

氏 名	五十嵐 祐介
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第 751 号
学位授与年月日	平成 30 年 6 月 21 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 3 項該当
学位論文名	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
論文審査委員	(委員長) 教授 八木澤 隆 (委員) 教授 早 田 邦 康 教授 山 田 俊 幸

論文内容の要旨

1 研究目的

腹膜透析は血液透析と比較して残存腎機能保持等の利点を有するが、経時的な腹膜劣化による透析不足のため長期間（通常 5 年以下しか）継続できないことが問題である。腹膜劣化は腹膜の線維性腹膜肥厚による腹膜機能低下（限外濾過不全、溶質透過性亢進）を特徴的な所見とし、腹膜劣化の進行は腹膜透析離脱の要因となり、さらには生命予後の悪い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。これらのことから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。これまで腹膜劣化を含む腹膜機能評価法として腹膜平衡試験（Peritoneal equilibration test : PET）が広く用いられている。しかし PET は複数回の採血、腹膜透析液採取が必要で時間などの問題がある。このため腹膜劣化を簡便に評価できるバイオマーカーが研究され、いくつかの有望な分子の報告はあるものの、広く臨床応用されるバイオマーカーは未だ確立されていない。

Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) は、多様な細胞に発現している糖蛋白質の一つである。ICAM-1 は炎症性サイトカインによる刺激で発現が亢進し、白血球の接着に関与することで、多くの炎症反応で主要な役割を担っている。ICAM-1 の可溶形態である可溶性 ICAM-1(Soluble ICAM-1 : sICAM-1) は炎症反応で種々の体液中で増加することが知られている。sICAM-1 は慢性炎症が関与する多くの疾患活動性バイオマーカーとしての有用性が報告されている。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性は明らかではない。

本研究では、腹膜透析患者において腹膜劣化に伴い、腹膜で ICAM-1 の発現量が増加し、さらに、腹膜透析液排液中の sICAM-1 濃度が腹膜劣化の有用なバイオマーカーとなるのではないかと、いう仮説をたて検証することにした。

2 研究方法

次の①、②で構成される内容を検討した。

①腹膜劣化モデルラット(Peritoneal injury ラット)における腹膜組織 ICAM-1 発現量検討。腹膜劣化モデルラットを Methylglyoxal 含有の腹膜透析液の腹腔内投与で作成した。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に注射したラットを Control ラットとした。各群のラット腹膜組織における ICAM-1 mRNA 発現量を Quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction(qRT-PCR)で比較した。また各群のラット腹膜組織における ICAM-1 蛋白の発現を免疫染色法で比較した。

②2006 年 6 月から 2014 年 2 月までの間で、50 名の腹膜透析患者（男性 37 名、女性 13 名、年齢 57.0 ± 14.1 歳）から PET 施行時に腹膜透析液排液中 94 検体を採取し、腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度を Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した。その結果と PET により算出した腹膜劣化の指標 (D/P-Cr、D/D0-glucose)、腹膜劣化と相関が報告されている ELISA 法で測定した腹膜透析液排液中 Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 濃度および患者臨床パラメーターの相関関係を統計学的に解析した。

3 研究成果

①腹膜劣化モデルラットでは Mock ラットおよび Control ラットと比較し、腹膜中皮下層が線維性肥厚し、同部位で ICAM-1 mRNA 発現量が有意上昇していた（腹膜劣化モデルラット vs. Mock ラット ($p < 0.01$)、腹膜劣化モデルラット vs. Control ラット ($p < 0.01$)、Control ラット vs. Mock ラット (NS))。

②腹膜透析患者において、腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度と D/P-Cr との有意正相関 ($r = 0.51$, $p < 0.01$)、D/D0-glucose との有意負相関 ($r = -0.44$, $p < 0.01$) を認め、腹膜透析液排液中 MMP-2 濃度とも有意正相関 ($r = 0.86$, $p < 0.01$) を認めた。また腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度は糖尿病合併腹膜透析患者で糖尿病非合併腹膜透析患者よりも有意に上昇していた ($p < 0.05$)。さらに腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度は Body mass index (BMI) および血清アルブミン濃度と有意負相関を認め (BMI : $r = -0.22$, $p < 0.05$ 、血清アルブミン濃度 : $r = -0.23$, $p < 0.05$)、逆に腹膜透析期間 ($r = 0.28$, $p < 0.01$) と有意正相関を認めたが、年齢、性別、血清 C-reactive protein (CRP) 濃度、血圧および急性腹膜炎の既往とは有意相関を認めなかった。

4 考察

本研究から腹膜劣化モデルラットの腹膜組織で 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 sICAM-1 濃度は従来報告されている腹膜劣化の指標 (PET、腹膜透析液排液中 MMP-2 濃度) と相関があることが明らかになった。これらの結果から腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度は腹膜劣化を反映し、腹膜透析患者において腹膜劣化の有用なバイオマーカーとなりうることが示唆された。

