

学位論文要旨

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

Availability of diagnostic imaging and timing urinary tract  
reconstruction in the organ regeneration of fetal metanephros in rats

北里大学大学院獣医学系研究科

獣医学専攻 博士課程

西 晃太郎

Kotaro Nishi

指導教授 岡野 昇三

慢性腎臓病(CKD)はネコにおいて重要な疾患である。重度の CKD は腎臓移植による根治的治療法の適用となるが、ドナー不足が深刻である。したがって、生体腎移植に替わる腎臓代替療法が期待されている。

再生医療分野における腎代替療法の研究として、胎仔由来の後腎・尿管・膀胱(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。レシピエント内に移植された MNB は尿生成能を獲得し、尿排泄経路を作成(SWPU)することで後腎が成長する。しかし、MNB 毎に成長が異なることや不適切な時期での SWPU により後腎は水腎化する。したがって、本研究目的は経時的な MNB の観察法と SWPU 実施の適切な時期の確立、組織の成長に着目して研究することとした。

## 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・メス両者で罹患する。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- $\beta$ 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- $\beta$ 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- $\beta$ 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。