

表題：Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)の腹膜劣化バイオマーカー
としての有用性の検討

論文の区分：論文博士

著者名：五十嵐 祐介

所属：芳賀赤十字病院 腎臓内科

担当指導教員氏名：森下 義幸
(自治医科大学大学院医学研究科 地域医療学系 専攻 内科系総合医学 教授)

平成 30 年 2 月 15 日申請の学位論文

目次

1. 緒言

2. 方法

- (1) 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の作成
- (2) Quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction(qRT-PCR) :
定量的逆転写 PCR
- (3) 組織学的分析
- (4) 免疫染色
- (5) 腹膜透析患者および腹膜透析液排液検体
- (6) 腹膜平衡試験 (Peritoneal equilibration test : PET)
- (7) 腹膜透析液排液中の可溶性 Intercellular adhesion molecule-1 (Soluble ICAM-1) 濃度および Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 濃度測定
- (8) 血液検査項目の測定
- (9) 統計学的検査

3. 結果

- (1) 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の腹膜における組織学的変化
- (2) 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の腹膜組織における ICAM-1 発現量
- (3) 腹膜透析患者における腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と PET 結果との関連
- (4) 腹膜透析患者における腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と臨床パラメーターとの関連
- (5) 腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と血清アルブミン濃度、血清 C-reactive protein 濃度、血圧との関連

4. 考察

5. 結論

6. 引用文献

1. 緒言

腹膜透析は末期腎不全患者に対して在宅で施行可能な腎代替療法の一つである¹⁾。腹膜透析は血液透析と比較して、残存腎機能保持、少ない拘束時間による生活の質改善等の利点がある。しかし腹膜透析は経時的な腹膜劣化から、透析不足をきたし長期間(通常5年程度以下しか)継続できないことが問題である²⁾。腹膜劣化の特徴的な所見は、線維性腹膜肥厚による腹膜機能低下(限外濾過低下および溶質透過性亢進)である³⁾。腹膜劣化の進行は、腹膜透析離脱の要因となり、さらには患者の生命を脅かす合併症である被嚢性腹膜硬化症を引き起こすことがある⁴⁾。それゆえ、腹膜透析患者において腹膜劣化を定期的に評価することは非常に重要である。従来、腹膜透析患者の腹膜劣化の評価法として、腹膜平衡試験(Peritoneal equilibration test: PET)が施行されている。PETは4時間に複数回、採血および腹膜透析液注排液を繰り返す必要があり、侵襲的で時間を要することが課題となっている⁵⁾。この問題を解決するため、腹膜劣化のバイオマーカーとして、これまで腹膜透析液排液中の Interleukin-6 (IL-6)、Cancer antigen 125 (CA125)、Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 等の分子の有用性が報告されているが、未だ臨床応用には至っていない^{6),7)}。このことから腹膜透析患者において非侵襲的で簡便に腹膜劣化を評価できるバイオマーカーを同定することは、腹膜透析患者の予後改善に重要である。

腹膜透析患者における腹膜劣化の機序として、腹膜での慢性炎症の関与が報告されている⁸⁾。腹膜での慢性炎症には尿毒素、腹膜透析液への曝露、腹膜透析カテーテルによる刺激、腹膜への細菌感染による急性腹膜炎等、多くの要因の関与が報告されている。これらの要因による腹膜の慢性炎症は最終的に腹膜線維化を引き起こすとされている⁹⁾。

Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)は、上皮細胞や内皮細胞、中皮細胞、リンパ球、単球等の様々な細胞に発現している糖蛋白質の一つである¹⁰⁾。ICAM-1は Interleukin-1 (IL-1)、Tumor necrosis factor- α (TNF- α)、Interferon (IFN) 等の炎症性サイトカインにより発現が亢進する¹⁰⁾。ICAM-1は炎症細胞の炎症組織への接着に関与しており、多くの炎症反応で主要な役割を担っている¹¹⁾。可溶性 ICAM-1 (soluble ICAM-1: sICAM-1)は ICAM-1 の可溶形態であり¹²⁾、血清、尿、髄液、滑液、痰等の体液中に広く発現しており、炎症反応時に発現が増加する¹²⁾。それゆえ、sICAM-1は慢性炎症反応が病態の発症・進展に重要である心血管疾患、癌、移植臓器の拒絶反応等の様々な病態のバイオマーカーとして有用であることが報告されている¹²⁾。しかし、腹膜透析患者の腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と腹膜劣化との関連は明らかではない。

以上のような既知の報告を踏まえ、本研究では、腹膜透析の腹膜劣化時に腹膜の ICAM-1 発現が亢進し、腹膜透析液排液中の ICAM-1 の可溶性形態である

sICAM-1 濃度が腹膜劣化のバイオマーカーとなるという仮説をたてた。この仮定を検証するにあたり、腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) における腹膜組織中の ICAM-1 発現量を測定した。さらに腹膜透析患者の PET より得られた腹膜劣化の指標と腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度との関連を検討した。さらに、腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と腹膜透析患者における腹膜劣化バイオマーカーとしての有用性が報告されている腹膜透析液排液中の MMP-2 濃度⁶⁾、および腹膜透析患者の臨床パラメーターとの関連を検討した。

