

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659714

研究課題名(和文)脳科学 fMRI 撮影方法を応用した新しい腎疾患診断方法の開発

研究課題名(英文)establishment of a new evaluation technique by none invasive MRI

研究代表者

高原 史郎(Takahara, Shiro)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・寄附講座教授

研究者番号：70179547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：BOLD MRIは、組織内の酸素消費量を、Diffusion MRIは、水分子の動きやすさ(拡散)の程度をそれぞれ測定する事が可能で、細胞外、細胞内浮腫を検出する事が可能である。申請者らは、心停止後ドナーからの摘出腎臓を非破壊的に評価するシステムを構築するため、これらのMRI手法を用いて、ラット心停止後腎臓の検討を行った。この研究で、心停止後2時間後腎臓の細胞内浮腫、間質浮腫をDiffusion MRI撮影法で非破壊的に検出する事に成功。また、心停止後1,2時間後腎臓の赤血球塊沈着をBOLD MRI撮影法で検出する事に成功した。(Kaimori J et. al, PlosOne 2013)

研究成果の概要(英文)：The main objective of this study was to assess cardiac death (CD) kidney grafts before transplantation to determine whether blood oxygen level-dependent (BOLD) and diffusion MRI techniques can predict damage to these grafts after transplantation. We succeeded in evaluating cardiac death donor kidney graft tissue injury by detecting red blood cell accumulation and intra-cellular or outer-cellular edema with BOLD and diffusion MRI respectively. We assessed CD kidney tissue by BOLD and diffusion MRI. We showed that BOLD and diffusion MRI, which are readily available non-invasive tools for evaluating CD kidney grafts tissue damage, can predict prolonged organ damage, and therefore the outcome, of transplanted CD kidney grafts. (Kaimori J et.al, PlosOne 2013)

研究分野：腎臓移植

キーワード：MRI 臓器障害 移植グラフト

1. 研究開始当初の背景

わが国の慢性腎不全による透析患者数は30万人を超え、日本の医療財政を逼迫している。腎移植は末期腎不全患者における代替療法として、患者自身の生命予後、QOL、そして医療経済的にも理想的な治療法である。ところが、世界的な移植臓器の不足が腎移植治療を限定的なものにしている。そこで、移植ドナーの適応拡大が試みられるようになり、心停止後ドナーの臓器を利用する試みが始まっているが、これらの臓器は極端に虚血状態に弱く、従来用いられていた、臓器保存液での低温保存では機能が保てないことが指摘されていた。そのため、新しい保存方法が開発されているが、心停止後ドナー臓器を非破壊的に評価する方法はほとんどないのが現状である。また、腎移植患者の約半数は術後15年以内に移植腎機能不全にて透析に移行しており、その原因の8割が慢性移植腎症である。慢性移植腎症には、虚血再還流障害、急性拒絶の影響、慢性抗体関連拒絶などが大きな原因となっており、保存期腎不全同様、腎臓繊維化と共に、腎機能が低下してゆく。現在、この腎臓繊維化を初めとした移植腎臓の組織障害の変化の評価は、侵襲的なバイオプシーによって行われている。MRI技術は近年、脳科学の分野で長足の進歩を遂げ、解剖学的な変化を捉える以外に、血流、酸素消費量、間質線維化、細胞性浮腫、組織内Ph等を非破壊的に画像化及び評価出来るようになってきている。

2. 研究の目的

心停止後ドナーの腎臓を非破壊的に評価するため、脳研究で用いられているBOLD、拡散MRIを用いて組織傷害を評価するシステムを構築する。また、移植後腎障害のひとつである腎臓間質線維化を評価するMRI手法を探索する。

3. 研究の方法

BOLD MRIは、T2*強調画像を用いて、deoxyhemoglobin量を検出することによって、

組織内の酸素消費量を推定できる。Diffusion MRIは、傾斜地場をかける事により、水分子の動きやすさ(拡散)の程度を測定する事が可能で、細胞外、細胞内浮腫を検出する事が可能である。申請者らは、心停止後ドナーからの摘出腎臓を非破壊的に評価するシステムを構築するため、fMRIを用いて、ラット心停止後腎臓の検討を行った。また、片側尿管結紮腎臓繊維化モデルを用いて、proton density weighted imaging (PDWI), T1 weighted imaging (T1WI), T2 weighted imaging (T2WI), T2* weighted imaging (T2*WI), diffusion weighted imaging (DWI), diffusion tensor imaging (DTI)それぞれ行い最も腎臓繊維化を評価出来るか検討を行った。

