

論文内容要旨

論文題目

シスチントランスポーター・xCT による腎臓の虚血再灌流障害 からの防護機構に関する研究

責任分野： 腎臓泌尿器外科学分野

氏名： 柴崎 智史

【内容要旨】(1,200 字以内)

グルタチオンは、活性酸素と直接反応してその消去を行う他に、抗酸化酵素への電子供与体となることから酸化ストレスからの防御において重要な分子であり、腎臓では虚血再灌流障害などによる急性腎不全の発症の過程で防護に働く主要な因子と考えられている。グルタチオンの重要な生理活性は還元型のみが有し、その量は生合成と酸化グルタチオンの還元リサイクルによって保たれている。グルタチオンを構成する3つのアミノ酸の中では、システインの含量が限られるため、その取り込み過程はグルタチオン合成反応の律速段階となる。システインの酸化型であるシスチンは、細胞外のグルタミン酸-シスチンの交換輸送 x_c^- 系によって取込まれ、細胞内でシステインに還元されてグルタチオン合成に利用される。 x_c^- 系は xCT と 4F2hc の二つの遺伝子産物からなり、xCT が輸送を担う本体である。xCT の健常個体における発現は一部の組織に限局しており、腎臓では発現していない。しかし、培養細胞では酸化ストレスをはじめとする刺激で発現誘導されることから、活性酸素の増加を伴う疾患でも同様に発現誘導され、生体防御に働いている可能性がある。本研究では、虚血再灌流による急性腎不全で xCT が果たす役割を明らかにするために、野生型と xCT 欠損マウスを用いて虚血再灌流モデルを作製し、腎機能と酸化的障害に関する検討を行った。生後 16~18 週齢の野生型と xCT 欠損マウスから右腎摘出後、左腎を 45 分間クリップして虚血とした。再灌流後 24 時間の時点で血液尿素窒素とクレアチニン値を測定したところ、遺伝子欠損マウス群では野生型群とヘテロ型群に比べていずれも有意に上昇していた。摘出した腎臓の組織学的解析の結果、xCT 欠損マウスの腎臓には著しい尿細管細胞の膨化、浮腫状変化と一部空胞変性があり、尿細管内に円柱の形成を認めた。DNA の酸化ストレスマーカーである 8-hydroxyl deoxyguanine と、代表的脂質過酸化産物である 4-hydroxy-2-nonenal に対する抗体を用いて免疫組織学的検討を行ったところ、いずれの抗体によっても xCT 欠損マウスで強い反応性が認められたことから、xCT 遺伝子を欠く事で酸化傷害が増強されたと考えられる。野生型マウスの腎臓における xCT mRNA の発現を RT-PCR ならびに定量的 PCR で確認したところ、健常腎では xCT は発現していないが、虚血再灌流処理を行った腎臓では誘導されていることが分かった。以上の結果から、虚血再灌流処理を行うことで腎臓に xCT が発現し、シスチンを取込んでグルタチオン合成が亢進することでレドックス能を高め、酸化ストレスから防御していることが示唆された。以上のように、通常は xCT を発現していない臓器でも、虚血再灌流のような酸化ストレスに曝される事で発現が誘導され、実際に臓器保護に働く事が明らかとなった。

平成 21年 / 月 28 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：柴崎 智宏

論文題目：腎臓の虚血再灌流障害におけるシスチントランスポーター (xCT) による防護機構に関する研究

審査委員：主審査委員

石井 邦明



副審査委員

久保田 功



副審査委員

木村 理



審査終了日：平成 21年 / 月 28 日

【 論文審査結果要旨 】

グルタチオンは活性酸素と直接反応してその消去を行うほか、抗酸化酵素への電子供与体となるため、酸化ストレスからの防御において重要な分子であり、腎臓では虚血再灌流障害などによる急性腎不全の発症過程において防御に働く主要な因子と考えられている。トリペプチドであるグルタチオン合成の律速段階は、構成アミノ酸であるシステインの細胞内への取り込みである。そして、その輸送を担っているシスチントランスポーターの本体は xCT である (システインはシスチンの形で細胞内に取り込まれる)。xCT の発現には特異性があり健常状態の腎臓における発現は明らかではないが、酸化ストレスによってその発現が誘導される可能性が考えられる。

柴崎智宏氏は、これらの背景をもとに、虚血再灌流による急性腎不全の発症において xCT が何らかの役割を果たしている可能性を明らかにするために、xCT 欠損マウスを用いて本研究を行った。

右腎を摘出した野生型マウスおよび xCT 欠損マウスにおいて左腎動静脈をクリップし、45 分間虚血状態とした後に再灌流を行った。再灌流開始 24 時間後に血清尿素窒素 (BUN) およびクレアチニン (Cr) を測定し腎機能を評価するとともに、摘出した腎臓を用いて組織学的・生化学的・分子生物学的方法により腎臓に関する検討を行った。結果は以下の通りである。

腎虚血再灌流 24 時間後の血清 BUN および Cr 値は、野生型群・xCT ヘテロ欠損群と比較して、ホモ欠損群において有意に上昇しており、ホモ欠損マウスにおける腎機能の低下が考えられた。組織学的には、xCT ホモ欠損マウス群において、尿細管細胞の膨化、浮腫状変化、空胞変性などが認められ、野生型マウスと比べ、強い腎障害が明らかであった。また、DNA の酸化ストレスマーカーである 8-OHdG および代表的な脂質過酸化反応物である HNE に対する抗体を用いて免疫組織化学的検討を行った結果、xCT ホモ欠損マウスにおいて両者に対する強い反応性が認められ、野生型群と比べ強い酸化ストレスに曝されているものと思われた。PCR 法によって腎臓における xCT mRNA の発現を検討したところ、野生型マウスの腎臓においては、虚血再灌流によって xCT mRNA の発現量が疑似処理群に比べて 8 倍も多くなっていることが明らかとなった。また、ホモ欠損マウスに xCT mRNA の発現が認められないことを確認した。

以上の結果より、虚血再灌流によって腎臓に xCT の発現が誘導され、その結果グルタチオン合成が亢進してレドックス能が高まり、酸化ストレスに対する防御機構として機能している可能性が示唆された。

本研究は、酸化ストレスに対する防御機構に関する新たな知見を示すものである。結果の解釈も適切であり、審査会は学位 (医学博士) を授与するに値するものと判定した。

(1, 200字以内)