

博士論文 (要約)

虚血性腎障害後の CKD 進展のメカニズム
についての検討

真弓健吾

論文の内容の要旨

論文題目 虚血性腎障害後の CKD 進展のメカニズムについての検討

氏名 真弓健吾

1. 背景

2004年に急性腎障害(Acute Kidney Injury; AKI)の概念が提唱されて以降、AKIの疫学や病態解明を目的とした多くの臨床研究が行われるようになり、その高い発症率、死亡率が注目されることとなった。さらに、AKIの長期予後に関するメタアナリシスで、一過性AKIであっても慢性腎臓病(Chronic kidney disease; CKD) および末期腎不全(end stage renal disease; ESRD) への進展頻度は高く、そのハザード比はそれぞれ8.82, 3.10と高率であることが示され、AKI後にCKDへ進展するAKI to CKD transitionという概念が誕生した。AKI to CKD transitionの発症メカニズムをテーマとした基礎研究は多くされているが、採用されている動物モデルが報告により様々であり、臨床におけるAKIを再現できている動物モデルかどうかの判断は常に必要となる。腎虚血再灌流障害は臨床における腎性AKIの原因として多いことから動物モデルとして採用される頻度も高いが、腎虚血再灌流障害を誘導する方法も様々ある。すなわち、両側腎動脈遮断、片側腎動脈遮断、片側腎動脈遮断+対側腎摘出を行うモデルが報告されており、さらに腎動脈の遮断時間と腎障害の程度を検討した報告や、腎動脈、腎静脈、腎動静脈の3種の遮断方法で腎障害の程度を検討した報告がある。このように腎虚血再灌流モデルの作成方法は様々であるが、動物モデル間で比較検討した報告は数少なく、どういった動物モデルが適しているかの検討も十分できていないのが現状である。

2. 研究の要旨

実験1. AKI to CKD transitionを再現可能な2種類の腎虚血再灌流障害モデルの作成

8-10 週齢の C57BL/6 雄マウスを 2 群に分け、30 分間の片側腎虚血再灌流障害を加えた UIR 群と片側腎虚血再灌流障害後 1 週間後に対側腎臓摘出を行ったモデル(UIR+Nx 群)を作成した。血清学的評価での BUN は UIR+Nx 群では上昇していたが、UIR 群では上昇していなかった。腎臓間質の線維化領域は UIR+Nx 群では UIR 群に比して有意に軽減していた。Phenylhydrazine chloride 投与による貧血誘導に対する虚血腎での EPO-mRNA 発現

量は UIR+Nx 群の方が UIR 群よりも高値であったが、血清エリスロポイエチン濃度は非虚血側腎が存在する UIR 群で有意に UIR+Nx 群よりも高値であった。

実験2. 腎IRI後亜急性期の傍尿細管毛細血管(PTC)血流量の評価

虚血腎の亜急性期評価のために腎虚血再灌流障害後7、8、9、10日目に多光子励起レーザー顕微鏡を用いて、PTCの観察を行った。UIR群は7、8、9、10日目全てにおいてsham群と比べてPTC血流速度は有意に低下していたが、UIR+Nx群では腎摘6時間後、1日後でsham群より有意にPTC血流速度は上昇し、その後もsham群と比べて有意な低下を認めなかった。PTC血管径はUIR群で7、8、9、10日目全てにおいてsham群と比べて有意に低下していた。一方、UIR+Nx群では腎摘6時間後、1日後でsham群と有意差を認めなかったが、その後徐々に低下し、有意に低値となった。UIR+Nx群とUIR群との比較では計測期間中は有意にUIR+Nx群の方がPTC血管径は高値であった。PTC血流量はUIR群で7、8、9、10日目全てにおいてsham群と比べてPTCの血流量は有意に低下していた。一方、UIR+Nx群では腎摘6時間後、1日後でsham群より有意にPTCの血流量は上昇したが、2、3日後にはsham群と比べて有意に低下した。UIR群との比較では計測期間中は有意にPTCの血流量高値が持続していた。

実験3. 腎IRI後亜急性期の繊維化関連因子の評価

UIR群とUIR+Nx群間での間質線維化マーカーの遺伝子発現を評価するため、虚血再灌流障害後7、8、10、14日目にTGF- β 1 mRNAの発現量を測定した。両群ともにSham群に比べて高値であったが、UIR+Nx群は10、14日目においてUIR群より有意にTGF- β 1 mRNAが低値であった。次に虚血再灌流障害後のCell cycle arrestの評価するため、虚血再灌流障害後7、10、14日目に採材した腎臓組織を用いて抗Ki67抗体、抗pH3抗体による免疫抗体染色およびTOPRO-3による核染色を行ったところ、抗pH3抗体陽性細胞/抗Ki-67抗体陽性細胞の比は10、14日目ともにUIR群に比してUIR+Nx群で低値となった。

実験4. Infra-renal aortic constriction model (IRAC) におけるPTC血流の評価と腎IR後線維化に対する効果

8-10週齢のC57BL/6雄マウスに対しIRACを施行したところ、IRAC4週後の腎重量はSham群で有意に増加していた。多光子励起レーザー顕微鏡によるPTC観察ではIRAC群では6時間後にsham群と比べてPTC血流量は有意に上昇し、その後7日目まで同様の状態が持続していた。次に片側腎虚血再灌流障害モデル(UIR群)と片側虚血再灌流障害および

IRAC 施行モデル(UIR+IRAC 群)を作成し、PTC 血流量増加が腎 IR 後線維化に対する効果を検討した。虚血再灌流障害 28 日後の UIR+IRAC 群の腎重量は UIR 群よりも有意に増大し、腎間質の線維化領域は UIR+IRAC 群では UIR 群よりも有意に軽減していた。腎組織 TGF- β 1 mRNA 発現量は UIR+IRAC 群で 10, 14 日目において UIR 群より有意に低値であった。次に虚血再灌流障害 14 日後の抗 pH3 抗体陽性細胞/抗 Ki-67 抗体陽性細胞の比は、UIR 群に比して UIR+IRAC 群で低値となった。

3. 結語

本研究より同程度の虚血障害後の2つの動物モデルにおいて亜急性期(虚血障害7-14日後)のPTC機能, 慢性期(虚血障害28日後)の間質線維化, エリスロポイエチン産生能に差異が存在することがわかった。また, PTC血流量の変化が腎線維化の進展度の違いに影響していることを明らかとした。これらの違いよりAKI to CKD transitionの研究をするにあたり, 動物モデルの選定は注意深く行う必要があると同時に, 複数のモデルを用いることでAKI to CKD transitionの病態解明がより効率的に進められることが示唆された。