The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Carbamylated erythropoietin ameliorates cyclosporine nephropathy without stimulating erythropoiesis
Author(s)	阿部, 豊文
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58195
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

【108】

氏　　名	阿　部　豊　文（あべ とよふみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４４３０　号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	Carbamylated erythropoietin ameliorates cyclosporine nephropathy without stimulating erythropoiesis （シクロスポリン腎症モデルにおいてカルバミル化エリスロポエチンは造血作用なく腎保護効果を有する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　野々村祝夫 （副査） 教　授　宮坂　昌之　　教　授　楽木　宏実

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

腎移植においてシクロスポリン（CsA）は急性拒絶反応を抑制し、移植後早期の生着率の著明な改善をもたらしたものの、その腎毒性であるシクロスポリン腎症は未だ解決されていない。エリスロポエチン(EPO)は造血作用のみならず臓器保護効果を持つことが報告され、脳血管障害や心血管障害に対する新たな治療薬として注目されている。EPO受容体は腎臓においても存在し、虚血再灌流傷害モデルなどにおいてEPOが腎保護作用を有することが報告されているが、赤芽球系細胞と比較し尿細管細胞におけるEPO受容体の親和性は低いことが報告されている。したがって腎臓での組織保護効果を期待してEPOを投与する場合は、造血作用を期待して投与する場合に比して大量のEPOが必要になると考えられる。しかしEPOの大量投与では、多血症とそれに附随する合併症が問題になる。近年、EPO受容体が造血作用と組織保護作用では異なり、カルバミル化エリスロポエチン（CEPO）は造血作用なく組織保護効果を有することが報告された。我々はシクロスポリン腎症に対するCEPOの腎保護効果について検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

6週齢のSDラットをControl群、CsA群、EPO群、CEPO群の4群に分け、減塩食下で飼育した。CsA群、EPO群、CEPO群にはCsA 30mg/kgを連日皮下注射しシクロスポリン腎症を作成した。さらにEPO群、CEPO群にはそれぞれEPO、CEPOを1000単位/kgで週3回腹腔内注射した。4週間の投薬後にsacrificeし、各種検討を行った。

治療4週後のヘモグロビン値は、CsA群が16.5±1.2g/dL、CEPO群が15.9±0.7g/dLであったのに対し、EPO群では20.4±0.9g/dLと有意に上昇を認めた。血清クレアチニン値については、Control群が0.21±0.02mg/dLであったのに対し、CsA 群では1.17±0.24mg/dLと腎機能の悪化を認めた。一方、EPO、CEPO投与によりEPO群では0.82±0.11mg/dL、CEPO群では0.73±0.21mg/dLと、CsA群と比較して有意に血清クレアチニン値の上昇が抑制されていた。PAS染色ではCsA群では尿細管の萎縮を認めたが、EPO/CEPO群では傷害が軽度であった。またマッソン・トリクロム染色においても、CsAによる間質の線維化が、EPO/CEPO群では有意に抑制されていた。α-SMA染色で形質転換を評価したところ、EPO/CEPO投与群ではCsA群と比較し有意にα-SMA陽性面積が少なかった。またED-1染色にてマクロファージの浸潤を評価したところ、EPO/CEPO群ではCsA群と比較し有意にマクロファージの浸潤が抑制されていた。シクロスポロン腎症における線維化にはTGF-β1が重要な役割を果たすことが報告されており、腎皮質におけるTGF-β1の発現をreal time RT-PCR法

で検討したところ、CsA群と比較してEPO/CEPO投与により有意にTGF-β1の発現が抑制されていた。下流のtype I collagenのmRNAの発現も同様にEPO/CEPO投与群で有意に抑制されていた。TUNEL染色にてアポトーシスについて評価したところ、CsA群ではControl群と比較し有意にTUNEL陽性細胞数は増加していたが、EPO/CEPO群では有意にアポトーシスは抑制されていた。生存シグナルであるPI3K-Akt経路についてWestern blotting法で検討したところ、CsA群に比較しEPO/CEPO群ではPI3K、リン酸化Aktの発現が亢進していた。

〔　総　　括　〕

高用量のEPO/CEPO投与はシクロスポリン腎症における尿細管間質傷害を抑制した。シクロスポロン腎症における線維化にはTGF-βが重要な役割を果たしていることが報告されている。本研究においても腎皮質におけるTGF-β1の発現はCsA群で亢進していたが、EPO/CEPO投与により有意にTGF-β1の発現が抑制されていた。またCsA群と比較し、EPO/CEPO群では有意にアポトーシスが抑制されていた。腎保護効果の機序として、PI3K-Akt経路の活性化によりアポトーシスが抑制され、その結果、形質転換が抑制され間質の線維化が軽減した可能性が示唆された。EPO投与は多血症をきたしたが、CEPO投与はヘモグロビン値を上昇させなかった。造血作用のないCEPOは、臓器保護効果を目的とした高用量・長期投与に適した製剤として有望な可能性がある。

論文審査の結果の要旨

腎移植においてシクロスポリンは移植後早期の生着率を著明に改善したが、その腎毒性であるシクロスポリン腎症は未だ解決されておらず、長期生着を妨げる要因の一つとなっている。エリスロポエチン（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エビデンスが蓄積されているが、組織保護効果の誘導には造血作用に比してより高用量のEPO投与が必要とされ、その安全性は確立されていない。近年、EPO受容体が造血作用と組織保護効果では異なり、カルバミル化エリスロポエチン（CEPO）は造血作用なく組織保護効果を有することが報告された。本論文では、ラットシクロスポリン腎症モデルにおいて、高用量のEPOおよびCEPO投与がPI3K-Akt経路の活性化によりアポトーシスを抑制、腎尿細管間質傷害を軽減することを示した。EPO投与は多血症をきたしたが、CEPO投与はヘモグロビン値を上昇させなかった。造血作用のないCEPOが臓器保護効果を目的とした高用量・長期投与に適した製剤として有望な可能性があることを示した本論文は、学位の授与に値すると考えられる。