

氏 名	石松菜那
<p>論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)  High glucose concentration-induced expression of pentraxin-3 in a rat model of continuous peritoneal dialysis.  (腹膜透析モデルラットにおける、高濃度グルコースによるペントラキシン3の発現)</p>	
<p>論文要旨</p> <p><b>【研究の目的】</b> 腹膜透析 (peritoneal dialysis ; PD) は、外来で行うことができる透析療法で、就業を含めて患者の生活の質を保つことができる有用な治療法である。一方で、非生理的な透析液 (低 pH、高浸透圧、高濃度グルコース、乳酸などを含む) にさらされることで、腹膜に微小な炎症が惹起されることが知られている。また、長期にわたる PD は、腹膜中皮層の消失、中皮下結合組織の肥厚・線維化などをきたし、限外濾過能の低下や被嚢性腹膜硬化症などの重篤な合併症の原因となる。我々は、この微小な炎症を早期に診断できれば、PD 患者の合併症の発症を減少させ、PD 施行期間を延長できると考えた。そこで、炎症局所で産生され、早期に微小な炎症を検出できるマーカーとして期待されている急性相蛋白 pentraxin3 (PTX3) に着目し、腹膜透析モデルラットを作成し、腹膜における PTX3 の発現を検討した。</p> <p><b>【方法】</b> 8 週齢 Wistar 系ラットを用い、3.86%グルコース透析液、または生理食塩水を 8 週間腹腔内に注入した。壁側腹膜について組織学的観察を行い、RT-PCR 法、リアルタイム PCR 法、Western Blotting 法で、PTX3 の mRNA および蛋白発現について比較した。また、PTX3 の発現細胞を同定するため、腹膜組織に対する免疫組織化学法、および培養ラット腹膜中皮細胞 (Rat peritoneal mesothelial cells ; RPMCs)、マウスマクロファージ様細胞 (RAW264.7)、マウス線維芽細胞 (NIH-3T3) にグルコース負荷を行い、Western Blotting 法により解析した。</p> <p><b>【結果】</b> 透析液群の壁側腹膜において、腹膜中皮下の組織が肥厚し、中皮下の結合組織の肥厚、線維化および血管新生が認められた。また、RT-PCR 法、リアルタイム PCR 法、Western Blotting 法により PTX3 の mRNA および蛋白の発現を検出し、その発現量は透析液群において有意に高かった。免疫組織化学では透析液群の腹膜に PTX3 蛋白の発現を認め、それらは中皮細胞、マクロファージ、線維芽細胞マーカー蛋白と共局在を示した。さらに、使用した RPMC、RAW264.7、NIH-3T3 の全てで、グルコース負荷により濃度依存的に PTX3 蛋白の発現が検出された。</p> <p><b>【考察】</b> PTX3 は局所の炎症部位で様々な細胞から生成され、心血管系疾患・敗血症・慢性腎臓病などで早期の炎症マーカーとして有用であることが報告されている。今回我々は、ラット腹腔内に透析液を注入することで、腹膜肥厚を起こすモデル動物作成に成功した。その腹膜透析モデルラットと培養細胞を用いて、腹膜局所の微小炎症を早期に検出するために PTX3 が有用である可能性を報告した。</p> <p>高濃度のグルコースは中皮細胞において様々な前炎症性サイトカイン (TNF-<math>\alpha</math>、IL-6 など) を誘導する。ヒト線維芽細胞において TNF-<math>\alpha</math> の刺激は、NF-<math>\kappa</math>B を介して PTX3 発現に関与していることや、透析液に含まれる終末糖化産物 (Advanced Glycation End Products ; AGE) は、AGE 受容体 (Receptor for Advanced Glycation End Products ; RAGE) と相互作用し、NF-<math>\kappa</math>B を活性化することも知られており、今後検討が必要である。</p> <p><b>【結論】</b> 腹膜透析液、特に高濃度グルコースによる腹膜局所の微小炎症の早期発見に、PTX3 が有用であることが示唆された。</p>	

