

氏 名 (本籍) ひら 井 ま 真 理 こ

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 第 2 8 2 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 7 年 9 月 13 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 62 年 3 月 25 日
東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 実 験 的 巢 状 糸 球 体 硬 化 症 (FGS) モ デ ル ラ ッ ト に
対 する タ ク ロ リ ム ス (FK506) と シ ク ロ ス ポ リ ン
(CyA) の 効 果
(Effect of Tacrolimus (FK506) comparison
with Cyclosporin (CyA) on experimental focal
glomerulosclerosis (FGS) in rats.)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 阿 部 圭 志 教 授 田 上 八 朗

教 授 折 笠 精 一

論文内容要旨

【研究目的】

シクロスポリン (CyA) はネフローゼ症候群の治療薬として1980年代後半から次第に有効性が認められつつある免疫抑制剤であるが、尿細管間質障害が治療上の問題となっている。ヒトの巣状糸球体硬化症 (FGS) は難治性ネフローゼ症候群を呈し、末期腎不全に至る率も高い疾患である。この実験モデル動物に CyA, 及び免疫抑制作用が、その10~100倍強力とされるタクロリムス (FK506) を投与し、経時的な尿蛋白や腎機能の推移、腎組織像とくに腎の間質のリンパ球浸潤に及ぼす効果を検討した。

【研究方法】

齊藤らの方法に従い、Sprague-Dawley ラットの片腎を10週齢で摘出し、12週齢から合計8回のピューロマイシンアミノヌクレオシドの筋注に硫酸プロタミンの静注を併用し、FGS病変を惹起した。最終の注射から10日後より、FK506は1mg/kg, 0.3mg/kg, 0.1mg/kg, CyAは10mg/kg, 3mg/kgを連日56日間筋注によって投与した。尿蛋白排泄量、腎機能を2週間毎に経時的に測定した後、実験終了時に屠殺して腎組織像を観察するとともに免疫組織学的手法により、腎間質内のリンパ球の浸潤について検討を行なった。

【結果】

尿蛋白排泄量は対照群に比し FK506 投与群, CyA 投与群ともにいずれの投与量でも抑制され、二元配置分散分析により有意差が認められた。観察終了時の尿蛋白量は対照群では $129.6 \pm 22\text{mg}/24\text{h}$ であったが FK506 1mg/kg 群では $28.2 \pm 12.6\text{mg}/24\text{h}$, CyA 10mg/kg 群では $23.7 \pm 6.0\text{mg}/24\text{h}$ であった。しかし、これらの群では尿素窒素 (BUN) が著しく上昇し、各々 $94.4 \pm 15.6\text{mg}/\text{dl}$, $96.6 \pm 14.6\text{mg}/\text{dl}$ に達した。また、血清クレアチニン (sCr) の上昇や、クレアチニンクリアランス (CCr) の低下も有意であった。光顕的にも尿細管細胞の変性と間質の増生が明らかであった。相対的間質量を定量的に計測したが、FK506 1mg/kg 群では $20.4 \pm 6.9\%$, CyA 10mg/kg 群では $27.7 \pm 7.5\%$ に対し、対照群では $14.1 \pm 3\%$ であった。ただし、統計的有意差には達しなかった。

一方、少ない投与量の群では尿蛋白排泄量は減少し、BUNの上昇の程度は有意ではあるものの軽度にとどまり、Cr, CCrは有意差を認めなかった。観察終了時の結果を示すと、尿蛋白はFK506 0.3mg/kg 群で $27.7 \pm 9.5\text{mg}/24\text{h}$, FK506 0.1mg/kg 群が $55.4 \pm 8.7\text{mg}/24\text{h}$, CyA 3mg

/kg が $59.8 \pm 8.6 \text{ mg}/24\text{h}$ であったが BUN はそれぞれ 31.2 ± 8.2 , 30.5 ± 3.0 , $36 \pm 4.6 \text{ mg}/\text{dl}$ であった。腎組織像における相対的間質量は対照群とほぼ同程度であり、FK506 0.3mg/kg 群が $12.3 \pm 2.9\%$, FK506 0.1mg/kg 群が $10.1 \pm 1.9\%$, CyA 3mg/kg が $13.3 \pm 2.2\%$ であった。かつ対照群でみられるような間質の著しい細胞浸潤巣は観察されなかった。FK506 0.3mg/kg, 0.1mg/kg 投与した群では腎組織切片 1 mm^2 中の汎 T リンパ球 (OX19+) が 29 ± 10 個と 33 ± 11 個 (対照 54 ± 6 個), 高分子白血球共通抗原 (OX22+) が 20 ± 8 個と 30 ± 15 個 (対照 91 ± 28), 及び IL-2 レセプター陽性細胞 (OX39+) が 7 ± 3 個, 9 ± 2 個 (対照 16 ± 2 個) とそれぞれ減少していた。CyA の投与群ではいずれにおいても抑制されていなかった。

以上の結果から、FK506 は 0.1mg/kg, CyA は 3 mg/kg 程度が筋注の場合にラットに対しては腎障害が許容しうる範囲にとどまり、CyA と同様に FK506 も腎疾患に対して有効な免疫抑制剤であることが確認された。また、尿蛋白の減少効果が同程度でも、腎の間質における T 細胞には CyA に比較してより選択的な細胞性免疫の抑制効果がみられたことから、組織内での両者の作用発現が異なっていることが示唆された。

審査結果の要旨

シクロスポリン (CyA) 及びタクロリムス (FK506) は、移植療法に対する強力な免疫抑制薬として開発され、有用性の高い薬剤としてこの分野で広く用いられてきた。CyA については最近、糸球体腎炎やネフローゼ症候群に対してもその効果が注目されており、類似の性質を有する FK506 でも今後そのような観点からの使用が考えられる。これらは helper T cell (CD4⁺) に選択的に作用し、Interleukin 2 の産生や Interleukin 2 receptor (IL-2R) の発現を抑制する特異性の高い免疫抑制薬として従来から使用されているステロイド薬やシクロフォスファミドより効果的な作用が期待される。しかし、急性や慢性の腎障害、高血圧など、腎疾患の治療とは相容れない副作用も知られており、これらの薬剤の臨床応用には、動物実験等による十分な基礎的研究が必要と考えられてきた。

一方、糸球体腎炎やネフローゼ症候群などの糸球体疾患においても腎障害の進展には尿細管間質の変化が主体的役割を担っているといわれており、特に CD4⁺ 細胞とマクロファージの相互作用による遅延型過敏反応の関与が注目されてきた。

本研究では、進行性糸球体腎障害の実験モデルとしてピューロマイシンとプロタミン投与による実験的 FGS ラットを用い、それに種々の濃度の CyA や FK506 を投与し、その効果及び副作用等について検討を行った。その結果、FK506 は 0.1mg/kg、CyA は 3mg/kg 程度が筋注の場合にラットに対しては腎障害が許容しうる範囲に留まり、CyA と同様に FK506 も腎疾患に対して有効な免疫抑制剤であることが確認された。また、尿蛋白の減少効果が同程度でも、腎の間質における T 細胞には CyA に比較してより選択的な細胞性免疫の抑制効果がみられたことから、組織内での両者の作用発現が異なっていることが示唆された。糸球体障害実験モデルにおける詳細な経過から CyA や FK506 の作用について比較した研究はほとんど認められない。

本研究はこれらの薬剤の作用機序を比較し、その作用機序と有用性を明らかにした独創的な研究であり、学位授与に値すると考えられた。