

ピューロマイシン腎症の血中 RAA 系活性と腎過酸化およびエダラボンの過酸化抑制効果

小坂 康子

川崎医科大学 生理学, 〒701-0192 倉敷市松島577

抄録 puromycin aminonucleoside(PAN)腎症における血中 renin-angiotensin-aldosterone(RAA)系活性及び腎過酸化と edaravone(EDA)の過酸化抑制効果について検討した。対象は8週齢のウィスター系雄ラット30匹である。10匹ずつ3群に分け、それぞれに生理食塩水(C群), PAN(P群), PAN + EDA(E群)を腹腔内投与した。血圧ならびに血清と尿中生化学検査および血漿レニン, アンジオテンシンIとII, アルドステロン濃度を測定した。さらに共焦点レーザー顕微鏡で腎組織内一酸化窒素(nitric oxide:NO)と活性酸素種の分布強度をそれぞれの指示薬を用いて観察した。血漿レニン, アンジオテンシンIとII, アルドステロン濃度はコントロール群に比べてP群で有意に増加した。血漿アンジオテンシンIとII濃度はP群に比べてE群で有意に低下した。糸球体内NOの蛍光輝度はC群と比べてP群で有意に増加した。活性酸素種の蛍光輝度はC群とE群に比べてP群で有意に増加した。これらのことは, PAN腎症で血中RAA系と腎糸球体でのNO産生及び過酸化が亢進しており, EDAにRAA系と腎過酸化を抑制する作用があることを示している。

(平成20年10月21日受理)

キーワード:ピューロマイシン, ネフローゼ症候群, エダラボン, RAA系, 過酸化

緒言

殆どの小児のネフローゼ症候群は微小変化型である。しかし、現在のところ微小変化型ネフローゼ症候群(minimal change nephrotic syndrome:MCNS)の原因は不明である¹⁾。MCNS患児では浮腫期にレニンとアルドステロン濃度が上昇し、寛解期に低下することが報告されている²⁾。筆者もMCNS急性期における腎血流量の増加と血漿アンジオテンシンI濃度の上昇について報告した³⁾。このように、MCNSの病態にrenin-angiotensin-aldosterone(RAA)系の関与が考えられているものの、一定した結論には至っていない。

MCNSの病態に最も近い動物モデルは

puromycin aminonucleoside(PAN)投与で発症するPAN腎症と考えられている⁴⁾。PAN腎症では蛋白合成抑制だけでなく活性酸素種(reactive oxygen species:ROS)も病態に関与していると報告されている⁵⁾。一方、抗酸化薬の投与によりPAN腎症における尿中蛋白が減少したり⁶⁾、尿中蛋白の減少と一致して核酸の酸化ストレスマーカーである尿中8-hydroxy-2'-deoxyguanosineが減少した⁷⁾との報告がある。

以上のことから、MCNSの病態を解明するために血中RAA系と腎組織内一酸化窒素(nitric oxide:NO)およびROSの動態を知ることは重要と考える。今回筆者は、PAN腎症における血中RAA系と腎組織内のNOおよびROSの変化

について初めて可視化, 数量化を試み, 成功した. さらに, PAN 腎症における血中 RAA 系の変化と糸球体内 NO および ROS の動態に加え, それらに対する edaravone(EDA) の作用についても検討し, 可視化を試みた.

対象と方法

対象動物

対象動物として, 体重150~200 g の 8 週齢 ウィスター系雄ラット (日本クレア株式会社, 東京) を用いた. 採尿時には代謝ケージに個別収容し, 絶食で水のみ自由摂取とした. それ以外の時には水とラット用標準固形飼料を自由摂取させた.

投与スケジュール

対象ラット30匹を Control 群 (C 群), PAN 群 (P 群), PAN + EDA 群 (E 群) の 3 群に均等に分けた. C 群には生理食塩水0.5ml を, P 群には既報を参考に^{4, 8~12)} PAN (シグマアルドリッチジャパン株式会社, 東京) 3mg/100 g BW/ 生理食塩水0.5ml をそれぞれ実験開始 1 日目と 4 日目に腹腔内投与した. E 群にはヒトへの EDA 投与量を参考にして, 実験開始 1 日目に PAN3mg/100 g BW + EDA (田辺三菱製薬株式会社, 東京) 0.1mg/100gBW/ 生理食塩水 0.5ml を, 同 4 日目に PAN3mg/100 g BW/ 生理食塩水0.5ml をそれぞれ腹腔内投与した. 同 7 日目に24時間蓄尿を行い, 同 8 日目に血圧測定と採血した後, 屠殺して腎組織観察に供した.

血圧測定

ラット・マウス用非観血式自動血圧測定装置 (株式会社ソフトロン, 東京) を使用して, 尾動脈で血圧を測定した.

