



Title	Nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects against tubulointerstitial injury in a unilateral ureteral obstruction model
Author(s)	北村, 温美
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49025">https://hdl.handle.net/11094/49025</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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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	きたむらはるみ 北村温美
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 7 9 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 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	Nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects against tubulointerstitial injury in a unilateral ureteral obstruction model (造血作用を示さないエリスロポエチン誘導体は、一側尿管結紮モデルにおける尿細管間質障害を抑制する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 正二  (副査) 教 授 奥山 明彦 教 授 楽木 宏実

#### 論 文 内 容 の 要 旨

##### [ 目的 ]

エリスロポエチン (EPO) は、赤芽球系前駆細胞の分裂を促進し、アポトーシスを抑制することにより造血作用を示すサイトカインであるが、神経細胞や心筋細胞において組織保護作用も有することが報告されてきた。さらに、EPO レセプターには、EPOR 二量体であるホモ型と、EPOR と  $\beta$  common-receptor からなるヘテロ型の 2 種類が存在し、造血作用はホモ型を通じて、組織保護作用はヘテロ型を通じての効果であることが示された。これまでの検討では組織保護作用を期待するには大量の EPO 投与が必要であるが、大量・長期 EPO 投与には血圧上昇、血栓形成、一部の癌細胞増殖などの危険性が伴う。近年行われた腎性貧血患者を対象とした大規模スタディでも、治療目標 Hb 濃度を高く設定した群で心血管イベントが有意に高率に発症したことを受け、FDA からは Hb 濃度が 13g/dl を越えないようにすべきとの安全情報がでた。近年、EPO のリジン残基をカルバミル化したカルバミル EPO (CEPO) は、ホモ型レセプターには結合せず造血作用は示さないが、ヘテロ型レセプターのみに結合し組織保護作用のみ示すことが報告されてきた。尿細管間質障害は、進行した腎疾患の共通した病態であり、その代表的モデルである一側尿管結紮 (UUO) モデルでは、尿細管上皮細胞のアポトーシスに伴う尿細管萎縮や、尿細管上皮の形質転換に伴う間質線維化がみられる。我々は、CEPO が、造血作用に伴う副作用は呈さず、かつ造血作用によらない腎組織保護効果を有するかどうかについて、UUO モデルを用いて検討した。

##### [ 方法ならびに成績 ]

6 週齢 S-D ラットの左側尿管を結紮した後、無作為に 1) disease control 群 (n=9) 2) EPO 群 (n=17) 3) CEPO 群 (n=17) の 3 群に分けた。結紮術後から 1) では生食 0.5 ml を、2)、3) ではそれぞれ生食 0.5 ml に溶解した EPO または CEPO を毎回 500 単位/kg (低容量群：各 n=6) または 1000 単位/kg (高容量群：各 n=11) ずつ 2 日に 1 回皮下投与し、7 日目に左腎を摘出し検討した。結果、Hb 濃度や網状赤血球数は高容量・低容量とも EPO 群のみで有意に増加し、CEPO 群では変化しなかった。TUNEL 陽性尿細管細胞数を各群で比較すると、高容量・低容量ともに EPO および CEPO 群で control 群に比し有意に減少した。この尿細管細胞のアポトーシス抑制経路としては、western blotting で Akt のリン酸化が EPO および CEPO 高容量群で著明に亢進していたことから、Akt 系の

関与が示唆された。尿細管上皮細胞の形質転換が抑制されているかについて $\alpha$  SMA 染色で評価したところ、EPO および CEPO 高容量群で control 群に比し有意に $\alpha$  SMA 陽性領域が減少していた。また尿細管間質の線維化を Masson-Trichrome 染色で同様に評価したところ、高容量・低容量ともに EPO および CEPO 群で control 群に比し有意に線維化が抑制された。しかし注目すべきことに、EPO 高容量群の 11 例中 4 例で腎の楔状壊死を認め、そのうちの 1 例は著明な血圧上昇を認めた。これは、組織保護のために高容量の EPO を投与すると副作用発現頻度が増える可能性を示唆していた。

[ 総括 ]

EPO および CEPO の投与はラット UUO モデルにおける尿細管間質障害を、ほぼ同等に抑制した。しかし、高容量の EPO には高率に副作用発現を認めた。こうした副作用発現をきたすことなく、尿細管間質障害を抑制し得た CEPO は、臨床的に有意義な薬剤と期待される。

### 論文審査の結果の要旨

エリスロポエチン(EPO)は、ホモ型 EPOR を介した造血作用のほかに、EPOR と  $\beta$  common-receptor の heteromer を介した組織保護作用も有することが神経細胞や心筋細胞において報告されてきている。我々は、ホモ型 EPOR には結合せず、ヘテロ型 EPOR のみに結合するカルバミル EPO (CEPO) に着目し、CEPO が造血作用は示さずに、尿細管間質障害を抑制できるかどうかについて検討した。

ラット一側尿管結紮モデルを作成した後、1) disease control 群 (n=9) 2) EPO 群 (n=17) 3) CEPO 群 (n=17) の 3 群に分けた。1) は生食 0.5 ml を、2)、3) ではそれぞれ EPO または CEPO 500 単位 (低容量群: 各 n=6) または 1000 単位 (高容量群: n=11) を隔日に皮下投与し、7 日目に効果を検討した。結果、Hb 濃度や網状赤血球数は EPO 群のみで有意に増加した。高容量 CEPO 群では disease control 群に比し、有意に尿細管細胞のアポトーシスが減少し、尿細管間質の形質転換 ( $\alpha$  SMA 染色) や線維化 (Masson-Trichrome 染色) が抑制された。一方、高容量 EPO 群でも同様の組織保護効果を認めたが、11 例中 4 例で腎の楔状壊死を生じ、そのうちの 1 例は著明な血圧上昇を認めた。これは、組織保護のために高容量の EPO を投与すると副作用発現頻度が増える可能性を示唆している。こうした副作用発現をきたすことなく、尿細管間質障害を抑制し得た CEPO は、臨床的に有意義な薬剤と期待される。

今回は確立された間質障害モデルである一側尿管結紮モデルを使用し、CEPO の組織保護効果を示唆したが、今後さらに腎不全モデルなどで検討することにより、糸球体疾患の進行に伴う間質線維化・腎機能低下を抑制し得ると期待される。臨床的にも発展性のある研究結果であり、学位論文に値すると考える。