## 学位論文審査結果要旨

氏 名	石 松 菜 那				
論文審査委員	主査	所属	生体情報系	生殖生理情報部門	蜂須賀 徹 <span style="float: right;">㊟</span>
	副査	所属	障害機構系	病態機構部門	久岡 正典 <span style="float: right;">㊟</span>
	副査	所属	障害機構系	災害医学部門	中村 元信 <span style="float: right;">㊟</span>
			系	部門	<span style="float: right;">㊟</span>
			系	部門	<span style="float: right;">㊟</span>

**論文題目**

High glucose concentration-induced expression of pentraxin-3 in a rat model of continuous peritoneal dialysis.

(腹膜透析モデルラットにおける、高濃度グルコースによるペントラキシン 3 の発現)

**学位論文審査結果要旨**

腹膜透析 (peritoneal dialysis ; PD) は、血液透析に比較して通院回数が少なく自宅で行うことができる。また循環動態への影響が少なく残腎機能が保たれるすぐれた透析療法であるが、カテーテル感染や腹膜炎などの感染症により腹膜の劣化がおこりその多くは血液透析に移行しているのが現状である。今回申請者は腹膜透析中に起こるこれらの炎症を早期に発見できれば、PD 患者の合併症の発症を減少させ、PD 施行期間を延長できる可能性があると考えた。そこで心血管系疾患・敗血症・慢性腎臓病などで早期の炎症マーカーとして有用であることが報告されている急性相蛋白 pentraxin3 (PTX3) に注目し、腹膜透析モデルラットを作成し、腹膜における PTX3 の発現を検討した。

方法は、8 週齢 Wistar 系ラットを用い、無処置群 (n=6)、生理食塩水を 1 日 2 回 8 週間腹腔内に投与した群 (n=5)、3.86% グルコース透析液を 1 日 2 回 8 週間腹腔内に投与した群 (n=6) の 3 群に分けて比較検討した。検討項目としては、壁側腹膜について組織学的観察を行った。RT-PCR 法、リアルタイム PCR 法、Western Blotting 法で、PTX3 の mRNA および蛋白発現を検討した。また、免疫組織化学法、2 重蛍光免疫組織化学法にて PTX3 の局在を検討した。さらに培養ラット腹膜中皮細胞 (Rat peritoneal mesothelial cells ; RPMCs)、マウスマクロファージ様細胞 (RAW264.7)、マウス線維芽細胞 (NIH-3T3) にグルコース負荷を行い、PTX3 蛋白の発現について解析した。

結果は、ヘマトキシリン・エオジン染色ではグルコース透析液群の壁側腹膜において、無処置群、生理食塩水群に比して有意に腹膜中皮下の組織が肥厚していた (P<0.05)、中皮下の結合組織の肥厚、線維化がその肥厚の原因と考えられた。また、PTX3 の mRNA および蛋白の発現についての検討では、その発現量はグルコース透析液群において有意に高かった (それぞれ P<0.001 と P<0.05)。免疫組織化学では PTX3 蛋白の発現は中皮細胞と中皮細胞下の線維細胞に陽性であり、その染色強度はグルコース透析液群において高かった。2 重蛍光免疫組織化学法では、中皮細胞、マクロファージ、線維芽細胞に PTX3 蛋白の存在を確認できた。さらに使用した培養細胞株すべてで、グルコース負荷により濃度依存的に PTX3 蛋白の発現が増強された。

今回申請者は、ラット腹腔内に透析液を注入することで、無処置群や生理食塩水群に比して有意に腹膜肥厚を起こすモデル動物を作成した。さらにその腹膜透析モデルラットの腹膜を詳細に検討することによりグルコース透析液が早期に誘発する腹膜の変化を捕えるのに PTX3 が有用である可能性を示すことができた。本研究によって、腹膜透析液、特に高濃度グルコースによる腹膜局所反応の早期発見に PTX3 が有用であることが示唆され、腹膜透析の適応拡大、また施行期間延長に寄与すると考えられることにより、本学の学位論文として適格であると判断した。