生化学検査と血中 RAA 系活性測定

蓄尿検体では尿中蛋白 (マイクロ TP-AR : 和光純薬工業株式会社, 東京), アルブミン (GOATANTISERUMTO RAT Alb : CAPPEL, Durham, NC, U.S.A.), およびクレアチニン(ピュ

アオート SCRE-L : 積水メディカル株式会社, 東京)濃度を測定した. 血液検体では総蛋白(総蛋白 -HR II : 和光純薬工業株式会社, 東京), アルブミン (アルブミン II AH テスト和光 : 和光純薬工業株式会社, 東京), クレアチニン, 総コレステロール (L タイプ和光 CHO.H : 和光純薬工業株式会社, 東京), レニン(ガンマコートレニンキット : 協和メディックス, 東京), アンジオテンシン I・II (SRL 社製キット : SRL, 東京), およびアルドステロン (ヒト用スパック -S.Ard キット : 株式会社 TFB, 東京) 濃度を測定した.

組織観察

NO 指示薬である diaminorhodamine-4M acetoxymethyl ester(DAR4-AM : 第一化学薬品株式会社, 東京) と ROS 指示薬である dichlorodihydrofluorescein(DCFH : Molecular Probes, Eugene, U.S.A) で腎組織を染色し, 共焦点レーザー顕微鏡 TCS-NT (ライカマイクロシステムズ株式会社, 東京) を用いて観察した.

実験手順

セボフルレン (丸石製薬株式会社, 大阪) 吸入麻酔下にラットの後尾静脈よりペントバルビタール (大日本住友製薬株式会社, 東京) 5mg/100 g BW, ヘパリンナトリウム (味の素ファルマ株式会社, 東京) 0.3ml, ニカルジピン塩酸塩(アステラス製薬株式会社, 東京) 0.1ml を投与した. 深麻酔を確認して開腹し, 腹大動脈に留置針を挿入した. phosphate buffered saline (PBS: 日水製薬株式会社, 東京) で全身灌流し, 直ちに開胸して右心耳を切開した. 右心耳からの灌流液が肉眼上無色になったのを確認し, PBS に溶解した DAR4-AM と DCFH を順次灌流して蛍光染色した. 染色終了後右心耳をクランプし, NO 合成阻害剤である L-NAME (株式会社 同仁化学研究所, 熊本) を溶解した paraformaldehyde (昭光通商株式会社, 東京) 固定液で圧灌流固定した. 固定後に腎を摘出

して約1mmの厚さにスライスし、蛍光顕微鏡用プレパラートに封入後、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。Excitation 560 nm で励起された emission 575 nm の蛍光画像で ROS 輝度を、excitation 490 nm で励起された emission 530 nm の蛍光画像で NO 輝度を走査撮像した。そして、各撮像標本 9～10 検体で糸球体領域と尿細管領域を設定し、領域内の平均輝度を計測して糸球体 / 尿細管比を求めた。

統計解析

結果は平均値 ± 標準偏差で表した。統計処理は SPSS (SPSS 株式会社, 東京) を用い分散

分析した。各群間の比較は Tukey の多重比較を行い、0.05 未満の危険率をもって有意差ありとした。

本研究は川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け、川崎医科大学の動物実験指針に基づき実施した。

結果

尿中の蛋白とアルブミン排出量

1 日の尿中の蛋白とアルブミン量の結果を図 1 に示す。両者とも C 群に比べて P 群 ($p < 0.05$) と E 群 ($p < 0.05$) で有意に増加した。E 群は P 群に比べて有意に低値であった ($p < 0.05$)。

