

論文審査の結果の要旨

Development of a novel chronic kidney disease mouse model to evaluate the progression of hyperphosphatemia and associated mineral bone disease.

高リン血症に合併した骨・ミネラル代謝異常を呈する
新規慢性腎臓病モデルマウスの確立

日本医科大学大学院医学研究科 腎臓内科学分野
大学院生 谷 崇

SCIENTIFIC REPORTS 2017年5月掲載

血管中膜石灰化は慢性腎臓病に頻発する骨ミネラル病変であり、腎不全患者における心血管病発症に大きく寄与している。この機序については、血管中膜にある平滑筋細胞が高リン血症など尿毒症性物質の刺激により骨芽細胞様に形質転換し、正常造骨機序の様な石灰化機構が働くことによるとされる。しかし詳細な機序は不明であり、また簡便で安定した動物モデルがほとんどない。そこで腎毒性物質であるアデニンと無機リンの負荷による簡便で新たなモデルマウスの確立を目的として本研究を行った。8週令 C57BL/6J マウスに対して0.2%アデニン含有食6週投与により腎不全を発症させ、その後食餌に高リン食(1.8%無機リン)を混ぜ最長6週間まで投与することで、高リン食負荷腎不全マウスを作成した。実験終了時に蓄尿と動物用CT検査による大動脈の石灰化評価を行うと共に血液、大動脈、腎臓、大腿骨を採取した。比較対照として、正常マウス群、通常(0.8%)無機リン食を与えた腎不全群を設定するとともに、一部のマウスについては高リン食負荷開始2、4週時点で検体採取を行うことで、経時的変化も検討した。評価項目としては、血中・尿中のリン、カルシウム、クレアチニンおよび各種ホルモン濃度を測定した。摘出大動脈の石灰化像を組織学的に評価するとともに、組織中カルシウム濃度定量、石灰化に関連する mRNA 発現量もリアルタイム PCR 法により求めた。また大動脈以外に腎臓、大腿骨の組織標本も作製し評価した。

アデニン負荷による腎不全マウスでは対照群に比して有意に血清クレアチニン、副甲状腺ホルモン濃度などが高かったが、血清リン濃度については有意な上昇はなく、動脈壁の石灰化も見られなかった。一方アデニン+高リン食負荷モデルでは血清クレアチニン濃度のみならず血清リン濃度も有意に上昇し、その大動脈には高リン食の負荷期間と有意な正相関を示す石灰化像が見られた。更に大動脈組織のリアルタイム PCR 解析では、Osteopontin など骨芽細胞において石灰化に関与するとされる mRNA 発現量の増加を認めた。一方、このアデニン+高リン負荷モデルの大腿骨では、遠位端の皮質骨密度と皮質骨塩量の有意な減少も認めた。

以上、アデニン+高リン負荷により動脈中膜石灰化を伴う慢性腎不全マウスモデルを作成できることが初めて明らかとなった。比較的平易に作成可能かつ既報のモデルと比較して病態の個体差が少ないという特徴があり、本病態機序の詳細な解明や新規治療薬の効果判定などへの応用も期待される。学位論文第2次審査では結果の解釈、特に腎機能およびリン酸輸送体発現に関する解釈やその問題点などを中心に慎重な質疑がなされた。また今後の研究発展性などについても深く討論がなされたが、いずれも的確な回答が得られた。以上のことから本論文は学位論文として価値のあるものと認定した。