

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )	氏名	心 石 敬 子
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>High glucose promotes TGF-<math>\beta</math>1 production by inducing FOS expression in human peritoneal mesothelial cells.</p> <p>(ヒト腹膜中皮細胞における高グルコース刺激による TGF-<math>\beta</math>1 産生は FOS 発現により誘導される)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教授 東 幸 仁</p> <p>審査委員 教授 今 泉 和 則</p> <p>審査委員 准教授 亭 島 淳</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>腹膜中皮細胞は腹膜のホメオスタシス維持に重要な役割を果たしているが、腹膜透析液中の非生体適合性物質により障害を受けることがいわれている。透析液による持続的な腹膜障害は、病理学的には腹膜からの中皮細胞剥離、細胞外基質の過度の堆積と血管新生を特徴とする腹膜線維化を引き起こす。これらの構造的な変化により、臨床的には限外濾過不全となるだけでなく、被嚢性腹膜硬化症の進展にも関与する。</p> <p>グルコースは透析液の浸透圧物質として使用されているが、炎症性サイトカインの増加にも関連しており、高グルコース (HG) 刺激による transforming growth factor-beta1 (TGF-<math>\beta</math>1) 産生は上皮間葉移行、線維芽細胞の増殖や細胞外基質蛋白の沈着など、多くの前線維化イベントを誘導する。本研究の目的はヒト腹膜中皮細胞 (HPMC) で HG 刺激による TGF-<math>\beta</math>1 産生に関連する遺伝子を明らかにすることである。</p> <p>HPMC は開腹胃癌手術を受ける患者の大網から単離培養し、3 人から採取した HPMC をコントロールまたは HG (グルコース濃度 4%) 培養液で 3 時間培養して DNA マイクロアレイ解析を行った。3 検体で共通して HG 刺激により発現量が 3 倍以上に増加した遺伝子のうち転写機能に着目し、遺伝子オントロジー解析で生物学的プロセスの regulation of transcription, DNA-dependent に分類される 13 遺伝子について検討を行った。</p>			

13 遺伝子の mRNA を測定し、9 遺伝子 (MECOM、EGR1、FOSB、NR4A2、FOS、C5orf41、KLF5、CSRNP1、ATF3) では HG3 時間刺激で発現量が 3 倍以上に増加したが、SIX4、TLE4、SIX1 および ZBTB1 の発現量増加は 3 倍未満であった。

発現量が 3 倍以上に増加した 9 遺伝子について RNA 干渉を行い、MECOM、FOSB、FOS および ATF3 の RNA 干渉により HG24 時間刺激後の TGF- $\beta$  1 mRNA 発現増加が有意に抑制された。EGR1、NR4A2、C5orf41、KLF5 および CSRNP1 は RNA 干渉による TGF- $\beta$  1 mRNA 発現の変化は見られなかった。

TGF- $\beta$  1 mRNA 発現抑制が確認された 4 遺伝子の TGF- $\beta$  1 蛋白への影響を、培養液上清中の TGF- $\beta$  1 蛋白濃度を測定して評価した。HG48 時間刺激した TGF- $\beta$  1 蛋白濃度増加が抑制されたものは FOS の RNA 干渉後のみであった。

HPMC の HG 刺激による FOS 発現の経時的変化を測定し FOS mRNA は HG3 時間刺激で約 22 倍に増加し、その後減少して 24 時間では刺激前のレベルに戻り、FOS 蛋白も同様に HG3 時間刺激でピークとなり、24 時間で刺激前のレベルに戻る一過性の増加を認めた。

マウス腹腔内投与モデルはオスの 12 週齢 C57BL/6 マウスを用い、4%グルコース投与群、4%マンニトール群、コントロール群の 3 群で、腹膜中皮細胞における FOS および TGF- $\beta$  1 の発現を免疫組織化学染色で検討した。FOS および TGF- $\beta$  1 染色ではどちらも腹膜中皮細胞の細胞質が染色された。中皮細胞の陽性域を定量し、FOS 陽性域はコントロール群と比較して HG 群は 2 倍、マンニトール群は 1.3 倍、同様に TGF- $\beta$  1 陽性域は HG 群で 2.4 倍、マンニトール群で 1.4 倍に増加しており、マンニトール群はグルコース群より有意に軽度であった。

本研究で、HPMC における HG 刺激による TGF- $\beta$  1 産生増加は FOS 発現を介しており、他の遺伝子は関連する可能性が低いことが明らかになった。FOS は activator protein-1 (AP-1) 複合体の構成要素であり、FOS、JUN、ATF や Maf ファミリーなどに属する蛋白と二量体を形成し、DNA に結合することで転写を促進する因子である。いくつかの転写因子が TGF- $\beta$  1 調整に関与することが報告されているが、HPMC において AP-1 は HG 刺激による TGF- $\beta$  1 産生に関連する転写因子であると推察された。AP-1 は増殖、生存、分化、アポトーシス、細胞遊走や転写など多くの細胞プロセスを制御しており、HG で亢進する FOS 発現阻害は、腹膜線維化の治療目標となりうることが示唆された。

以上の結果から、本論文は高グルコース刺激による腹膜線維化に FOS 遺伝子が関与していることを示すことができた。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。