2. 方法

(1) 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の作成

Methylglyoxal を腹膜透析液に混注し腹腔内投与する方法で腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) を作成した¹³⁾。本モデルラットでは線維性腹膜肥厚を認め、腹膜透析患者の腹膜劣化とよく似た病態を示すことが報告されている¹³⁾。Sprague-Dawley ラット (12 週齢、雄 ; 230-250g) に 20mM に濃度調整した Methylglyoxal 溶液 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 含有の腹膜透析液 (100ml/kg) を 3 週間 (週 5 日間) 腹腔内へ注射し Methylglyoxal 誘導 Peritoneal injury ラットを作成した。腹膜透析液は Midperic (2.5% glucose, 100mM NaCl, 35mM sodium lactate, 2mM CaCl₂, 0.7mM MgCl₂) (Terumo, Tokyo, Japan) を使用した。未処置のラットを Mock ラット、Methylglyoxal を含まない腹膜透析液のみを腹腔内投与したラットを Control ラットとした。

(2) Quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) ; 定量的逆転写 PCR

qRT-PCR は過去に報告されている方法で実施した¹⁴⁾。ラットから摘出した腹膜組織の切片をガラスホモジナイザーとフィルターカラム破砕機 (QIA Shredder; Qiagen, Valencia, CA) を使用してホモジナイズした。腹膜組織の RNA を RNeasy kit (Qiagen, Valencia, CA) を使用し採取した。採取した RNA 1μg を Superscript III first-strand synthesis system (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を用いて逆転写した。qRT-PCR は SYBR Green ER qPCR super mix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を用いて実施した。ICAM-1 mRNA 発現量は内因性コントロールとして glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA の発現量を用いて内部補正をした。ラットの GAPDH と ICAM-1 のプライマーは、Takara Bio Inc. (Otsu, Shiga, Japan) より購入した。ICAM-1 プライマーの塩基配列は 5'-GCTTCTGCCACCATCACTGTGTA-3' (sense strand) および 5'-ATGAGGTTCTTGCCACCTG-3' (antisense strand) である。GAPDH プライマーの塩基配列は 5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3' (sense strand) および 5'-

ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'(antisense strand)である。データは Mock ラットと比較した相対量として示した。

(3) 組織学的分析

過去に報告されている方法で腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の組織学的な分析を実施した¹⁴⁾。Phosphate-buffered saline(PBS)で灌流後にラットの腹膜組織を摘出し、4%paraformaldehyde で 4℃ にて一晩固定した。採取した腹膜組織はパラフィンに埋め込み、切片を作成した。腹膜組織の劣化(線維化)を評価するため、Azan 染色を実施した。腹膜肥厚は腹膜中皮下層肥厚度(中皮層の下縁から筋層の上縁まで)を画像分析ソフト (Image Pro 5.1, Media Cybernetics, Rockville, MD) を使用し、200 倍率の視野にて 10 か所無作為に測定した。測定した 10 か所の平均値をそのサンプルにおける腹膜中皮下層肥厚度とした。

(4) 免疫染色

免疫染色は Histofine kit (Nichirei Biosciences Inc., Tokyo, Japan)を使用し実施した。過去に報告されている方法で免疫染色による分析を行った¹⁵⁾。パラフィンに埋め込んだ腹膜組織の切片を脱パラフィン化、再加水を施行し、抗原賦活化を行うためオートクレーブ処理を行った。内因性のペルオキシダーゼ活性をブロックするため、切片を 3%過酸化水素/メタノール溶液に浸し 10 分間室温で静置した。処置後の切片は抗 ICAM-1 モノクローナル抗体(Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX) を PBS で 100 倍に希釈した溶液に浸し、4℃ で一晩静置した。切片を PBS で洗浄後、ホースラディッシュ由来ペルオキシダーゼ結合ヤギ抗体で処理を行った。ジアミノベンジジン反応は Liquid diaminobenzidine substrate-chromogen system(Nichirei Bioscience Inc., Tokyo, Japan)を使用し実施した。免疫標識された切片を光学顕微鏡で観察し、Adobe Photoshop software(Adobe Systems, San Jose, CA)で画像処理を行った。

(5) 腹膜透析患者および腹膜透析液排液検体

2006 年 6 月から 2014 年 2 月までの期間において、50 名の腹膜透析患者から PET 施行時に腹膜透析液排液 94 検体を採取した。

(6) 腹膜平衡試験 (Peritoneal equilibration test : PET)

過去に報告されている方法に従い PET を実施した¹⁶⁾。腹膜透析患者の腹腔内に貯留していた腹膜透析液を排液し、2.5%のブドウ糖液を含む腹膜透析液を腹腔内に投与した。腹腔内注入 4 時間後に採取した腹膜透析液中のクレアチニン

濃度を測定し、血清クレアチニン濃度(P)に対する腹膜透析液排液中のクレアチニン濃度(D)の比を D/P-Cr として算出した。腹腔内注入直後に採取した腹膜透析液中のブドウ糖濃度(D0)に対する注入 4 時間後の腹膜透析液排液中のブドウ糖濃度(D)の比を D/D0-glucose として算出した。一般に PET により得られる D/P-Cr の上昇（溶質透過性亢進）および D/D0-glucose の低下（限外濾過低下）は腹膜機能低下を反映する。腹膜透析患者に対して PET を施行した際に、腹膜透析液排液および血液の検体を採取した。すべての検体は 1 年以上、腹膜炎合併のない安定した腹膜透析患者より採取した。