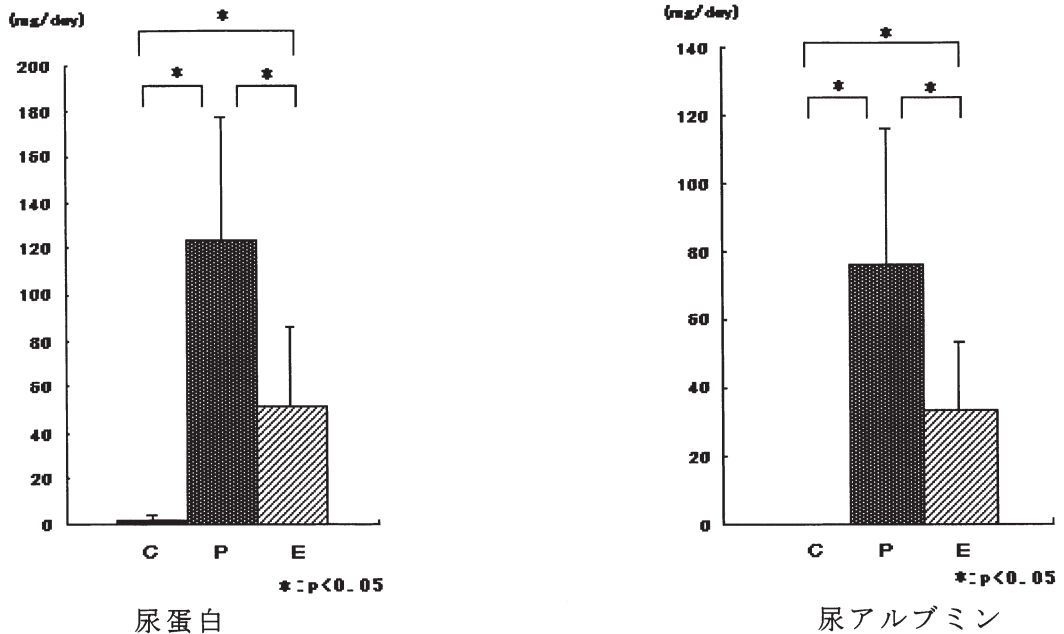


図 1 Control 群 (C), PAN 群 (P), PAN+EDA (E) における 1 日の尿蛋白およびアルブミン量。結果は平均値 ± 標準偏差で表した。

血清蛋白, アルブミン, 総コレステロール濃度
血清蛋白, アルブミンと総コレステロール濃度の結果を図2に示す. 血清蛋白とアルブミン濃度はC群に比べてP群では有意に減少した.

E群のそれはP群に比べて有意に高値であった ($p < 0.05$). 血清総コレステロール濃度はC群に比べてP群では有意に増加し, E群ではP群に比べて有意に低値であった ($p < 0.05$).

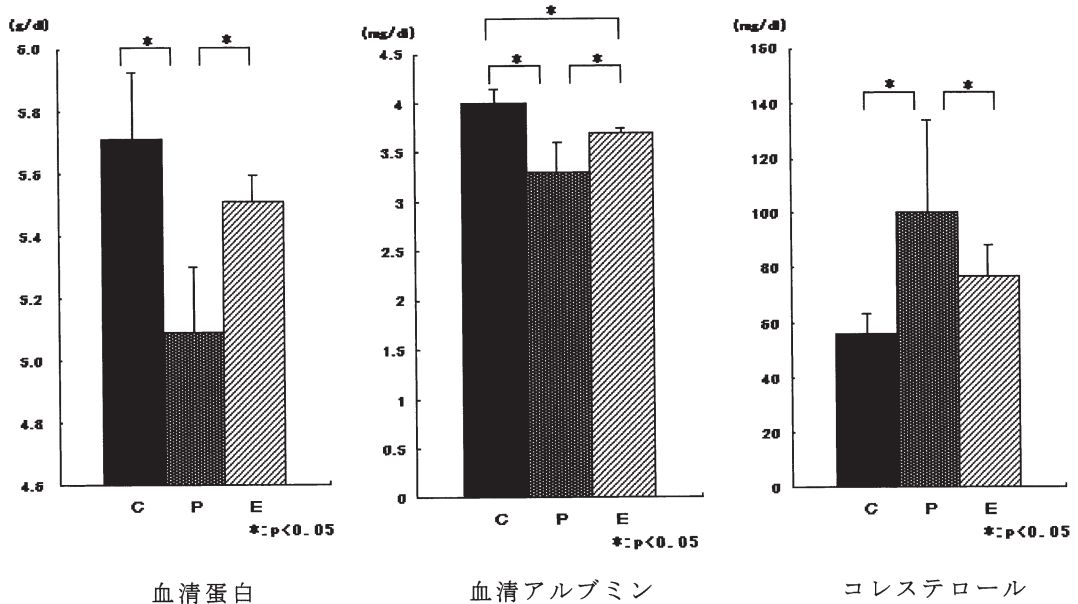
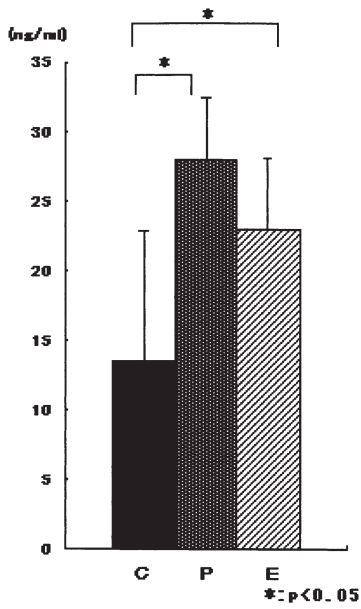


図2 Control群(C), PAN群(P), PAN+EDA(E)における血清蛋白, アルブミンと総コレステロール濃度. 結果は平均値±標準偏差で表した.

