

氏名(国籍)	じょ 舒	う 宇	せい 静	(中 国)
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	博 甲 第 2922 号			
学位授与年月日	平成 14 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	Pathological analysis of progressive chronic tubulointerstitial injury in the experimental nephrosis : role of phenotypic changes and cell cycle activation of the tubuli in the early tubulointerstitial pathology (慢性腎尿細管間質障害の進展機序についての実験病理学的研究：早期病変における尿細管細胞の形質変換と細胞周期活性の意義)			
主 査	筑波大学教授	医学博士	小 山	哲 夫
副 査	筑波大学教授	医学博士	山 根	一 秀
副 査	筑波大学助教授	医学博士	大 塚	雅 昭
副 査	筑波大学講師	医学博士	鳥 居	徹

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

腎尿細管間質障害は、原因を問わない慢性腎不全にみられる共通の病変である。多くの場合、蛋白尿に続発する尿細管障害と、それに引き続いて起こる間質の線維化が病変の主体をなしている。この尿細管間質障害の初期変化として、尿細管上皮細胞が形質変換を起こし、線維芽細胞様となり線維化を生ずるとの仮説があるが、詳細は不明な点が多い。本研究はラットにアドリアマイシン (ADR) を投与することにより、糸球体障害を起こし、大量の蛋白尿を惹起する進行性腎障害モデルを作成し、その際に認められる尿細管病変の初期に見られる形態学的異常と、尿細管上皮細胞における細胞周期の活性化と形質変化の関係、およびこれらの変化と間質における単球/マクロファージ、筋線維芽細胞の空間的一致性を検討した。

(対象と方法)

雄性SDラット (160-180g), 18匹に対し3週間間隔で2回ADR (0.25mg/100g体重) を静注した。対照として、12匹の同雄性ラットに生理的食塩水を静注した。蛋白尿はADR 2回目注射後、4週間ごと28週目まで採取した。12週および28週目にラットを採血灌流屠殺後、腎標本を採取した。

- 1) 尿細管における細胞周期の活性化と形質変化は光顕におけるPCNA + Vimentin, PCNA + Osteopontin (OPN), PCNA + α -SMA, OPN + ED-1の免疫二重染色で検討し定量化した。
- 2) 間質浸潤細胞の形質変換についてはED-1 + α -SMAの二重染色を、傍尿細管毛細血管におけるアポトーシスの有無については、thrombomodulin + TUNELの免疫二重染色にて検討した。
- 3) 尿細管間質組織におけるOPN蛋白レベルと蛋白尿との関係はウエスタンブロット法を用いた。
- 4) 尿細管間質病変の微細構造変化は透過型電子顕微鏡にて観察した。

(結果)

- 1) 12週齢において、ADR投与ラットは尿細管管質障害を伴うネフローゼ症状を呈し、蛋白尿の程度と糸球体

硬化の頻度とよく相関した。2) 連続切片による免疫染色では、尿細管における vimentin および OPN の発現は、PCNA の発現とほぼ一致した。3) ウェスタンブロット法による尿細管間質組織における OPN 蛋白発現量は蛋白尿の程度に相関した。4) Vimentin および OPN 陽性尿細管の周囲間質細胞には、 α -SMA または ED-1 陽性細胞が一致して局在した。5) 傍尿細管毛細血管において thrombomodulin/TUNEL 陽性内皮細胞、および間質浸潤細胞間に ED-1/ α -SMA 陽性細胞がしばしば認められた。6) 電子顕微鏡所見では間質浮腫を含む段階的な尿細管間質障害、単核炎症細胞の浸潤、傍尿細管毛細血管の虚脱、単核細胞の流入と結合織の沈着による尿細管基底膜の解離および尿細管上皮細胞の完全脱落と尿細管廃絶を認めた。

(考察)

尿細管間質組織における OPN 発現量は蛋白尿の程度と良く相関し、その際、正常尿細管では認められない vimentin, OPN が発現し、尿細管の形質変換が認められ、また、PCNA 陽性尿細管上皮細胞と vimentin, OPN の発現が一致したことから、細胞周期の活性化が生じていることが推測された。このことから、大部分は細胞周期が休息期 (G0, G1) にある腎尿細管細胞に蛋白尿あるいは虚血性変化が加わると、細胞の再生性変化として細胞周期の活性化が起こり、分化の過程で失った形質である vimentin を発現するものと考えられた。すなわち、従来から言われている尿細管間質障害のマーカーである vimentin, OPN の発現は障害に対する尿細管の再生反応を見ている可能性が示唆された。また、尿細管間質には α -SMA/ED-1 共陽性細胞が確認され、骨髄由来の単核細胞が間質において筋線維芽細胞に形質転換し、間質の線維化に関わる可能性が示唆された。また、傍尿細管毛細血管では thrombomodulin 免疫染色と TUNEL 染色両者陽性内皮細胞が認められたことから、傍尿細管毛細血管内皮細胞におけるアポトーシスが進行性尿細管間質障害に関与する可能性が考えられた。

(結論)

大量の蛋白尿が主因であると思われる ADR 腎症を用い、早期病変における尿細管上皮細胞の細胞周期活性化が OPN 発現や vimentin 発現などの形質変化の背景にある可能性を示した。さらに、これらの尿細管の反応が、傍尿細管のマクロファージおよび筋線維芽細胞の集積を促し、進行性尿細管間質障害を惹起しているものと考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

慢性腎不全にみられる共通の病変である腎尿細管間質線維化の発生機序については諸説がある。本研究は ADR 投与による糸球体障害の結果、大量の尿蛋白が出現し、持続することにより、尿細管上皮細胞の細胞周期活性化が OPN 発現や vimentin 発現などの形質変化の背景にあることを示した。また、骨髄由来の単核細胞が間質において筋線維芽細胞に形質転換し、間質の線維化に関わる可能性を示した点が新しい知見として評価される。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。