

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	山田 洋輔
論文審査担当者	主査 石塚 修 副査 桑原 宏一郎 ・ 沢村 達也
論文題目 Impact of Chronic Kidney Dysfunction on Serum Sulfatides and Its Metabolic Pathway in Mice (マウスにおける慢性腎機能障害が血清スルファチドとその代謝経路に与える影響)	
(論文の内容の要旨) <p>【背景と目的】血清スルファチドはリポ蛋白質に結合して血中に存在する重要なスフィンゴ糖脂質であり、抗凝固作用を有することが示唆されている。過去の研究において、血液透析を施行している末期腎不全患者では、健康人に比べて血清中のスルファチド濃度が低下することや、スルファチド濃度の低下が心血管病と関連することが報告されている。しかしながら、慢性腎臓病(Chronic kidney disease; CKD)による血清スルファチド低下のメカニズムについては検討されていない。そこで今回我々は、CKD モデルとして確立されている腎臓の 5/6 を手術的に切除した 5/6 腎摘慢性腎臓病(5/6 Nephrectomy Chronic Kidney Disease [5/6NCKD])モデルマウスを用いて、CKD 状態が血清スルファチド濃度を低下させうるか、またその低下メカニズムはどのようなものかを検討した。</p> <p>【材料および方法】11 匹の Wild type C57B6J マウスに対し、11 週齢に一次手術(右腎 2/3 摘除)と 12 週齢に二次手術(左腎全摘)を行い、各々のマウス腎の 5/6 を摘除した(5/6NCKD 群)。13 匹には 11 週齢と 12 週齢に皮膚切開のみの偽手術を行った(Control 群)。それぞれ術後 4 週(5/6NCKD 群, N=5; Control 群, N=5)もしくは 12 週(5/6NCKD 群, N=6; Control 群, N=8)に解剖した。血清スルファチド濃度をマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析機 (MALDI-TOF MS 法) で定量の上、2 群間で比較した。また、血清スルファチドの産生源として知られる肝組織中のスルファチド量を MALDI-TOF MS 法で、スルファチド代謝酵素の蛋白発現量を Immunoblot 法、mRNA 量を Real time PCR 法で評価した。</p> <p>また、Hepa1-6 細胞(マウス肝細胞株)を用いて、代表的な尿毒素であるインドキシル硫酸を 0.2mM 培養液中に添加し 2 日間培養した細胞と、インドキシル硫酸を添加せずに培養した細胞で細胞中のスルファチド濃度を比較した。</p> <p>統計学的検定は Student-t 検定を用い、P<0.05 を有意差ありとした。</p> <p>【結果】5/6NCKD 群は CKD を発症し、血清クレアチニン、インドキシル硫酸濃度の有意な上昇を認め、腎病理所見では尿管間質の線維化を認めた。5/6NCKD 群では、血清スルファチド濃度と肝臓中のスルファチド量が、Control 群に比べて術後 4 週、12 週とも有意に減少した。スルファチド代謝酵素に関しては、Arylsulfatase A(ARSA)や Galactosylceramidase(GALC)といったスルファチドの分解に関わる酵素が有意に増加していた。</p> <p>インドキシル硫酸を添加した培養液中で培養した Hepa1-6 細胞では、5/6NCKD マウスと同じように細胞内のスルファチド濃度が低下し、ARSA、GALC といったスルファチド分解系酵素が増加した。</p> <p>【結論】本研究により、慢性腎機能低下が肝臓でのスルファチド分解亢進を引き起こし、血清スルファチド濃度を低下させることがマウスの in vivo および in vitro モデルにより見出された。その原因の一つとして、インドキシル硫酸などの尿毒素が肝組織中のスルファチド分解を亢進させている可能性が示唆された。</p>	