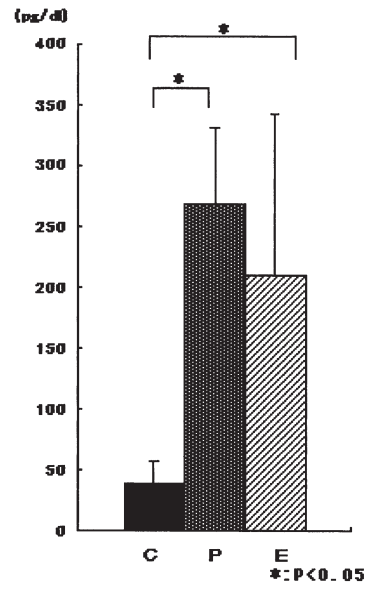
血中レニン, アンジオテンシンIとII, アルドステロン濃度

血漿レニン, アンジオテンシンIとII, アルドステロン濃度の結果を図3に示す. 血漿レニンとアルドステロン濃度はC群に比べてP群($p < 0.05$), E群 ($p < 0.05$) で共に有意に増加し

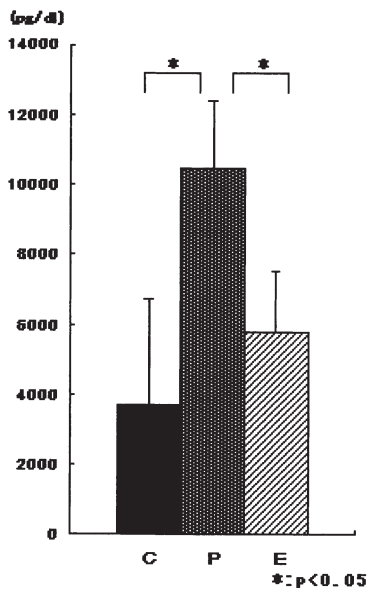
た. 両者ともE群ではP群に比べて低値であったが有意差は認めなかった. 血漿アンジオテンシンIとII濃度はC群に比べてP群で有意に増加した ($p < 0.05$). 両者ともE群ではP群に比べて有意に低値を示した ($p < 0.05$).



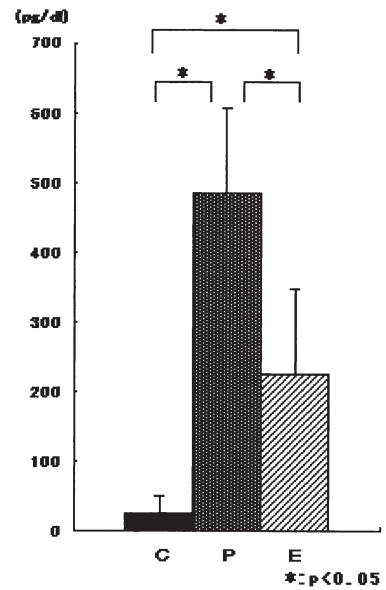
レニン



アルドステロン



アンギオテンシン I



アンギオテンシン II

図3 Control 群 (C), PAN 群 (P), PAN+EDA (E) における血漿レニン, アンギオテンシン I と II およびアルドステロン濃度. 結果は平均値 ± 標準偏差で表した.

血圧とクレアチンクリアランス

血圧とクレアチンクリアランスの結果を図4に示す。血圧はC群に比べてP群 ($p < 0.05$), E群 ($p < 0.05$) 共に有意に上昇した。E群で

はP群に比べて有意に高値を示した。クレアチンクリアランスはC群に比べてP群 ($p < 0.05$), E群 ($p < 0.05$) で30%以下に低下し、P群とE群の間には有意差を認めなかった。

