

アミノヌクレオシドネフローゼの発症機序

遠藤 仁*、高橋 剛、野坂 和男

要約： ヒトの微小変化型ネフローゼの動物モデルとして puromycin aminonucleoside (PAN) をラットに投与して作製する PAN ネフローゼの発症機序を検索した。プリン代謝の過程で産生される活性酸素を adenosine deaminase (ADA) 阻害薬で間接的に低下させるとネフローゼの発症が予防されると同時に発症後にも治療効果を示した。又この疾患の発症がラットとサルに限定されることは、両動物種の糸球体における ADA 活性が高いことで説明できる。

見出し語： アミノヌクレオシドネフローゼ、プリン代謝、アデノシンデアミナーゼ、活性酸素

序 言

ヒトの微小変化型ネフローゼ症候群のモデルとして puromycin aminonucleoside (PAN) が使用されてから 30 年以上を経過するが、その発症機序は未だ不明である。PAN がラットとサルにのみネフローゼを発症させ、その他の実験動物には何等変化を与えないのも一つの大きな謎である。

他方、各種原因不明の疾患の発症に活性酸素群 (ROS; reactive oxygen species) の関与が示唆されている。PAN の化学構造は adenosine に類似しており、実際に ATP の分解過程と一部代謝に共通性を有する。図 1 にプリンと PAN の代謝図を示すが、ROS の一つの活性酸素 (O_2^-) は xanthine oxidase (XOD) により産生される。従って本研究においては図 1 に記されるような代謝系で実際に病態が発症するか否かを明らかにする目的で、プリン代謝の諸酵素のラット腎より単離した単一ネフロン各分節内分布と酵素阻害薬の効果を検討した。併せて、PAN ネフローゼの

発症における種差についても追求を試みた。

研究発表

(1) 動物及び処置

雄性 SD ラット (150–180g 体重) を用い、ネフローゼの発症には PAN を 100mg/kg 1 回皮下注射を行い、対照には生理食塩水を投与した。ネフローゼ発症の予防及び治療を目的として adenosine deaminase (ADA) の阻害薬の deoxycoformycin (DCF) を 1mg/kg、PAN 投与 6 時間前と投与 1 週間後に腹腔内に投与した。

(2) 尿タンパクの測定

24 時間蓄尿中のタンパク量は、尿を 10% 三塩素酢酸で変性させ遠心後の沈渣を Lowry の方法¹⁾ で定量した。

(3) ネフロンの単離

正常及び PAN ネフローゼラットの腎を 0.1% collagenase で処理し、ネフロン構成各セグメントを実体顕微鏡下に単離した。²⁾ 種差の検索に際しては、ラットに加えマウス、モル

* 東京大学医学部薬理学教室

Hitoshi Endou

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Tokyo

Catabolic Map of Purine and PAN

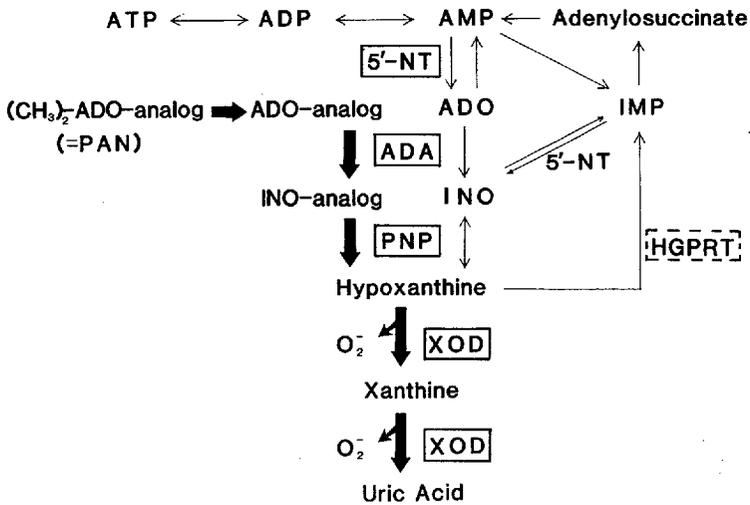


図1. プリン及びPANの代謝模式図。黒く太い矢印はPANの代謝を示し、四角の枠で囲んだ酵素のネフロン内分布は図2に示されている。酵素の略字は本文中を参照されたい。HGPRT ; hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase.

