

腎障害モデルラットとしてのSHR.Cg-Lepr^{cp}/NDmcr-cpの有用性

島根大学・医学部・生理学講座・環境生理学 片倉賢紀、橋本道男

SHR.Cg-Lepr^{cp}/NDmcr (別称: SHR/NDmcr-cp) は、高血圧自然発症ラット (SHR) にレプチン受容体の変異を導入したラットである。このため、レプチンシグナルが正常に機能せず、過食による肥満、さらに高血糖、高脂血症、高インスリン血症、インスリン抵抗性といった代謝異常を示す^{1,2)}。これらの代謝異常は、2型糖尿病性腎症患者に多くみられる。また SHR/NDmcr-cp では、尿中へのタンパク質排泄量の増加や、糸球体マトリックスの増加および間質領域の線維化といった組織学的変化が認められることが知られている³⁾。そのため、SHR/NDmcr-cp は、自然発症 2型糖尿病性腎症モデルラットとして研究に用いられている。このようなメタボリックシンドロームに伴う腎障害は、酸化ストレスの増加により発症することが知られている。水素豊富水 (HRW) は活性酸素の生成、反応を抑制することが知られていることから、本稿では SHR/NDmcr-cp の腎障害に対する HRW 効果について検討を行ったので、一部を紹介する。

SHR/NDmcr-cp における HRW 投与の効果

5 週齢雄性 SHR/NDmcr-cp を 2 群に分け、コントロール群には蒸留水を、HRW 群には HRW を 16 週間自由飲水させた。HRW は、蒸留水にフレンジア製スティック (東京) を入れて調製した。16 週間投与後、ラットを代謝ケージに入れ、24 時間尿を採集した。その後の血漿、腎臓を採取した。HRW 群では、血中尿素窒素値、クレアチニン値、尿中のアル

ブミン/クレアチニン (AC 比) の有意な減少、血中抗酸化力、クレアチニンクリアランスの有意な増加が認められた (表)。これらの結果から HRW は、SHR/NDmcr-cp の腎機能低下を抑制している可能性が示唆された。HRW による SHR/NDmcr-cp の腎障害抑制作用を確認するため、各実験群から採取した腎臓の組織を PAS 染色し、糸球体を観察した。コントロール群では、糸球体基底膜の肥厚、メサングウム細胞の増殖が認められた (図 1 A, B)。それぞれの個体について、50 個の糸球体を観察し、糸球体硬化度を算出した。糸球体硬化度は、HRW 群で有意に抑制されていた (図 1 C)⁴⁾。

HRW による SHR/NDmcr-cp の腎障害抑制機構の検討

HRW は活性酸素の生成、反応を抑制することが知られていることから⁵⁾、腎臓の活性酸素種 (ROS) を測定した (図 1D)。腎臓中の ROS 量は、HRW で有意に低下した。次に、SHR/NDmcr-cp における腎障害を誘発する ROS の産生源を解明することを試みた。SHR/NDmcr-cp は、高血糖状態にあることが知られている。糖は、血液中または各組織中でタンパク質とメイラード反応・アマドリ転移をし、反応性の高い中間体、グリオキサール (GO)、メチ

表 血中・尿中パラメーターに対するHRWの効果

	コントロール群	HRW群
血糖 (mg/dL)	217.0 ± 35.8	229.2 ± 45.6
血中尿素窒素 (mg/dL)	24.0 ± 0.7	20.9 ± 0.7 *
血中クレアチニン (mg/dL)	0.25 ± 0.02	0.20 ± 0.01 *
血中抗酸化力 (μmol/L)	2276 ± 103	2402 ± 216 *
アルブミン/クレアチニン	6.81 ± 0.64	5.17 ± 0.42 *
クレアチニンクリアランス (mL/min)	5.16 ± 0.40	6.28 ± 0.36 *

平均値 ± 標準誤差 (n = 12). *p < 0.05.

ルグリオキサール (MG)、3-デオキシグルコソン (3-DG) などの α, β -ジカルボニル化合物を経て、糖化最終産物 (AGEs) を生成する。この AGEs は AGE 受容体を介して、サイトカインや成長因子の産生亢進など種々の細胞応答を引き起こし、糖尿病血管合併症をはじめとする種々の疾患発症・進展させると考えられている^{6,7)}。我々は、この中間体の α, β -ジカルボニル化合物は ROS を生成することに着目し、血漿、腎臓中のこれら化合物を高速液体クロマトグラフィー・タンデムマス (LC-MS/MS) を用いて定量した。HRW 群では血漿中の GO、MGO が、腎臓中では GO、MGO、3-DG 量が有意に低下していた (図 2)。次に、 α, β -ジカルボニル化合物からの ROS 産生を、HRW は抑制するのかを検討した。正常ラット腎臓から調製したホモジネートに、 α, β -ジカルボニル化合物を添加し 1 時間加温すると ROS の生成が認められた。この時、HRW を添加すると ROS の生成は有意に抑制された。これらの結果から、HRW により SHR/NDmcr-cp の腎障害を抑制する機構として、1) α, β -ジカルボニル化合物の生成を抑制すること、2) α, β -ジカルボニル化合物による ROS 生成を抑制することが明らかとなった⁸⁾。