(7) 腹膜透析液排液中の可溶性 Intercellular adhesion molecule-1 (Soluble ICAM-1) 濃度および Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 濃度測定

PET 施行時に採取した腹膜透析液排液の sICAM-1 濃度は、Human sICAM-1 ELISA kit (RayBiotech Inc., Norcross, GA)を使用し、Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法で測定した。抗ヒト sICAM-1 抗体がコーティングされた各ウェルに 100 μ L の腹膜透析液排液を滴下した。そのプレート室温で 2.5 時間緩徐に水平震盪した。300 μ L の wash solution で 4 回洗浄した後、100 μ L のビオチニル化抗ヒト sICAM-1 抗体液を各ウェルに加え、室温で 1 時間緩徐に水平震盪した。300 μ L の wash solution で 4 回洗浄した後、100 μ L のホースラディッシュ由来ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジン液を各ウェルに加え、室温で 45 分間緩徐に水平震盪した。300 μ L の wash solution で各ウェルを 4 回洗浄した後、100 μ L の 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine substrate を各ウェルに加え、室温で 30 分間緩徐に水平震盪した。50 μ L の stop solution を各ウェルに加えることで反応を中止させ、450nm の吸光度で測定した。

同様に PET 施行時に採取した腹膜透析液排液中の MMP-2 濃度も ELISA 法で測定した。MMP-2 濃度の測定には MMP-2 ELISA kit(GE Healthcare, Piscataway, NJ)を使用した。抗 MMP-2 抗体がコーティングされた各ウェルに 100 μ L の腹膜透析液排液を滴下し、そのプレート室温で 2 時間静置した。wash buffer で各ウェルを 4 回洗浄した後、100 μ L の抗 MMP-2 ホースラディッシュ由来ペルオキシダーゼを各ウェルに加え、室温で 1 時間静置した。wash buffer で各ウェルを 4 回洗浄した後、100 μ L の 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine substrate を各ウェルに加え、室温で 30 分静置した。1M の Sulfuric acid 100 μ L を各ウェルに加えることで反応を停止させ、450nm の吸光度で測定した。

(8) 血液検査項目の測定

その他の血液検査項目は自治医科大学附属病院の臨床検査部で実施した。

(9) 統計学的検査

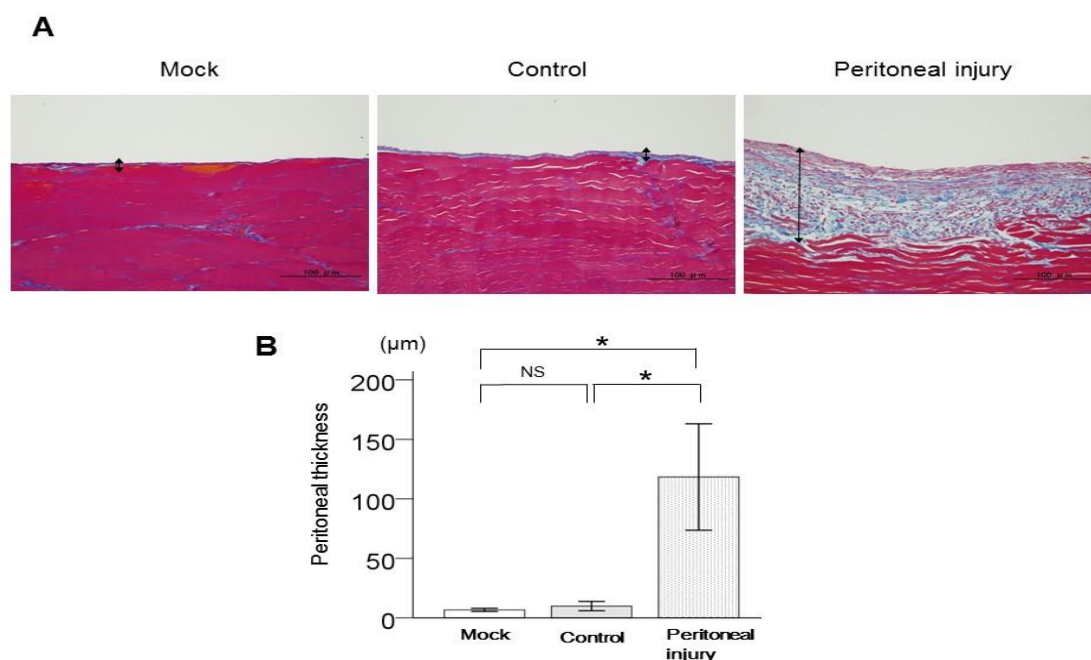
データは $\text{mean} \pm \text{standard deviation (SD)}$ または $\text{mean} \pm \text{standard error (SE)}$ で表示した。2 群間の比較は $t\text{-test}$ で行った。3 群間以上のグループ間の差の分析は $\text{analysis of variance (ANOVA)}$ を使用し実施した。ANOVA でグループ間に統計学的な有意差を認めた場合には post hoc 分析として、 Tukey's test で解析した。連続変数間の相関は $\text{Pearson's correlation test}$ あるいは $\text{linear regression analysis}$ を用いて解析した。 $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

