

研究種目:若手研究(B)
研究期間:2008 ~ 2009
課題番号:20790605
研究課題名(和文) 全一酸化窒素合成酵素ノックアウトマウスにおける腎間質線維化機序の解明
研究課題名(英文) Genetic disruption of all nitric oxide synthase isoforms causes accelerated renal interstitial fibrosis in mice in vivo
研究代表者 森貞直哉 (MORISADA NAOYA)
産業医科大学・医学部・非常勤医師
研究者番号:00389446

研究成果の概要(和文):一酸化窒素合成酵素(NOS)が生体内でどのような役割を示しているかはまだよくわかっていないため、私たちはNOSを完全に欠損したマウスを作成し、NOSの生体内での役割について検討している。私はNOSの腎保護作用について、片側尿管結紮モデルを用いて検討した。NOS完全欠損マウスでは野生型に比べ有意な腎障害増悪を認め、その機序にレニン・アンギオテンシン系(RAS)が関与していることを解明した。

研究成果の概要(英文): The roles of the nitric oxide synthase (NOS) system in vivo still remain to be fully elucidated. We have recently developed mice in which all three NOS isoforms are completely disrupted. I have studied about the roles of the NOS system in renal lesion formation after UUO in triply NOS disrupted mice. We found that complete deletion of the NOS system caused accelerated renal lesion formation in mice in vivo, and renin-angiotensin system was associated in the mechanism.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,400,000	420,000	1,820,000

研究分野:腎臓内科学

科研費の分科・細目:内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード:一酸化窒素合成酵素、腎間質線維化、片側尿管結紮、レニン・アンギオテンシン系

1. 研究開始当初の背景

生体内に3系統存在する一酸化窒素合成酵素 (NOS) の役割は、NOS 阻害薬や単一あるいは2つの NOS をノックアウトしたマウスを使って検討されてきた。しかし、NOS 阻害薬には非特異的な作用があること、また単一もしくは2つの NOS 欠損マウスでは残存した NOS が欠失した NOS を代償することが判明しており、生体内における NOS の役割については未だよくわかっていない。一方で、近年末期腎不全患者が増大している。慢性腎不全の進展機序に腎間質線維化が関与していることが明らかとなっているが、その線維化機序は十分に明らかに放っておらず、生体内の NOS が保護的に作用しているのか障害的に作用しているのかも不明である。

2. 研究の目的

われわれは3系統の NOS を完全に欠損したマウス (triple NOS knockout mouse) を作成し、生体内における NOS の腎間質線維化機序に対する役割を検討した。

3. 研究の方法

10-12週齢のオスの野生型マウス及びnNOS, iNOS, eNOSの各single NOS knockout マウス、およびtriple NOS knockout マウスを実験に使用した。一側の尿管を結紮し、3~14日後に腎病変形成の程度を評価した。またその機序にレニン-アンジオテンシン系が関与しているか否かを検討するために、アンジオテンシンII受容体拮抗薬を投与してその病理学的変化を検討した。

4. 研究成果

一側尿管結紮後には、野生型マウス・triple NOS knockoutマウスともに、有意な腎間質線維化、尿管上皮アポトーシス、および糸球体硬化が認められた (各 $P<0.05$)。しかし、これらの病変形成の程度は何れも、野生型マ

ウスに比してtriple NOS knockoutマウスで著明に増悪していた (各 $P<0.05$)。更に、triple NOS knockoutマウスの腎臓では、有意なTGF- β 発現の亢進、炎症性マクロファージの浸潤、および間葉系細胞マーカーである α -smooth muscle actin発現の増加も認められた (各 $P<0.05$)。triple NOS knockoutマウスでは有意な腎臓ACE活性の亢進が認められ ($P<0.05$)、更に、アンジオテンシンII 1型 (AT1) 受容体拮抗薬olmesartanを14日間経口投与すると、triple NOS knockoutマウスに見られた上記異常所見はすべて有意に抑制された (各 $P<0.05$)。以上の結果から、NOSシステムが腎病変形成に対して保護的役割を果たしていることを明らかにした。この機序には、AT1受容体を介したTGF- β 発現亢進、炎症、および上皮間葉転換 (EMT) が関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

なし (投稿中)

[学会発表] (計8件)

① 森貞直哉、渡辺聖二、野村 昌良、佐羽内研、松本哲朗、下川宏明、柳原延章、白幡聡、楠原浩一、筒井正人、Protective Role of Nitric Oxide Synthase System Against Renal Remodeling: Lesson From Mice Lacking All Three Nitric Oxide Synthase Isoforms、第74回日本循環器学会、京都、2010年3月6日

② Naoya Morisada, Masato Tsutsui, Yumi Furuno, Tetsuro Matsumoto, Masahito Tamura, Hiroaki Shimokawa, Akira Shirahata, Koichi Kusahara, Nobuyuki Yanagihara, Accelerated Renal Lesion Formation in Mice Lacking Entire Nitric Oxide Synthase System, American Society of Nephrology 2009, San Diego, 2009年10月29日

③森貞直哉、筒井正人、古野由美、渡邊聖二、野村昌良、松本哲郎、下川宏明、柳原延章、白幡 聡、芹野良太、田村雅仁、腎病変形成に対する NO 合成酵素システムの保護的役割、第 1 回腎と高血圧研究会、東京、2009 年 7 月 4 日

④Naoya Morisada, Masato Tsutsui, Masayoshi Nomura, Ken Sabanai, Seiji Watanabe, Tetsuro Matsumoto, Hiroaki Shimokawa, Akira Shirahata, Nobuyuki Yanagihara, Genetic Disruption of All Nitric Oxide Synthase Isoforms Causes Accelerated Renal Lesion Formation in Mice in Vivo, 第 73 回日本循環器学会、大阪、2009 年 3 月 22 日

⑤Naoya Morisada, Masato Tsutsui, Masayoshi Nomura, Ken Sabanai, Seiji Watanabe, Tetsuro Matsumoto, Hiroaki Shimokawa, Akira Shirahata, Nobuyuki Yanagihara, Genetic Disruption of All Nitric Oxide Synthase Isoforms Causes Accelerated Renal Lesion Formation in Mice in Vivo, American Society of Nephrology 2008, Philadelphia, 2008 年 11 月 6 日

⑥森貞直哉、筒井正人、野村昌良、佐羽内研、谷本昭英、渡邊聖二、西井久枝、松本哲郎、笹栗靖之、下川宏明、柳原延章、白幡 聡、尿管結紮後の腎病変形成における NO 合成酵素系の保護的役割: NO 合成酵素完全欠損マウスにおける検討、第 43 回日本小児腎臓病学会、福岡市、2008 年 6 月 14 日

⑦森貞直哉、筒井正人、野村昌良、佐羽内研、谷本昭英、渡邊聖二、西井久枝、松本哲郎、下川宏明、笹栗靖之、柳原延章、白幡 聡、尿管結紮後の腎病変形成における NO 合成酵

素システムの腎保護作用: NO, ARB の腎保護効果、第 51 回日本腎臓学会、福岡市、2008 年 5 月 31 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森貞 直哉 (MORISADA NAOYA)
産業医科大学・医学部・非常勤医師
研究者番号: 00389446