

# 学位論文審査結果の報告書

氏 名 中野 志仁

---

生 年 月 日 昭和 56年 11月 28日

本 籍 ( 国 籍 ) 奈良県

---

学 位 の 種 類 博 士 ( 医 学 )

学 位 記 番 号 医 第 1290 号

学位授与の条件  
(博士の学位) 学位規程第5条該当

論 文 題 目

Diverse Associations between Oxidative Stress and  
Thromboxane A2 in Hypertensive Glomerular Injury

---

高血圧性糸球体障害における酸化ストレスとトロンボキサンA2 の  
多様な関連

---

学位論文受理日 2018年 11月 15日

学位論文審査終了日 2019年 1月 24日

審 査 委 員 (主 査) 杉本 圭相

---



(副主査) 植村 天受

---



(副主査) 佐藤 隆夫

---



(副 査)

---



指 導 教 員 有馬 秀二

---



## 論文内容の要旨

### 【目的】

高血圧性糸球体障害の病態には、レニン-アンジオテンシン系や血管の炎症などを介する酸化ストレスの亢進が重要である。アラキドン酸代謝産物の1つであるトロンボキサン A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) も腎内酸化ストレスを亢進させると報告されているが、病態との関連は不明である。本研究では高血圧性糸球体障害の病態における TXA<sub>2</sub> の役割および酸化ストレスとの相互作用について検討を行った。

### 【方法】

重症本態性高血圧モデルラット（脳卒中易発症自然発症高血圧ラット：SHRSP）と正常コントロールである Wistar-Kyoto ラット（WKY）を用いて実験を行った。5, 10, 15 週齢の時点で収縮期血圧（SBP）、腎機能の指標である血清クレアチニン値（SCr）、体重補正クレアチニンクリアランス（CCr/100g-BW）および尿中アルブミン排泄量（UAE）、酸化ストレスマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine（8-OHdG）および TXA<sub>2</sub> の代謝産物であるトロンボキサン B<sub>2</sub>（TXB<sub>2</sub>）の尿中排泄量を評価した。また組織学的糸球体障害度を表在糸球体、傍髄質糸球体それぞれについてスコア化（Glomerular Sclerosis Index：GSI）するとともに、レーザーマイクロダイセクション法により単離した各糸球体を用いてトロンボキサン合成酵素（TXAS）およびヘムオキシゲナーゼ-1（HO-1）の遺伝子発現を検討した。さらに抗酸化剤テンポールおよび TXAS 阻害剤オザグレルの影響についても検討した。

### 【結果】

SHRSP では経時的にアルブミン尿を呈するとともに CCr/100g-BW が低下し、尿中 TXB<sub>2</sub>、8-OHdG 排泄量は WKY と比較して有意に高値であった。GSI は SHRSP で特に傍髄質で高値を示し、SHRSP の傍髄質では TXAS と HO-1 の発現も有意に亢進していた。テンポール投与群では糸球体容積と UAE が有意に増加し、糸球体障害の改善は認められなかった。一方、オザグレルは表在および傍髄質のいずれの糸球体障害も有意に改善した。表在糸球体における TXAS 発現はテンポールで有意に亢進したが、オザグレルは有意に抑制した。両薬剤とも糸球体における HO-1 mRNA 発現には影響を与えなかった。

### 【考察】

SHRSP では TXAS の顕著な発現亢進が認められた傍髄質で表在部に比して高度な糸球体障害が認められたことから、病変形成の不均一性および進展に TXA<sub>2</sub> が関与している可能性が示唆された。TXAS 発現を亢進させるテンポールでは糸球体障害が改善しなかったが、この原因として糸球体容積が増大していたことから、糸球体過剰濾過が関与する可能性がある。一方、TXAS 発現を抑制するオザグレルが酸化ストレスと糸球体障害を有意に改善したことから、高血圧性糸球体障害の病態には酸化ストレスと TXA<sub>2</sub> が重要な役割を果たしていると考えられた。

### 【結論】

TXA<sub>2</sub> と酸化ストレスは、互いに影響しながら高血圧性糸球体障害の病態に関与することが判明した。TXA<sub>2</sub> 阻害が高血圧性糸球体障害の有効な治療標的になり得ると考えられる。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2019年 公表予定	博士学位論文 Hypertension Research
	Diverse Associations between Oxidative Stress and Thromboxane A2 in Hypertensive Glomerular Injury	
	全 文	2019年 掲載予定

## 論文審査結果の要旨

### 1) 論文内容の要旨

#### 【目的】

高血圧性糸球体障害の病態には、レニン-アンジオテンシン系や血管の炎症などを介する酸化ストレスの亢進が重要である。アラキドン酸代謝産物の1つであるトロンボキサン A2 (TXA2) も腎内酸化ストレスを亢進させると報告されているが、病態との関連は不明である。本研究では高血圧性糸球体障害の病態における TXA2 の役割および酸化ストレスとの相互作用について検討を行った。

#### 【方法】

重症本態性高血圧モデルラット (脳卒中易発症自然発症高血圧ラット: SHRSP) と正常コントロールである Wistar-Kyoto ラット (WKY) を用いて実験を行った。5, 10, 15週齢の時点で収縮期血圧 (SBP)、腎機能の指標である血清クレアチニン値 (SCr)、体重補正クレアチニンクリアランス (CCr/100g-BW) および尿中アルブミン排泄量 (UAE)、酸化ストレスマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) および TXA2 の代謝産物であるトロンボキサン B2 (TXB2) の尿中排泄量を評価した。また組織学的糸球体障害度を表在糸球体、傍髄質糸球体それぞれについてスコア化 (Glomerular Sclerosis Index: GSI) するとともに、レーザーマイクロダイセクション法により単離した各糸球体を用いてトロンボキサン合成酵素 (TXAS) およびヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) の遺伝子発現を検討した。さらに抗酸化剤テンポールおよび TXAS 阻害剤オザグレルの影響についても検討した。