ICAM-1 は多様な細胞に発現している接着分子であり、白血球表面に発現している Lymphocyte function-associated antigen (LFA-1) と結合することで、白血球の炎症組織への接着および移動を促進する。ICAM-1 とその可溶形態である sICAM-1 は炎症反応時に発現亢進することが報告されている。本研究では腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度は血清 CRP 濃度とは有意相関を認めなかつ

った。その理由として sICAM-1 は分子量が 240-500 kD と大きく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。

本研究では腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度は糖尿病合併腹膜透析患者で糖尿病非合併腹膜透析患者と比較し有意に上昇しており、BMI および血清アルブミン濃度と有意負相関を認めた。これらの結果は糖尿病や低栄養状態は腹膜劣化を促進する結果、腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度を上昇させる可能性が考えられた。また、腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度は腹膜透析期間と有意に正相関しており、腹膜透析継続により腹膜劣化が進展することも示唆された。これらの結果より腹膜透析液排液中 sICAM-1 は腹膜劣化のバイオマーカーとして有用であると考えられた。本研究では腹膜での ICAM-1 および sICAM-1 発現機序や調整因子については解明することができなかった。また、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 濃度との関連性、腹膜劣化ラットモデルにおける腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度の評価や、腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度と腹膜組織変化との関連性についても更なる研究が必要と考えられた。

5 結論

腹膜透析液排液中の sICAM-1 は腹膜劣化のバイオマーカーとして有用である。

論文審査の結果の要旨

腹膜透析は残存腎機能を長期に保持できる、QOL を良好に保つことができるなど多くの利点がある。一方、線維性腹膜肥厚を原因とする腹膜劣化は治療の継続と長期予後を不良とし、腹膜劣化の定期的な評価は重要である。本研究は慢性炎症のバイオマーカーである intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)に注目し、腹膜劣化と腹膜での ICAM-1 の発現、腹膜透析液中の ICAM-1 濃度の関連について検討した研究で、腹膜劣化における ICAM-1 の意義を研究したものである。

研究は腹膜劣化モデルラット、および腹膜透析患者を対象に遂行されている。

1. 腹膜劣化モデルは Sprague-Dawley ラットの腹腔に Methylglyoxal 溶液を注入する Peritoneal injury によって作成している。腹膜組織における ICAM-1 mRNA 発現量を qRT-PCR によって解析し、ICAM-1 蛋白の発現は免疫染色で検索している。そして、腹膜劣化モデルでは未処置ラット、コントロールラットと比較し、腹膜中皮下層は線維性肥厚し、同部位での ICAM-1 mRNA 発現量が有意に上昇することを確認している。

2. 腹膜透析患者を対象とした研究では腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度を ELISA 法で測定し、腹膜平衡試験により算出した腹膜劣化の指標 (D/P-Cr、D/D0-glucose) や Matrix

metalloproteinase-2 (MMP-2) 濃度などとの相関を解析している。その結果、sICAM-1 濃度と D/P-Cr との有意正相関、D/D0-glucose との有意負相関、MMP-2 濃度との有意正相関を認め、さらに BMI、血清アルブミン濃度との有意負相関と腹膜透析期間と有意正相関も確認している。一方、年齢、性別、血清 C-reactive protein (CRP) 濃度、血圧および急性腹膜炎の既往とは有意相関を認めていない。

以上のような基礎、臨床研究は腹膜劣化に伴い、腹膜組織の ICAM-1 発現が増加し、腹膜透析液排液中 sICAM-1 濃度が腹膜劣化の他の指標 (PET、腹膜透析液排液中 MMP-2 濃度) と相関することを明らかとしたものである。また腹膜透析液排液中の sICAM-1 が他臓器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のあることも示唆している。

腹膜での ICAM-1 や透析液中の sICAM-1 の発現機序、調整因子については今後の研究に委ねられるが sICAM-1 が腹膜劣化のバイオマーカーとして有用であるとの知見は意義あるものであり、研究内容は学位授与に相応しいものと審査員は一致して評価した。

学位論文には一部の修正を要したが適確な修正がなされた。なお、研究結果は Renal Failure 誌に掲載されている。

試問の結果の要旨

申請者は腹膜透析療法の現況や課題、とくに長期継続の支障となる腹膜劣化の病態について総説した後、腹膜劣化の定期的評価の重要性と本研究の意義について述べた。続いて腹膜劣化モデルラット、および腹膜透析患者を対象とした本研究の成果を簡潔にまとめた。

腹膜劣化と ICAM-1 発現の関連や研究成績に関する質疑応答がなされたが返答は適切であり、また今後の研究の発展性や課題についても十分に理解できていた。

博士論文最終試験 (試問) においても審査委員は一致して合格と判定した。