

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### The reduced number of nephrons with shortening renal tubules in mouse postnatal adverse environment

腎発生過程での尿管芽分岐後の劣悪環境によるネフロン数の減少と発達不全

日本医科大学大学院医学研究科 解析人体病理学分野

大学院生 福知(田川) 雅子

Pediatric Research (2022) 掲載

DOI: 10.1038/s41390-022-02332-0.

胎生期・周産期の劣悪環境により腎臓のネフロン数は減少し、その後の腎機能障害に関連していることが Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)仮説として提唱されている。このネフロン数の減少は尿管芽分岐の減少が関連していると考えられている。本研究は、尿管芽分岐完了後のネフロン形成期における劣悪環境がネフロンに及ぼす影響を明らかにすることを目的として行われた。

マウス腎臓における尿管芽分岐は出生後 2 日目には完了し、ネフロンの形成は 7 日目まで継続される。尿管芽分岐終了後でネフロン形成期の生後 3 日目のマウスを用い、劣悪環境として成獣の腎臓には影響を及ぼさない放射線 10 グレイ(Gy)を、腎臓以外を遮蔽して単回照射した(生後 3 日目照射群)。対照群として、放射線無照射群と、ネフロン形成終了後の出生後 14 日目での放射線照射群(生後 14 日目照射群)の 2 群を設定した。これらの 3 群を 18 ヶ月目まで比較検討した。

生後 3 日目照射群は、無照射群および生後 14 日目照射群と比較して 1 ヶ月目、3 ヶ月目、6 ヶ月目の腎臓長径と腎重量の減少を認めた。また 6 ヶ月目では、血清尿素窒素(BUN)の上昇、尿浸透圧低下を伴う尿量の増加、24 時間水分制限による尿濃縮試験で尿濃縮不全を認めた。生後 3 日目照射群では、照射後 24 時間目には腎表層のネフロン発生に関わる nephrogenic zone で proliferating cell nuclear antigen (PCNA)陽性増生細胞数の減少を認め、1 ヶ月目には腎皮質は菲薄化し、腎縦断断面の糸球体数や腎皮質の糸球体密度の減少を認めた。加えて、皮質表層には未熟糸球体や、それらの退縮による全節性硬化糸球体を認めた。

糸球体の病理所見では、生後 3 日目照射群で、無照射群および生後 14 日目照射群と比較して糸球体面積や CD31 の免疫染色で確認した糸球体係蹄面積の増加が見られ、糸球体は代償性肥大を呈していた。この生後 3 日目照射群の糸球体面積と糸球体係蹄面積の増加は皮質表層、中層、皮髄境界部の全層において認められたが、1 ヶ月目には皮髄境界部の糸球体に目立ち、3 ヶ月目から 6 ヶ月目では皮質外層と中層の糸球体に目立ってくる。腎糸球体の代償性肥大は、皮髄境界部から腎皮質表層部に拡大することが確認された。生後 3 日目照射

群の18ヶ月目では、高血圧やアルブミン尿が出現し、皮髄境界部の代償性肥大糸球体の一部に糸球体硬化を認めた。

次に、腎尿細管について検討した。尿濃縮力は尿細管の中でヘンレ・ループや集合管が関係することが知られている。生後3日目照射群は腎髄質の aquaporin-2 (AQP-2)陽性の集合管数は保たれていたが、AQP-1 陽性のヘンレ・ループ下行脚の減少を認め、髄質外層内帯内で尿細管ループが確認された。ヘンレ・ループは髄質内層でループを形成するが、同群においてはヘンレ・ループの髄質深層への伸長不全が誘導され、尿濃縮力の低下に関連していると考えられた。一方、集合管は、腎髄質と腎乳頭部の AQP-2 陽性の集合管数は保たれていたが、皮質集合管は減少しており、尿管芽分岐後に糸球体が形成されない尿管芽は萎縮・消失していると考えられた。

胎生期・周産期の劣悪環境は、尿管芽分岐後であっても、ネフロン数の減少、ネフロンの発達不全や、残存ネフロンへの持続する代償性負荷による糸球体の肥大、その後の皮髄境界部での糸球体硬化によって、長期にわたり腎機能低下に関連することを明らかにした。

学位論文第二次審査では、正常マウスにおける腎発達過程、放射線量の妥当性、遮蔽しているが放射線照射による腎臓以外の全身臓器への影響、病理形態変化の解釈、劣悪環境による糖代謝や多臓器への影響、糸球体の代償性肥大の意義と糸球体傷害への関わり、実臨床との関わりや研究における将来的な展望など多岐にわたる質疑が行われ、いずれも的確な回答が得られた。本研究は、胎生期・周産期の劣悪環境により腎臓のネフロン数は減少し、その後の腎機能低下に関連しているとする DOHaD 仮説が、腎尿管芽分岐完了後の腎発生過程の劣悪環境においても成立し、ネフロン数の減少や尿細管の伸長不良による不完全ネフロンの形成、尿濃縮不全やその後の高血圧やアルブミン尿などの腎機能障害や糸球体硬化に関連することを証明した初めての論文であり、学位論文として十分に価値のあるものと認定した。