

京都大学	博士 (医学)	氏名	小幡 (石田) 季子
論文題目	Renal impairment with sublethal tubular cell injury in a chronic liver disease mouse model (慢性肝疾患モデルマウスにみられた sublethal tubular cell injury を伴う腎障害)		
<p>【背景】慢性肝疾患患者に腎障害が合併すると予後が増悪する。肝障害早期における腎障害の病態が解明されれば、新規予防法や治療法の開発に繋がり予後の改善が期待される。しかし、これまでは肝腎症候群など肝障害進展期の腎障害が主に研究されており、肝障害早期における腎障害の病態はあまり注目されてこなかった。そこで、本研究では慢性肝疾患モデルマウスの早期に発現する腎障害の病理病態学的特徴を検討することにした。</p> <p>【方法】慢性肝疾患の1つである硬化性胆管炎を誘発することが知られている 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC) を BALB/c マウスに食餌性 (0.1%) に投与した。肝障害早期における腎障害の検討では、DDC 投与後 1 日、3 日、7 日目に肝及び腎の免疫組織化学的・超微細構造学的検査を含む病理学的検査、さらに臓器障害マーカーや酸化ストレス・オートファジー関連物質などを血清学的・遺伝子学的検査や Western blot で検討した。肝障害進展期の検討では、14 日、56 日目に病理学的・血清学的検査を行った。また、肝・腎障害の相互関係を検討する目的で、高濃度 DDC (0.5%) 投与と 3 日間の DDC 投与後に 7 日間及び 28 日間通常の餌に戻す回復実験を行い、両臓器の反応性を比較した。対照群は DDC を含まない餌で飼育した。</p> <p>【結果】肝障害早期の検討では DDC 投与後 1 日目から腎機能障害を示し、血中クレアチニン値が約 1.7 倍、尿中 neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) 値が約 10 倍に上昇したが、光学顕微鏡による通常の検査では 7 日間を通じて腎組織に細胞死や炎症細胞浸潤を含む明らかな形態変化は認めなかった。一方、電子顕微鏡検査で近位尿細管上皮細胞に刷子縁微絨毛の消失・ミトコンドリア傷害を認め、免疫組織化学検査で尿細管傷害マーカーである kidney injury molecule-1 陽性を示す尿細管上皮細胞や酸化ストレス関連物質 (4-hydroxy-2-nonenal・3-nitrotyrosine) の増加がみられた。これらの軽微な腎障害所見は sublethal tubular cell injury として知られる病態と一致していた。また尿細管上皮には、再生性変化として投与後 1 日、3 日目に細胞分裂像と Ki-67 陽性細胞の増加を、細胞死への進行抑制機構として single-cell extrusion やオートファゴソーム及びオートファジー関連タンパク質 (microtubule light-chain protein 3-phosphatidylethanolamine conjugate・p62) の増加を認めた。さらに各種遺伝子発現の検討では interleukin-6 と tissue inhibitor of metalloproteinase 1 が軽度上昇していた。肝障害進展期では、腎機能障害は悪化を伴わず持続し、間質の線維化が出現した。また、肝障害は DDC の濃度依存性に悪化し通常の餌で対照群レベルまで回復したが、腎障害への影響は肝障害に比し高濃度 DDC 投与実験・回復実験ともに小さかった。</p> <p>【結論】慢性肝疾患モデルマウスの早期には、腎障害として sublethal tubular cell injury が出現することが明らかになった。また、ミトコンドリア傷害・酸化ストレスが腎障害の病態に関連していること、尿細管上皮細胞が single-cell extrusion やオートファジーの活性化により細胞死に進行せぬよう保護されていることが示された。さらに、肝障害進展期には腎間質に線維化がみられた。Sublethal tubular cell injury は、急性腎不全の基準を満たすものの光学顕微鏡では形態学的異常が認められない障害で、ヒトの急性腎不全でもしばしば遭遇することが知られている。本モデルの腎障害機序をさらに検討すれば、慢性肝疾患患者に合併した腎障害の病態解明に貢献すると考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

慢性肝疾患患者に腎障害が合併すると予後不良となることが知られており、肝障害早期における腎障害病態を解明すれば予後の改善が期待される。そこで、本研究では慢性肝疾患モデルマウスに発現する腎障害の形態学的・機能的特徴を検討した。

慢性肝疾患モデルとして 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC) 経口投与 BALB/c マウスを用い、肝障害早期と進展期における腎障害の病態および両臓器の相互関係について形態学的・機能的に検討した。

その結果、早期では血清学的腎機能障害と電子顕微鏡レベルでの近位尿細管上皮細胞の形態学的変化(刷子縁微絨毛の消失、ミトコンドリア傷害)が認められ、これは最近ヒトの腎障害の一形態として注目されている sublethal tubular cell injury に一致する所見であった。腎組織では、炎症・線維化マーカー遺伝子発現量の軽微な上昇や酸化ストレス関連物質の増加がみられた。一方、上皮細胞の再生、single-cell extrusion、オートファジーがみられ、細胞障害を抑制していることが示唆された。さらに進展期になると腎機能障害の持続および間質の線維化が確認され、慢性腎臓病に進展することが明らかとなった。なお、腎障害は肝と比べて DDC 濃度や投与中断の影響を受けにくかった。

以上の研究は、ヒト腎障害の動物モデルの確立によって、慢性肝疾患に関連した腎障害だけでなく、原発性の腎疾患の病態解明にも大きな示唆を与え、その発症予防や治療法開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 2 月 9 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：平成 年 月 日以降