

論 文 要 旨

Antiproteinuric effect of an endothelin-1 receptor antagonist in puromycin aminonucleoside-induced nephrosis in rat

(特発性ネフローゼ症候群モデルラットにおけるエンドセリン受容体拮抗薬の抗タンパク尿効果)

関西医科大学小児科学講座
(指導：金子 一成 教授)

木 野 仁 郎

【背景と目的】

小児特発性ネフローゼ症候群（INS）の病因は不明であるが、長年リンパ球の機能異常にあるとされ、この病因論に基づき、INS に有効性を示すステロイド薬などの主たる作用も、リンパ球の機能異常の是正であるとされていた。近年、腎糸球体上皮細胞（ポドサイト）における様々な分子の過剰発現がポドサイトの構造変化をきたしたタンパク尿の一因となることが注目されており、ステロイド薬や免疫抑制薬は、ポドサイトの構造変化を直接防ぐ事によって効果を発揮するという考え方が提唱され、様々な研究が行われている。その一つに、INS ではポドサイト表面に CD80 が過剰に発現しており、過剰に発現した CD80 によりポドサイトの構造変化が引き起こされ、結果として蛋白尿が惹起されるという報告がある。また、強力な血管収縮作用を有するエンドセリン-1（endothelin: ET-1）も、血管内皮細胞のみならずポドサイトに発現しており、ET 受容体 A（ETRA）を介した活性化が、ポドサイトの構造変化とタンパク尿を惹起する可能性が報告されている。そこで INS に対する治療薬としての ETRA 拮抗薬（アンブリセンタン）の可能性を検討した。

【研究方法】

6 週齢の Wistar 種ラットに puromycin aminonucleoside（PAN）の単回静脈注射にて作成した INS モデルラットを、アンブリセンタン治療群（治療群；PAN 投与 2 日前から連日 10 mg/kg をメチルセルロースに溶解し経口投与）と非治療群（PAN 投与 2 日前から連日メチルセルロースを経口投与）、コントロール群（PBS 静注とメチルセルロースを経口投与）に分類した。まず、アンブリセンタンの投与によって、体重、脈拍数、全身血圧に差が出ないかどうか、3 匹ずつモニタリングし評価を行った。その後、タンパク排泄量をそれぞれ測定し、3 群間で比較した。また、PAN 投与後 9 日目に腎組織を採取し、ポドサイトやポドサイト関連分子の発現に差がないか評価するために、電子顕微鏡による組織学的評価と、リアルタイム定量 PCR（qPCR）にて、CD80、Toll-like receptor-3（TLR-3）、nuclear factor-kB（NF-kB）、Talin、ETRA、ET-1 の発現と、免疫染色法とウェスタンブロッティング（WB）を用いて CD80 の発現を 3 群間で比較した。統計学的検討には二元配置分散分析を用いた。

【結果】

収縮期血圧、体重、尿量、血清 Cre 値は、治療群と非治療群において有意差を認めなかった。尿タンパク排泄量は、コントロール群では出現を認めず、無治療群では PAN の単回投与後 9 日目に最大となった（中央値: 757.7 mg/kg/day）。一方、治療群では、同日の尿タンパク排泄量は非治療群に比べて有意に少なかった（中央値: 102.5 mg/kg/day、 $P < 0.01$ ）。また、電子顕微鏡所見では無治療群においてポドサイトの足突起の癒合を認めたが、治療群では認めなかった。qPCR の結果、CD80、TLR-3 の mRNA の発現は無治療群では増加したが、治療群において抑制された。Talin の mRNA の発現は無治療群では発現が抑制され、治療群

においては増幅する傾向にあったが、有意差は認めなかった。ETRA、ET-1は無治療群ではコントロール群に比べて有意な変化は無かったが、治療群では無治療群に比べて有意にETRAは低下し、ET-1は上昇した。免疫染色法とWBの結果、CD80の発現はPAN投与によって増加していたが、治療群においてはその発現は抑制されていた。

【考察および結語】

PAN投与によって作成したINSモデルラットにおいてアンブリセタンは、血圧や尿量、血清Cre値に影響を与えず、タンパク尿の減少作用を認めた。その機序としては、PAN投与によって刺激されたTLR-3から核内伝達系であるNF- κ Bを介して、ポドサイト上に過剰発現したCD80が抑制されたことによるポドサイトの安定化が考えられた。このことから、アンブリセタンは、INSの治療に有用である可能性が示唆された。