

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	山本 伸也
論文題目	Spatiotemporal ATP Dynamics during AKI Predict Renal Prognosis (急性腎障害における ATP 動態が、腎予後を規定する)		
(論文内容の要旨)			
【背景・目的】 高齢化や慢性腎臓病の増加を背景に、急性腎障害の発症頻度は上昇している。従来、急性腎障害は回復可能な病態と考えられてきたが、疫学研究により慢性腎臓病に陥る場合があることが明らかになってきた。近位尿細管は、組織学的に急性腎障害で最も障害を受けやすい部位である。以前の研究で、近位尿細管の障害が短期的には急性腎障害を、長期的には慢性腎臓病や末期腎不全を惹起することが報告されているが、何が腎予後を規定するのかは不明であった。アデノシン三リン酸 (ATP) は、細胞運動、物質輸送、生体高分子合成、代謝反応などに重要な役割を果たし、細胞機能を決定する。前述の近位尿細管は、ATP依存性に糖やアミノ酸、電解質などの溶質を再吸収する重要な役割を担っており、極めてATP要求性が高い部位である。そのことから、「急性腎障害における近位尿細管のATP動態が、腎予後を決定する」という仮説を立てた。本研究において、従来不可能であった、生体腎におけるATPの1細胞レベルの時間的・空間的動態の可視化を実現し、その仮説を検証した。			
【方法・結果】 まず、細胞質ATP濃度を可視化するFRETバイオセンサーを全身発現させたATP可視化マウスを二光子顕微鏡で観察することで、生体腎における時間的・空間的ATP変動をリアルタイムに捉えることに成功した。次に、急性腎障害の代表的なモデルである虚血再灌流モデル(虚血時間：15分、30分、60分)を用いて、ネフロンセグメントごとにATP変動を平温、または低温条件下で解析した。最後に、慢性期の線維化領域面積と急性期のATP回復との相関を検証した。 腎虚血とともに近位尿細管のATPは数分で速やかに低下する一方、遠位尿細管のATP低下は非常に緩徐で、虚血開始30分後でも保たれており、ネフロンセグメントによりATP挙動が全く異なることが明らかになった。また、再灌流後には近位尿細管のATPは回復したが、その回復速度と回復率は虚血時間によって大きく異なり、長時間虚血後の回復速度は遅く、不完全であった。近位尿細管では、長時間虚血で顕著なミトコンドリア障害を認めることに加え、傍尿細管毛細血管の血流低下や血栓による酸素供給の低下があり、ATPの回復不良の原因であると考えられた。一方、遠位尿細管では長時間虚血でもミトコンドリア形態は保たれておりATP回復も良好であった。低温条件下の虚血では、平温条件下と比べて、近位尿細管のATP回復が著明に改善した。低温条件下60分の虚血時間では平温条件下30分よりATP回復が良好であり、虚血時間を2倍にしても、なおATP回復が良好であることがわかった。また慢性期の線維化領域面積は、急性期の近位尿細管ATP回復と強い負の相関を認めた。			

【結論・考察】

ATP可視化技術を用いて、生体腎における急性腎障害時のATP動態を世界で初めて明らかにした。また、遠位尿細管が虚血性急性腎障害に抵抗性であることが形態的評価だけでなく、エネルギー代謝の側面からも示された。さらに、急性腎障害における近位尿細管のATP回復は、障害度を反映するだけでなく、腎予後とも相関することを示し、エネルギー代謝の恒常性破綻が急性腎障害の予後と密接に関連することを明らかにした。また低温条件下の虚血では、平温条件下に比して、ATPの回復が著明に改善することを証明し、低温療法の有効性を見出した。このATP可視化技術は、将来的に急性腎障害治療薬開発や移植臓器保護の技術向上に繋がることが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

短期間に腎機能が低下する病態を急性腎障害というが、高齢化を背景にその発症頻度は上昇している。急性腎障害は一過性のこともあるが、長期的に慢性腎臓病を惹起することもあり、何が腎予後を規定するのかは不明である。急性腎障害では近位尿細管が主として障害を受けるが、同部位はATP依存性に溶質を再吸収しており、ATP要求性が非常に高いことから、急性腎障害時におけるATP動態と腎予後の関連について検証した。本研究では、細胞質ATP濃度を可視化するFRETバイオセンサーを全身発現させたATP可視化マウスを二光子顕微鏡で観察することで、生体腎における時間的・空間的ATP変動をリアルタイムに捉えることに世界で初めて成功した。虚血再灌流モデルを用い、平温・低温条件下で急性腎障害を惹起した。虚血により近位尿細管ATPは速やかに低下する一方、遠位尿細管ATP低下は緩徐であり、ネフロン部位によりATP挙動が全く異なることを示した。さらに、再灌流後の近位尿細管ATP回復速度や回復度は、障害度を反映するだけでなく、慢性期の線維化と相関することを示し、エネルギー代謝の恒常性破綻が急性腎障害の予後と密接に関連することを明らかにした。また低温条件下虚血再灌流では、平温条件下に比して、ATP回復と線維化が著明に改善することを証明し、低温療法の理論的根拠を見出した。

以上の研究は、急性腎障害の病態解明に貢献するところが多い。

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、令和3年3月4日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。