

Title	High water intake ameliorates tubulointerstitial injury in rats with subtotal nephrectomy : Possible role of TGF - $\beta$
Author(s)	杉浦, 寿央
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43088">https://hdl.handle.net/11094/43088</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	すぎ 杉 浦 寿 央
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 8 1 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 5 月 6 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	High water intake ameliorates tubulointerstitial injury in rats with subtotal nephrectomy: Possible role of TGF- $\beta$ (飲水負荷は 5/6 腎摘ラットにおいて尿細管間質病変を改善する： TGF- $\beta$ の役割に関する検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 正二 (副査) 教 授 安東 明夫 教 授 荻原 俊男

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

腎疾患の進行抑制には蛋白制限が有効であることが広く知られている。一方、腎不全ラットでは飲水負荷により尿蛋白量、腎組織病変が軽減することが報告されている。正常ラットに対して蛋白を負荷すると髓質外層を中心とするナトリウム再吸収の亢進が見られるが、飲水制限あるいは vasopressin 投与による尿濃縮時にも同様の機能的変化が腎に生じ、さらに髓質外層を中心とする尿細管肥大が見られることが報告されている。すなわち、蛋白負荷が腎に対して飲水制限（尿濃縮）と共通の影響を与えていると考えられる。蛋白負荷時及び尿濃縮時には髓質外層の尿細管におけるナトリウム再吸収が亢進しており、同部位の浸透圧が上昇していると考えられる。高浸透圧刺激により種々の遺伝子発現や成長因子、ホルモンの合成が亢進することが報告されており、蛋白負荷によってもたらされる髓質の高浸透圧環境が腎特有の物理的ストレス（高浸透圧ストレス）として、尿細管間質病変形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。飲水負荷が尿細管間質病変形成を軽減するかどうかを、5/6 腎摘慢性腎不全ラットを用いて transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) の役割に注目して検討した。

### 【方法】

Sprague-Dawley ラット (♂、7 週齢) を用いて右腎摘+左腎 2/3 部分切除による 5/6 腎摘モデル (NX 群) を作成し、sham operation を行ったコントロール (CONT 群)、3% 蔗糖水投与により飲水量を増加させた飲水負荷群 (HWI 群) と比較し効果を検討した。経時的に腎機能、尿蛋白量について検査し 8 週間後に屠殺、Azan 染色により組織変化を検討し半定量化した。さらに腎局所の浸透圧のマーカーとして浸透圧感受性遺伝子であるイノシトール輸送体遺伝子 ( $\text{Na}^+/\text{myo-inositol}$  cotransporter; SMIT) mRNA 発現を *in situ* hybridization により検討し、TGF- $\beta$  mRNA、fibronectin (FN) mRNA 発現について Northern blot 及び *in situ* hybridization により検討した。また、酵素抗体法により TGF- $\beta$  及び FN の蛋白レベルでの発現について検討した。

### 【成績】

1. 腎機能は腎摘により有意に低下したが、腎摘 8 週間後の creatinine clearance は NX 群に比較して HWI 群で有

意な改善が認められた (CONT 群 $1.66 \pm 0.17$  ml/min、NX 群 $0.77 \pm 0.53$  ml/min;  $p < 0.01$  vs. CONT、HWI 群 $1.36 \pm 0.25$  ml/min;  $p < 0.05$  vs. NX)。また尿蛋白量についても NX 群で著明に増加したが、HWI 群では有意に減少した (CONT 群 $16.3 \pm 2.2$  mg/day、NX 群 $62.8 \pm 21.0$  mg/day;  $p < 0.001$  vs. CONT、HWI 群 $31.4 \pm 15.4$  mg/day;  $p < 0.05$  vs. NX)。

2. 尿細管間質病変は NX 群に比較して HWI 群で有意に抑制された (Tubulointerstitial injury score; CONT 群 0、NX 群 3.0;  $p < 0.001$  vs. CONT、HWI 群 2.0;  $p < 0.05$  vs. NX)。

3. Northern blot では NX 群で TGF- $\beta$  mRNA 発現は有意に増加し ( $4.2 \pm 1.0$  倍;  $p < 0.01$  vs. CONT)、HWI 群では抑制された ( $2.0 \pm 0.5$  倍;  $p < 0.01$  vs. NX)。FN mRNA も同様に NX 群で有意に増加し ( $3.8 \pm 0.3$  倍;  $p < 0.01$  vs. CONT)、HWI 群で抑制された ( $1.6 \pm 0.5$  倍;  $p < 0.01$  vs. NX)。

4. *in situ* hybridization では NX 群で髄質外層の SMIT mRNA 発現の増加を認め、この発現増加は HWI 群で抑制された。すなわち腎摘により髄質外層の浸透圧が上昇し、飲水負荷により低下することが示唆された。

5. TGF- $\beta$  mRNA も NX 群で発現が増強し HWI 群では抑制された。FN mRNA も同様の変化を示した。TGF- $\beta$  mRNA 及び FN mRNA の発現変化は SMIT mRNA 発現変化と一致していた。また酵素抗体法により TGF- $\beta$  及び FN が蛋白レベルでも同様の変化を示すことが確認された。

#### 【総括】

本研究により、腎不全時には腎間質が高浸透圧下におかれ TGF- $\beta$  活性上昇を介して尿細管間質病変形に関与していることが示唆された。この高浸透圧環境は飲水により軽減されることから、飲水が腎不全に対する治療となりうる一つの理論的根拠を提示できた。

現在、慢性維持透析患者数は増加の一途を辿っており、腎不全の有効な治療法の解明が急務とされている。かねてより、脱水は腎不全の増悪因子として知られており、脱水防止のための飲水は必要とされていたが、積極的な飲水を行う意義については明らかではなかった。高蛋白摂取は腎不全の増悪因子として重要であるが、飲水制限による尿濃縮時にも高蛋白摂取時と同様の変化が腎に生ずることが報告されている。このことから、飲水負荷により尿濃縮を解除することで蛋白摂取制限と同様の腎不全進行抑制効果が得られることが期待される。本研究では飲水負荷が尿細管間質病変を改善することを 5/6 腎摘慢性腎不全ラットを用いて示した。その機序として飲水負荷による高浸透圧ストレスの軽減に注目し、浸透圧依存性に誘導されるイノシトール輸送体 (SMIT) mRNA の発現を検討することにより腎局所の浸透圧を推定した。その結果、飲水負荷が髄質外層の高浸透圧ストレスを軽減することにより TGF- $\beta$  及び fibronectin mRNA 発現を抑制し、尿細管間質病変形成が抑制され腎機能が改善することが示唆された。本研究は、飲水という安価で副作用も少ない方法が、腎不全進行を抑制する有力な手段となりうる理論的根拠を提示した点で、臨床的にもきわめて意義深いものであり、学位に値するものと考えられる。