3. 結果

(1) 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の腹膜における組織学的変化

Mock ラットおよび Control ラットと比較し、腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) では有意に腹膜中皮下層肥厚度が増加していた (Mock ラット: $p < 0.01$ 、Control ラット: $p < 0.01$)。Mock ラットと Control ラットでは腹膜中皮下層肥厚度に有意差は認めなかった (図 1)。

図 1. 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) における腹膜組織の線維性肥厚(A)、腹膜中皮下層肥厚度(B)



各群: $n = 6$, *: $p < 0.01$, NS: not significant

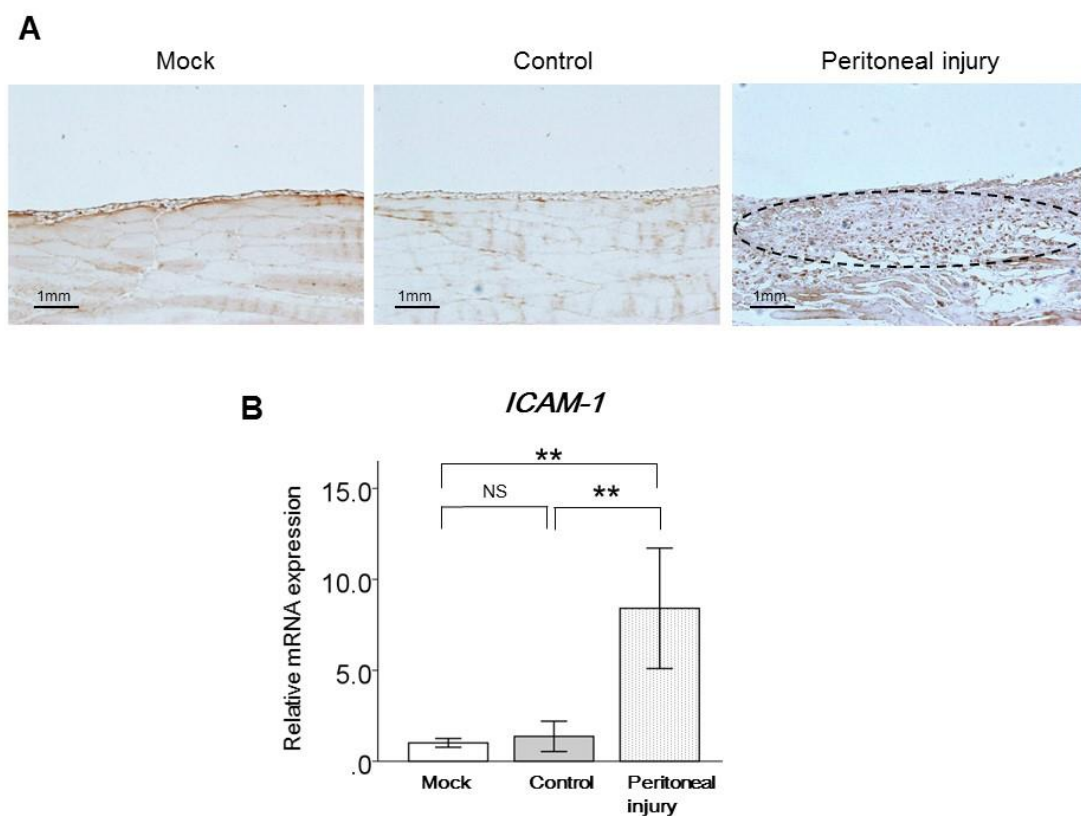
A. Azan 染色 (両矢印: 腹膜組織の線維性肥厚、Scale bar = 100 μm)

B. 腹膜組織の腹膜中皮下層肥厚度(μm)

(2) 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の腹膜組織における ICAM-1 発現量

Mock ラットおよび Control ラットと比較し、腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の腹膜組織において *ICAM-1 mRNA* 発現量は有意に上昇していた (Mock ラット : $p < 0.01$ 、Control ラット : $p < 0.01$)。Mock ラットと Control ラットでは腹膜組織の *ICAM-1 mRNA* 発現量に有意差は認めなかった (図 2)。

図 2. 腹膜劣化モデルラット (Peritoneal injury ラット) の腹膜組織における ICAM-1 発現 (免疫染色) および *ICAM-1 mRNA* 発現量



各群: $n = 6$, **: $p < 0.01$, NS: not significant, ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1

