

学 位 論 文 題 名

2 型糖尿病モデル動物である
OLETF ラットにおける塩酸テモカプリルによる
早期糖尿病腎症抑制効果についての検討

学位論文内容の要旨

I. 緒言

糖尿病腎症の発症阻止、進展抑制のためには血糖のコントロールが最も重要であるのは言うまでもないが、すべての患者が糖尿病による合併症を発症しない血糖コントロールを維持することは現実的には難しい。そのため糖尿病腎症の発症を阻止し、またその進展を抑制する薬剤の開発、その有効性の検討が急務となっている。ACE 阻害剤はすでに臨床の場で高血圧患者に多く使用されている薬剤で、以前から糖尿病腎症進展抑制効果について報告されている。また最近では、アンジオテンシン II (Ang II) 受容体拮抗薬による糖尿病腎症進展抑制効果についても報告されてきており、Ang II の作用を阻止することが糖尿病腎症進展抑制につながると考えられている。本研究では ACE 阻害剤である塩酸テモカプリル (以下テモカプリル) を用い、腎での病変が 2 型糖尿病患者の腎症と類似しており、肥満、インスリン抵抗性といった特徴を併せ持っている 2 型糖尿病モデルラットの Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) を用い、早期腎症の抑制効果についての検討を行った。

II. 材料と方法

22 週齢の OLETF ラットをランダムに無投薬群 (以下 DM 群)、テモカプリル投与群 (以下 ACEI 群) の 2 つのグループに分けた。また週齢数をマッチさせた LETO ラットを正常コントロールとして使用した (以下コントロール群)。テモカプリルは 22 週齢から飲水に混ぜて投与した。経時的に OLETF ラット、LETO ラットの体重、血糖値、尿蛋白排泄量、血圧、クレアチニンクリアランスを測定した。さらに、それぞれの群の 40 週齢のラットを用い糸球体内圧、平均動脈圧を測定し、またそれぞれの糸球体体積、糸球体に占めるメサンギウム領域比、糸球体基底膜の厚さ、糸球体基底膜における陰性荷電粒子数の変化等、糖尿病腎症腎組織の評価を行った。

III. 結果

1. 体重、血糖値および血圧の推移

体重は 24 週齢から 40 週齢で常に DM 群と ACEI 群はコントロール群に比べ大きく、40 週齢時における

体重は DM 群(737.3±24.2g) , ACEI 群(700.8±11.6g)はコントロール群(567.2±12.9g)に比べて有意に大きかった。血糖値は 20 週齢から 40 週齢で常に DM 群と ACEI 群はコントロール群に比べ高く、40 週齢時における血糖値は DM 群(188.8±10.0mg/dl) , ACEI 群(162.3±7.6mg/dl)はコントロール群(116.4±3.0mg/dl)に比べて有意に高かった。また有意差はないが ACEI 群は DM 群より低い傾向にあった。収縮期血圧は 10 週齢では各群間に有意差はなかった。20 週齢では DM 群, ACEI 群はコントロール群に比べ有意に高かったが、30 週齢, 40 週齢では ACEI 群(それぞれ 120.1±2.2mmHg, 112.9±4.6mmHg)は DM 群(それぞれ 155.5±4.9mmHg, 140.5±4.3mmHg) に比べ有意に低下していた。

