



Title	Prevention of renal damage by angiotensin II blockade, accompanied by increased renal hepatocyte growth factor in experimental hypertensive rats
Author(s)	松本, 圭子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42874">https://hdl.handle.net/11094/42874</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	まつもと けいこ 松 本 圭 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 6 9 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 12 年 8 月 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Prevention of renal damage by angiotensin II blockade, accompanied by increased renal hepatocyte growth factor in experimental hypertensive rats (実験的高血圧モデルラットに対するアンジオテンシン拮抗薬の腎障害予防効果は腎における肝細胞増殖因子 (HGF) の増加が関与している)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男  (副査) 教 授 網野 信行    教 授 奥山 明彦

### 論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕肝細胞増殖因子 (HGF) は最近注目されている増殖因子で、肝細胞のみならず、多くの臓器で再生、保護作用を有していることがわかってきている。腎組織においても、HGF は内皮細胞や上皮細胞を増殖させるが、メサンジウム細胞には作用しないことが、培養系の実験系で明らかになっている。この HGF は臓器、特に局所においてアンジオテンシン II や TGF $\beta$  により、その産生、分泌が負に調節されることも明らかになっている。本研究では遺伝的高血圧モデル動物で、特にレニン-アンジオテンシン系の亢進がみられかつ臓器障害の進行が著しい、脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット (SHR-SP) を用いて、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬を 3 週間にわたって投与し、その腎障害進展抑制効果の有無を病理学的に詳細に検討するとともに、局所での HGF の産生を mRNA レベルで検討した。

〔方法〕16週齢の成熟、雄性 SHR-SP、及び対照として週齢、性のおなじ Wistar-Kyoto ラット (WKY) をそれぞれ 52 匹用い、各 4 群に分けた。それぞれの群のラットに vehicle (Veh 群)、アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (ACE-I 群、シラザプリル、10mg/kg/日)、アンジオテンシン受容体拮抗薬 (AT1 群、E-4177、30mg/kg/日)、ヒドララジン (Hyd 群、8 mg/kg/日) を経口的に 3 週間投与した。投与前後で tail-cuff 法にて血圧を測定し、投与後、断頭し腎臓を摘出した。摘出腎はホルマリンで固定し、パラフィン包埋切片を作成、periodic acid-Schiff にて染色した。無作為に、光学顕微鏡下で糸球体を観察、糸球体硬化を 100 個あたりの糸球体に対する % 表示で評価した。腎障害評価のパラメーターとして、糸球体の変性 (Degeneration)、壊死 (Necrosis)、血管の肥厚 (Thickness)、壊死 (Necrosis)、管腔構造の変性 (Degeneration)、壊死 (Necrosis)、糸球体出血 (Hemorrhage)、細胞浸潤 (Cell Infiltration) の各項目を用いた。さらに、摘出腎の一部をホモジナイズし、mRNA を抽出した上、HGF の cDNA をプローブとして、ノーザンブロット法にて HGF mRNA の発現を検討し、densitometry にて定量的に評価した。

#### 〔成績〕

1. 血圧の変化：tail-cuff 法で測定した収縮期血圧は WKY で (16週時：130 $\pm$ 2 mmHg、19週時：138 $\pm$ 3 mmHg)、Veh 群で (16週時：193 $\pm$ 3 mmHg、19週時：197 $\pm$ 5 mmHg) であり前後で変化なかったのに対し、治療群では ACE-I 群 (16週時：193 $\pm$ 5 mmHg、19週時：169 $\pm$ 4 mmHg)、AT1 群 (16週時：192 $\pm$ 2 mmHg、19週時：164 $\pm$ 4 mmHg)、Hyd 群 (16週時：193 $\pm$ 3 mmHg、19週時：172 $\pm$ 4 mmHg) とそれぞれ同等かつ有意な