A. ICAM-1 免疫染色 (破線円内 : ICAM-1 の発現、Scale bar = 1mm)

B. 腹膜組織の *ICAM-1 mRNA* 発現量

(3) 腹膜透析患者における腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と PET 結果との関連

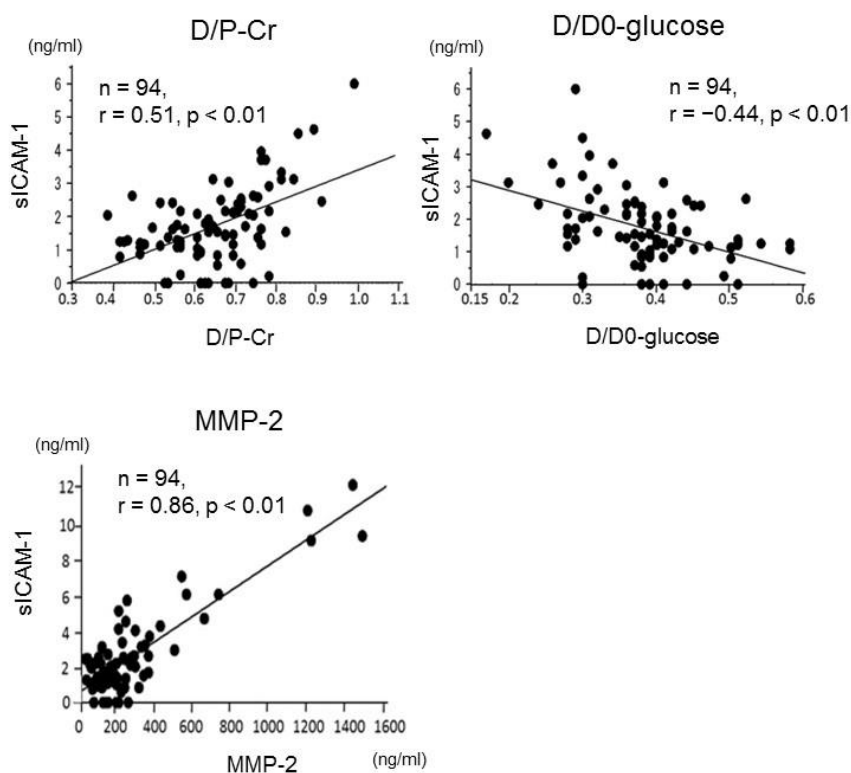
対象患者背景を表 1 に示す。腹膜透析患者において、腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は PET 施行時に得られた D/P-Cr と有意な正相関を示し ($n=94$ 、 $r=0.51$ 、 $p<0.01$) (図 3)、D/D0-glucose と有意な負相関を示した ($n=94$ 、 $r=-0.44$ 、 $p<0.01$) (図 3)。また、腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は腹膜透析液排液中の MMP-2 濃度と有意な正相関を示した ($n=94$ 、 $r=0.86$ 、 $p<0.01$) (図 3)。

表 1. 患者背景

年齢 (歳)	57.0±14.1	
性別	男性 : 37 名	女性 : 13 名
Body mass index (kg/m ²)	23.6±4.0	
腹膜透析期間 (年間)	1.9±1.4	
急性腹膜炎の既往	あり : 14 名	なし : 36 名
糖尿病の合併	あり : 13 名	なし : 37 名
慢性腎不全の原疾患	慢性糸球体腎炎 : 20 名 糖尿病性腎症 : 12 名 腎硬化症 : 8 名 ループス腎炎 : 1 名 Alport 症候群 : 1 名 不明 : 8 名	
収縮期血圧 (mmHg)	147.5±21.9	
拡張期血圧 (mmHg)	86.5 ±13.2	
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	10.8±1.2	
血清アルブミン濃度 (g/dL)	3.4±0.5	
血清 CRP 濃度 (mg/dL)	0.2±0.3	

略語 : CRP : C-reactive protein

図 3. 腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度と D/P-Cr、D/D0-glucose、腹膜透析液排液中 MMP-2 濃度

