

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893003

研究課題名(和文) 正常血糖環境下での糖尿病性腎症の可逆性とその変化に対する免疫抑制剤の影響の研究

研究課題名(英文) Establishment of a rat transplant model of kidney with diabetic nephropathy into non-diabetic recipients and the reversibility of diabetic lesion

研究代表者

岩見 大基 (Iwami, Daiki)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80581115

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、糖尿病自然発症ラットであるSDTラットをドナー、SDTラットとSDJラットのF1ラットをレシピエントとする、免疫抑制剤不要な腎移植モデルを計4件施行した。4件のうち2件は移植後2週間で残り2件は移植後24週で評価したが明らかな病理所見の改善は認められなかった。逆に、観察期間中明らかな病理所見の悪化も認められなかった。糖尿病性病変の可逆性を十分に評価するためにはさらに長期の観察期間を要すると考えられた。また、臨床においては糖尿病腎症を発症したドナーからの献腎移植の2例を経験しており移植後5年の経過では明らかな悪化も改善も認められないことを病理学的に確認している。

研究成果の概要(英文)：We established a rat kidney transplant model in which immunosuppressive drugs are unnecessary to exclude the effect of the drugs on reversibility of diabetic lesion in the kidney. In that model, SDT rat as donor and SDT/SDJ F1 rat as recipient were used. SDT rat spontaneously develops diabetes mellitus and diabetes-associated complications such as cataract and diabetic nephropathy resulting in massive proteinuria and renal dysfunction. We also confirmed that SDT/SDJ F1 rat has normal glucose metabolism in oral glucose tolerance test. We underwent 4 cases of successful transplant of SDT kidney with diabetic nephropathy into non-diabetic SDT/SDJ F1 rat. Two recipients out of the 4 were evaluated at 2 weeks after transplant and the other 2 were evaluated at 24 weeks after transplant, however, no obvious amelioration or deterioration was observed pathologically. Our results suggest that reversibility of diabetic nephropathy need to be determined in longer observational period.

研究分野：泌尿器科

キーワード：移植再生医療 糖尿病 免疫学

1. 研究開始当初の背景

本邦における糖尿病の頻度は境界型も含めると国民の6人に1人の割合であるとされている。糖尿病ドナーの死体腎を移植することで移植腎機能、生着率に悪影響があるならば、深刻なドナー不足のために二次腎移植が期待できない日本においてはそのような腎の移植について慎重になる必要がある。一方、近年の米国のデータから糖尿病ドナーは非糖尿病ドナーに比べて移植腎機能および生着率は有意に悪いがその差はわずかであり、生存率については有意差がないことから糖尿病ドナーからの腎提供は正当化できるとも推測される。**しかし、移植時すでに存在する糖尿病性病変は本当に可逆性があるのか、そしてどこまでの進行度・重症度の腎は可逆的であり腎移植に使用可能なのかについてのデータはほとんど存在しない。**

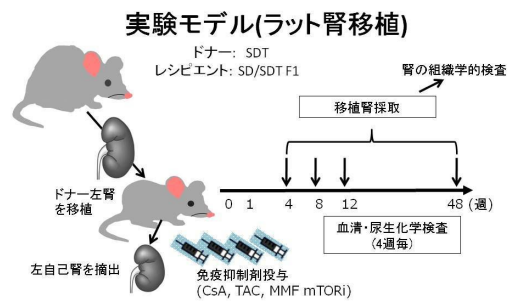
2. 研究の目的

我々は臓移植と同様に耐糖能を改善する方法として、DNを発症したラットから正常血糖のラットに腎移植するモデルを考案した。このモデルでは免疫抑制剤を必要としないため、純粋に血糖値正常化によるDN腎の病変の変化を観察することが可能である。

3. 研究の方法

まず、我々の考案したモデルで免疫抑制剤を使用せずに移植腎が生着し続けることを確認することを目的とした。モデル動物としてはラットの腎移植モデルを使用した。DNのモデル動物は2型糖尿病を自然発症するSDTラットで、糖尿病発症に伴い生後40週までに糸球体過剰濾過、腎肥大、アルブミン尿の増加が認められ、組織学的にも糸球体肥大、メサンギウム基質の増加、糸球体基底膜の肥厚、間質の線維化、マクロファージの浸潤さらに終末像である結節性病変といったヒト糖尿病性腎症と同様の多彩な病理学的変化が出

現するとされている。レシピエントにはSD/SDT F1ラットを用いる。この組み合わせではドナーの遺伝子をレシピエントが必ず共有していることになるので拒絶反応は発生せず免疫抑制剤は不要であり、その影響を除外することが可能であり正常血糖環境下での腎病変の可逆性を純粋に評価できる。DNの進行度の評価は尿中アルブミン、尿中タンパク質、血清クレアチニン値のほか、過去に報告されているようにパラフィン切片を用いて病理学的な腎障害の程度をスコアリングし、どの程度障害を受けた腎までが改善可能であるかの検討も行う。



