

学位論文審査結果の報告書

氏 名 中尾 隆美

生 年 月 日 昭和 50 年 6 月 15 日

本 籍 (国籍) 大阪府

学位の種類 博 士 (医 学)

学位記番号 医 第 1177 号

学位授与の条件 学位規程第5条該当
(博士の学位)

論 文 題 目

マウス出血性ショックモデルにおける急性腎障害に対するIL-10
とHSPsの役割

審 査 委 員

(主 査) 村尾 佳則



(副主査) 義江 修



(副主査) 船内 正憲



(副 査)



(副 査)



論文内容の要旨

【目的】

出血性ショックは全身性の虚血を引き起こし、蘇生する事により再灌流障害をきたす。これらの虚血再灌流障害により肺・腎臓・小腸などの全身の臓器障害をきたし、しばしば臓器不全から多臓器不全にいたることがある。特に腎臓は臓器不全の標的臓器となる事が多く、そのメカニズムは解明されていないことが多い。IL-10 は腎障害に対して保護作用がある側面、腎機能悪化に関与しているともいわれている。

また、HSPs は細胞の機能維持および修復に関与しており、腎虚血障害においても修復機転に関与していると言われている。

本研究では、出血性ショック後早期における腎障害の発現、IL-10 ならびに HSPs (HSP70, HSP27) の関連性の有無を目的とした。

【方法】

ワイルドマウスならびに IL-10 ノックアウトマウスを用い出血性ショックモデルマウスを作製し、ラクテートリンゲル液にて蘇生を行い、サイトカインの推移、血漿タンパク、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン値の推移ならびに腎組織障害の発現と Heat Shock Protein 群の発現を評価した。

【結果】

出血性ショック蘇生後 2 時間の炎症性サイトカインの上昇がみられた。血漿タンパク、アルブミンはワイルド群においてコントロール群と比べ蘇生後 4 時間で有意に低下していた。尿素窒素、クレアチニンは蘇生後 4 時間のワイルド群で有意に高値を示した。腎組織では、蘇生後 48 時間にワイルド群がノックアウト群に比べ尿細管の空胞化と壊死を強く認めた。HSP70 は蘇生後 48 時間にノックアウト群の方がワイルド群よりも尿細管で発現傾向が認められた。HSP27 は糸球体に経時的に発現が認められた。

【考察】

出血性ショック後の腎障害は早期に発現していることが示唆され、IL-10 の腎に対する効果は組織障害の軽減と増悪の両面性があると考えられた。HSP70, HSP27 は抗アポトーシス蛋白であり、腎の虚血再灌流モデルにおいて HSP70 の誘導は急性腎障害を軽減するという報告もある。HSP70 は尿細管に、HSP27 は腎糸球体に発現を認めたことより、障害組織に対する修復には HSP の組織特異性があると考えられた。

【結論】

出血性ショックモデルにおいて IL-10 がマウスの腎障害に影響を及ぼしていると考えられた。HSP70 が腎尿細管障害の修復に関与している可能性が示唆され、HSP27 は出血性ショック蘇生後早期より糸球体障害防御・修復に関与していると示唆された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出 版 物 の 種 類 及 び 名 称
	平成 26 年 12 月 日 公表予定	出 版 物 名 近畿大学医学雑誌 第 39 卷 第 3, 4 号 平成 26 年 12 月 日 発行予定
	公 表 内 容	
	全 文	