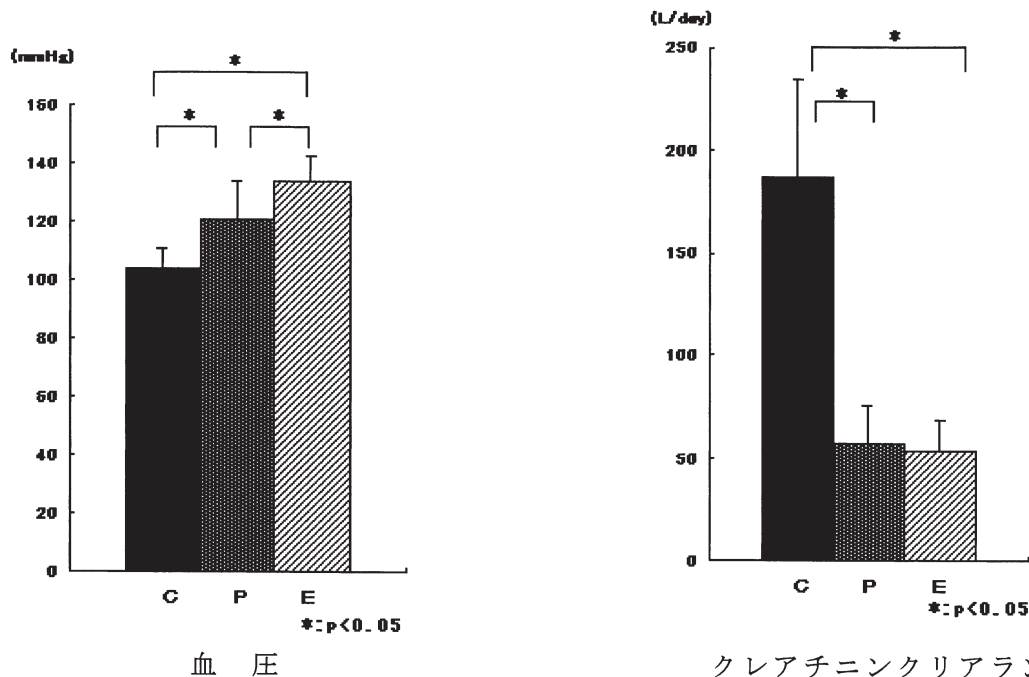


図4 Control群 (C), PAN群 (P), PAN+EDA (E) における血圧とクレアチンクリアランス。結果は平均値 ± 標準偏差で表した。

腎組織内 ROS と NO の分布強度

共焦点レーザー顕微鏡写真を図5に示す。NO 指示薬である DAR4-AM 染色では、赤色蛍光輝度が腎糸球体と腎尿細管共に3群で同レベルにみられた。ROS 指示薬である DCFH 染色では、緑色蛍光輝度が3群の腎尿細管で同レベルにみられたが、腎糸球体内ではC群、E群、P群の順に輝度の増加がみられた。両輝度の

糸球体 / 尿細管比を3群で比較した (図6)。DAR4-AM による赤色蛍光では糸球体 / 尿細管比がC群に比べてP群で有意に高かった ($p < 0.05$)。DCFH による緑色蛍光では糸球体 / 尿細管比がC群に比べてP群で有意に高く ($p < 0.05$)、P群に比べてE群で有意に低かった ($p < 0.05$)。

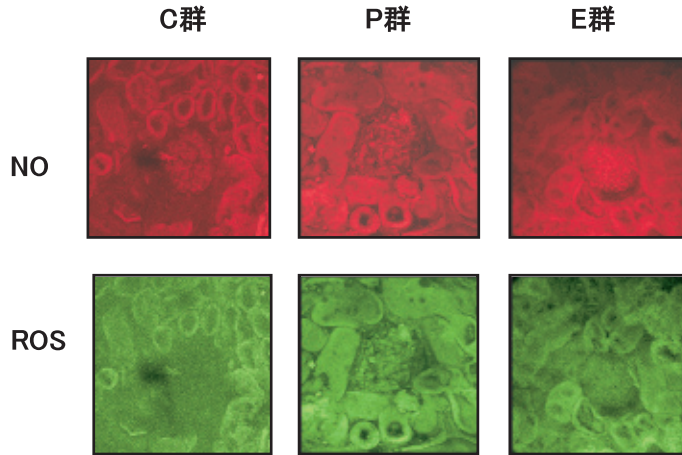


図5 Control 群 (C), PAN 群 (P), PAN+EDA (E) におけるラット腎組織の NO および ROS の分布強度。
 上段：DAR-4AM による赤色蛍光は腎糸球体と腎尿細管共に 3 群間に違いを認めなかった。
 下段：DCFH による緑色蛍光は腎糸球体内に強くみられ、C 群、E 群、P 群の順に蛍光輝度の増加がみられた。腎尿細管では 3 群に蛍光輝度の違いを認めなかった。

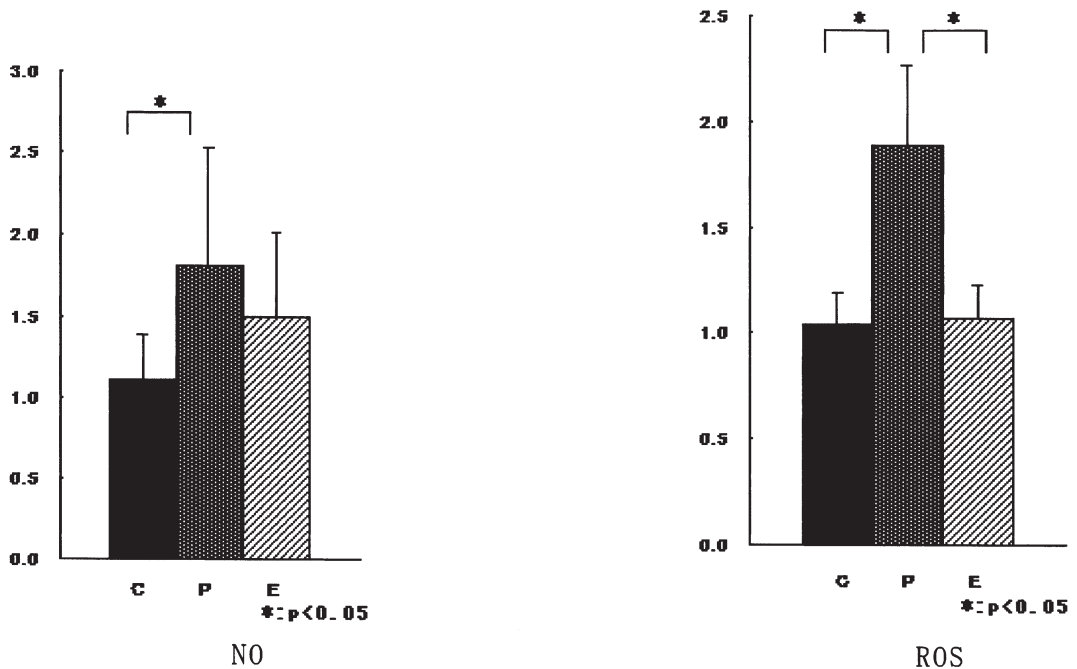


図6 Control 群 (C), PAN 群 (P), PAN+EDA (E) におけるラット腎組織における NO および ROS 輝度の糸球体/尿細管比。結果は平均値 ± 標準偏差で表した。

