The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Therapeutic effect of all-trans retinoic acid on rats with anti-GBM antibody glomerulonephritis
Author(s)	大瀬戸, 奨
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45521
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【11】

氏　　名	大瀬戸　奨（おおせと　すすむ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１９２４４　号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学　位　論　文　名	Therapeutic effect of all-trans retinoic acid on rats with anti-GBM antibody glomerulonephritis （オールトランスレチノイン酸の抗 GBM 抗体腎炎に対する治療効果の検討）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　堀　　正二 （副査） 教　授　荻原　俊男　　教　授　奥山　明彦

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

現在、糸球体腎炎の治療は、主に副腎皮質ステロイドを使用する免疫抑制療法で、早期発見・早期治療開始により効果が期待できる。一方、糸球体腎炎が進行すると、糸球体硬化や尿細管間質線維化が起こり末期腎不全へといたる。各種治療に反応が悪い症例や腎炎が進行して発見される症例のあることから、わが国で末期腎不全に至り透析導入となる慢性糸球体腎炎の患者数は減少していない。今後、末期腎不全に至る患者数を減少させていくために、新たな治療薬や治療法が考案される必要がある。レチノイン酸はビタミンＡの代謝産物で、細胞分化、増殖、形態形成などの重要な生理作用を持つ。これまでに治療薬として急性前骨髄球性白血病（APL）に対し All-trans retinoic acid（ATRA）が臨床に用いられ、APL の寛解率を有意に改善してきた。その他の前癌病変や各種悪性腫瘍の治療や予防にもレチノイン酸が用いられている。また、皮膚科治療薬として乾癬・尋常性坐瘡などに臨床で使用されている。これら様々な疾患に対して治療効果を持つレチノイン酸を用い、慢性糸球体腎炎の新たな治療法としての可能性を検討した。今回の我々の検討では、糸球体の細胞増殖による半月体形成と尿蛋白が持続する抗糸球体基底膜抗体（抗 GBM 抗体）腎炎モデルで、傷害が完成したと考えられる時期からの治療実験を行った。ATRA が細胞増殖に関わる転写因子 Activator protein-1（AP-1）に抑制的に働くことはこれまで良く知られている。また、我々はこれまでに、腎障害時に腎臓の細胞が形質転換し、マイオファイブロブラストとなること、転写因子 CCAAT/Enhancer-binding protein δ（C/EBP δ）が腎臓での形質転換を促進し組織障害に深く関わることを明らかにしてきた。今回、ATRA の形質転換への関与についても検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

雄 WKY ラットに抗 GBM 抗体を静注し抗 GBM 抗体腎炎を誘発した。ラットを無投薬群・ATRA 投与群に分け、ATRA 投与群は抗 GBM 抗体投与後 14 日目より 14 日間 ATRA を経口投与した。

抗 GBM 抗体投与１、14、21、27 日目に血圧、尿蛋白測定を施行した。抗 GBM 抗体投与にて増加した尿蛋白は、ATRA 投与１週間後に有意な減少を認め、投与２週間後も尿蛋白軽減効果は持続していた。血圧は ATRA 投与１週間後まで２群間に有意差は無く、投与２週間後で ATRA 投与群に有意な血圧低下を認めた。

ATRA 投与前の抗 GBM 抗体投与 14 日目、ATRA 治療後の抗 GBM 抗体投与 28 日目に腎摘出を行い、PAS 染色にて組織学的検討を行った。ATRA 投与前にすでに抗 GBM 抗体腎炎の組織学的特徴である半月体形成を認める糸球体の割合は観察した糸球体の 81%に達した。無投薬群では 28 日目には観察した糸球体の 89%に半月体形成を認めたが、ATRA 投与により 66%に減少していた。