4. 研究成果

我々の考案した腎移植モデルを計4件施行した。そのうち2件は移植後2週間で残り2件は移植後24週で評価したが明らかな病理所見の改善は認められなかった。逆に、観察期間中明らかな病理所見の悪化も認められなかった。なおレシピエントであるSDT/SDJ F1ラットを作出することに時間を要し、また糖尿病性病変については発症に少なくとも生後半年以上という長期間を要することとその病変の程度に個体差が大きいことから十分に再現性のあるデータが取得し得なかった。本研究の目的を達成するにはさらに長期の観察期間を要すると考えられた。

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7件)

- 1) **Iwami D**, Ogawa Y, Fujita H, **Morita K**, Sasaki H, Oishi Y, Higuchi H, Hatanaka K, Shinohara N. Successful treatment with foscarnet for ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection in a kidney transplant recipient: A case report. *Nephrology (Carlton)*. 2016 Mar 10. (査読あり)
 - 2) Xiong Y, Ahmad S, **Iwami D**, Brinkman CC, Bromberg JS. T-bet Regulates Natural Regulatory T Cell Afferent Lymphatic Migration and Suppressive Function. *Journal of Immunology*. 2016 Feb 15. [Epub ahead of print] (査読あり)
 - 3) Lal G, Kulkarni N, Nakayama Y, Singh AK, Sethi A, Burrell BE, Brinkman CC, **Iwami D**, Zhang T, Hehlgans T, Bromberg JS. IL-10 from marginal zone precursor B cells controls the differentiation of Th17, Tfh and Tfr cells in transplantation tolerance. *Immunology Letters*. 2016 Feb;170:52-63. (査読あり)
 - 4) Mitsui T, Moriya K, **Morita K**, **Iwami D**, Kitta T, Kanno Y, Takeda M, Shinohara N. Risk Factors for Lower Urinary Tract Dysfunction and Symptoms After Successful Renal Transplantation. *Annals of Transplantation*. 2015 Dec 24;20:757-763. (査読あり)
 - 5) Lal G, Nakayama Y, Sethi A, Singh AK, Burrell BE, Kulkarni N, Brinkman CC, **Iwami D**, Zhang T, Bromberg JS. Interleukin-10 From Marginal Zone Precursor B-Cell Subset Is Required for Costimulatory Blockade-Induced Transplantation Tolerance. *Transplantation*. 2015 Apr 3. (査読あり)
 - 6) Burrell BE, Warren KJ, Nakayama Y, **Iwami D**, Brinkman CC, Bromberg JS. Lymph Node Stromal Fiber ER-TR7 Modulates CD4+ T Cell Lymph Node Trafficking and Transplant Tolerance. *Transplantation*. 2015 Mar 12. (査読あり)
 - 7) **Iwami D**, Brinkman CC, Bromberg JS. VEGF-C/VEGFR-3 Signaling Regulates Chemokine Gradients and Lymphocyte Migration from Tissues to Lymphatics. *Transplantation* 2015 Apr;99(4):668-77. (査読あり)
- 〔学会発表〕(計8件)
- 1) **Iwami D**, **Morita K**, Sasaki H, Oishi Y, Higuchi H, Shinohara N: “2mm” is Reasonable and Feasible Cutoff Value of Indication for Vascular Reconstruction in a Kidney Allograft with Multiple Arteries, American Transplant Congress, Philadelphia, USA (2015/5/2)
 - 2) Mitsui T, **Morita K**, **Iwami D**, Kitta T, Kanno Y, Moriya K, Shinohara N. Risk Factors of Lower Urinary Tract Dysfunction and Symptoms after Successful Renal Transplantation. AUA annual meeting, New Orleans, USA, 2015/5/15
 - 3) **Iwami D**, Bromberg JS: VEGF-C/VEGFR-3 Signaling, Chemokine Gradients, and Lymphocyte Migration From Tissues to Lymphatics. World Transplant Congress, San Francisco, USA (2014/7/26)
 - 4) Xiong Y, **Iwami D**, Brinkman CC, Ahmad S, Bromberg J. Treg Require Transcription Factor T-bet to Traffic to Draining Lymph Nodes and Prolong Islet Allograft Survival. World Transplant Congress, San Francisco, USA (2014/7/26)
 - 5) Brinkman CC, **Iwami D**, Xiong Y, Ahmad S, Bromberg J. Lymphotoxin Is Required for Treg Migration and Function for Islet Allograft Survival. World Transplant Congress, San Francisco, USA (2014/7/26)
 - 6) Burrell B, Warren K, **Iwami D**, Harris D, Bromberg J. Laminin Stromal Fibers

Regulate T Cell Trafficking Through Lymph
Nodes During Tolerization. World Transplant
Congress, San Francisco, USA (2014/7/26)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

岩見 大基 (IWAMI DAIKI)

北海道大学・医学研究科・助教

研究者番号 : 80581115