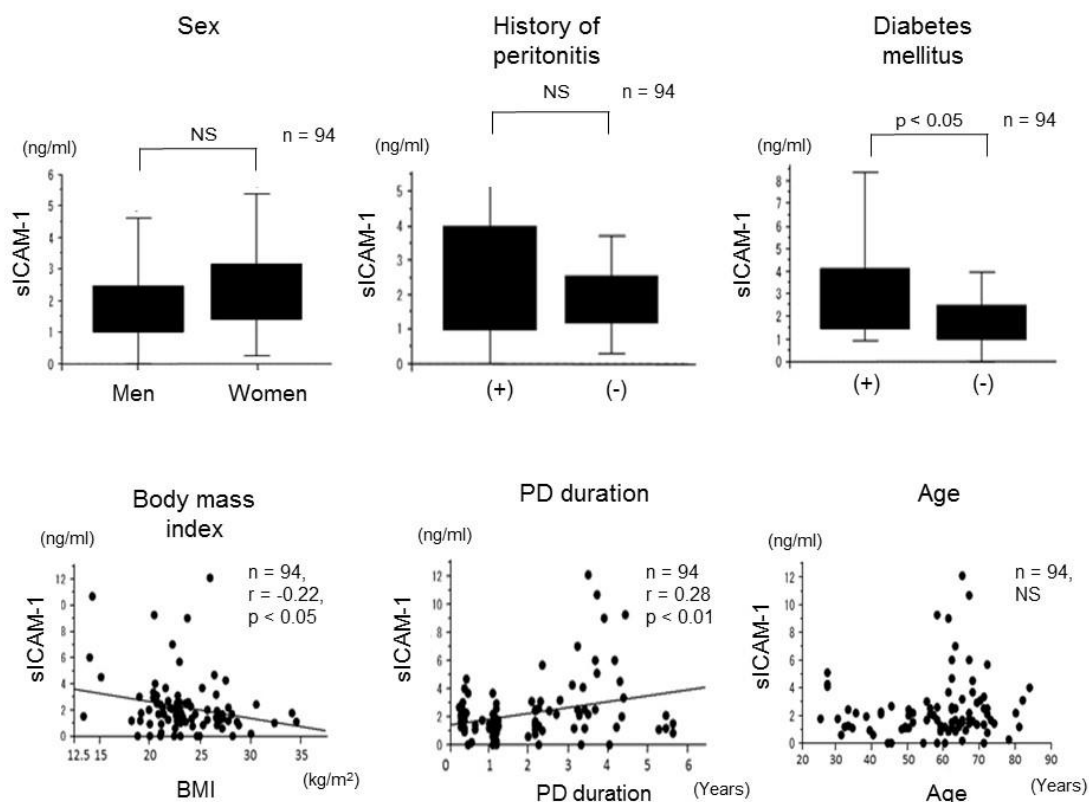


D/P-Cr: dialysate-to-plasma ratio of creatinine, D/D0-glucose: the ratio of dialysate glucose concentrations at 4hr and 0hr, sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1, MMP-2 : matrix metalloproteinase-2

(4) 腹膜透析患者における腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と臨床パラメーターとの関連

腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は性別および急性腹膜炎の既往の有無において有意差はなく（図 4）、年齢とは相関を認めなかった（図 4）。腹膜透析患者において、糖尿病非合併患者と比較して糖尿病合併患者では腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は有意に上昇していた（図 4）。腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は Body mass index(BMI)と有意に負相関し（ $n=94$ 、 $r=-0.22$ 、 $p<0.05$ ）（図 4）、腹膜透析期間と有意に正相関していた（ $n=94$ 、 $r=0.28$ 、 $p<0.01$ ）（図 4）。

図 4. 腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度と性別、急性腹膜炎の既往の有無、糖尿病、Body mass index(BMI)、腹膜透析期間、年齢

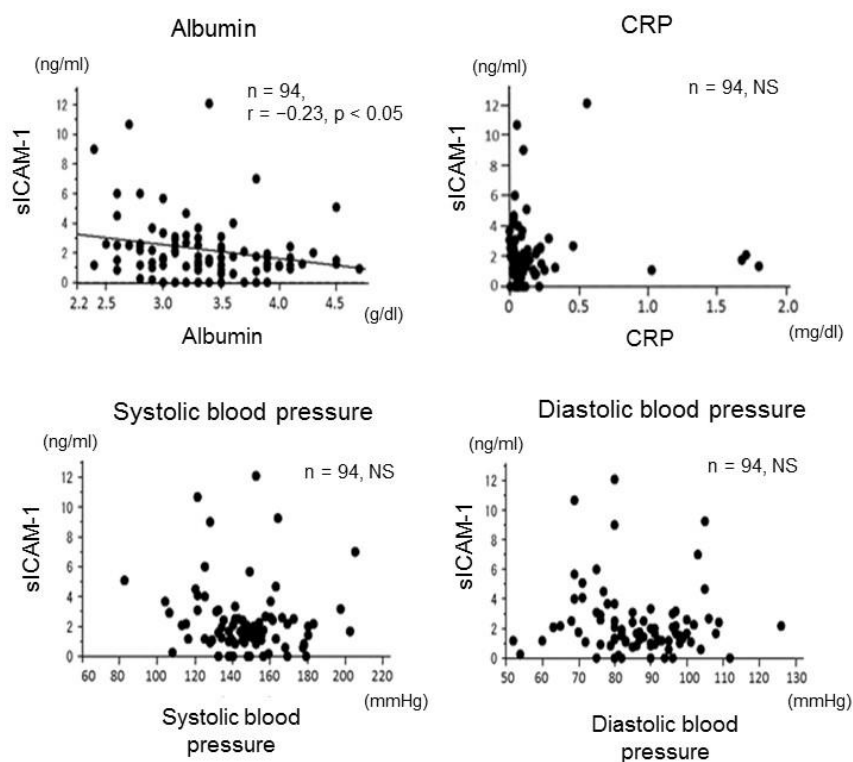


NS: not significant, sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1, PD : peritoneal dialysis

(5) 腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と血清アルブミン濃度、血清 C-reactive protein 濃度、血圧との関連

腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度と血清アルブミン濃度は有意に負相関したが ($n=94$, $r=-0.23$, $p<0.05$) (図 5)、血清 C-reactive protein (CRP) 濃度、血圧とは相関を認めなかった (図 5)。

図 5. 腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度と血清アルブミン濃度、血清 CRP 濃度、
血圧



NS: not significant, sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1, CRP : C-reactive protein

