

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	相原 良樹
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Daily Low-intensity Pulsed Ultrasound Ameliorates Renal Fibrosis and Inflammation in Experimental Hypertensive and Diabetic Nephropathy (連日の低出力超音波パルス照射が高血圧性及び糖尿病性腎障害において腎線維化と炎症を改善する。)			
論文審査担当者			
主査教授	中野 由紀子	印	
審査委員 教授	正木 崇生		
審査委員 准教授	亭島 淳		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>慢性腎臓病の推定罹患率は 8～16%であり、世界における 2010 年の腎不全患者数は約 260 万人、2030 年には 540 万人に増加することが推測されている。現在、腎機能低下を抑制する治療法には限界があり、最終的に腎不全に至る患者も多い。従って、腎不全を予防するための新しい治療法の開発が喫緊の課題である。腎線維化は、慢性腎臓病患者に観察される共通の組織学的所見であり、炎症の持続によって増悪することが知られている。</p> <p>低出力超音波パルス照射（low-intensity pulsed ultrasound：LIPUS）は、骨折に対する非侵襲的治療法として、臨床に広く用いられている。さらに、骨折だけでなく、心筋虚血や、褥瘡を始めとする様々な疾患モデルへの有効性が報告されている。興味深いことに、近年、LIPUS による炎症細胞の浸潤抑制作用が報告されている。そこで、本研究では、高血圧性腎硬化症と糖尿病性腎症のマウスモデルを用いて、炎症細胞浸潤と腎線維化に対する LIPUS の治療効果を評価した。</p> <p>片腎摘後に、angiotensin II を osmotic mini pumps でマウスに持続投与することにより作製した高血圧性腎硬化症モデルに対し、LIPUS を 28 日間連日 20 分間照射した。LIPUS 群では、Masson trichrome 染色における線維化領域の面積が減少するとともに、TGF-β1 及び α-SMA のタンパクレベルが有意に低下していた。さらに、LIPUS 群では、マクロファージのマーカーである F4/80 のタンパクレベルと CD3 陽性細胞数が有意に減少していた。IL-1β および TNF-α の mRNA レベルも減少しており、LIPUS が抗炎症作用を有することが示唆された。21 日目より LIPUS 群における収縮期血圧は、LIPUS 非照射（control）群と比較して、有意に低下しており、腎線維化の改善によって血圧上昇を抑制した可能性があることが示唆された。</p> <p>次に、db/db heterozygote mice (BKS.Cg-Dock7^m+/⁺Lepr^{db}/J) を、片腎摘後に生理食塩水負荷を行うことにより作製した糖尿病性腎症モデルを用いて、LIPUS を連日 20 分間照射した。6 週間後より、control 群と比較して、LIPUS 群で蛋白尿が有意に減少した。TGF-β1 及び α-SMA のタンパク質レベルは低下していた。</p> <p>Control 群と比較して LIPUS 群では、PAS 染色における糸球体容積と糸球体硬化指数が有意に減少するとともに、TGF-β1 及び α-SMA のタンパクレベルが有意に低下していた。さらに、LIPUS 群では、F4/80 と CD3 のタンパクレベルも抑制していた。以上のことから、糖尿病性腎症モデルにおいても、LIPUS が、線維化抑制及び抗炎症作用を有することが示唆された。</p> <p>超音波照射により、脾臓のコリン作動性抗炎症経路を介して一過性腎虚血モデルの</p>			

腎機能を保持することが報告されていたため、前述の高血圧性腎硬化症マウスに脾摘出術を行って、同様に LIPUS を照射したところ、脾摘出術を行っていない高血圧性腎硬化症マウスに対する効果とほぼ同等の治療効果が確認できた。これらの結果により、LIPUS の有効性は、脾臓のコリン作動性抗炎症経路を介していないことが示唆された。

次に、LIPUS が、直接的に線維化を抑制するかを確認した。TGF- β 1 を添加した HK2 細胞に LIPUS 照射を施行すると、リン酸化 Smad2 と Smad3 のタンパク発現を有意に抑制し、 α -SMA と fibronectin の mRNA レベルを減少させた。以上から、LIPUS は、直接的に TGF- β 1/Smad 経路を阻害することが示唆された。

LIPUS は、腎障害の進行に対する新たな非侵襲的治療ツールとして期待できる。研究成果は、「慢性腎臓病を処置する装置：特願 2018-235405」として特許出願中である。

以上の結果から、本論文は、LIPUS が、高血圧性腎硬化症および糖尿病性腎症における炎症細胞浸潤と腎線維化を抑制することを明らかにした。

よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。