2. 腎の機能的および組織学的評価

クレアチニンクリアランスは 20 週齢から 40 週齢で常に DM 群はコントロール群に比べ高く、また 30 週齢時, 40 週齢時において ACEI 群 (それぞれ 2.82±0.19, 2.61±0.4ml/min) は DM 群 (それぞれ 5.85±0.31, 5.61±0.6ml/min) に比べ有意に改善していた。尿蛋白排泄量は DM 群において 20 週齢から 40 週齢にかけて尿蛋白排泄量が急増しているのに対し, ACEI 群ではほぼ一定で、40 週齢時では ACEI 群(43.8±14.7mg/day) は DM 群(185.3±26.2 mg/day)に比べ有意に低下していた。糸球体内圧は ACEI 群(46.9±2.0mmHg)は DM 群 (57.5±3.8mmHg)に比べ有意に低下した。平均動脈圧は ACEI 群(102.1±2.7mmHg)で DM 群(115.8±2.3mmHg) に比べ有意に低下した。組織学的な検討では糸球体体積は ACEI 群(15±0.6x10⁵ μm³)で DM 群(21.5±0.7x10⁵ μm³)に比べ有意に減少した。また糸球体に対するメサンギウム領域比は ACEI 群(16.5±0.4%)で DM 群(23.3±0.6%)に比べ有意に減少した。糸球体基底膜の厚さは ACEI 群(225.5±4.9nm)で DM 群(269±5.6nm)に比べ有意に減少した。糸球体基底膜の陰性荷電粒子数は ACEI 群(18.7±0.4/1000nm)で DM 群(17.3±0.4/1000nm) に比べ有意に改善した。

IV. 考察

ACE 阻害剤の作用点にあたる Ang II は、糸球体輸出細動脈を収縮させ、その結果糸球体内圧は増加し糸球体過剰濾過を起こすことにより尿蛋白の増加をもたらすとされる。またこうした糸球体高血圧とは別に、Ang II は細胞増殖促進作用、細胞肥大作用、細胞外基質蛋白の産生促進作用により硬化性病変を促進し糖尿病腎症メサンギウム細胞の陰性荷電粒子を構成するヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) の生成を抑制すると考えられている。糸球体基底膜の charge barrier として作用している HSPG の生成抑制作用は尿蛋白出現の原因の一つとなる。本研究において、ACE 阻害剤であるテモカプリルは糸球体内圧を低下させ、クレアチニンクリアランスも改善し糸球体過剰濾過を改善させた。さらに尿蛋白排泄量も DM 群では増加していくのに対し、ACEI 群では抑制されていた。また組織学的検討でも糸球体体積の減少、糸球体に占めるメサンギウム領域比の減少、糸球体基底膜の肥厚の改善、陰性荷電粒子数の改善などを認めた。これらの結果よりテモカプリルは Ang II の多彩な作用を阻止することにより腎組織学的所見の有意に改善し、また charge barrier の破綻を抑制し、糸球体血圧や尿蛋白を改善したものと考えられた。他にも ACE 阻害剤には、インスリン抵抗性を改善させる作用があると考えられており、今回の結果でも ACEI 群の血糖値は DM 群に比べ有意な差はなかったが低下傾向であった。OLETF ラットのような肥満、高インスリン血症のある場合にはインスリン抵抗性の改善作用により血糖値の低下をもたらす、腎症の進展抑制に関与した可能性も考えられた。

V. 結語

2 型糖尿病モデルラットである OLETF ラットを用いてテモカプリルによる糖尿病腎症抑制効果についての検討を行い、早期からの投与により尿蛋白排泄量，糸球体内圧，腎組織学的所見の有意な改善や charge barrier の破綻抑制が確認された。以上の結果より、より早期からの治療介入が糖尿病腎症の発症，進展の阻止に大きく寄与することが確認でき，特に OLETF ラットのもつ特徴，すなわち肥満，高血圧を併せ持つ 2 型糖尿病患者には効果的である可能性が考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 池 隆 夫
副 査 教 授 北 畠 顕
副 査 教 授 吉 岡 充 弘

学 位 論 文 題 名

2 型糖尿病モデル動物である

OLETF ラットにおける塩酸テモカプリルによる

早期糖尿病腎症抑制効果についての検討

本研究は、アンジオテンシン変換酵素阻害剤（ACE 阻害剤）である塩酸テモカプリルを、腎での病変が 2 型糖尿病患者の腎症と類似し、肥満、インスリン抵抗性といった特徴を併せ持っている 2 型糖尿病モデルラットの Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty（OLETF）ラットに投与し、代謝・循環パラメーター、腎組織の評価により早期腎症の抑制効果を検討したものである。

