

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Influence of renal ischemia-reperfusion injury on renal neutrophil gelatinase-associated lipocalin receptor (24p3R) in rats

ラット腎虚血再灌流障害における 24p3R の影響

日本医科大学大学院医学研究科 腎臓内科学分野
研究生 荒川 裕輔

Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology (2019 年) 掲載予定.

DOI: 10.1111/1440-1681.13129.

急性腎障害の診断において血清クレアチニン濃度が明確に上昇するには時間がかかるため、発症を早期に検出できるバイオマーカーの開発が大きな課題となっている。現在最も研究が進んでいるものが Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (以下 NGAL) であり、腎尿細管を含め好中球、肝臓など様々な臓器に発現している。急性腎障害時には主として尿細管細胞での NGAL 発現が増加しその結果尿中排泄が増加するため、尿中 NGAL 測定が急性腎障害発症早期のバイオマーカーになると期待されている。一方尿細管中へ流出した NGAL の一部は遠位尿細管の NGAL 受容体 24p3R を介して遠位尿細管細胞内へ取り込まれることも知られている。本研究は急性腎障害早期に尿中 NGAL 排泄が増える機序として、尿細管の 24p3R 発現が変化しているか否かを動物モデルと培養細胞を用いて検討したものである。

Wistar ラットを麻酔し、右腎動脈を 10~45 分間クランプの後血流再開させることで、様々な程度の片側急性腎障害モデルを作成した。再灌流後 24 時間にわたって採血と蓄尿しその後腎摘出した。腎組織は受容体などの抗体を用いて免疫染色を行い発現の変化を検討した。またラット培養腎細胞に対して actimicin A 添加により ATP 枯渇状態とし、添加中止後の受容体 mRNA 発現変化も検討した。結果として、30 分間以上の腎動脈クランプを行った動物では、その後の血清クレアチニン濃度、NGAL 濃度の有意な増加など臨床的な急性腎障害が確認された。一方 NGAL 排泄は 20 分間以上の腎動脈クランプで有意に増加しており、軽度の腎障害においてもその指標となることが確認された。尿細管における 24p3R 蛋白の発現は 20 分間以上の腎動脈クランプで減少し始めたが、有意となるのは 45 分間のクランプにおいてであった。また腎培養尿細管細胞を用いた ATP 枯渇実験でも、その後に同受容体 mRNA が有意に減少することが判明した。以上の事から腎虚血再灌流早期から尿細管の NGAL 受容体の一つである 24p3R 発現が減少すること、これも急性腎虚血早期に尿中 NGAL

排泄が増加する機序の一つとなりうることを明らかにした。

本研究は動物モデルなどを用いて、臨床的に期待されているバイオマーカー尿中 NGAL 排泄が急性腎障害早期に上昇する機序を新たに提示したという点で新規性の高いものである。今回用いた動物モデルは、急性腎障害発症のための動脈クランプ時間を比較的細かく設定し明瞭な疾患発症を確認できているので、将来新たなバイオマーカー候補が見つかった場合にも応用性の高い研究手法を見つけられたことも重要な点である。

学位論文第 2 次審査では、特に NGAL の全身および腎での動態、受容体の発現に関する結果の解釈、本研究の限界などを中心に慎重な質疑がなされた。また今後の臨床的な観点から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。