

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	上野 敏憲
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Mesenchymal stem cells ameliorate experimental peritoneal fibrosis by suppressing inflammation and inhibiting TGF-β1 signaling (間葉系幹細胞は炎症抑制および TGF-β1 シグナルの抑制を介し腹膜線維化を改善させる)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教 授 浅 野 知 一 郎</p> <p>審査委員 教 授 大 段 秀 樹</p> <p>審査委員 教 授 瀧 原 義 宏</p>			
<p>〔論文審査の要旨〕</p> <p>腹膜透析は有効な治療である一方、長期腹膜透析による限外濾過能の低下や、合併症としての被嚢性腹膜硬化症の発症が臨床上問題となっている。腹膜線維化の機序として、腹膜への TGF-β1 の過剰発現や腹膜中皮細胞の上皮間葉移行(epithelial-to-mesenchymal transition:EMT)の関与が指摘されている。一方、間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell: MSC)は多分化能を有するだけでなく、MSC 自体の paracrine effect により線維化抑制効果や抗炎症作用を示す報告を認めており、多くの疾患に対し MSC 移植療法が検討されている。今回、骨髄より採取し培養下にて増殖させた MSC の腹膜線維化に対する抑制効果を検討した。</p> <p>方法として (1)雄性、8 週齢の F344 ラットを使用し、0.1% chlorhexidine gluconate (CG) +15%エタノール生食液 2ml を腹腔内投与し、30 分後に PBS に混濁した MSC(1×10^7 個)を腹腔内投与した。7、14 日後に屠殺し、得られた壁側腹膜にて組織学的な評価を行った。また、14 日目に腹膜平衡試験(peritoneal equilibrium test: PET)を行い腹膜の機能的評価を行った。(2)GFP 陽性ラットの骨髄由来の MSC を用い、投与した GFP 陽性 MSC の腹膜への生着の有無を経時的に検討した。(3)MSC 自体の paracrine effect を検討するため、4%ブ</p>			

ドウ糖刺激を行ったヒト中皮細胞 (human peritoneal mesothelial cell: HPMC) とヒト MSC のトランスウェルを用いた共培養を行い、TGF- β 1、fibronectin の mRNA 発現量を検討した。(4) HPMC に対して MSC-conditioned medium (MSC-CM) によるプレインキュベーションを行った後、TGF- β 1 刺激による Smad2 のリン酸化および間葉系および上皮系マーカーの蛋白発現をウェスタンブロッティングにて評価した。また、MSC-CM 中の hepatocyte growth factor (HGF) 濃度を ELISA にて測定し、HGF 中和抗体を用い Smad2 リン酸化への影響を検討した。

GFP 陽性 MSC の腹膜への生着は投与後 3 日目までしか確認できなかったが、CG の腹腔内投与により惹起された腹膜肥厚は、MSC の投与により有意に抑制された。また、免疫組織化学的検討では、MSC 投与により腹膜への間葉系マーカー (α -SMA、FSP-1) の発現、collagen 沈着、CD68 陽性マクロファージ数、CD68/ TGF- β 1 陽性細胞数、phosphorylated Smad2 陽性細胞の抑制を認めた。PET では CG の投与により、腹膜透析液から血中への glucose の吸収率 (D/D0 glucose) および血中から腹膜透析液への BUN 移行率 (D/P BUN) は亢進していたが、MSC の投与により有意に抑制され機能的な改善を得た。また、HPMC に対する 4% ブドウ糖刺激により TGF- β 1、fibronectin の発現が上昇したが、MSC との共培養により有意に抑制され、MSC の分泌する液性因子が抗線維化に関与していることが示唆された。さらに HPMC において、MSC-CM によるプレインキュベーションにより、TGF- β 1 刺激による Smad2 のリン酸化が抑制された。また、TGF- β 1 刺激により HPMC の α -SMA 蛋白発現が上昇し ZO-1 蛋白発現が低下したが、これらの EMT 反応は MSC-CM によるプレインキュベーションにより抑制された。また、MSC は HGF の分泌能を有し、Smad2 のリン酸化の抑制に関与していた。

以上の結果から、本論文はラット腹膜線維化モデルにおいて、MSC の腹腔内投与により腹膜線維化は抑制され機能的な改善を得ることを示した。その機序として、MSC による抗炎症作用および TGF- β 1 シグナルの抑制作用が示唆され、腹膜透析患者の腹膜線維化に対する有用な治療となる可能性が示された。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。