1 型糖尿病患者や動物の糖尿病腎症に対する ACE 阻害剤の有効性は以前から報告されているが、2 型糖尿病患者や動物の早期腎症に対する ACE 阻害剤の有効性を、代謝・循環パラメーターや病理組織学所見などを含めて総合的に評価した報告は皆無である。

検討に際しては、22 週齢の OLETF ラットを無作為に無投薬群（以下 DM 群）と塩酸テモカプリル投与群（以下 ACEI 群）の 2 つのグループに分け、塩酸テモカプリルは 22 週齢から飲水に混ぜ投与した。また週齢数をマッチさせた LETO ラットを正常コントロールとして使用した（以下コントロール群）。経時的に OLETF ラット、LETO ラットの体重、血糖値、尿蛋白排泄量、血圧、クレアチニンクリアランスを測定した。さらに、それぞれの群の 40 週齢のラットを用い糸球体内圧、平均動脈圧を測定し、また糸球体体積、糸球体に占めるメサンギウム領域比、糸球体基底膜の厚さ、糸球体基底膜における陰性荷電粒子数の変化等、腎組織所見の評価を行った。

塩酸テモカプリルは糸球体内圧を低下させ、クレアチニンクリアランスも改善し糸球体過剰濾過を改善させた。さらに尿蛋白排泄量も DM 群では増加していくのに対し、ACEI 群では有意に抑制されていた。また組織学的検討でも ACEI 群で糸球体体積の減少、糸球体に占めるメサンギウム領域比の減少、糸球体基底膜の肥厚の改善、陰性荷電粒子数の改

善などを認めた。

塩酸テモカプリルの作用点であるアンジオテンシン II (Ang II) は、糸球体輸出細動脈を収縮させ、その結果糸球体内圧は増加し尿蛋白の増加をもたらすとされる。またこうした糸球体高血圧とは別に、Ang II は細胞増殖促進作用、細胞肥大作用、細胞外基質蛋白の産生促進作用により硬化性病変を促進し、またメサンギウム細胞の陰性荷電粒子を構成するヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) の生成を抑制すると考えられている。糸球体基底膜の charge barrier として作用している HSPG の生成抑制作用は尿蛋白出現の原因の一つとなる。本研究の結果より塩酸テモカプリルは Ang II の多彩な作用を阻止することにより腎組織学的所見を有意に改善し、また charge barrier の破綻を抑制し、糸球体高血圧や尿蛋白を改善したものと考えられ、より早期からの塩酸テモカプリルの投与が糖尿病腎症の発症、進展の阻止に有効であることが確認できた。他の ACE 阻害剤の作用として、全身的な高血圧の是正やインスリン抵抗性を改善させる作用があると考えられており、OLETF ラットのもつ特徴、すなわち肥満、高血圧を併せ持つ 2 型糖尿病患者には効果的である可能性が考えられた。

発表終了後、北畠教授から、メサンギウム細胞において高血糖状態がアンジオテンシン II の産生を亢進させる機序、ACE 阻害剤の種類による腎症の進展抑制効果に対する差、アンジオテンシン受容体拮抗薬の腎症の進展抑制効果についての質問があった。次いで吉岡教授から、クレアチニークリアランスを体重で補正していない理由、ACE 阻害剤により分解が抑制されるキニンの腎症に与える影響、ATI レセプターの分布についての質問があった。最後に小池教授から、腎症における ACE 阻害剤の開始時期、正常血圧の腎症患者に投与する際の注意点、今回の研究での新たな知見についての質問があった。これらの質問に対し、申請者は概ね適切に回答した。

この論文は、ACE 阻害剤による、より早期からの治療介入が 2 型糖尿病での腎症の発症、進展の阻止に大きく寄与することが改めて確認できた研究として高く評価され、今後、実地臨床の場につながる ACE 阻害剤の有用性の重要なエビデンスとなるものとする。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。