

氏名(本籍)	ひらかわあきこ (鹿児島県) 平川 暁 子		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4783 号		
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	腎不全における酸化ストレスに関する研究		
主 査	筑波大学教授	薬学博士	幸 田 幸 直
副 査	筑波大学教授	理学博士	石 井 哲 郎
副 査	筑波大学教授	薬学博士	熊 谷 嘉 人
副 査	筑波大学講師	医学博士	坂 本 透

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

酸化ストレスは「生体の酸化反応と抗酸化反応のバランスが崩れ、前者に傾いた状態」と定義され、様々な疾患の発症・進展に関与している。腎不全においても酸化ストレスに関する議論は多く、病態を知る上では重要なカテゴリーであるが、抗酸化力に関連する議論は発展途上にあり、適正な評価法の確立が待たれている。

本研究では、1) 信頼性の高い抗酸化力評価法を確立し、続いて、腎不全に関して、2) 維持透析患者における OH ラジカル消去能とその解析、3) 腎性貧血に用いられる静注用鉄剤の OH ラジカル産生・消去に関わる評価、について検討した。

(対象と方法)

1) 抗酸化力評価法として、フリーラジカルを直接検出できる ESR を用い、HPLC 用イナートポンプ 3 台による FI-ESR 法を構築した。超純水、スピントラップ剤の DMPO、過酸化水素の 3 液を ESR 装置キャビティに装着したフローセルに送液し、セルに紫外線を照射してセル内に OH ラジカルを発生させた。2) 超純水ラインに透析患者の血漿を注入し、発生した OH ラジカルの消去能を測定し、これを抗酸化力として数値化した。対象は 36～81 歳の維持透析患者 69 名 (男性 39 名、女性 30 名) で、前回の透析から 48 時間が経過した透析前の血漿と 1 回透析後の血漿で検討した。3) 静注用鉄剤 3 種の OH ラジカル産生能と消去能の測定、および還元剤共存下での OH ラジカル産生能を測定した。

(結果)

1) 本 FI-ESR 法は、従来の磁場掃引による測定ではなく、DMPO-OH アダクトに特異的なシグナルに磁場を固定して測定するため、3 分毎に多数の試料の OH ラジカル消去能を測定できる簡便かつ迅速な測定法となった。また UV 消灯時に OH ラジカル産生能の測定が可能になった。2) 透析患者の OH ラジカル消去能、すなわち抗酸化力は 1 回の透析により回復していた (69 名全体の平均)。この値の前後変化は、血漿総タンパクの濃度変化と比例関係にあった。一方、アルブミン濃度との相関では、透析前には全く相関がみられなかったが、透析後は相関していた。患者個々の比較では、69 名中 46 名は透析後に抗酸化力が強くなったが、18

名は透析しても抗酸化力は不変で、5名は透析後に抗酸化力が低下した。血漿を除タンパクした低分子画分の抗酸化力を測定したところ、透析後に抗酸化力が強くなった患者に対して、透析後に抗酸化力が低下した5名は、透析前の低分子画分の抗酸化力が有意に高かった。また、炎症マーカーであるCRPを指標に、CRP高値群と正常群に分けて抗酸化力と総タンパク濃度の相関をみたところ、CRP高値群では透析前において相関性は認められなかった。3) 静注用鉄剤は、わずかにOHラジカルを産生したが、OHラジカル消去能も有していた。しかし、還元剤のアスコルビン酸共存下では、静注用鉄剤は強いOHラジカル産生能を示した。(考察)

本FI-ESR法は、セルの直前で3液が混合し、セル内でリアルタイムに発生したOHラジカルを測定できることから、反応性の高いOHラジカルに対して手技の巧拙による測定時間誤差を解消し、信頼性の高い値を得ることが可能な測定法であると考えられる。

透析血漿の抗酸化力は、2/3の患者において透析後に強くなり、透析による脱水で生じたタンパク濃縮が影響していると考えられた。抗酸化力に影響を与える因子は、主にタンパクであると推測できるが、一方で透析前において抗酸化力とアルブミン濃度は相関せず、これは透析前のアルブミンが酸化ストレスの曝露によって酸化型になっていたためと考えられる。また、透析後に抗酸化力が低下した患者については、血漿の低分子画分の抗酸化力が高く、かつ炎症があったこと、またCRPの高値群では透析前の抗酸化力がタンパク濃度と相関していなかったことから、炎症性の合併症を有している患者は、低分子画分の酸化物質が増加していると考えられた。*in vivo*での炎症と酸化能に関する報告は少なく、本知見は抗酸化力と病態との関連に新しい考え方をもたらすと思われる。

静注用鉄剤は、腎性貧血の治療に必要不可欠であるが、それによる酸化ストレスも懸念されている。今回の結果から、*in vitro*での静注用鉄剤のOHラジカル産生能は極く僅かであり、OHラジカル消去能も有していたため、鉄剤そのものの危険性は少ないと思われる。しかし、臨床的にも酸化ストレスが増加している報告はいくつかあり、特に継続使用が必要な透析患者には負担になっていると思われる。さらに、還元剤存在下では強力なOHラジカル産生能を示し、使用条件によりさらに酸化ストレスが増加することが示唆された。鉄代謝能改善のためにアスコルビン酸を用いることが近年報告されているが、その際には、鉄および鉄剤の体内動態を考慮して患者個々の鉄代謝能を把握し、過剰投与にならないよう十分注意する必要があると考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、著者が確立した抗酸化力評価法(FI-ESR法)により、維持透析患者は透析操作によって抗酸化力が回復するが、炎症を有している患者は抗酸化力が改善しないことから、抗酸化力の透析による変動をみることによって患者の状態を知ることができること、また静注用鉄剤のOHラジカル産生能は小さいが、条件によっては、産生が増大するおそれがあり、鉄剤の使用には注意が必要であることを見出したものである。このことは、腎不全における酸化ストレス研究において、抗酸化力に関連する議論に重要な知見を提供したものと評価できる。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。