4. 研究成果

2012年我々は、心停止後のラット腎臓グラフトを用いた腎移植モデルを解析する過程で、とてもclear cutな現象を見つけていた。それは、心停止1時間のラットから摘出した腎臓を、両側の腎臓を摘出したラットに移植した場合、全例で生存したが、心停止2時間のラットから摘出した腎臓を移植したラットは全例、移植後5日以内に死亡した。この原因を突き止めるため、心停止後の腎臓を移植後2日目で、それぞれのラットを犠牲死させ、ラットの移植後腎臓を検討したところ、心停止後2時間の腎臓のみで主に髄質(inner stripe of medulla (IS))に赤血球塊を認めた(図1)。そこで移植前の腎臓ではどうなのかを調べる目的で、心停止後、0,1,2時間後のラット左腎臓を摘出して、組織を調べたところ、心停止後1,2時間後腎臓で同様にISに赤血球塊を認めた(図2)。何故、心停止1,2時間後腎臓で同様にISに赤血球塊出来るのに、心停止後1時間の腎臓では移植後に赤血球塊が消えて、心停止後2時間では移植後赤血球塊が残ってしまうのか、原因は不明であった。そこでまず、移植後腎臓における遺伝子発現変化を検討したところ、心停止後2時間の移植後腎臓ではtPT遺伝子の発現が他の心停止後の移植腎臓に比べて有意に増加している事が判明した。こ

れは、心停止後 2 時間の移植腎臓で赤血球塊がたまってしまっているの、生体が tPA を産生して赤血球塊を血栓のように溶解させようとしたと解釈できた。実は、この ischemia reperfusion 後の赤血球塊は、1990 年代に盛んに腎臓内科領域で研究され、red cell trapping という名前で呼ばれており、凝固系は関与していないこと、ischemia reperfusion 後の peritubular capillary の透過性の劇的な亢進の関与が示されていた。ischemia reperfusion 後の red cell trapping は、その後の腎臓の予後に影響を及ぼすことから、この移植腎臓グラフトで移植前に、red cell trapping、peritubular capillary の劇的な透過性の亢進(浮腫)を非破壊的に測定出来れば、移植腎臓の予後を移植前に予測できる可能性があると考えた。そこで、心停止後のラットから腎臓を摘出し、UW 液に浸して、摘出直後と 3 時間後について、BOLD MRI(赤血球量を表す)、diffusion MRI(水分子の動きやすさを表す)について検討した。腎臓は、cortex (CTX), outer stripe (OS), inner stripe (IS), inner medulla (IM) のそれぞれの値を検討した。

BOLD MRI では、特に心停止後 1,2 時間後に、組織像と一致して IS で信号強度の低下を認めた(図3A,B)。拡散 MRI では、心停止後 2 時間後に初めて、IS で ADC の低下を認め、この時点で、赤血球塊が最も形成される IS で細胞内浮腫が起こっている事が推察された(図 3C)。同時に、OS において ADC の上昇を認め、IS の内側で間質浮腫が推測された。IS における細胞内浮腫及び、OS における間質浮腫は病理組織による検討で確認された。また、この事が、心停止後 2 時間後腎臓に赤血球塊が残ってしまう事に関係があると考えられた。すなわち、心停止後 2 時間腎臓では移植前に出来た赤血球塊が、IS の細胞内浮腫と OS における間質浮腫で身動きが出来なくなるために、腎移植後でも流れずに残遺するのではないかと推測された。

