

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 真弓 健吾

本研究は急性腎障害(Acute kidney injury; AKI)後に慢性腎臓病(Chronic kidney disease; CKD)へ進展するメカニズムを検討するために2種類の AKI to CKD transition を再現可能な動物モデルを作成し、その比較を行った。さらに傍尿細管毛細血管(Peritubular capillary; PTC)の機能に注目し、PTC 血流量増加が AKI 後の腎線維化を軽減するかを検討し、以下の結果を得ている。

1. C57BL/6 雄マウスを使い片側腎虚血再灌流障害モデル(UIR 群)と片側腎虚血再灌流障害 1 週間後に対側腎摘を行ったモデル(UIR+Nx 群)を作成し、虚血障害 4 週後の腎機能障害について検討した。腎臓間質の線維化は両群とも認められたが、UIR+Nx 群は UIR 群に比して有意に軽減していた。Phenylhydrazine chloride による薬剤性貧血に対する虚血腎での EPO-mRNA 発現量は sham 群に比して両群とも低下していたが、UIR+Nx 群の方が UIR 群よりも高値であった。しかし血漿エリスロポエチン濃度は UIR 群で非虚血側腎が存在するため有意に UIR+Nx 群よりも高値であった。以上より両群ともに虚血障害 28 日後には腎間質の線維化およびエリスロポエチン産生能の低下を認め、AKI to CKD transition を再現可能な動物モデルであることが確認できたが、同程度の虚血障害を加えた動物モデル間で、慢性期の腎障害に差異が存在することも示された。
2. 亜急性期(虚血障害 7-14 日後)の評価のために、多光子励起レーザー顕微鏡による PTC の血流量測定を行った。UIR 群の虚血障害後亜急性期の PTC 血流量は 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 日後では sham 群より有意に傍尿細管毛細血管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 群との比較では観察期間中には有意に PTC 血流量が高値であった。UIR+Nx 群では腎臓摘出後に速やかに PTC 血流量が増加することが示された。
3. 亜急性期の線維化関連因子の評価では、虚血腎での TGF- β 1 mRNA の発現量は両群ともに sham 群に比べて高値であったが、UIR 群に比べて UIR+Nx 群は 10、14 日目において有意に TGF- β 1 mRNA の発現量が低下していた。次に虚血障害後に細胞周期停止状態に入っている尿細管上皮細胞数を評価するため、腎臓組織を用いた抗 Ki67 抗体、抗 pH3 抗体による免疫抗体染色および TOPRO-3 による 3 重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 日目で UIR 群に比して UIR+Nx 群で低値であった。UIR+Nx 群では UIR 群に比べ、対側腎の摘出後に細胞周期停止状態に留まる細胞数が増加し、虚血腎における TGF- β 1 発現量が低下していることが示された。
4. PTC 血流量を増加させる目的として、C57BL/6 雄マウスに対し Infrarenal aortic

constriction(IRAC)を施行し、多光子励起レーザー顕微鏡によるPTC血流量の測定を行ったところ、IRAC施行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ることが示された。

5. 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1週間後にIRACを施行したモデル(UIR+IRAC群)を作成し、IRACによるPTC血流量増加が虚血障害後の腎間質の線維化経過に及ぼす影響を検討した。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群よりも有意に軽減していた。UIR+IRAC群の腎組織TGF- β 1 mRNA の発現量は10、14日目においてUIR群より有意に低値であった。さらに虚血再灌流障害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群に比べてUIR+IRAC群で低値であった。以上よりIRACによるPTC血流増加により虚血障害後の腎間質の線維化軽減効果が示された。

以上、本論文は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比較およびIRACによる虚血再灌流障害後の腎間質の線維化軽減効果を示すことで、虚血障害後亜急性期のPTC機能がその後のCKD進展に影響を及ぼすことを明らかにした。さらに本研究は動物モデルによりAKI後のCKD進展経過が異なり、研究内容により適切な動物モデルの選択が必要になることを示しており、今後のAKI to CKD transition研究に貢献するものと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。