考 察

MCNSは多量の蛋白尿と、その結果として生じる低蛋白血症、浮腫及び高脂血症を呈する。尿所見はアルブミン優位の蛋白尿で血尿の頻度は低い¹³⁾。本症はステロイドが著効し9割以上に寛解が得られる反面、その7割以上がステロイド漸減中止に伴って再発し、2割程度がステロイド依存性となる¹⁴⁾。臨床的には長期のステロイド投与を必要とするため、低身長、骨粗鬆症、易感染性、白内障、肥満などの副作用が問題である¹⁵⁾。本症の原因は未だ不明であるが、糸球体基底膜の陰イオン・チャージの破綻や糸球体基底膜上皮細胞の機能低下などの関与が推測されている。

PANは抗生物質の一種でタンパク合成阻害作用を持つ。糸球体上皮細胞の障害によりスリット膜構成成分であるネフリンとポドシンのタンパク発現の低下を来し、同成分の α -アクチニン-4に強い親和性を有し、濾過バリアーの障害を起こすことが報告されている^{16, 17)}。一方、PAN投与で発生したフリーラジカルが糸球体基底膜の陰イオン・チャージの喪失を起こすだけでなく、過酸化を亢進させ糸球体上皮細胞を直接損傷して蛋白尿を誘発するとの報告もある¹⁸⁾。このように、PAN腎症の発生機序として未だ決定的な結論には至っていないのが現状である。PAN投与方法や投与量については数多くの報告があるが、経静脈、腹腔内、皮下投与それぞれのモデル作製に差はないとされている。投与回数も1回、2回、3回から連日投与までさまざまな報告がある。投与量も1.5mg~15mg/100gBWとさまざまである^{4, 8~12)}。いずれにしても、2回のPAN投与で尿蛋白と血清総コレステロール濃度の増加および血清蛋白の減少を来すことが多数報告されていることから、今回はPAN3mg/100gBWの2回腹腔投与とした。本研究ではこれらの異常所見のみならず、尿アルブミンの増加と血清アルブミン濃度の低下も認めた。これらの結果はMCNSの異常所見と一致しており、PAN腎症がMCNS病態モデルとして有用であることを

示している。

RAA系に関して、本研究ではさらに血漿レニン、アンジオテンシンIとIIおよびアルドステロン濃度が増加し、クレアチニンクリアランスが低下した。Uedaら²⁾はMCNSの浮腫期に血漿レニンとアルドステロン濃度が増加し、クレアチニンクリアランスが低下したと報告した。筆者らも臨床例においてMCNS急性期における血漿アンジオテンシンI濃度の上昇について報告した³⁾。

アンジオテンシンIIには糸球体上皮細胞のアポトーシスやスリット膜構成成分蛋白の発現低下を誘導する作用があり、アンジオテンシン変換酵素阻害薬とアンジオテンシンII受容体拮抗薬には血圧降下作用と無関係に蛋白尿の改善効果が認められている¹³⁾。MCNSでは低アルブミン血症による膠質浸透圧の低下が有効循環血漿量を低下させ、その結果としてRAA系が賦活化され、二次的なナトリウム貯留と浮腫が起るとされている¹³⁾。RAA系の亢進が原因なのか結果なのかは未だ不明であるが、PAN腎症において尿蛋白増加に一致してRAA系が亢進する事が確認され、これらのことはPAN腎症におけるRAA系がMCNSのそれと類似した変化であることを示唆している。

また、筆者は臨床例においてMCNS患児の腎血流が増加することも報告し³⁾、NOは血管平滑筋を弛緩させる作用があることから、腎血流に大きな生理的役割を持っていると考えた。今回初めてROS産生量を評価する染色過程に平行して、NOも染色することができた。PANは糸球体上皮細胞やスリット膜構成成分が標的的部位であり、尿細管には影響はないとされている。ROSとNOの輝度を糸球体/尿細管比で比較したところ、PAN腎症モデルでは相対評価でROSとNO産生が亢進した。抗酸化作用のあるEDA投与群ではそれらの変化が軽度であった。以上のことから、PAN腎症での糸球体障害は過酸化によって誘発されることが示唆される。しかし、PAN腎症では尿中のNO代謝物が増加した報告¹⁹⁾と減少した報告²⁰⁾があ