論文審査結果の要旨




審査結果の要旨：公聴会は指導教授（主査：村尾佳則）の司会で始めた。発表後、副主査の義江 修教授より炎症性サイトカインの作用により、好中球やマクロファージの動向はどうであったかとの質問があった。また、IL-6の保護作用について考察しているがIL-10がないことによりいい効果で出ているのではないかと、また、IL-10の別の作用があるかもしれないとのコメントをえた。また腎でのHSP70、HSP27の発現は興味ある所見であるが、Western blottingによる検討も必要ではないかとの意見を得た。さらにサイトカインの動向を調べる方法として、腎でのPCRを行えばいいのではないかとコメントも得た。血漿蛋白とアルブミンは薄まっているだけではないかとコメントを得た。以上の返答として、組織障害としては観察項目の中に壊死や空胞化以外に好中球浸潤や出血の有無、浮腫等も検討していたが、組織学的に判定できたのは壊死や空胞化だけであったことを説明した。血漿蛋白、アルブミンについては薄まっているだけではないかとコメントに対しては、すべての実験群が同じ処置をしているので、群間の違いの判定には影響がないと考える。と返答していた。またWestern blottingによる蛋白定量については、今後の検討としたい。と返答していた。副主査の船内正憲教授からは、これらの実験の虚血、再灌流でnecrosis, 細胞浸潤など何が起きているのかを説明することは重要である。さらに追加の質問として、ワイルド群での4時間後の血漿蛋白とアルブミンはどこに漏れたか、全身の障害を与えているから、他の臓器への影響を考察に加えなければならない。HSP27はノックアウト群で最初から上がっているが4時間後に下がっているのはどのように考えているのか、マクロファージからMCP-1が出ているのではないかと、IL-10とHSPの関係がもっとわかればいいのではないかとコメントを得た。返答としては、免疫染色でアルブミンは腎では糸球体で漏出しているのは確認できたが、他の臓器障害による漏出があるかどうかは今後他臓器での検討をおこなう。HSP27に関してのノックアウトのコントロール群での高値は糸球体の組織障害軽減に関与している可能性があり、注目している。IL-10とHSPの関係については、今後の課題としたい。と返答していた。

最終試験の結果（可否）：以上のように発表とともに、十分な質疑応答から、最終試験としての公聴会は合格と判定する。

学位授与の可否に関する意見：内容においても医学の発展に寄与する新知見を含むことから、学位授与に値すると判定します。

博士學位論文最終試験結果の報告書

平成 27 年 1 月 21 日

審 査 委 員	主 査	村尾 佳則	
	副主査	義江 修	
	副主査	船内 正憲	
	副 査		印
学位申請者氏名	中尾 隆美		
論 文 題 目	マウス出血性ショックモデルにおける急性腎障害 に対するIL-10とHSPsの役割		

要 旨

出血性ショックを輸液や輸血で蘇生すると全身の虚血再灌流障害がおこる。この虚血再灌流障害が特に急性腎障害を来しやすい。急性腎障害においてIL-10は障害軽減に働くという報告とむしろ障害悪化に働くという報告があり、出血性ショック後にはどのように働くかを検討した。IL-10ノックアウトマウスを用いて、出血性ショックモデルを作製し、サイトカインの推移と血清蛋白、アルブミン、尿素窒素、クレアチニンの推移並びに腎組織障害の程度と組織修復蛋白であるHSP70とHSP27の発現を検討した。サイトカインは出血性ショック後2hで上昇していた。炎症性サイトカインであるIL-6とMCP-1はIL-10ノックアウト群でワイルド群よりも高い値を示した。出血性ショック蘇生後4hにおいて、尿素窒素とクレアチニンはワイルド群においてノックアウト群よりも高値を示し、血清蛋白とアルブミンはワイルド群において、ノックアウト群よりも、蘇生後4hにおいて低い傾向を示した。また、蘇生後48hにおいて、ワイルド群がノックアウト群よりも腎尿細管において、組織障害が強い傾向をしめした。HSP70はノックアウト群の尿細管に強く発現していた。HSP27は腎糸球体に発現していた。

以上のことから、抗炎症性サイトカインであるIL-10は出血性ショックモデルにおいては組織障害を増悪する方向に働いている、もしくはIL-6などの炎症性サイトカインとIL-10の存在下で組織障害を来すと思われた。組織障害修復には、HSP70が腎尿細管に作用して障害を軽減していると考えられ、またHSP27は糸球体に発現していた。これらより、出血性ショック後の急性腎障害において、IL-10、HSP70、HSP27の役割を証明した。質疑応答では、炎症性サイトカインの作用により、好中球やマクロファージの動向はどうであったか、またWestern blottingによる蛋白定量も必要ではないか。血漿蛋白、アルブミンは薄まっているだけではないか。などの質問が出されたが、研究の範囲内で解明できたこと、参考論文から推察できること、今後の展開などに対しての応答が出来ていたことより、この学位論文が論文提出者の研究成果であることを確認した。