#### 【結果】

SHRSP では経時的にアルブミン尿を呈するとともに CCr/100g-BW が低下し、尿中 TXB2、8-OHdG 排泄量は WKY と比較して有意に高値であった。GSI は SHRSP で特に傍髄質で高値を示し、SHRSP の傍髄質では TXAS と HO-1 の発現も有意に亢進していた。テンポール投与群では糸球体容積と UAE が有意に増加し、糸球体障害の改善は認められなかった。一方、オザグレルは表在および傍髄質のいずれの糸球体障害も有意に改善した。表在糸球体における TXAS 発現はテンポールで有意に亢進したが、オザグレルは有意に抑制した。両薬剤とも糸球体における HO-1 mRNA 発現には影響を与えなかった。

#### 【考察】

SHRSP では TXAS の顕著な発現亢進が認められた傍髄質で表在部に比して高度な糸球体障害が認められたことから、病変形成の不均一性および進展に TXA2 が関与している可能性が示唆された。TXAS 発現を亢進させるテンポールでは糸球体障害が改善しなかったが、この原因として糸球体容積が増大していたことから、糸球体過剰濾過が関与する可能性がある。一方、TXAS 発現を抑制するオザグレルが酸化ストレスと糸球体障害を有意に改善したことから、高血圧性糸球体障害の病態には酸化ストレスと TXA2 が重要な役割を果たしていると考えられた。

本論文は、高血圧性糸球体障害におけるトロンボキサン A2 の関与を酸化ストレスの観点からもアプローチし、その病態解明と高血圧性糸球体障害の新たな治療法にまで発展させ論じたものである。高血圧性糸球体障害においては、これまでレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系が病態形成の主座とされており、それに関連した報告も多い。一方、酸化ストレスも糸球体障害の重要な発症・進展因子であり、酸化ストレスの制御は非常に重要とされるが、これまで糸球体障害に対する抗酸化薬の有効性を論じた報告は少ない。今回、著者はアラキドン酸代謝産物であるトロンボキサンが腎内酸化ストレスを亢進させることに着目し、高血圧ラットモデルを用いて実験系を考案した。論文では、正常血圧ラット、高血圧発症ラットの両群間の酸化ストレスと腎障害について比較検討し、後者において糸球体硬化インデックスが有意に高く、酸化ストレスマーカーである 8-OHdG や TXB2 の尿中排泄量、および抗酸化ストレスの指標としての HO-1 mRNA 発現も有意に高いことが示された。さらに、著者は抗酸化薬であるテンポール、オザグレル投与による、糸球体障害の抑制効果についても検討を行った。その結果、非投与群に比し、オザグレル投与群では、尿中 8-OHdG、TXB2 排泄量が有意に低下し、表在糸球体、および傍髄質糸球体における TXAS mRNA 発現や糸球体硬化インデックスが有意に減少した。これまで、糸球体障害に対する抗酸化薬の有効性の報告は少なく、著者の行った研究により、レニンアンジオテンシン系とは異なった病態経路からの新たな治療戦略が示されたと言え、originality の高い研究論文と思われる。

## 2) 審査結果の要旨

本論文に対する最終試験は、平成30年12月28日の16時から小講堂で実施された。

著者は、高血圧性糸球体障害において TXA2 が酸化ストレス亢進に寄与するとともに、血圧や酸化ストレスとは独立して糸球体病変の形成に関与することを本研究により証明した。研究対象となったすべての症例の解析データを筆者自らまとめ、分析したものである。最終試験では、著者から本研究を行うに至った背景、対象と方法、結果と考察が発表され、それに対して主査である杉本圭相、副主査である植村天受、佐藤隆夫両教授がいくつかの疑問点を質した。杉本からは腎糸球体内における 8-OHdG はどの部位に発現していたか、糸球体内で HO-1 が発現しなかった理由、レニン-アンジオテンシン系阻害薬やその他の降圧薬と併用することで更なる腎障害抑制が可能か、今回使用したモデル動物である SHRSP において表現型に性差はあるのか、などを問うた。植村教授からは高血圧における糸球体障害と尿細管障害の機序について、8-OHdG 染色で糸球体、尿細管いずれの細胞でも陽性であることはどう解釈できるのか、また、糸球体のみではなく腎全体での検討を行っても良かったのではないか、などが質問された。さらに、佐藤教授からは、本研究において、TXA2 に着目した理由や酸化ストレスマーカーと TXA2 産生が完全には相関していないことはどのように解釈できるのか、など多方面にわたる質問が行われた。

これらの質問に対し著者は具体的な例を挙げながら極めて的確に応答した。また論文内容からも高血圧性腎障害の病態解明における研究の技量とその能力についても卓越したものを持つことが確認された。したがって、主査、副主査は合議の上、提出された学位論文が確かに中野志仁氏の研究成果であること、学位授与にふさわしい内科的知識や技量を持つことを確認し、最終試験を合格と判定した。

## 3) 最終試験の結果：

合格

## 4) 学位授与の可否：

可