論文の内容の要旨

論文題目
Comprehensive three-dimensional analysis visualizes renal sympathetic denervation after ischemia/reperfusion injury
(臓器透明化を用いた全腎臓 3 次元解析による腎交感神経障害の可視化)

氏名　長谷川 頌

腎臓は血液を濾過して尿を生成することで老廃物を排出し、体内の環境を一定に保つ働きをしている。腎臓の複雑な動きを制御するために交感神経系が重要な働きを担っていると考えられてきたが、これまで腎臓における交感神経の 3 次元構造を把握することは困難であった。臓器全体での 3 次元構造を把握する手段として CT（computed tomography：コンピューター断層撮影）や MRI（magnetic resonance imaging：磁気共鳴映像法）があるが、特定の機能を持った細胞を標識して観察することはできない。一方、顕微鏡を用いた従来の病理組織学的解析では、臓器を薄い切片に切ってスライドガラスに載せて特定の細胞を標識することはできるものの、臓器全体の構造を 3 次元で把握することができない。

本研究では、腎臓内の交感神経の 3 次元構造を把握するために、近年開発が進んでいる「臓器透明化」を利用した。臓器透明化手法・CUBIC を用いてマウス腎臓を透明化し、3 次元免疫染色によって交感神経に特異的なマーカーであるチロシン水酸化酵素を標識し、高速三次元撮影が可能であるライトシート顕微鏡を用いて腎臓全体の観察を行った。

その結果、交感神経は動脈の周囲を取り巻くように走行していることが明らかとなり、交感神経が動脈の収縮を制御していることが裏付けられた。また、腎臓の虚血再灌流障害（腎臓の血流が一時的に急激に低下することによる障害：急性腎障害）を起こし、10 日後の腎臓を透明化して観察したところ、交感神経マーカーで標識される領域が健康な腎臓と比べて著明に減少していた。交感神経から分泌される神経伝達物質であるノルアドレナリンの量を測定したところ、虚血再灌流障害 10 日後の時点で腎組織内のノルアドレナリンが著明に低下していたことから、交感神経の機能異常が生じていることが裏付けられた。さらに、経時的な変化を観察したところ、交感神経マーカーで標識される領域は障害直後に最も減少し、時間と共に徐々に回復するものの、28 日後にも完全には回復しておらず、交感神経の機能異常が長期間にわたって遷延していることが分かった。

また本研究では、交感神経・動脈だけでなく、腎臓の他構造（集合管・近位尿細管・糸球体）を、それぞれ 3 次元免疫染色を用いて標識することによって臓器全体で可視化する

ことにも成功した。この臓器透明化（CUBIC）と 3 次元免疫染色を組み合わせた観察法は、今までにない包括的な視点を提供することで、今後の腎臓病研究において強力なツールとなることが期待される。