り、また使用したラットの種類によっても違った結果がみられる²¹⁾。したがって、PAN 腎症における NO の動態についてはさらなる検討が必要と考える。

PAN 腎症におけるフリーラジカルスカベンジャーの効果についていくつか検討されている。xanthine oxidase 阻害薬であるアロプリノール投与による hypoxanthine からのスーパーオキシド産生抑制²²⁾や、superoxide dismutase 投与²³⁾あるいは catalase 投与²⁴⁾による蛋白尿の減少効果などが報告されている。野坂²⁵⁾は PAN 腎症における EDA の蛋白尿の減少と糸球体上皮細胞のスリット膜関連蛋白の保護作用について報告した。Someya ら⁷⁾は PAN 腎症において EDA 投与により酸化ストレスマーカーである尿中8-OHdG が蛋白尿の低下時期と一致し低下し、抗酸化作用による蛋白尿減少の可能性を報告した。今回 PAN 腎症に EDA を投与した群では血圧とクレアチニンクリアランスを除いてすべて軽症化した。これらのことは EDA が PAN 腎症の過酸化で誘発される病態を予防あるいは改善することを示している。EDA は投与時期が早い程効果的であることは臨床的によく知られている。EDA が脂質に溶け易いことから、抗酸化作用の発現は主に細胞膜内であり、ビタミン E のように細胞膜内での代謝回転は緩徐であると考えられる。以上のことが EDA の早期単回投与でも抗酸化効果がみられた理由と考えているが、EDA の投与時間、回数や量を変えて最適効果を確認することが今後の検討課題である。

結 語

PAN 腎症では血中 RAA 系と糸球体内 NO および ROS の産生が亢進した。EDA 投与によりこの病態が軽症化する結果が得られた。筆者は RAA 系活性と糸球体上皮細胞の過酸化亢進が小児ネフローゼ症候群、特に微小変化型の病態形成への関与を推測した。今後我々小児科医はこれらの病態に対処した治療を加えることで、患者の現治療薬剤の副作用や再発頻度の軽減を

図ることができるかもしれない。

謝 辞

本研究の一部は川崎医科大学プロジェクト研究費の補助により行われた。稿を終えるにあたり、本研究の御指導を賜りました故辻岡克彦教授（川崎医科大学生理学教室前教授）ならびに本研究の御指導と御校閲を賜りました名木田章先生（水島中央病院小児科部長）に深甚なる謝意を表すとともに、論文の御校閲と御助言を賜りました永井敦教授（川崎医科大学泌尿器科学教室）に深謝申し上げます。また実験の指導をしていただきました麻原仁子さん（生理学教室研究補助員）をはじめ生理学教室のスタッフの皆様、実験に御協力いただきました川崎医科大学医用生物センター、医用実験センター、生理機能センターのスタッフの皆様には厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 伊藤克己：ネフローゼ症候群。小児科学 東京，医学書院。1997，pp1214-1224
- 2) Ueda N, Niinomi Y, Nonoda T: Urine kallikrein excretion in relation to renal sodium handling in minimal change nephritic syndrome. Clin Nephrol 36 : 228-233, 1991
- 3) 小坂康子，小林嘉一郎，片岡直樹，飴本完二，青木理香，名木田章：ネフローゼ症候群患児におけるパルスドップラー法を使った腎動脈本幹血流。日本小児科学会雑誌107 : 392, 2003
- 4) Frenk S, Antonowicz I, Craig JM, Metcalf J: Experimental nephrotic syndrome induced in rats by aminonucleoside; renal lesions and body electrolyte composition. Proc Soc Exp Biol Med 89 : 424-427, 1955
- 5) Lannigan R, Kark R, Pollak VE: The effect of a single intravenous injection of aminonucleoside of puromycin on the rat kidney: a light- and electron-microscope study. J Pathol Bacteriol 83 : 357-362, 1962
- 6) Matsumura H, Ashida A, Hirano K, Nakakura H, Tamai H: Protective effect of radical scavenger edaravone against puromycin nephrosis. Clin Nephrol 66 : 405-410, 2006
- 7) Someya T, Kaneko K, Yamada T, Yamashiro Y: Effect of a novel free radical scavenger, edaravone, on puromycin aminonucleoside induced nephrosis in rats. Pediatr Nephrol 20 : 1430-1434, 2005
- 8) Tojo A, Onozato ML, Kitiyakara C, Kinugasa S, Fukuda S, Sakai T, Fujita T: Glomerular albumin filtration through podocyte cell body in puromycin aminonucleoside

