

北里大学大学院獣医学系研究科

博士課程学位論文審査の結果と最終試験の成績

2021年2月19日

学位論文題目

ラット胎仔由来後腎・尿管・膀胱の臓器再生における画像診断の有用性と尿路再建適期に関する検討

氏名 西 晃太郎 所属 獣医学専攻 獣医外科学

審査委員 主査 北里大学 教授 伊藤 直之



副査 北里大学 教授 佐々木宣哉



副査 北里大学 教授 吉岡 一機



副査 慶応義塾大学 特任教授 小林 英司



審査の結果

合格

最終試験の成績

優

北里大学大学院獣医学系研究科

博士課程学位論文審査の結果と最終試験の成績

2021年2月19日

学位論文題目





ラット胎仔由来後腎・尿管・膀胱の臓器再生における画像診断の有用性と尿路再建適期に関する検討

氏名 西 晃太郎 所属 獣医学専攻 獣医外科学

審査委員	主査	北里大学	教授	伊藤 直之	印
	副査	北里大学	教授	佐々木宣哉	印
	副査	北里大学	教授	吉岡 一機	印
	副査	慶応義塾大学	特任教授	小林 英司	印

審査の結果 _____ 最終試験の成績 _____

論文審査の要旨および担当者

学位申請者	西 晃太郎 (DV17006 獣医外科学)
学位論文題目	ラット胎仔由来後腎・尿管・膀胱の臓器再生における画像診断の有用性と尿路再建適期に関する検討
担当者	主査 北里大学 教授 伊藤 直之  副査 北里大学 教授 佐々木宣哉  副査 北里大学 教授 吉岡 一機  副査 慶応義塾大学 特任教授 小林 英司 

論文審査の要旨

慢性腎臓病は特に猫で重要な疾患であり、根本的治療には腎臓移植が必須である。しかしながら、ドナー不足や拒否反応の克服など多くの課題が残されているため、生体腎移植に替わる代替療法に期待が高まっている。

再生医療分野における腎代替療法の一つとして、胎仔由来の後腎・尿管・膀胱 (Metanephros with bladder: MNB) を臓器受容動物 (レシピエント) に移植する方法が注目されている。MNB はレシピエント内に移植された後、尿生成能を獲得するが、生成された尿の排泄経路がないため、段階的蠕動尿管システム (Stepwise Peristaltic Ureter: SWPU) の実施によって尿排泄経路を確保する必要があり、それによって機能的な後腎の成長が可能となる。ただし、MNB は個々で成長が異なり、また、SWPU を

適切な時期に実施できなかった場合、後腎は水腎化してその機能を果たすことができない。以上の背景から、本研究では MNB の成長を経時的に観察する方法と SWPU 実施の適期を判断する基準の確立を目指した。

第一章. 造影 CT 検査と超音波検査を使用した MNB の経時的観察法の検討

これまで、後腎移植の研究は広く行われているが、その成長過程を記録した報告は少ない。MNB の評価においては SWPU 後の尿排泄経路の疎通性を造影 CT 検査により視認しているが、一時点での評価にとどまっている。第一章では、雄ルイスラットをレシピエントとして、ラット胎仔から分離した MNB を後腹膜下に移植し、造影 CT 検査と超音波検査による MNB の評価を目的とした。結果として、造影 CT 検査、超音波検査ともに MNB の観察を可能とした。超音波検査は造影 CT 検査よりも水腎化した MNB の後腎や膀胱を明瞭に観察でき、カラードプラ法では MNB に流入する血流が認められた。超音波検査の情報から算出した MNB 体積は、造影 CT 検査で算出した体積と強い正の相関を示した。さらに、超音波検査により算出した MNB 膀胱の体積と、実際に採取した MNB 尿量が同様に正の相関を示した。したがって、ラットの MNB の経時的観察には超音波検査が有用であることが明らかとなった。

第二章. MNB 成長に関する性別による影響の検討

第一章より、超音波検査によりオスのレシピエントラットにおける MNB は経時的に評価可能であった。しかし、慢性腎臓病は動物種に関わらず、オス・メス両方で罹患する。さらに、臓器の成長にはさまざまな因子が関与するが、その中でも性別は一つの重要なファクターであると