モット、ウサギ、イヌ、サル、の腎から糸球体を同様に採取した。

(4) 酵素活性の測定

測定したプリン代謝の酵素は図1で実線により四角に囲んだ4種とSOD (superoxide dismutase) の計5種類である。5'-NT (5'-nucleotidase) と ADA 活性はそれぞれ AMP と ADO を基質に産生される NH₃ を酵素的サイクリング法を結合させ超微量測定法³⁾により、PNP (purine nucleoside phosphorylase) は放射性 INO (inosine) からの放射性 hypoxanthine 量を高速液クロにより、又 XOD と SOD は既報のマイクロゲル法^{4,5)}により測定した。

(5) 単離ネフロン分節内タンパク量の測定

Lowry の方法を微量測定に改良して測定した。⁶⁾

結 果

(1) 尿中タンパク量に及ぼす DCF の効果

昭和62年度の研究報告書に図示したが、PAN ネフローゼラット尿中には投与4日目以降に著しい尿中タンパクの増加を認めるが、ADA 抑制薬の DCF の前投与によりその発症は完全に抑制された。その上、発症後においても DCF は有意に尿中タンパク量を低下させた。従って PAN ネフローゼの発症においての ADA の重要性が強く示唆された。

(2) ラット単離ネフロン内プリン代謝酵素及び SOD の活性分布

図2に各酵素活性のネフロン内分布を示した。横軸にはネフロン分節を尿流に沿って糸球体から集合尿管までを、縦軸には図1のプリン代謝に沿った各酵素と SOD 活性を組織タンパク量当りの比活性が最大のものを100

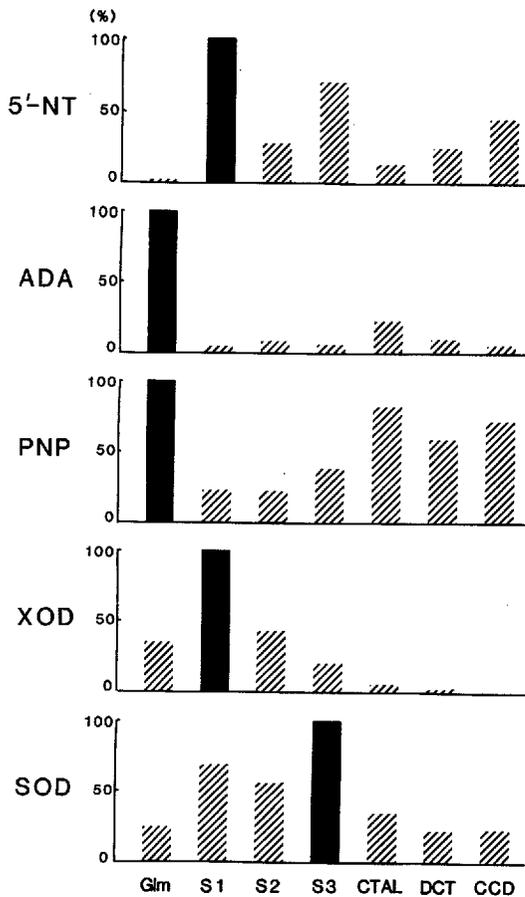


図2. プリン代謝の4酵素とSODの正常ラット単一ネフロン内分布。各ネフロン分節の組織タンパク量で除した酵素の比活性で最大値を100として他のセグメントの活性を示した。ネフロンの略語：Glm；糸球体，S₁-S₃；近位尿細管起始部，中間部，終末部，TAL；太いヘレンの係蹄上行脚，DT；遠位尿細管，CCT；皮質部集合尿細管。

とした相対比で図示した。

PANがadenosine類似物質としてプリン代謝系に入る最初の酵素のADAとそれに続くPNPは糸球体に高い活性を有し，反面5'-NTやXOD，SODは近位尿細管起始部(S₁)に最大活性が検出された。図には示

していないが，PANラットの糸球体内ADA活性は傍髄質糸球体で有意の活性誘導が認められた。

(3) 各種動物糸球体内ADA活性の比較

図3に6種動物の糸球体内ADAの対タンパク比活性を示す。従来からPANネフローゼの発症が良く知られているラットとサルの糸球体にはADA活性が高く，これに対してPANネフローゼが発症しないモルモット，イヌ，ウサギ，マウスの糸球体にはADA活性が低値を示した。

考 察

ヒトの腎疾患の病態生理の解明と治療法の開発に向けての一手段として実験動物モデルを研究の対象とした。PANネフローゼは古くから良く知られたモデルで，比較的容易にしかも再現性の良いモデルである。このPANの化学構造がadenosineに類似していること，虚血再灌流による腎障害モデルにおけるROS産生との生化学的背景に共通性を見出すこと，等から本研究が出発した。