- nephrotic rat. *Med Mol Morphol* 41 : 92-98, 2008
- 9) Nakakura H, Ashida A, Hirano K, Tamai H: Oxidative stress in a rat model of nephrosis can be quantified by electron spin resonance. *Pediatr Nephrol* 19 : 266-270.
 - 10) Trachtman H, Schwob N, Maesaka J, Valderrama E: Dietary vitamin E supplementation ameliorates renal injury in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 5 : 1811-1819, 1995
 - 11) Liu H, Shah SV, Baliga R: Cytochrome P-450 as a source of catalytic iron in minimal change nephrotic syndrome in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 280 : 88-94, 2001
 - 12) 東條静夫, 佐野元昭: ネフローゼ症候群「難治疾患のモデルと動物実験—ヒト疾患との共通理解のために」(京極方久, 編). 東京, ソフトサイエンス社. 1984, pp 479-487
 - 13) 湧井秀樹, 小松田敦: [分子腎臓病学 分子生物学的アプローチと分子病態生理学] 臨床編 各種腎疾患別の分子病態生理学成因, 病態, 治療, 原発性腎疾患 微小変化型ネフローゼ症候群 (解説/特集) 日本臨床64 (増刊2) 分子腎臓病学 408-412
 - 14) 張田豊: ネフローゼ症候群の病態. 小児科診療 71 : 213-218, 2008
 - 15) 杉本圭相, 竹村司: 小児微小変化型ネフローゼ症候群. 腎と透析64 : 921-925, 2008
 - 16) 細山田真, 遠藤仁: ネフローゼ症候群と活性酸素. 腎と透析【腎とフリーラジカル】 54 : 773-776, 2003
 - 17) Goto H, Wakui H, Komatuda A, Itani H, Imai H, Sawada K, Kobayashi R: Renal alpha-actinin-4: purification and puromycin aminonucleoside-binding property. *Nephron Exp Nephrol* 93 : 27-35, 2003
 - 18) Vega-Warner V, Ransom RF, Vincent AM, Brosius FC, Smoyer WE: Induction of antioxidant enzymes in murine podocytes precedes injury by puromycin aminonucleoside. *Kidney Int* 66 : 1881-1889, 2004
 - 19) Walker LM, Shah SV, Mayeux PR: Lack of a role for inducible nitric oxide synthase in an experimental model of nephrotic syndrome. *Biochem Pharmacol* 60 : 137-143, 2000
 - 20) Ni Z, Vaziri ND: Downregulation of nitric oxide synthase in nephrotic syndrome: role of proteinuria. *Biochim Biophys Acta* 1638 : 129-137, 2003
 - 21) Erdelyi A, Freshour G, Smith C, Engels K, Olson JL, Baylis C: Protection against puromycin aminonucleoside-induced chronic renal disease in the Wistar-Furth rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 287 : 81-89, 2004
 - 22) Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ: A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 29 : 478-483, 1986
 - 23) Thakur V, Walker PD, Shah SV: Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria. *Kidney Int* 34 : 494-499, 1988
 - 24) Beaman M, Birtwistle R, Howie AJ, Michael J, Adu D: The role of superoxide anion and hydrogen peroxide in glomerular injury induced by puromycin aminonucleoside in rats. *Clin Sci* 73 : 329-332, 1987
 - 25) 野坂仁也: Puromycin aminonucleoside 腎症ラットに対する新規フリーラジカルスカベンジャー, エダラボンの効果: 帝京医学雑誌 27 : 165-173, 2004

Plasma activity of the renin-angiotensin-aldosterone system, renal peroxidation, and effects of edaravone on suppressing peroxidation in puromycin-aminonucleoside-induced nephrosis.

Yasuko KOSAKA

Department of Physiology, Kawasaki Medical School, 577 Matsushima, Kurashiki, Okayama, 701-0192, Japan

ABSTRACT I investigated plasma activity of the renin-angiotensin-aldosterone (RAA) system, renal peroxidation, and effects of edaravone (EDA) on suppressing peroxidation in puromycin-aminonucleoside (PAN)-induced nephrosis. Thirty 8-week-old Wistar male rats were used in this study. The rats were equally divided into three groups, and were intraperitoneally

administered physiological saline (Control group), PAN (PAN group), and PAN and EDA (EDA group), respectively. Blood pressure, serum and urinary biochemicals as well as plasma renin, angiotensin I and II, and aldosterone concentrations were measured. Distributions of nitric oxide (NO) and reactive oxygen species in renal tissues were observed after staining by using confocal laser-scanning microscopy. Plasma renin, angiotensin I and II, and aldosterone concentrations in the PAN group were significantly higher than those in the Control group. Plasma angiotensin I and II concentrations in the EDA group were significantly lower than those in the PAN group. Fluorescent brightness indicating NO production in glomerulus was significantly increased in the PAN group compared with that in the Control group. Fluorescent brightness indicating reactive oxygen species production in glomerulus was significantly increased in the PAN group compared with those in the Control and the EDA group. These results indicate that the plasma activity of the RAA system, and glomerular NO production and peroxidation are increased in PAN-induced nephrosis, and suggest that EDA has effects to suppress both increases in the plasma activity of the RAA system and the glomerular peroxidation.

(Accepted on October 21, 2009)

Key words : **Puromycin aminonucleoside , Nephrotic syndrome , Edaravone , RAA system , Peroxidation**

Corresponding author

Yasuko KOSAKA

Department of Physiology, Kawasaki Medical School, 577
Matsushima, Kurashiki, Okayama, 701-0192, Japan

Phone : 81 86 462 1111

Fax : 81 86 462 1199

E-mail : yasuko@med.kawasaki-m.ac.jp