





学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・ 	第 314 号	氏 名	山 本 俊 介
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	門田 淳一 	
	副査氏名	佐藤 文恵 	
	副査氏名	松浦 克子 	
<p>論文題目</p> <p>The Antioxidant EPC-K1 Attenuates Renal Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model (抗酸化化合物 EPC-K1 はラットモデルにおける腎虚血再灌流傷害を減弱する)</p> <p>論文掲載雑誌名</p> <p>American Journal of Nephrology</p> <p>論文要旨</p> <p>急性腎障害(acute kidney injury: AKI)の主要な原因の一つに腎虚血再灌流(ischemia/reperfusion: I/R)傷害があるが、その進行には活性酸素種(reactive oxygenspecies: ROS)の過剰生成による内皮細胞障害が関係している。一方、L-ascorbic acid (vitamin C)やalpha-tocopherol (vitamin E)は生体内抗酸化防御システムとして重要であり、これらを化学的に結合させた化合物としてEPC-K1がある。本研究ではAKIのラットモデルに対してEPC-K1を投与し、腎組織および血清の腎機能バイオマーカー、腎の酸化ストレスを評価することでその有用性を検討した。</p> <p>Wistar系雄性ラットに生理食塩水あるいはEPC-K1 10mg/kgを皮下投与し、30分後に腎I/Rを施行し、その24時間後に血清BUN値、Cr値を測定するとともに組織学的検討を行った(それぞれI/R group、EPC-K1+I/R group)。また腎組織における酸化ストレスについてはmalondialdehyde (MDA)を指標として評価を行った。また、sham処置により生理食塩水の皮下投与のみを行ったコントロール群(control group)も作成して検討した。さらにAntimycin A (AMA)刺激RAW264.7細胞を用いて、EPC-K1の抗酸化作用を<i>in vitro</i>でも検討した。</p> <p>I/R groupにおいては血清BUN値、Cr値とも上昇したが、EPC-K1+I/R groupではその上昇が有意に抑制された(p<0.05)。また腎組織傷害の程度もEPC-K1+I/R groupではI/R groupに比して有意に組織スコアおよびMDAレベルの改善が認められ(p<0.05)、電顕でもミトコンドリアや小胞体の傷害が抑制されていた。<i>In vitro</i>の検討では、EPC-K1とAMAで処理した細胞は、AMA単独処理した細胞と比較して有意に細胞内のROS活性を抑制していた。</p> <p>以上の結果から、EPC-K1はラットモデルにおける腎I/R傷害に対してROSの過剰な生成を抑制することで腎保護効果を発揮していることが示された。</p> <p>本研究は、急性腎障害におけるEPC-K1の抗酸化作用を介した腎保護治療薬としての可能性を示した重要な研究と考えられ、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 山本 俊介

論 文 題 目

The Antioxidant EPC-K1 Attenuates Renal Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model

(抗酸化化合物 EPC-K1 はラットモデルにおける腎虚血再灌流傷害を減弱する)

要 旨

諸言

急性腎傷害 (acute kidney injury:AKI) は2007年、Mehtaらによって提唱された概念であり、主要な原因の一つに腎虚血再灌流 (ischemia/reperfusion:I/R) 傷害があげられる。I/R 傷害の進行には活性酸素種 (reactive oxygen species:ROS) の生成が関わっており、過剰に生成された ROS はタンパク質、DNA、脂質、ミトコンドリアを傷害し、さらには内皮細胞障害や局所の炎症反応を惹起することで細胞障害を増幅する。L-ascorbic acid (vitamin C) と alpha-tocopherol (vitamin E) は生体内抗酸化防御システムとして重要な物質で、EPC-K1 はこれらを化学的に結合させた化合物である。これまでも脳、心、筋肉といった種々の組織での I/R 傷害抑制を示す強力な ROS の scavenger として報告されているが、腎 I/R 傷害の抑制効果を検討した報告はない。今回 EPC-K1 が腎 I/R 傷害を抑制しうるとの仮説を立て、腎組織における効果と血清の腎機能バイオマーカ、腎の酸化ストレスを評価した。

研究対象及び方法

Wistar 系雄性ラットを (1) 生理食塩水を皮下投与し腎 I/R を施行した群 (I/R group)、(2) EPC-K1 10mg/kg を皮下投与し、30 分後に腎 I/R を施行した群 (EPC-K1 + I/R group)、(3) sham 処置により生理食塩水の皮下投与のみを行ったコントロール群 (control group) の 3 群に分けた。ラットは I/R 24 時間後もしくは sham 処置 24 時間後に犠死され、血清 BUN 値、Cr 値を測定し、組織学的検査を行った。そして腎組織における酸化ストレスについて評価を行った。さらに EPC-K1 の抗酸化作用を決定するために、Antimycin A (AMA) 刺激した RAW264.7 細胞の処理を行った。

結果

血清 BUN 値、Cr 値は I/R group で上昇したが、EPC-K1 + I/R group では有意にこの上昇を抑制していた。同様に腎組織の傷害も、I/R group と比較し EPC-K1 + I/R group では有意に抑制していた。Vitro では、EPC-K1 と AMA の両方で処理した細胞は、AMA 単独で処理した細胞と比較し有意に ROS の活動性を抑制していた。

考察及び結語

今回の研究により、EPC-K1 は、ラットモデルにおける腎 I/R 傷害に対し ROS の過剰な生成を抑制することで腎保護効果を発揮していることが示された。vitamin C や vitamin E などの抗酸化物質の腎 I/R 傷害に対する効果はこれまでも報告されており、より強力な抗酸化作用を有した EPC-K1 の腎保護治療薬としてのさらなる発展が期待される。