

氏名	村田真野
(ふりがな)	(むらた しんや)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 号
学位審査年月日	平成29年6月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Quantified kidney echogenicity in mice with renal ischemia reperfusion injury: evaluation as a noninvasive biomarker of acute kidney injury (腎虚血再還流モデルマウスにおける定量化腎エコー輝度の評価：急性腎障害のバイオマーカーとしての検討)
論文審査委員	(主) 教授 鳴海善文 教授 石坂信和 教授 今川彰久

学位論文内容の要旨

《目的》

急性腎障害 (acute kidney injury: AKI) は急速に腎機能が低下する病態であり、未だに死亡率が高いことが知られている。また、AKI の中には急性期後に腎萎縮を呈し、高度な腎機能低下が残存する慢性腎臓病(chronic kidney disease: CKD)に進展するものがある。腎機能のおもな指標は血清クレアチニンである。血清クレアチニンは腎障害から 12-24 時間後に上昇するため、これが上昇している時点では AKI への治療介入が遅れていることが多い。そのため血清クレアチニンより鋭敏な AKI の早期診断因子の探索が精力的に行われている。AKI の診断バイオマーカーとして既に neutrophil gelatinase-associated lipocalin

(NGAL)などが実用化されているが、血液尿検体で測定するために頻回に採取することが難しい。われわれは血清クレアチニンが上昇する前に超音波検査で腎実質輝度が上昇している AKI 症例を実臨床で多く経験している。そこで、今回、定量化した腎エコー輝度が AKI の早期診断バイオマーカーとして、また、AKI から CKD への進展予測バイオマーカーとして有用であるかを腎虚血再灌流 (renal ischemia-reperfusion injury: IRI)モデルマウスを用いて評価することにした。

《対象と方法》

本検討は本学倫理委員会の承認を得ている。本検討では、(1) 早期AKIモデルと(2) AKIからCKDに進展するモデルを探索するために2つのIRIプロトコルを設定した。それぞれ、(1) 両側腎動脈を一定時間 (0分、10分、30分、40分) クランプし虚血した後に解放するIRIマウスを作製した。また、(2) 片側腎動脈を一定時間 (0分、45分、60分) クランプし虚血した後に解放するIRIマウスを作製した。各虚血時間グループにおけるマウス数は5匹である。(1)において腎動脈クランプ虚血前・再灌流後2時間・6時間・12時間・24時間の定量化腎エコー輝度、血清クレアチニン値、また、既知のAKIバイオマーカーとして知られている尿中NGAL値を測定した。そして各時間で病理組織学的評価(尿細管障害の程度)も行った。(2)において腎動脈クランプ虚血前・再灌流後2時間・6時間・12時間・24時間・1週間・2週間・4週間の腎重量、定量化腎エコー輝度を測定し、また、病理組織学的評価(線維化の程度)を行った。

《結果》

(1)において、両側腎動脈クランプ虚血時間30分と40分のIRIマウスで再灌流後24時間の時点で有意な血清クレアチニン値の上昇と病理組織学的変化(尿細管障害)を認めた。このことから、虚血時間30分以上のマウスを早期AKIモデルに設定した。次に、そのAKIモデルマウスを用いて虚血再灌流後の定量化腎エコー輝度、血清クレアチニン値、尿中NGAL値の推移を観察したところ、血清クレアチニン値と尿中NGAL値が再灌流後6時

間で有意な上昇を認めた。定量化腎エコー輝度はさらに早い再灌流後 2 時間で有意な上昇を認めた。(2)において、片側腎動脈クランプ虚血 45 分のマウスでは再灌流後 4 週間に腎重量および病理組織学的変化(線維化)をほとんど認めなかった。これに対し、片側腎動脈クランプ虚血 60 分のマウスでは有意な腎重量の低下および病理組織学的変化を認めた。このことから、虚血時間 45 分のマウスを AKI 後修復モデルマウスとし、虚血時間 60 分のマウスを AKI-CKD 進展モデルに設定した。虚血時間 45 分の AKI 後修復モデルマウスでは定量化腎エコー輝度が再灌流後に一旦上昇するものの 4 週間後にはほぼ正常まで改善していた。これに対し、虚血時間 60 分の AKI-CKD 進展後モデルマウスは 4 週間後も有意に高値のままであった。

《考察と結論》

AKI モデルマウスにおいて、定量化した腎エコー輝度は、既知の AKI バイオマーカーである血清クレアチニンや尿中 NGAL よりも早期に上昇していた。また、AKI-CKD 進展モデルマウスにおいて、定量化腎エコー輝度は有意な高値が持続していた。腎エコー輝度の測定は血清クレアチニンや尿中 NGAL の測定よりも更に非侵襲的であり、リアルタイムで可能である。定量化腎エコー輝度は AKI のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

急性腎障害 (acute kidney injury: AKI) は死亡率が高く重篤な病態である。腎機能のおもな指標は血清クレアチニンである。しかし、血清クレアチニンは腎障害から 12-24 時間後に遅れて上昇するため、これが上昇している時点では AKI への治療介入が遅れていることが多い。そのため、血清クレアチニンより鋭敏な AKI の早期診断バイオマーカーの探索が精力的に行われ、既に neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) などが実用化されている。しかし、それらは血液尿検体で測定するために頻回に採取することが難しく、ほとんどの施設で当日に検査結果が判明しないなどいくつかの問題点がある。超音波検査は非侵襲的でリアルタイムに評価が可能である。AKI において急性期に腎実質エコー輝度が上昇することが知られている。本研究では、腎虚血再灌流 (renal ischemia-reperfusion injury: IRI) モデルマウスを用いて、定量化した腎エコー輝度の AKI 早期診断能および慢性腎臓病 (chronic kidney disease: CKD) への進展予測能の評価を行った。そして下記のような結果を得ている。

- (1) 定量化腎エコー輝度は既知の AKI バイオマーカーである尿中 NGAL 値よりも早期 (腎障害後 2 時間) に上昇していた。
- (2) 腎障害 4 週間後において腎委縮や線維化を呈したマウスの腎エコー輝度は有意に高値を維持していた。

このことから、定量化腎エコー輝度は AKI のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。今後の臨床応用に向けて期待がもたれる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Medical molecular morphology

2017 Apr 5 doi: 10.1007/S00795-017-0157-8 〈オンライン掲載〉