

分担課題：腎炎ラットにおける漢方薬の治療効果と作用機序の解明

研究分担者 大山 陽子・鹿児島大学医学部歯学部附属病院検査部・特任助教

研究要旨

五苓散は代表的な利尿剤で、体内の水分代謝異常を調節し正常に戻す働きが知られており、腎疾患では腎炎やネフローゼ症候群などに用いられている。経験的に使われている五苓散の腎炎における分子生物学的な作用機序について、我々は昨年度に引き続き慢性腎炎を引き起こす結晶誘発腎肉芽腫モデルを用い検討した。結果、五苓散は自然炎症を惹起する代表的な DAMPs (Damage associated molecular patterns) のひとつである HMGB1 (High mobility group box-1 protein) の腎臓内での発現上昇を緩和させた。以上より、五苓散は慢性腎炎において抗炎症作用をもつ可能性が示唆された。

A．研究目的

我々はアデニンを経口投与することで、腎臓に難溶性の 2,8-dihydroxyadenine (2,8-DHA) 結晶を誘発させ、慢性腎炎を引き起こす結晶誘発性肉芽腫モデルにおいて濃度、時間依存性に血中、尿中、腎組織中 HMGB1 が上昇することを明らかにしている。核内蛋白として発見された HMGB1 は、本研究のテーマである「自然炎症」を惹起する代表的な DAMPs の一つであり、さらに近年 HMGB1 は自身を酸化還元することでサイトカイン機能を変化させ、炎症調節することが明らかとなっている。

今回、我々は本モデルにおいて炎症の場である腎臓内での HMGB1 発現を指標に五苓散の慢性腎炎へ与える影響を検討した。さらに昨年度の我々の報告より、五苓散は腎臓組織中の活性酸素を有意に低下させることを明らかにしている。よって、今回は五苓散投与下での HMGB1 の酸化還元型発現についても同時に検討を行った。

B．研究方法

結晶誘発性腎炎ラットを用い、コントロール群、五苓散投与群、腎炎群、腎炎 + 五苓散投与群の 4 群に分け 2 週間観察、腎臓組織内の HMGB1 発現量を ELISA にて測定した。さらにヘパリンビーズに吸着させた組織内 HMGB1 の酸化還元型の検討をウェスタンブロッティング法にて行った。

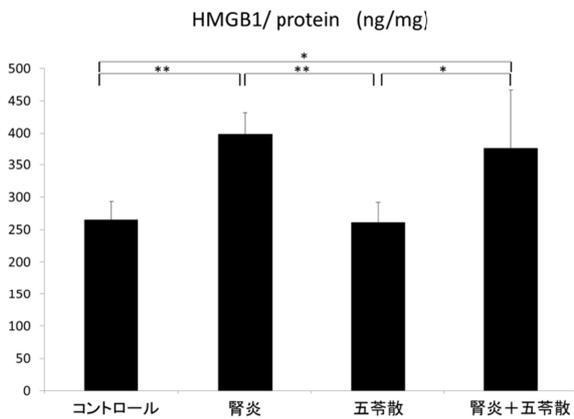
(倫理面への配慮)

本研究は鹿児島大学動物実験委員会にて承認されている。

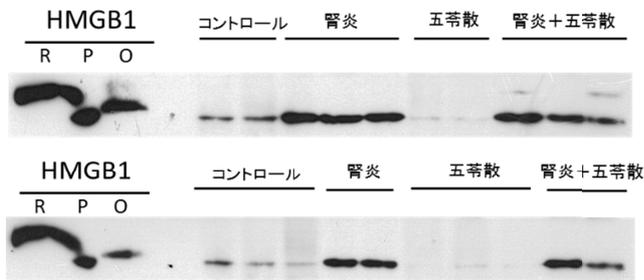
C．研究結果

腎炎群と比較し、腎炎 + 五苓散投与群での腎臓組織内 HMGB1 の発現は抑制傾向であった。

(* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)



次に、ウェスタンブロッティング法を用いて、4群間のHMGB1酸化還元型の検討を行った。結果、検出されたHMGB1は腎炎群、および腎炎+五苓散投与群共に部分酸化型が主であった。



R:還元型 P:部分酸化型 O:完全酸化型

D．考察

五苓散は慢性腎炎ラットの腎組織中HMGB1の上昇を抑制する傾向にあり、腎炎において抗炎症作用を持つ可能性が示唆された。しかしながらラット間での数値のバラつきが大きく、有意差を示すまでには至らなかった。前回、我々が行った五苓散は腎組織における活性酸素量を有意に抑制するといった報告からHMGB1の酸化還元型変換において五苓散が与える影響について検討を行った。今回行った条件では、五苓散のHMGB1酸化還元型変換への影響を明らかにすることはできなかったが、五苓散が腎炎組織中の活性酸素を有意に抑制するという結果を踏まえ、HMGB1の酸化還元型変換に対し何らかの影響を与えると推察し、さらに

投与量や投与期間など条件の幅を広げていくことより、今後も検討を行っていきたい。

E．結論

五苓散は慢性腎不全動物モデルにおいて抗炎症作用をもつ可能性が示唆された。

F．健康危険情報

該当なし

G．研究発表

第65回 日本東洋医学会学術集会総会にて発表予定（平成26年6月27～29日）

H．知的財産権の出願・登録状況

特になし