

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

藤本 瑛介

主論文の題目
および

掲載誌・審査委員

題目 Embryonic Kidney Function in a Chronic Renal Failure Model in Rodents（慢性腎不全モデルでの胎生腎臓の検討）

掲載誌 Clinical and Experimental Nephrology 2016: (in press)

主査 北川 博昭

副査 高木 正之

副査 小島 宏司

[論文の要旨・価値]

胎生期のラット腎臓と膀胱を一塊として摘出し 10-15 週齢ラットに移植し①慢性腎不全環境下で代替腎臓として機能するか ②移植腎臓-膀胱は利尿薬に反応するか ③移植腎-膀胱のみで生命予後延長効果が出るか ④IVIS(In vivo image system)による移植腎-膀胱評価が出来るかを検討した。

対象・方法:妊娠 15 日目の雌 Lewis ラットの腎臓と膀胱を一塊として摘出(ドナー)、10-15 週齢の雄 Lewis ラット(レシピエント)の腹腔内に移植。移植 28 日後、成長した移植腎臓と膀胱を実体顕微鏡下でレシピエントの左尿管と吻合、排泄路を確立した。同時に、レシピエントの左腎摘出、右 5/6 腎梗塞環境を再現。移植後 56 日に右側レシピエント尿管を結紮し、移植腎由来尿を回収し、移植腎のみによる生命予後延長時間を測定した。同時にフロセミドの負荷試験、移植腎の mRNA 解析。IVIS(In vivo imaging system)で移植腎-膀胱評価をおこなう。統計解析は Student T test、one-way ANOVA with Turkey's post hoc test、Kaplan-Meier 法 (log-rank test)。本研究は東京慈恵会医科大学動物実験委員会の審査を経て行った (実験番号 2015-032)

結果:非腎不全環境下で成長した移植腎群 (n=5) と腎不全環境下で成長した移植腎群 (n=8) の生存期間に有意な差はなかった (median survival:70.5 h vs 74.5 h; p=0.331)。フロセミド投与群 (n=9) と control 群 (n=7) の比較ではフロセミド投与群で尿量は増加した (p<0.05)。移植腎の mRNA 解析は、尿細管マーカーの、Na-K-Cl cotransporter 2、Aquaporin 2、Ca 代謝に関わる Cyp27b1 を発現した。さらに IVIS を用いて移植腎の着生をモニタリングすることが可能でした。病理学的にも膀胱尿管吻合群で、移植腎の尿細管構造は保たれていることがわかりました。

考察:慢性腎不全環境は 5/6 腎梗塞モデルで血清クレアチニン、尿素窒素の値から腎不全環境を安定して再現できた。そして、適切な移植腎尿管吻合で、移植腎は水腎症を回避でき、利尿薬に良好に反応し、内分泌能も有している可能性が示唆された。移植腎の生命予後改善効果は、慢性腎不全環境であっても機能することを示した。さらに胎生腎を追加し生命予後の延長を図ったが追加した移植腎は十分に能力を発揮できなかった。IVAS を用いた移植腎の viability を予測することに成功し、個々の移植腎の発育に合わせて適切な時期に移植腎機能の評価することが可能となった。今後は移植腎をモニタリングしながら、より適切な移植時期を検討する必要がある。

結論:胎生期の腎臓と膀胱は、慢性腎不全環境下においても機能することが明らかとなり、移植腎機能を IVIS でモニタリングすることが可能であった。

[審査概要] 審査は主査、副査および数名の陪席者のもとにおこなわれた。申請者による 20 分のプレゼンテーションはわかりやすく要点をよくまとめていた。約 30 分の質疑応答では胎仔の膀胱尿管腎臓をどのように摘出、吻合するか等手術的な観点からの質問、腎不全ラットの安定した作成が可能であったか、胎生期のどの時期の吻合が良いか、何度も手術をわけておこなう理由、空豆状の腎臓が作成できないか、人間で言えばどの胎生週にあたるか。移植腎を増やしてもなぜ機能しないか等が議論され、ほとんどの質問に適切な解答ができた。また、今後の研究の方向性などについても述べていた。

最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 研究内容の発表と質疑応答を通して、申請者は動物実験への取り組み、専門的知識、研究意欲などについて問題がないと判断した。また、英語能力は引用文献を読んで和訳したが、発音、読解力、共に国際会議で通用すると判断した。発表態度は真摯であり、今後聖マリアンナ医科大学で研究費を獲得して、実験が続けられればとの願いもあり、学位授与に値すると評価した。