

氏 名 上原 孔美

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士第994号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項

学 位 授 与 年 月 日 令和6年3月21日

学 位 論 文 題 目 Establishment of a novel mouse model of renal artery
coiling-based chronic hypoperfusion-related kidney
injury
(腎動脈コイルング技術を用いた慢性低灌流による腎障害マ
ウスモデルの新規作製)

審 査 委 員 主査 教授 向所 賢一
副査 教授 鈴木 友彰
副査 教授 丸尾 良浩

論文内容要旨

※整理番号	1003	(ふりがな) 氏名	うえはらよしみ 上原孔美
博士論文題目	Establishment of a novel mouse model of renal artery coiling-based chronic hypoperfusion-related kidney injury (腎動脈コイリング技術を用いた慢性低灌流による腎障害マウスモデルの新規作製)		
<p>【目的】 末期腎不全患者の増加は、世界規模の公衆衛生問題である。透析導入の原疾患は糖尿病性腎症が最多であるが、近年、高齢化に伴い、腎虚血を背景とする腎硬化症が増加している。よって、今後の透析導入患者数の減少を目指すには、特に高齢者において見られる、腎動脈狭窄に起因した慢性的腎虚血による腎障害の病態解明が必要となる。これまでに、腎虚血を伴う腎障害モデルとして、腎虚血再灌流モデルや脂質代謝異常を背景とした動脈硬化モデルが存在するが、前者は急性腎障害モデルであり、後者は脂質代謝異常が強く、慢性腎虚血に伴う腎障害のメカニズムの解明には問題があった。そこで本研究では、慢性腎虚血のメカニズム解明のためには、まず、慢性腎虚血に伴う新たな腎障害マウスモデルの作製が必要と考え、腎動脈コイリングを用いた慢性低灌流による腎障害モデルマウスを作製することとした。</p> <p>【方法】</p> <p>① 片側腎動脈コイリングマウスの作製およびコイリング後の腎形態、腎血流の評価 8週齢のC57/BL6J雄マウスをCoiled群、Sham群の2群に分けて、処置および評価を行った。血栓形成予防のため、術前にヘパリン腹腔内投与を行った。イソフルラン持続吸入麻酔下において、腹部正中切開を行い、両側腎臓を露出させ、処置前に腎血流を測定した。腎血流は2次元レーザー血流計を用いて評価した。その後、右腎動脈周囲の脂肪織を除去し、右腎動脈を遊離させ、内径0.26mm、長さ2mmのマイクロコイルを右腎動脈に留置した。腹腔内洗浄後に閉創し、処置終了とした。腎動脈コイリング12週後に再度開腹し、同様に両側の腎血流を測定した。</p> <p>② 片側腎動脈コイリング後の腎機能および全身状態の評価 全期間を通して、体重測定を行い、両群で成長に差がみられないかを観察した。腎動脈コイリング5日後と12週後に心拍数および血圧測定を行い、コイリング12週後に24時間蓄尿検査、血液検査および腎組織評価を行った。</p> <p>【結果】</p> <p>① 片側腎動脈コイリングマウスの作製およびコイリング後の腎形態、腎血流の評価 片側腎動脈コイリング12週後、Coiled群のコイル側の腎臓に部分的な萎縮を認めた。また、Coiled群のコイル側の腎臓はSham群に比べて有意に腎重量の減少がみられ、対照</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、
 2千字程度でタイプ等で印字すること。
 2. ※印の欄には記入しないこと。

的に Coiled 群の非コイル側の腎臓には重量増加がみられた。腎血流に関しては、コイリング前は Coiled 群と Sham 群に差はなかったが、コイリング 12 週後には Coiled 群のコイル側の腎臓で Sham 群に比べて血流低下を認めた。

これらの結果より、腎動脈コイリングにより、コイル側で慢性腎低灌流による腎萎縮、対側の非コイル側での代償的な腎肥大が引き起こされることが示された。

② 片側腎動脈コイリング後の腎機能および全身状態の評価

コイリング 12 週後において、血漿シスタチン C、クレアチニン、尿素窒素はいずれも Coiled 群において Sham 群に比して有意に上昇しており、腎機能の低下が確認された。また、Coiled 群のコイル側の腎臓は局所的な炎症と線維化を認め、腎実質の障害が認められた。