4. 考察

本研究により、腹膜劣化モデルラット（Peritoneal injury ラット）の腹膜組織において ICAM-1 の発現が増加していることが明らかになった。さらに、腹膜透析患者において腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は PET 施行により得られた腹膜劣化の指標（D/P-Cr、D/D0-glucose）と相関があり、腹膜透析液排液中の MMP-2 濃度とも相関を示した。これらの結果から、腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は腹膜劣化を反映し、腹膜透析患者における腹膜劣化の有用なバイオマーカーとなりうることを示唆された。これまで腹膜透析患者における腹膜劣化と腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度の有意な相関を示した研究はなく、本研究が初めての報告である。

ICAM-1 は様々な細胞に発現している接着分子である¹⁰⁾。ICAM-1 は炎症反応において主要な役割を果たしており、Lymphocyte function-associated antigen(LFA-

1)を介して白血球が他の細胞と結合することに関与し、白血球の接着および炎症組織への移動を促進する役割を持っている¹¹⁾。ICAM-1の可溶形態であるsICAM-1の産生機序には、①細胞膜上に存在するICAM-1が蛋白分解されることによって細胞膜より切断されて産生される、②sICAM-1を翻訳するmRNAから産生される¹²⁾という、2つの機序が考えられている。ICAM-1とsICAM-1は炎症性サイトカインによる炎症反応時に増加しているとの報告がある^{10),12)}。また、sICAM-1は種々の体液中に見られていることから、これまでに様々な疾患の有用なバイオマーカーとなりうることも報告されている¹²⁾。本研究では、腹膜劣化モデルラット(Peritoneal injury ラット)の腹膜組織においてICAM-1の発現量が増加していることおよび腹膜透析患者において腹膜透析液排液中のsICAM-1濃度が腹膜劣化と関連していることを同定した。

過去には、慢性炎症が関与しているとされる心血管疾患発症が血清sICAM-1濃度および血清CRP濃度と相関することが報告されている¹⁷⁾。さらに、炎症反応と密接に関係している血管新生をsICAM-1が促進する可能性が示唆されている¹⁸⁾。本研究では、腹膜透析患者における腹膜透析液排液中のsICAM-1濃度と代表的な炎症反応評価分子である血清CRP濃度に有意な相関は認めなかった。その理由としてCRPは局所で生じた炎症でも血清で上昇するのに対して、sICAM-1は分子量が240-500 kDと大きく¹⁹⁾、腹膜と血清で移行しないことが考えられ、その結果、腹膜透析液排液中のsICAM-1は他臓器での炎症の影響を受けることなく腹膜劣化を特異的に評価できる可能性が示唆された。腹膜劣化モデルラット(Peritoneal injury ラット)の腹膜組織でICAM-1の発現量が増加していたことも、腹膜透析液排液中のsICAM-1が腹膜劣化を特異的に反映していることを支持していると考えられた。これらの推察を実証するために、腹膜透析液排液中のsICAM-1の産生機序に関してさらなる研究が必要と考えられた。また、血清sICAM-1濃度は非糖尿病患者と比較して糖尿病患者で有意に上昇していた報告や、血清アルブミン濃度と逆相関していたことが報告されている^{17),20)}。本研究でも、腹膜透析患者において糖尿病非合併患者と比較し糖尿病合併患者で腹膜透析液排液中のsICAM-1濃度は有意に上昇していた。さらに、腹膜透析液排液中のsICAM-1濃度は血清アルブミン濃度およびBMIと有意逆相関していた。これらの結果により、糖尿病や低栄養状態は腹膜劣化を促進し、その結果として腹膜透析液排液中のsICAM-1濃度を増加させる可能性が示唆された。また本研究では、腹膜透析液排液中のsICAM-1濃度は腹膜透析期間と有意に正相関しており、この結果は、腹膜透析の継続により腹膜劣化が進行するという過去の報告と一致すると考えられた²¹⁾。以上の結果より、腹膜透析液排液中のsICAM-1は腹膜透析患者における腹膜劣化の有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

ICAM-1 は接着分子としての役割に加えて、LFA-1 と結合することで慢性炎症促進シグナル伝達物質としても機能している²²⁾。sICAM-1 の機能として白血球の接着における ICAM-1 と LFA-1 の結合に競合的に作用し、白血球の移動やシグナル伝達を阻害し炎症を抑制する可能性も報告されているが、sICAM-1 の炎症反応における役割は未だ十分に解明されていない²³⁾。sICAM-1 濃度は ICAM-1 の発現を反映している可能性が考えられるが、腹膜劣化における ICAM-1 と sICAM-1 の詳細な役割に関してはさらなる研究が必要と考えられた。

また今回の研究では、腹膜透析患者における血清 sICAM-1 濃度と腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度との関連、および腹膜劣化モデルラットの腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度については検討できておらず、これらは今後の検討課題と考えられた。さらに腹膜透析患者および腹膜劣化モデルラットにおいて腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度と腹膜組織の経時的変化との関連についても今後さらなる研究が必要と考えられた。

5. 結論

腹膜劣化モデルラットの腹膜組織において、ICAM-1 発現量は増加しており、腹膜透析患者において腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度は腹膜劣化と有意相関していた。腹膜透析液排液中の sICAM-1 は腹膜透析患者における腹膜劣化の有用なバイオマーカーとなる可能性がある。

