

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 平川陽亮

本研究は、腎臓の線維化において重要な役割を果たす細胞内低酸素を検出するため、細胞内分布性りん光プローブである BTPDM1 を用い、生きたマウスの腎臓で酸素分圧を定量的に測定した研究である。りん光は一般に酸素依存性の特性を有することをうい、下記の結果を得ている。

1. BTPDM1 の生体内、特に腎臓での分布を調べるため、BTPDM1 を全身投与した後に腎臓の凍結切片を作成し観察した。BTPDM1 は腎臓においては尿細管に分布する一方で糸球体及び血管内には分布せず、BTPDM1 投与後の腎のりん光特性は尿細管細胞内酸素分圧に依存すると考えられた。
2. BTPDM1 投与後の腎臓でりん光シグナルを検出できることを確認の上、生体内で BTPDM1 由来のりん光寿命が酸素分圧に依存するか否かの確認のため、急性腎虚血、急性低酸素血症、貧血の 3 つのモデルにて BTPDM1 投与後の腎のりん光寿命が延長することを確認した。
3. 次に慢性腎臓病における腎臓低酸素が検出できるかを調べるため、慢性腎臓病モデルである片側虚血再灌流モデルにおいて、腎のりん光寿命を測定したところ、病側腎は対側腎と比して有意にりん光寿命が長く、低酸素である可能性が示された。同じモデルにおけるピモニダゾール染色、CD-31 染色による変化(ピモニダゾール結合蛋白の増加、毛細血管の希薄化)によっても、病側腎が低酸素であることが傍証された。
4. 生体内でのりん光寿命の変化を酸素分圧に変換するため、培養細胞を用いた検量線の作成を行った。BTPDM1 は HK2 細胞でもリソソームに分布し、そのりん光寿命は培養酸素分圧と逆相関した。りん光寿命の逆数をプロットすると、培養酸素分圧と線形相関を示し、この結果は Stern-Volmer の式がこの培養細胞系においても使用可能である可能性を示唆している。
5. 培養細胞で得られた検量線を用いて、生体内での腎臓のりん光寿命を酸素分圧に変換した。変換結果得られた細胞内酸素分圧は、これまでに細胞内酸素分圧を生体内で定量化した報告がないため、細胞外酸素分圧の定量的評価である酸素電極法の文献値と比較した。

以上、本論文は細胞内分布性りん光プローブである BTPDM1 を用い、生体内で細胞内酸素分圧を定量的に評価する方法を開発したことを報告した。生体内で、細胞内の酸素分圧を定量的に評価した報告は少なく、本研究は今後腎臓における低酸素の出現、疾患への影響の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものであると考えられる。