、フリーラジカルによる NF- $\kappa$ B 活性化が起こり、PAI-1 プロモーターが活性化され、PAI-1 産生が増大したものと考えられる。

### 〔結論〕

尿毒症毒素は腎尿細管細胞のフリーラジカル産生を増大させ、NF- $\kappa$ B や PAI-1 を誘導する。尿毒症毒素による

NF- $\kappa$ B の活性化や PAI-1 産生の増大は腎尿細管間質線維化を助長し、慢性腎不全の進行を早めるものと思われた。

## 論文審査の要旨

尿毒症毒素の作用点と作用機序については不明である。尿細管細胞に発現する有機アニオントランスポーターが、有機アニオンである毒素や薬物の腎からの分泌排泄に関与することが示唆されている。本論文では、有機アニオン系の尿毒症毒素は最初にトランスポーターを発現するこれらの尿細管細胞を傷害し、腎不全の進行を促すという仮説を立てて研究が進められている。インドキシル硫酸やインドール酢酸が腎近位尿細管上皮由来の細胞において、尿細管間質線維化促進分子である PAI-1 や NF- $\kappa$ B を誘導することを示し、腎不全の進行を促すものであることが示唆された。さらに、インドール酢酸の腎不全モデルラットへの overload が間質線維化を促し、腎不全を悪化させるという結果も得ている。In vitro および in vivo の双方で、尿毒症毒素による腎不全増悪の一貫したメカニズムの少なくとも一部を示しており学位に十分値すると判断する。