図 1

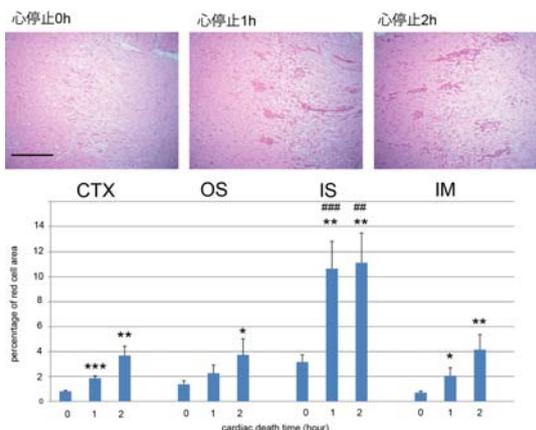


図 2

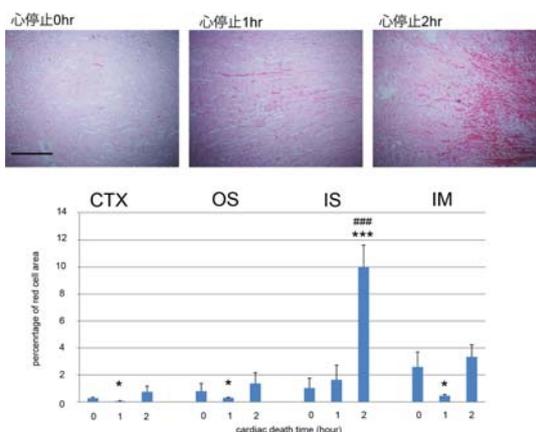
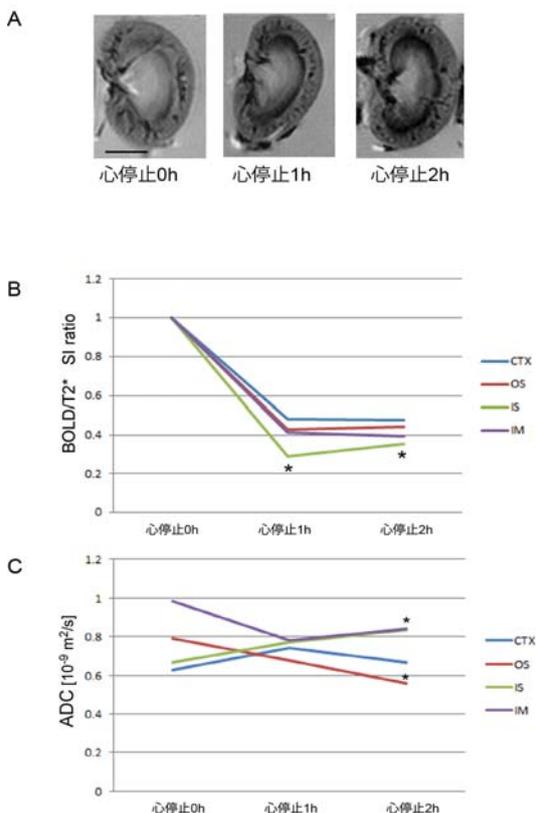


図 3



結論として、心停止後腎臓の functional MRI を測定する事によって、腎臓内組織の赤血球塊形成量、細胞内浮腫が推測でき、移植腎臓グラフトの予後を予測出来る可能性がある」と推測される。

また、diffusion tensor imaging (DTI)が最も腎臓繊維化評価に適している事を見出した。(論文作成中)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

Kaimori JY, Iwai S, Hatanaka M, Teratani T, Obi Y, Tsuda H, Isaka Y, Yokawa T, Kuroda K, Ichimaru N, Okumi M, Yazawa K, Rakugi H, Nonomura N, Takahara S, Kobayashi E. Non-invasive magnetic resonance imaging in rats for prediction of the fate of grafted kidneys from cardiac death donors. PLoS One. 2013 May 7;8(5):e63573.

貝森淳哉、岩井聡美、小林英司、畑中雅喜、津田秀年、小尾義嗣、奥見雅由、矢澤浩治、市丸直嗣、楽木宏実、野々村祝夫、猪阪善隆、高原史郎

心停止後ラット腎臓の functional MRI を用いた詳細な傷害の評価と腎移植後グラフト予後予測可能性

Organ Biology VOL.21 NO.2 2014

[学会発表] (計 5 件)

第48回日本移植学会、2012, 09, 21

貝森淳哉、岩井聡美、畑中雅喜、小尾義嗣、猪阪善隆、楽木宏実、高原史郎、小林英司
ラット循環停止後腎臓の functional MRI 測定

第49回日本移植学会、2013, 09, 06

貝森淳哉、猪阪善隆、楽木宏実、石井優、高原史郎

移植腎臓 live imaging: functional MRI と multiphoton microscopy 2つの切り口

第40回日本臓器保存生物医学会学術総会、平成24年 2013, 11, 09、日本臓器保存生物医学会研究奨励賞受賞記念講演、

貝森淳哉、岩井聡美、小林英司、畑中雅喜、津田秀年、小尾義嗣、奥見雅由、矢澤浩治、市丸直嗣、楽木宏実、野々村祝夫、猪阪善隆、高原史郎

心停止後ラット腎臓の functional MRI を用いた詳細な傷害の評価と腎移植後グラフト予後予測可能性

The 13th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2013, 09, 05

Kaimori J, Iwai S, Hatanaka M, Obi Y, Ichimaru N, Okumi M, Isaka Y, Rakugi H, Nonomura N, Kobayashi E, Takahara S

Non-invasive magnetic resonance imaging in rats for prediction of the fate of grafted kidneys from cardiac death donors.

The ASN Kidney Week 2013 Annual Meeting, 2013, 11, 07

Kaimori J, Iwai S, Hatanaka M, Obi Y, Ichimaru N, Okumi M, Isaka Y, Rakugi H, Nonomura N, Kobayashi E, Takahara S

Non-invasive magnetic resonance imaging in rats for prediction of the fate of grafted kidneys from cardiac death donors.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高原 史郎 (TAKAHARA, Shiro)

大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号: 70179547

(2) 研究分担者

小林 英司 (KOBAYASHI, Eiji)

自治医科大学・医学部・研究員

研究者番号: 00245044

黒田 輝 (KURODA, Kagayaki)
東海大学・情報理工学部・教授
研究者番号： 70205243

猪阪 善隆 (ISAKA, Yoshitaka)
大阪大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号： 00379166

貝森 淳哉 (KAIMORI, Jyun-ya)
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座
准教授
研究者番号： 70527697

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：