プリン代謝酵素のネフロン内分布の研究は未だ詳細な報告がなく，特にADAやPNPが糸球体に最大活性を有することは全く予期できなかった新知見であった。XODからのROS産生がPANネフローゼ発症に関与していることを示唆したのはDiamondら⁷⁾で，XODの阻害薬のallopurinolやO₂⁻の消去酵素のSODがPANネフローゼの尿中タンパクを有意に低下させることを報告した。我々も後者は追認できたが，前者は再現できなかった。その後Thakurら⁸⁾はROSの中の水酸化ラジカル(HO[•])の消去薬がPANネフローゼの尿タンパクを有意に低下させることを報告した。ROSの中のいくつかの分子種はお互いに変換可能なので，これらの報告からROSのPANネフローゼの発症への関与は益々可能性が高くなったと云って良い。

ADA抑制薬のDCFの作用は特異性が高

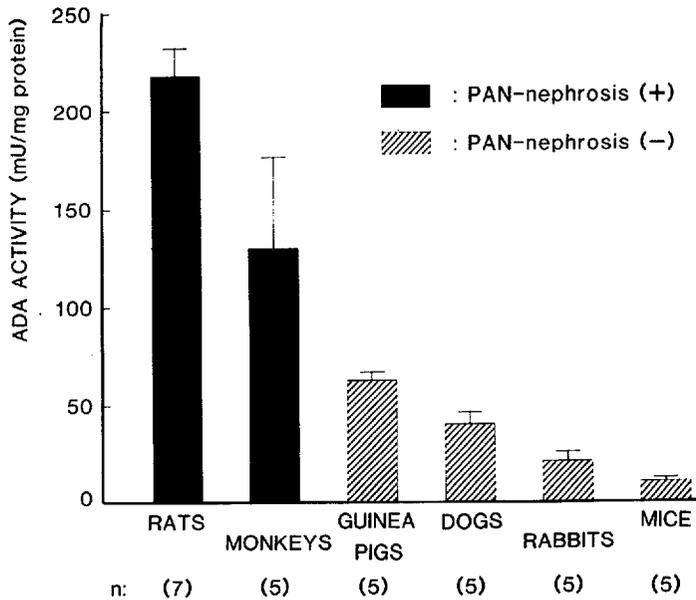


図3. 各種動物の糸球体内ADA活性

く、その作用の持続時間も週に及ぶ長いものである。しかしDCFの作用機序はPANとの関連では未だ十分に理解されてはおらず、腎疾患治療薬として目下良く用いられているdipyridamoleやdilazepなどのadenosine potentiatorとしてadenosineの生体内半減時間を延長させる点を将来的に追求する必要があるかも知れない。何故ならばadenosineは図1で分るように、細胞内ではプリン代謝の中で O_2^- 産生を亢進する可能性があるが、細胞外からはadenosine受容体(A_2)を刺激して細胞内cAMP濃度を上昇させ、ROS産生を抑制させる効果が推定されるからである。又図1の点線で囲んだhypoxanthineからIMPを通してAMPの産生に戻る所謂サルベージ回路のHGPRTのネフロン内分布、特にPANネフローゼにおける役割の解明が待たれる。

各種動物の糸球体ADA活性の相違とPANネフローゼの発症との関連性は現時点においては一つの傍証にすぎないが、PANの体内

代謝の詳細な解明により30年来の謎は解かれるかも知れない。以上、一つの動物モデルの知見に過ぎないが、ヒトの腎疾患研究への何らかのヒントになれば幸である。

文 献

- 1) Lowry, O. H. et al.: J. Biol. Chem., 193:265(1951)
- 2) Endou, H.: Japan. J. Pharmacol., 33:423 (1982)
- 3) Nonoguchi, H. et al.: Pflügers Arch., 403:229(1985)
- 4) Endou, H. et al.: In: Molecular Nephrology, 347(1987)
- 5) Endou, H. et al.: In: Nephrotoxicity of Antibiotics and Immunosuppressants., 207 (1986)
- 6) Shimada, H. et al.: Japan. J. Pharmacol., 32:131(1982)
- 7) Diamond, J. R. et al.: Kidney Int., 29:478 (1986)
- 8) Thakur, V. et al.: Kidney Int., 34:494 (1988)



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:ヒトの微小変化型ネフローゼの動物モデルとして puromycin aminonucleoside(PAN)をラットに投与して作製する PAN ネフローゼの発症機序を検索した。プリン代謝の過程で産生される活性酸素を adenosine deaminase(ADA)阻害薬で間接的に低下させるとネフローゼの発症が予防されると同時に発症後にも治療効果を示した。又この疾患の発症がラットとサルに限定されることは、両動物種の糸球体における ADA 活性が高いことで説明できる。