6. 引用文献

- 1) Krediet, R.T., Advances in peritoneal dialysis. *Minerva Urol Nefrol*, 59: 251-260, 2007.
- 2) McDonald S.P.; Marshall M.R.; Johnson D.W.; Polkinghorne K.R., Relationship between dialysis modality and mortality. *J Am Soc Nephrol*, 20: 155-163, 2009.
- 3) Devuyst O.; Margetts P.J.; Topley N., The pathophysiology of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol*, 21: 1077-1085, 2010.
- 4) Kawanishi H., Encapsulating peritoneal sclerosis. *Nephrology*, 10: 249-255, 2005.
- 5) Kawaguchi Y.; Saito A.; Kawanishi H.; Nakayama M.; Miyazaki M.; Nakamoto H.; Tranaeus A., Recommendations on the management of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan, 2005: Diagnosis, predictive markers, treatment, and preventive measures. *Perit*

Dial Int, 25: S83-95, 2005.

6) Hirahara I.; Inoue M.; Umino T.; Saito O.; Muto S.; Kusano E., Matrix metalloproteinase levels in the drained dialysate reflect the peritoneal solute transport rate: A multicentre study in Japan. *Nephrol Dial Transplant*, 26: 1695-1701, 2011.

7) Rodrigues A.; Martins M.; Santos M.J.; Fonseca I.; Oliveira J.C.; Cabrita A.; Melo e Castro J.; Krediet R.T., Evaluation of effluent markers cancer antigen 125, vascular endothelial growth factor, and interleukin-6: Relationship with peritoneal transport. *Adv Perit Dial*, 20: 8-12, 2004.

8) Garosi G.; Di Paolo N.; Morphological aspects of peritoneal sclerosis. *J Nephrol*, 14: S30-38, 2001.

9) Cho Y.; Hawley C.M.; Johnson D.W., Clinical causes of inflammation in peritoneal dialysis patients. *Int J Nephrol*, 2014: Article ID 909373, 2014.

10) Hubbard A.K.; Rothlein R., Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and cell signaling cascades. *Free Radic Biol Med*, 28: 1379-1386, 2000.

11) Smith C.W.; Marlin S.D.; Rothlein R.; Toman C.; Anderson D.C., Cooperative interactions of LFA-1 and Mac-1 with intercellular adhesion molecule-1 in facilitating adherence and transendothelial migration of human neutrophils in vitro. *J Clin Invest*, 83: 2008-2017, 1989.

12) Witkowska A.M.; Borawska M.H., Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1): An overview. *Eur Cytokine Netw*, 15: 91-98, 2004.

13) Hirahara I.; Kusano E.; Yanagiba S.; Miyata Y.; Ando Y.; Muto S.; Asano Y., Peritoneal injury by methylglyoxal in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*, 26: 380-392, 2006.

14) Yoshizawa H.; Morishita Y.; Watanabe M.; Ishibashi K.; Muto S.; Kusano E.; Nagata D., TGF- β 1-siRNA delivery with nanoparticles inhibits peritoneal fibrosis. *Gene Ther*, 22: 333-340, 2015.

15) Morishita Y.; Imai T. Yoshizawa H.; Watanabe M.; Ishibashi K.; Muto S; Nagata D.,

Delivery of microRNA-146a with polyethylenimine nanoparticles inhibits renal fibrosis in vivo. *Int J Nanomed*, 10: 3475-3488, 2015.

16) Twardowski Z.J.; Nolph K.D.; Khanna R., Limitations of the peritoneal equilibration test. *Nephrol Dial Transplant*, 10: 2160-2161, 1995.

17) Stenvinkel P.; Lindholm B.; Heimbürger M.; Heimbürger O.; Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in pre-dialysis patients: Association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant*, 15: 1624-1630, 2000.

18) Gho Y.S.; Kleinman H.K.; Sosne G., Angiogenic activity of human soluble intercellular adhesion molecule-1. *Cancer Res*, 59: 5128-5132, 1999.

19) Seth R.; Raymond F.D.; Makgoba M.W., Circulating ICAM-1 isoforms: Diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet*, 338: 83-84, 1991.

20) Bluher M.; Unger R.; Rassoul F.; Richter V.; Paschke R., Relation between glycaemic control, hyperinsulinaemia and plasma concentrations of soluble adhesion molecules in patients with impaired glucose tolerance or type II diabetes. *Diabetologia*, 45: 210-216, 2002.

21) Lopez-Cabrera M., Mesenchymal conversion of mesothelial cells is a key event in the pathophysiology of the peritoneum during peritoneal dialysis. *Advances in Medicine*, 2014: Article ID 473134, 2014.

22) Van Seventer G.A.; Shimizu Y.; Horgan K.J.; Shaw S., The LFA-1 ligand ICAM-1 provides an important costimulatory signal for T cell receptor-mediated activation of resting T cells. *J Immunol*, 144:4579-4586, 1990.

23) Rieckmann P.; Michel U.; Albrecht M.; Bruck W.; Wockel L.; Felgenhauer K., Soluble forms of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) block lymphocyte attachment to cerebral endothelial cells. *J Neuroimmunol*, 60: 9-15, 1995.