( $p<0.01$ ) 血圧減少が認められた。

2. 病理組織学的検討：光学顕微鏡による病理組織学的検討では、WKY 群の糸球体組織に比し、Veh 群では著明な糸球体硬化の所見が認められた。間質への細胞浸潤、管腔の萎縮、メサンジウム細胞の増殖等が特に著明に認められた。一方で、ACE-I 群及び AT1 群では、これら糸球体障害が明らかに改善されていたのに対し、Hyd 群ではその効果が弱かった。定量的にもこの所見は明らかであり、糸球体の変性 (Degeneration)、壊死 (Necrosis)、血管の肥厚 (Thickness)、壊死 (Necrosis)、管腔構造の変性 (Degeneration)、壊死 (Necrosis)、糸球体出血 (Hemorrhage)、細胞浸潤 (Cell Infiltration) ほぼすべての項目で、ACE-I 群、AT1 群が Hyd 群よりさらに、高血圧性腎障害 (糸球体硬化) の改善作用を示していた。
3. HGFmRNA 発現の検討：腎組織から抽出し、ノーザンブロット法で解析した HGFmRNA の発現は、ACE-I 群、AT1 群では、Veh 群に比し有意に ( $p<0.01$ ) 発現増加がみられ、ほぼ WKY と同等レベルであったのに対し、Hyd 群では増加が明らかでなく、Veh 群と有意な差は認められなかった。

〔総括〕ACE 阻害薬投与群及びアンジオテンシン受容体拮抗薬投与群は、血管拡張剤であるヒドララジン投与群に比し、明らかに遺伝的高血圧モデルラットの腎障害の改善効果を認めた。この腎障害改善効果は腎組織での HGF の産生、分泌増加を伴っていた。これらのことから、単に血圧を低下させることだけでなく、組織での増殖因子の動態が腎障害の発症、進展に関与していることが示唆され、さらに、細胞培養系の実験で示唆されていたアンジオテンシン II による HGF に対する負の調節機構も明らかになった。高血圧性腎障害 (糸球体硬化) の抑制にはレニン-アンジオテンシン系阻害薬が有効であることが、組織レベルでも明らかになった。

#### 論文審査の結果の要旨

肝細胞増殖因子 (HGF) は、腎再生においても重要な役割を果たしている。腎メサンジウム細胞より分泌される局所 HGF は、アンジオテンシン II (AngII) により抑制されることを報告してきた。また、培養尿管細胞への HGF の添加が、濃度依存的に細胞増殖を刺激し、また、無血清により誘導されるアポトーシスに対しても拮抗的に作用することを明らかにした。in vivo における AngII と局所 HGF 産生の関係は未だ明らかでない。本研究では SHR-SP において ACE 阻害薬 (シラザプリル)、アンジオテンシン II タイプ 1 (AT1) 受容体拮抗薬 (E4177) 及びヒドララジンを投与し、高血圧性腎症に及ぼす影響を検討した。SHR-SP に各薬剤を 21 日間投与後、HE 染色を行い、組織学的に腎障害を 8 項目に分類し、0～3 点のスコアリングを行い客観的に評価した。また、摘出した腎臓より HGFmRNA の発現を Northern Blotting 法にて測定した。以上より、HGF は尿管細胞に対し保護的に作用していることが明らかになった。SHR-SP への薬剤投与により、各投与群とも対照群に比し同程度の降圧を認めた。組織学的には全ての項目において ACE 投与群と AT1 受容体拮抗薬投与群で対照群およびヒドララジン投与群に比し有意な改善効果を認めた。組織 HGFmRNA は、ACE 投与群と AT1 受容体拮抗薬投与群でヒドララジン投与群に比し有意な発現増加を認め、SHR-SP における高血圧腎障害に対して AngII 阻害が著明な改善効果を示した。また、HGF 遺伝子の発現も AngII 阻害により有意に増加しており、これら薬剤の腎障害改善作用に HGF 発現増加が関与している可能性が明らかになった。

以上より、学位の授与に値するものと考えられる。