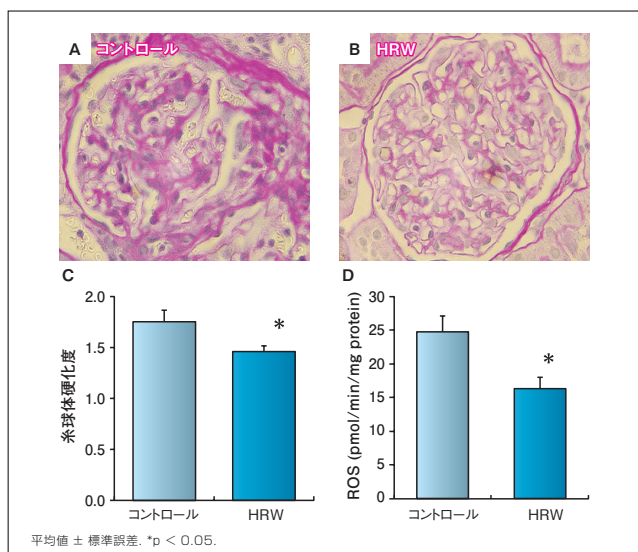


図1.HRWによる糸球体PAS染色像、糸球体硬化度、腎臓中のROS量の変化

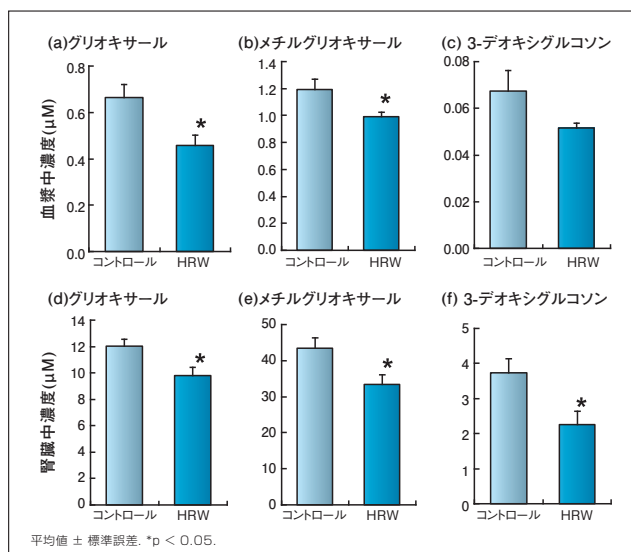


図2.HRWによる血漿および腎臓中の α, β -ジカルボニル化合物量の変化

おわりに

糖尿病性腎症における腎障害・腎機能低下には多数の因子が複雑に影響しているため、血糖や血圧に対する治療だけでは腎臓に対する治療効果が不十分であると考えられている。しかし、どの因子が糖尿病性腎症の腎障害・腎機能低下に強く関与しているのかは明らかではないため、効果的な治療ターゲットの選定ができず、新たな治療法開発に至っていないのが現状である。本研究では、ROS や AGEs が糖尿病性腎障害に重要な役割を果たしており、HRW がそれらを抑制することで腎障害を予防する効果があることを示唆する結果を得られた。SHR/NDmcr-cp を利用することにより、新規化合物の自然発症 2 型糖尿病性腎症への治療効果を血圧、血糖、腎機能、AGEs など様々な角度から検証できると考えられる。

参考文献

- 1) Kawai K, et al. Exp Toxicol Pathol. 2012, 64:333
- 2) Yamaguchi Y, et al. Nitric Oxide. 2006, 15:380.
- 3) Velasquez MT, et al. Diabetes 1989, 38:679.
- 4) Hashimoto M, et al. Med Gas Res. 2011, 1:26.
- 5) Ohsawa I, et al. Nat Med. 2007, 13:688.
- 6) Bierhaus A, et al. Cardiovasc Res. 1998, 37:586.
- 7) Weiss MF, et al. Kidney Int. 2000, 57:2571.
- 8) Katakura M, et al. Med Gas Res. 2012, 2:18.