



Title	Carbamylated erythropoietin protects the kidneys from ischemia-reperfusion injury without stimulating erythropoiesis
Author(s)	今村, 亮一
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47504
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

氏 名	いま むら りょう いち 今 村 亮 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 9 8 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	Carbamylated erythropoietin protects the kidneys from ischemia-reperfusion injury without stimulating erythropoiesis (カルバミル化エリスロポエチンは赤血球生成を刺激することなく虚血再灌流傷害から腎を保護する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥山 明彦 (副査) 教 授 堀 正二 教 授 宮坂 昌之

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

Erythropoietin (EPO) は造血作用を持つサイトカインであり、主として腎性貧血改善薬として広く臨床応用されている。近年、腎、心、神経組織における虚血再灌流傷害に対する apoptosis 抑制効果、糖尿病性神経症における末梢神経障害抑制効果、腎における薬剤性毒性抑制効果等の組織保護効果を持つことが報告されてきた。しかし EPO による組織保護効果を誘導するためには高用量の EPO 投与が必要とされ、高用量 EPO 投与の安全性は確立されておらず、組織保護目的の臨床応用は困難と考えられた。その後 EPO の受容体は 2 種類存在し、造血作用と組織保護作用では作用経路が異なることが報告された。さらに EPO を carbamylation (carbamylated erythropoietin ; CEPO) した場合、組織保護に対する受容体に高い親和性を持ち、造血作用は乏しいことが報告された。そこで我々は、CEPO を作成し、腎虚血再灌流傷害に対する組織保護作用に関し検討することとした。

〔 方法ならびに成績 〕

腎虚血再灌流傷害モデルにて組織保護作用を検討するため、6 週零雄性 Sprague-Dawley ラットを 3 群に分類し、それぞれコントロール、EPO、CEPO 群とした。コントロール群には 1 ml の生理食塩水を、EPO、CEPO 群には 100 単位/kg の EPO および CEPO を、阻血前 11 日目より隔日で計 6 回皮下投与し、最終投与日翌日に 45 分間の両側腎門部阻血を行った。再灌流後 24、72 時間、および 7 日目の各パラメータ、腎組織所見を評価した。その結果、24 時間後の血清 creatinine 値は、コントロール群に比し EPO 群では上昇抑制を認めなかったが、CEPO 群で有意に抑制されていた。尿中蛋白量においても、CEPO 群で有意に抑制されていた。PAS 染色を施行したところ、コントロール群で凝集、断片化した核を認め、apoptosis を疑う所見であった。このような核像は、EPO、CEPO 両群では確認できなかった。TUNEL 法にて apoptosis を検討したところ、EPO、CEPO 群で尿細管上皮細胞の陽性細胞数は有意に抑制されており、その apoptosis 抑制効果は CEPO でより強力であった。尿細管間質障害を確認するため、形質転換のマーカーである α -smooth muscle actin の発現を検討した。 α -smooth muscle actin は CEPO 群で著明に発現が抑制されており、尿細管間質の形質転換抑制効果が示唆された。虚血再灌流傷害における尿細管再生に対する CEPO の

効果を、細胞増殖マーカーである Ki-67 にて確認したところ、コントロール群に比し EPO 群で有意に陽性細胞数が増加しており、CEPO 群ではさらに増加していた。以上より尿細管細胞の再生が CEPO 群で著明に亢進しており、apoptosis は著明に抑制されていることが確認できた。腎傷害時早期に発現し、尿細管再生を促すとされる Ets ファミリーのひとつである Ets-1 の上昇を確認したところ CEPO 群において有意に亢進しており、他方生存シグナルである PI3K、リン酸化 Akt の亢進を認め、PI3K/Akt 系の活性化を確認した。以上より、CEPO は Ets-1 を誘導することで尿細管再生を促し、PI3K/Akt 系を活性化することで apoptosis を抑制していると思われた。また血中 hemoglobin 値を検討したところ、EPO 群ではコントロールに比し有意な上昇を認めたが、CEPO 群では hemoglobin 値の上昇を認めず、CEPO による造血能は認められないことも確認できた。

〔 総 括 〕

CEPO は EPO に比し、造血効果を示すことなく、かつより強力に組織保護作用を示すことが示唆された。元来腎尿細管は再生力に富む組織であるが、虚血再灌流傷害時は尿細管再生能を apoptosis 促進作用が上回るため、組織傷害が起こると考えられる。CEPO による傷害抑制は、尿細管再生の促進、apoptosis の抑制が関与すると考えられ、前者には Ets-1 の発現亢進が、後者には PI3K/Akt 経路の活性化が関与することが示唆された。今後生体臓器移植での術前投与による虚血再灌流傷害抑制等、CEPO の臨床応用が期待される。安全性も含め、ひき続き検討が必要と思われる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

移植手術に伴う虚血再灌流傷害は時に臓器不全をも引き起こすが、その傷害抑制に関しては十分な方法は確立されていない。近年、erythropoietin (EPO) が腎性貧血を改善させるだけでなく、組織保護効果を有するという報告がなされた。しかし、組織保護効果誘導には、造血作用に比して高用量の EPO 投与が必要とされ、その安全性は確立されていない。

本論文では、EPO 受容体には造血と組織保護の異なる 2 種の受容体が存在するが、carbamylylated EPO (CEPO) は組織保護受容体のみ親和性を有することに着目し、腎虚血再灌流傷害モデルを用いて CEPO の apoptosis 抑制、間質細胞の形質転換抑制等の腎保護効果を示した。また、CEPO による組織保護のメカニズムとして、Ets-1 による腎尿細管細胞の再生促進、生存シグナルである PI3K/Akt 経路の活性化を明らかにした。今後 CEPO は移植手術等に伴う虚血再灌流傷害抑制に対し臨床応用しうる可能性が示唆され、本論文は学位に値するものと認める。