

# 学 位 論 文 要 旨

氏名 美谷 沙和音

題 目：イヌとネコの慢性腎臓病の病態機序における腎内レニン・アンジオテンシン系の関与

## 論文要旨：

慢性腎臓病 (CKD; Chronic Kidney Disease) は、腎臓の機能と構造が長期にわたり異常をきたした疾患概念であり、イヌやネコでも臨床上の大きな問題になっている。しかしながら、イヌとネコの CKD の診断や治療は、ヒトや実験動物で得られた情報が基礎になっており、動物種の特性はほとんど考慮されていない。近年、レニン・アンジオテンシン系 (RAS) の活性化が CKD のリスクファクターとなることが知られるようになり、RAS の抑制剤による腎保護効果が注目されているが、イヌとネコでは CKD の病態と RAS との関連性について不明な点が多い。特に、腎臓の線維化の機序に深く関与する腎内 RAS についてはほとんど研究が行われていない。そこで、本研究では、イヌとネコの CKD の病態機序における腎内 RAS の関与について検索を行った。

第一章では、RAS の律速酵素であるレニンおよび最終産物であるアンジオテンシン (Ang) II について免疫組織化学的検索を行った。病理解剖されたイヌ 22 頭、ネコ 13 頭の腎臓を使用し、病理組織学および免疫組織化学的に精査した。レニンおよび Ang II の陽性シグナルは定量的に評価し、血漿クレアチニン (pCre) 値と組織障害パラメータ (腎小体の直径、糸球体の硬化度、間質の線維化および間質への細胞浸潤) との相関関係を求めた。まず、組織学的重症度と pCre 値との関連性を解析し、イヌでは糸球体障害と尿管間質障害の双方が pCre 値と関連するが、ネコでは間質の線維化のみが pCre 値と関連することが示された。レニンの陽性シグナルは、糸球体近傍の血管壁に観察された。陽性スコアは、イヌでは腎小体の直径とのみ正の相関を示し、ネコでは如何なるパラメータとも有意な相関を認めなかった。Ang II の陽性シグナルは、近位尿細管と間質の単核細胞で観察された。イヌでは、間質の陽性スコアは pCre 値および各種パラメータとの間に有意な正の相関を示した。ネコでは、有意な相関はほとんど認められず、陽性スコアは pCre 値や間質の線維化 (pCre 値と関連) との間に有意な相関を示さなかった。以上の結果から、イヌの CKD では腎臓内 Ang II の増加が病態の進行に関与するが、ネコでは関与しないことが示唆された。

第二章では、RAS の反応系後半の鍵となる ACE および ACE のホモログである ACE2 について免疫組織化学的に検索を行った。検索には病理解剖されたイヌ 22 頭およびネコ 13 頭の腎臓サンプルを使用した。また、糸球体腎炎と診断されたイヌ 6 頭の腎生検サンプルも使用した。ACE および ACE2 の陽性反応を定量的に評価し、pCre 値と組織障害パラメータとの相関関係を求めた。ACE の陽性シグナルは主に近位尿細管上皮の刷子縁で観察された。定量分析では、イヌでは pCre および様々なパラメータとの間に負の相関関係が認められ、特に髄質の外帯で顕著であった。ネコでは如何なる相関関係も認められなかった。ACE2 の陽性シグナルも近位尿細管上皮に観察され、糸球体近傍の血管壁にも陽性シグナルは観察された。定量分析では、イヌでは、陽性スコアは pCre 値および様々なパラメータとの間に有意な相関を示したが、それは腎臓の部位で異なっていた。皮質と髄

(別紙様式第 3 号)

質外帯では負の相関関係が認められたが、髄質内帯および血管壁では正の相関関係が認められた。ネコでは、有意な相関はほとんど認められず、pCre 値や間質の線維化 (pCre 値と関連) との間に有意な相関は認められなかった。なお、糸球体腎炎と非糸球体腎炎との間に明らかな違いは認められなかった。以上の結果から、イヌでは CKD の病態に腎臓内の ACE と ACE2 の増減が関与するが、ネコでは関与しないことが示唆された。

上記のように、本研究では、イヌとネコの CKD の病態と腎内 RAS との関連性を解析し、RAS を介した CKD の病態機序がイヌとネコで異なっていることを明らかにした。最も興味深いのは ACE に関する結果であり、イヌでは、腎臓内 ACE は腎障害の進行とともに減少していると考えられた。これには、Ang II の増加と ACE2 の減少が鍵となる可能性が考えられた。ACE2 は RAS の新しい構成因子であるが、その作用は ACE とは異なり腎臓の保護に役立つ。イヌの腎臓内 ACE の減少は、Ang II の増加と ACE2 の減少という腎障害機序に呼応して起こった自己防衛的な腎保護作用を反映しているのかもしれない。一方、ネコでは CKD の病態に腎内 RAS が重要な役割を担っていないことが示唆された。ネコの CKD では、ACE 阻害薬の投与が明らかな臨床的効果を発揮しないことが報告されており、本研究はその機序の一端を解明したものと考える。今後、RAS 以外の病態関連因子についてもイヌとネコの特徴を解明していくことで、動物種の特徴に沿った新規の CKD の診断および治療戦略が構築されると期待される。