推察される。したがって、第二章では、オスとメスのラットをレシピエントとして、第一章と同様に MNB を移植し、組織の成長への影響を検討することを目的とした。結果として、MNB の大きさはオスでメスより大きかった。尿貯留を確認できた MNB の割合はオスで 70%、メスで 15% 程度であった。メスの MNB は移植後 4 週目以降においても MNB 体積に明らかな増加はなく、尿の生成量は増加しなかった。また、オスの MNB 後腎は尿生成による尿細管の拡張、それに伴う線維化が認められたが、メスの MNB 後腎は単核球浸潤、線維化、尿細管の萎縮がみられた。メスの MNB におけるこれらの組織所見は、一般的に移植の際に起こりうる拒絶反応と同様であった。したがって、MNB の成長においてオスとメスで差があることが明らかとなった。

第三章. MNB の経時的観察による適切な尿路再建時期の探査

後腎や MNB の成長は、動物種により異なるが、これまで移植後 3~6 週目に尿路再建が行われてきた。ラットの MNB 移植では、移植後 4 週目での尿路再建が一般的であったが、後腎が水腎化した MNB が存在したことから、個体ごとにその尿路再建適期が異なると考えられた。第三章では、第一、二章での結果をもとに、レシピエントをオスとした際の移植された MNB における最適な SWPU 実施時期の仮説を設定し、検討することとした。結果として、MNB の成長は個体ごとに異なることが明らかとなった。約 70% の MNB が、移植後 3 週間以内に、MNB 膀胱と想定される部位の低エコー原性を示す画像が得られた。移植後 3 週間を経過した MNB は、尿貯留が認められる個体が存在したが、発育が乏しかった。超音波検査により SWPU 適期と判断した後腎は、組織学的に尿細管の拡張が軽度であった。したがって、SWPU 実施時期として、MNB に膀胱と

考えられる明瞭な液胞が1つ認められ、液胞が拡張して早期であることが明らかとなった。

第四章. 最適な時期で SWPU を実施した場合の MNB の成長

腎臓の成長は動物により異なるが、ラットにおいては出生後の1~2週間で完了することが知られている。成熟段階の腎臓における早期の尿路閉塞は腎臓の発育に大きく影響する。したがって、第四章では、第三章で決定した適期で SWPU を行った MNB を移植後8週間観察し、発育後の成長への影響を評価した。結果として、適期に尿路再建を行った MNB は移植後4週目に尿路再建した MNB と比較して有意に線維化が抑制された。また、線維化を促進する因子である TGF- β 1 の発現領域は低く、同様に尿細管と糸球体におけるアポトーシス細胞の発現割合は低かった。TGF- β 1 の発現領域とアポトーシス細胞の割合は正の相関を示した。また、尿路再建適期に実施した群は全ての個体で糸球体濾過量を測定可能であった。したがって、適期での SWPU 実施は発育過程において線維化を抑制し、さらなる発育に寄与する可能性が考えられた。

本研究より、MNB の成長を観察するために超音波検査が有用であり、低侵襲に経時的な評価が可能となった。また、MNB の成長にはオス・メスで差があり、メスの MNB の発育に拒絶様の反応が関与している可能性が考えられた。超音波検査を使用した経時的な成長の評価により、個々の MNB における SWPU 適期を確立し、尿細管拡張の軽減、さらに、TGF- β 1 を起因とする線維化の抑制や尿細管細胞におけるアポトーシス軽減により、組織の成熟に貢献する可能性が示された。超音波検査は大型動物においても実施可能であると考えられることから、実際の臨床応用を

見据え、大型動物を用いた MNB 移植や SWPU の実施により、超音波検査の有用性を評価する必要がある。

以上の本研究における結果より、MNB の成長を観察するために、超音波検査が有用であり、低侵襲性に経時的評価が可能であることが明らかとなった。また、MNB の成長には雄・雌で差があり、雌の MNB の発育に拒絶様の反応が関与している可能性が示唆された。超音波検査を使用した経時的な MNB 成長の評価は、個々の MNB における SWPU 適期を判断し、尿細管拡張の軽減、さらには TGF- β 1 に起因する線維化抑制や尿細管細胞におけるアポトーシスを軽減することで、後腎組織の成熟に貢献する可能性が示された。

本研究の成果は、慢性腎臓病を治療する方法の一つである腎代替療法において、貴重な基礎知見を提示した。また、著者の研究に対する真摯な姿勢と高い学識が読み取れ、研究者として十分な資質を備えていると判断された。以上のことから、本論文は博士（獣医学）の学位論文に値すると判断され、審査員一同は合格と判定した。