次に、抗 GBM 抗体腎炎における ATRA 治療の作用機序を検討した。

抗 GBM 抗体腎炎の半月体形成における細胞増殖の評価のため PCNA 免疫染色を施行し、糸球体内の PCNA 陽性細胞数を検討した。陽性細胞数は無投薬群と比較し ATRA 投与群で有意に減少を認めた。ED-1 免疫染色にて糸球体内へのマクロファージ浸潤を評価した。糸球体内の ED-1 陽性細胞数は無投薬群と比較し ATRA 治療群では有意に減少した。

細胞増殖あるいはマクロファージの浸潤に働く因子として PDGF と MCP-1 が知られており、それらの単離糸球体での mRNA 発現を RT-PCR にて検討した。ATRA 治療群では、PDGF、MCP-1 の mRNA 発現は無治療群に比べ有意に抑制されていた。

AP-1 の主な構成成分である、c-fos・c-jun の糸球体での mRNA 発現を RT-PCR にて検討した。ATRA 投与により c-fos・c-jun の mRNA とも有意に抑制された。

腎炎時にマクロファージなどから出る炎症性サイトカイン TNF-α、IL-1β の糸球体での mRNA 発現を RT-PCR にて検討し、ATRA 治療によりそれぞれ有意な抑制を認めた。

次に形質転換への ATRA 治療の関与をマイオファイブロブラストのマーカーである平滑筋αアクチン（SMA）、腎障害時の形質転換を促進する転写因子 C/EBP δ の免疫染色にて検討した。発現を糸球体内の染色陽性面積率測定にて解析したところ、SMA、C/EBP δ とも陽性面積率は ATRA 治療により有意に減少した。また、糸球体での SMA および、C/EBP δ mRNA 発現を RT-PCR にて検討したところ、SMA、C/EBP δ の mRNA 発現も ATRA 投与群では無治療群に比べ有意に抑制されていた。

TGF-β が AP-1 を活性化させるとの報告、あるいは AP-1 が TGF-β 発現を増強するとの報告があることより、線維化を促進するサイトカインである TGF-β、組織線維化の結果増加する type 1 collagen の糸球体内 mRNA 発現を RT-PCR にて検討し、ATRA 治療によりそれぞれ有意な抑制を認めた。

〔 総　　括 〕

ラット抗 GBM 抗体腎炎に対し、ATRA 治療は組織病変および尿蛋白を軽減し、糸球体腎炎の新しい治療薬としての可能性が示唆された。抗 GBM 抗体腎炎における ATRA の作用機序の一部は、AP-1 や C/EBP δ といった転写因子を抑制することによる抗細胞増殖作用、形質転換抑制、炎症・線維化の抑制と考えられた。

論文審査の結果の要旨

慢性糸球体腎炎は現在でも末期腎不全へと至る重要な疾患であり、統計上もここ数年、慢性腎不全を原疾患とする透析導入患者数は減少していない。今後、末期腎不全に至る患者数を減少させていくためには、新たな治療薬や治療法が考案される必要がある。

申請者はこれまでに急性前骨髄球性白血病をはじめ様々な疾患に対し治療薬として使用されている All-trans retinoic acid（ATRA）を用い、慢性糸球体腎炎の新たな治療法としての可能性を検討した。

腎臓の糸球体内での細胞増殖による半月体形成と尿蛋白が持続する抗糸球体基底膜抗体（抗 GBM 抗体）腎炎モデルに対し、ATRA を傷害が完成した後から投与する治療実験を行った。尿蛋白は ATRA 投与にて有意な減少を認め、半月体形成も軽減し腎傷害が改善された。さらに、抗 GBM 抗体腎炎における ATRA 治療の作用機序について検討を進め、ATRA により病変時の細胞増殖やマクロファージ浸潤、形質転換が抑制されていることが、組織の免疫染色や腎臓の糸球体での mRNA 発現を RT-PCR にて検討した結果、明らかとなった。その効果の一部は AP-1 や C/EBP δ といった転写因子を抑制することによることを示した。

本研究は、ATRA が腎疾患の新しい治療薬となる可能性を示した。病気が完成した時期からの投与で効果を認めたことは、より実用の可能性が高いことを意味する。以上より、本論文は学位に値するものと認める。