## 学位論文審査の結果の要旨

氏 名	美谷 沙和音
審 査 委 員	主 査： 鹿児島大学 准教授 矢吹 映
	副 査： 鹿児島大学 教授 大和 修
	副 査： 鹿児島大学 教授 三好 宣彰
	副 査： 鹿児島大学 教授 遠藤 泰之
	副 査： 鳥取大学 准教授 保坂 善真
題 目	イヌとネコの慢性腎臓病の病態機序における腎内レニン・アンジオテンシン系の関与

### 審査結果の要旨：

慢性腎臓病 (CKD; Chronic Kidney Disease) は、長期にわたる腎障害を無症状期から包括的にとらえるために確立された新しい疾患概念である。CKD の進行メカニズムは複雑であり、特に、レニン・アンジオテンシン系 (RAS) の活性化は主要なリスクファクターとして知られている。RAS には全身性 RAS と局所 RAS があり、腎臓内で独立している局所 RAS、すなわち腎内 RAS が CKD の進行に重要であると考えられている。しかしながら、イヌとネコでは腎内 RAS に関する研究は行われていない。申請者は、この点に着目し、イヌとネコの CKD における腎内 RAS の関与を明らかにすることを目的とした研究を行った。

第一章では、まず、イヌとネコの CKD の病理組織学的特徴を明らかにするために組織計測学的検索を行った。次いで、レニンおよびアンジオテンシン (Ang) II について免疫組織化学的検索を行った。材料には、病理解剖されたイヌ 22 頭、ネコ 13 頭の腎臓を使用した。組織学的重症度は、腎小体の直径、糸球体の硬化度、間質の線維化および間質への細胞浸潤を定量することで評価した。レニンおよび Ang II の陽性シグナルも定量的に評価した。まず、組織学的重症度と血漿クレアチニン (pCre) 値との関連性を解析し、イヌでは糸球体障害と尿細管間質障害の双方が pCre 値と相関するが、ネコでは間質の線維化のみが pCre 値と相関することを示した。レニンの陽性シグナルは糸球体傍細胞にのみ観察された。レニン陽性スコアは、イヌでは腎小体の直径とのみ正の相関を示し、ネコでは組織障害値との間に有意な相関を示さなかった。Ang II の陽性シグナルは近位尿細管と間質の単核細胞で観察された。イヌでは、間質の Ang II 陽性スコアが pCre 値および各種組織障害値との間に有意な正の相関を示した。ネコでは有意な相関はほとんど認められなかった。以上の結果から、イヌとネコでは CKD の病理組織学的特徴が異なっており、その進行における RAS の関与も異なっていることを明らかにした。

レニンについては、その局在から全身性 RAS を反映するものと考察した。イヌでみられた腎小体直径との相関は、全身性 RAS の活性化に伴う糸球体の肥大に関連すると考察した。Ang II については、その局在から腎内 RAS を反映していると考察した。統計解析の結果からは、イヌでは CKD の進行に腎内 RAS の活性化が関与するが、ネコでは関与しないことを明らかにした。

第二章では、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) および ACE のホモログである ACE2 について免疫組織化学的検索を行った。検索には、病理解剖したイヌ 22 頭およびネコ 13 頭の腎臓サンプルに加えて、糸球体腎炎と診断されたイヌ 6 頭の腎生検サンプルも使用した。ACE および ACE2 の陽性シグナルは定量的に評価した。ACE の陽性シグナルは主に近位尿細管上皮の刷子縁で観察した。統計解析では、イヌで pCre 値および様々な組織障害値との間に負の相関関係が認められ、特に髄質の外帯で顕著であることを示した。ネコでは相関関係が認められなかった。ACE2 の陽性シグナルは、近位尿細管、遠位ネフロンおよび小血管で観察された。統計解析では、イヌで pCre 値および様々な組織障害値との間に有意な相関が認められたが、それは腎臓の部位で異なっていた。皮質と髄質外帯では負の相関関係が認められたが、髄質内帯および血管では正の相関関係が認められた。ネコでは有意な相関はほとんど認められなかった。糸球体腎炎と非糸球体腎炎との間には明らかな違いは認められなかった。以上の結果から、イヌの CKD では、腎内の ACE 発現は減少し、ACE2 は部位により増減することが明らかになった。腎内 ACE2 の減少は CKD の進行メカニズムに関与し、ACE の減少と ACE2 の上昇は腎障害に呼応して起こる自己防御的な保護作用であると考察した。また、ネコでは腎内の ACE および ACE2 は CKD の進行に関与しないことも示唆した。

本論文は、これまで不明であったイヌとネコの CKD の病態機序を解明したものであり、臨床的および病理学的に高い意義を持つと考えられた。組織学的および免疫組織化学的手法を用いているが、定量的に解析することによって客観性のある科学的なデータが多く集積されていた。得られたデータは統計学的手法を用いて正しく解析されており、結果の意味するところも最新の文献を多数引用しながら適切に考察されていた。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位に十分に値すると判断した。