UP-21 FTY720による炎症性腎疾患に対する効果の検討

大阪大学大学院 医学系研究科 臓器制御外科学¹⁾
大阪府立病院 泌尿器科²⁾

田中 俊之¹⁾ 高原 史郎¹⁾ 市丸 直嗣²⁾ 土岐 清秀¹⁾ 矢澤 浩治¹⁾
Sompol Permpongkosol¹⁾ 王 晶釘¹⁾ 小角 幸人¹⁾ 奥山 明彦¹⁾

【目的】腎炎などの炎症性腎疾患の炎症細胞浸潤にケモカインが大きく関与していることは良く知られている。今回我々は、マウスのメサングウム細胞を用いて、新たな免疫抑制剤として期待されるFTY720によるケモカイン分泌抑制効果、炎症細胞の浸潤能抑制効果を検討した。【方法】マウスの腎臓よりMouse Mesangial細胞を培養し、無血清培地とした後、FTY720を0, 0.5, 2.5mMの濃度で投与し、また炎症時モデルとしてTNF- α , IL-1 β , IFN- γ を投与した。Incubation後、培地上清のMouse MCP-1 levelをELISA法を用いて測定し、またマウスの脾臓よりリンパ球を抽出し、これにFTY720を0, 0.5mMの濃度でIncubation後、5.0 μ m孔のフィルターで上記の培地上清を用いてマウスリンパ球のMigration assayを行った。【結果】Mouse mesangial細胞からのMCP-1分泌はFTY720濃度依存性に抑制された。またマウスリンパ球の浸潤能もまたFTY720濃度依存性に抑制された。【結語】FTY720は腎糸球体炎症性疾患でのメサングウム細胞によるケモカイン分泌抑制と炎症細胞浸潤能に抑制的に働き、同疾患の治療に有効である可能性が示唆された。

renal transplantation chemokine cell migration

UP-22 ラット腎慢性拒絶反応モデルにおける losartan の有用性

済生会中津病院 泌尿器科¹⁾ 大阪医科大学 泌尿器科²⁾
ハーバード大学移植外科³⁾

日下 守¹⁾ 切目 茂¹⁾ 上田 陽彦²⁾ 勝岡 洋治²⁾
TILNEY NICHOLAS L³⁾

【目的】腎慢性拒絶ラットモデルにおいて、angiotensin II type 1 receptor阻害薬losartanを用いてその効果につき検討した。【方法】F344-Lewの同所性左腎移植を行った。CsA5mg/kg/day x 10day投与の後、右腎を10日後に摘出し慢性拒絶モデルを作成した。移植後3週目から、治療群にはlosartan(50mg/L)を飲水として投与し、未治療群と比較した。移植後6週目より3週毎に24週まで体重、血圧測定と24時間尿蛋白量を測定した。

【結果】体重変化は両群間で差がなく血圧は治療群が低い傾向にあった。蛋白尿は治療群では24週まで増加がみられず、病理組織学的には移植後20週で糸球体硬化病変が治療群で有意に減少していた。グラフト内の変化は移植後20週で治療群でT cell, macrophageが減少し、MCP-1, RANTES等のmRNAが治療群で発現抑制をうけていた。さらに、micropuncture studyで糸球体高血圧が治療群では正されていた。【結語】本実験でlosartanは、慢性拒絶反応における腎保護作用を有し、macrophageの浸潤とその関連するcytokine, chemokine等を抑制した。これらの変化はangiotensin IIによって引き起こされ、今後腎慢性拒絶反応の新たな機序解明に役立つと考えられる。

chronic rejection angiotensin II

UP-23 培養尿細管上皮細胞(NRK-52E)におけるCsA誘導アポトーシスに対する酸化ストレス及び c-Jun N-terminal kinase活性化の関与

山梨医科大学 医学部 泌尿器科¹⁾

王 立明¹⁾ 土田 孝之¹⁾ 久保寺 智¹⁾ 田邊 信明¹⁾ 上野 精¹⁾
武田 正之¹⁾

【目的】CsAにより誘発される酸化ストレスは腎障害の一つの原因である。酸化ストレス-JNK経路は腎細胞のapoptosisに関与している。我々は、培養尿細管上皮細胞(NRK-52E)におけるCsA誘導apoptosisに対する酸化ストレス-JNK経路の関与について検討した。【方法】Apoptosis細胞の同定には、Flow Cytometry、TUNEL染色、DNA ladderを用いた。JNK活性はSAPK/JNK活性分析評価Kitを用いて測定した。JNKの蛋白質の発現はWestern Blottingで確認した。JNK阻害剤quercetinの治療効果を調べた。

【結果】NRK-52E細胞はCsAにより、sub-G0/G1 peak細胞群を認めた。DNA断片化はTUNEL染色、DNA ladderでも確認された。初期のapoptosis markerであるPSの外露も認められた。CsAの投与量依存性にapoptosisを認め、同時に細胞内酸化ストレスの増大、JNK活性と蛋白発現の増大も認められた。Quercetinの投与によりapoptosisの抑制と伴にJNK活性の抑制もみられた。【結論】酸化ストレス-JNK経路は、CsA誘導apoptosisの機序の一つであることが示唆された。

CsA アポトーシス 酸化ストレス-JNK経路

UP-24 Glucocorticoidのラット胸腺細胞における apoptosis誘導作用と胸腺細胞内可溶性小蛋白のtwo-dimensional gel electrophoresis解析

山口大学 医学部 泌尿器科¹⁾

山口大学 医学部 第一生化学²⁾

高井 公雄¹⁾ 藤本 正憲²⁾ 白石 晃司¹⁾ 藤川 公樹¹⁾ 平儀野 剛¹⁾
土田 昌弘¹⁾ 須賀 昭信¹⁾ 中村 和行²⁾ 内藤 克輔¹⁾

我々は以前より、免疫抑制剤のラットの胸腺での胸腺細胞の分化成熟における作用を解析し、報告してきた。また、一昨年の本学会で、ラットglucocorticoid (GC)投与モデルを用い、胸腺内でのapoptosis誘導を免疫組織化学的に報告した。今回、同モデルを用い、胸腺内細胞内可溶性小分子蛋白に2次元電気泳動の解析を行ったので報告する。【方法】5週齢 Lewis rat (RT1^l)を用い、dexamethasone (GC)を、0.1 mg/body i.m.1回投与、control, 1, 2, 4, 8, 18, 24時間目にラットを各々屠殺、胸腺を摘出、超音波ホモジナイザーでホモジネート、採取された細胞内蛋白をO'Farrellの方法に準じた2次元電気泳動法(2-DE)にて解析した。【結果】可溶性蛋白を2-DEにて分離したところ、GC投与により分子量18,000, pI 5.9の蛋白スポットが相対的に減少した。この蛋白を2-DEにて分離、PVDF膜に転写、BrCN処理して得られた分子量6,500のpeptide断片のN末端部のアミノ酸配列を決定したところ、AAKLERLRKDKHVEEVRKNであった。これは、stathminの116番目のAla残基から135番目のAsn残基までの配列と同一であった。【考察】Stathminはmitogen activated protein kinase(MAPK)の標的蛋白の一つであり、GC投与による胸腺細胞のapoptosisに蛋白リン酸化カスケードによるsignal transductionが関与している可能性が示唆された。

glucocorticoid thymus apoptosis