

2020 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	尿細管上皮細胞形態を用いた新規腎機能評価手法の開発
キーワード	①尿沈査、②腎機能障害、③尿細管上皮細胞形態

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	カワナカ ヨウヘイ 川中 洋平
配付時の所属先・職位等 (令和2年4月1日現在)	広島国際大学 保健医療学部 医療技術学科 臨床検査学専攻 講師
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	広島国際大学 保健医療学部 医療技術学科 臨床検査学専攻 講師
プロフィール	愛媛県立医療技術短期大学臨床検査学科卒業後、細胞検査士の資格を取得。臨床検査技師として約10年間の病院勤務を経て、2012年4月から広島国際大学保健医療学部に着任。2019年に博士（医療工学）の学位を取得。 臨床経験・実務経験を元に、非観血的に臓器の器質的变化を検出する臨床検査手法について研究を行っている。

1. 研究の概要

ヒトにおいては、腎障害の進行に伴い尿中に剥離した尿細管上皮細胞の形態変化を観察しても、その時点で腎臓を全摘し、組織構造全体との比較を行うことができない。そこで、動物実験という特徴を生かして、尿細管上皮細胞形態の確認と同時に腎臓の組織像を観察することで、病理組織学的な評価を同時に行うために本研究を行った。

本研究では、1) 実験動物を用いて尿中に剥離した尿細管上皮細胞の形態的特徴を抽出する、2) 尿細管上皮細胞と同時に腎組織の形態を観察する、3) 剥離した尿細管上皮細胞の形態変化と尿中バイオマーカーの関係を明らかにする、の3点について検討を行った。本研究により、尿中に剥離した尿細管上皮細胞形態から腎臓の器質的变化の程度を評価したうえで、細胞形態と臨床検査値との間の関連性を見出すことにより、細胞形態の変化から機能障害を評価することが可能となり、尿検査が腎機能障害を早期診断するための新しい検査手法として活用できるようになることが期待できる。

2. 研究の動機、目的

尿検査は主に生化学的検査と形態学的検査に分けられ、このうち生化学的検査は定量化することが容易であることから腎機能进行评估するパラメーターとして利用されることが多い一方、形態学的検査は尿検体中の剥離細胞の出現形態が多様であることや検査者間で評価基準に差があることなどから定量化することが困難である。そのため、現状の臨床検査では尿検査を活用した腎機能評価は行われていない。しかし、近年の報告では、腎糸球体濾過量の低下に伴って硝子円柱の陽性率と尿蛋白定量値が上昇するとされ、尿検査と慢性腎臓病（Chronic Kidney Disease: CKD）との関連性が指摘されている。さらに、急性腎障害では、尿沈査中に認められる尿細管上皮細胞や顆粒円柱の出現数が、腎障害を反映する尿中バイオマーカーと同等に急性腎障害の重症度を反映する指標として注目されている。このように、尿沈査を解析することで腎障害の程度を評価したり、スクリーニングに活用できる可能性が示唆されてい

る。そこで本研究では、腎障害モデルマウスを用いて、腎障害の病状進行に伴って尿中に剥離する尿細管上皮細胞の形態的特徴を1週ごと12週間に渡り抽出し、腎の器質的変化と臨床検査値との関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の結果

本研究では、実験動物（マウス）に腎障害を惹起するアデニン添加飼料を摂食させ、1週ごと12週間採尿を行い、尿沈渣標本を作製するとともに尿検体の生化学的解析を行った。腎障害マウスの尿沈渣を経時的に観察した結果、通常の尿細管上皮細胞（図1）と比較して核/細胞質比（nucleo-cytoplasmic ration; N/C比）が高く核小体の腫大した細胞（図2）を高頻度に認めた。この細胞は、ヒトの末期腎不全患者に多く認められるとされている「丸細胞」に類似していた。この丸細胞は実験開始1週目、すなわち腎障害初期に最も出現率が高く、腎障害が進行するに従って出現率が低下した。実験開始12週目には腎臓を摘出し病理組織標本を作製し鏡検した結果、尿細管の萎縮や癒合、間質の著しい線維化を認めた（図3）。また、生化学的解析の結果では、急性腎障害のマーカーである尿中NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin) 濃度が実験開始1週目以降で有意に高値を示した。

本研究結果から、腎障害の初期段階に尿中に丸細胞が出現することが明らかとなった。丸細胞は尿細管腔の再生、修復に関与することが示唆されており、この丸細胞を尿沈渣検査で検出することにより、急性腎障害のバイオマーカーとして活用できる可能性が示唆された。今後は免疫細胞化学染色を実施し、丸細胞の起源や性質に関してさらに詳細な検討を進める予定である。

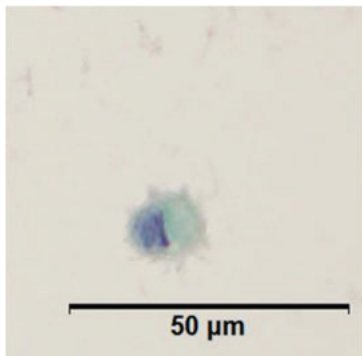


図1. 通常の尿細管上皮細胞
N/C比が1/2未満で核小体も見られない。

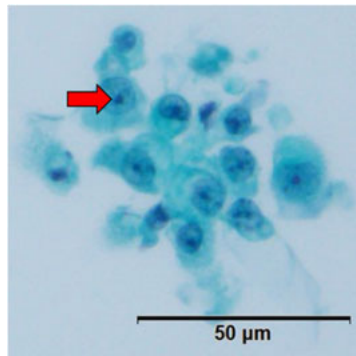


図2. 丸細胞
N/C比が高く腫大した核小体（矢印）を認める。

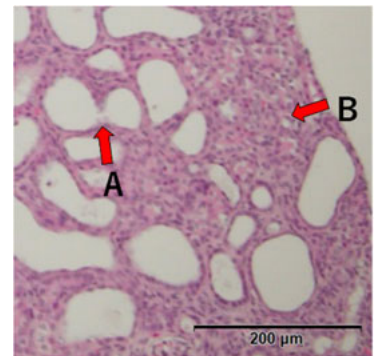


図3. 実験12週目の腎組織
尿細管癒合（矢印A）や間質線維化（矢印B）を認める。

4. 研究者としてのこれからの展望

これまでに解明され、系統化されている事でも、丁寧に掘り下げていくと新しい知見が得られることが往々にしてあります。既存の臨床検査においても、視点を変えることで新たな発見があると確信しています。自身の視点を大切に研究に取り組み、研究分野に貢献できる仕事ができるように広い視野を持って精進したいと思います。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は本研究課題に対して、若手研究者奨励金を授与していただき、誠にありがとうございました。ご理解、ご期待を頂きましたと共に、奨励金を賜りましたことに心より感謝申し上げます。本研究資金を得たことにより、限られた研究資金を何に分配し、どのように研究を進めると目標を達成できるか、また効率よく進行できるかを強く意識するようになりました。コロナ禍で、研究以外の業務の進行も考慮しながら、実験予定のことも考えるということができたので、大学教員の研究者としてステップアップができたと思います。一方で、本研究のような基礎的な研究が続けられるのは、多くの皆様に支えていただいているおかげです。いつも感謝の気持ちを忘れず、社会的な責任感をもって今後も研究に邁進したいと思います。

最後になりましたが、本研究課題をご支援いただいた皆様に厚く御礼申し上げます。