処置前からコイリング 12 週後までの体重増加は Coiled 群と Sham 群に差はみられず、手術による成長に対する影響はみられなかった。片側コイリング 5 日後、Coiled 群における収縮期血圧が Sham 群に比べて上昇していたが、12 週後には心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧のいずれも差がみられなかった。12 週後における血漿電解質、肝機能、尿中アルブミン排泄量および急性腎障害のマーカーである尿中 KIM-1 においても両群に差を認めなかった。

これらの結果より、片側腎動脈コイリングによる慢性腎低灌流マウスにおいて、コイリング 12 週後では、成長・バイタルサイン・電解質の変化や、急性腎障害を疑う所見を認めず、コイル側の腎組織障害および腎機能低下を認めることが示された。

【考察】

本研究では、腎動脈コイリング技術を用いて、慢性低灌流による腎障害を惹起するモデルマウスの作製に成功した。このモデルでは、腎動脈コイル側における 12 週後の腎血流の低下、組織学的腎障害、腎機能低下を確認した。これまで、本研究とは異なるデバイスを用いた腎動脈狭窄モデルマウスの報告はあったが、いずれも慢性的な高血圧を伴うモデルであった。本研究で作製したモデルは、処置後早期に一過性の血圧上昇がみられたものの、慢性的な高血圧は認めず、慢性高血圧症を伴わない腎低灌流モデルマウスとして、既報のモデルとは異なるモデルと言える。今後、このモデルマウスを用いた研究が慢性腎虚血の腎障害の詳細なメカニズム解析や病態モデルでの評価による新たな治療標的の確立につながる可能性がある。本研究の限界として、本モデルは腎動脈本幹の狭窄モデルであり、持続的な高血圧を認めないため、腎実質において高血圧に惹起される動脈硬化病変がみられない点、性差の評価は行っていない点が挙げられる。しかしながら、本モデルは、慢性腎虚血が腎実質に及ぼす影響についての評価を行うには有力なツールと考えられ、慢性腎虚血の多岐にわたる病態解明に大いに貢献する可能性がある。

【結論】

本研究で、腎動脈コイリング技術を用いた慢性低灌流による腎障害マウスモデルの作製に成功した。今回作製した腎障害モデルを肥満マウス、高齢マウス、各種遺伝子改変マウス等に利用することで、今後、慢性腎虚血に伴う腎障害の病態解明が進むことが期待される。

博士論文審査の結果の要旨

整理番号	1003	氏名	上原 孔美
論文審査委員	主査	向所 賢一	
	副査	鈴木 友彰	
	副査	丸尾 良浩	
<p>(博士論文審査の結果の要旨)</p> <p>本論文は、腎動脈コイルリング技術を用いて、慢性低灌流による腎障害を惹起するモデルマウスの作製に成功し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 右腎動脈をコイルリングすることにより、コイル側の腎血流が低下すること。2) コイル側の腎萎縮と非コイル側の腎肥大が起こること。3) コイルリング5日後には、一過性に収縮期血圧が上昇するが、12週後には改善すること。4) 腎動脈コイルリング12週後には腎機能が低下すること。5) 腎動脈コイルリングにより、糸球体障害や急性尿細管壊死は起こらないこと。6) 腎動脈コイルリングにより、電解質や肝機能には変化を認めないこと。7) コイル側における12週後には、局所的な炎症と線維化を認めること。 <p>本論文は、新たな慢性腎虚血モデルの作製に成功し、このモデルの特徴について詳細に報告したものである。既報の疾患モデルに本研究で確立した腎動脈コイルリング技術を併用することにより、様々な疾患の病態解明に応用できると考えられ、今後の更なる発展が期待できるものである。また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数496字)</p> <p style="text-align: right;">(2024年 2月 19日)</p>			