

学位論文審査の結果の要旨

令和 5 年 11 月 22 日

審査委員	主査	村尾 孝児 (印)		
	副主査	杉元 朝典 (印)		
	副主査	西小 成 (印)		
願出者	専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
	学籍番号	15D735	氏名	尾崎 太郎
論文題目	Partial replacement of D-glucose with D-allose ameliorates peritoneal injury and hyperglycaemia induced by peritoneal dialysis fluid in rats			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			
<p>〔要旨〕</p> <p>腹膜透析治療は、腹膜透析液（PDF）に含まれるグルコースやその代謝産物による腹膜傷害、グルコース吸収に伴う高血糖などの合併症がある。本研究では、そのような合併症の改善を目的とし、D-グルコースを希少糖であるD-アロースへ部分的に置換することで、腹膜傷害と高血糖を改善しうるかを検討した。</p> <p>希少糖は自然界に存在し、人が摂取しても害がないことは示されている。摂取後の血糖上昇応答への軽減効果を示す結果もある。また、D-グルコースのC-3エピマーであるD-アロースは、グルコースと分子量が同じであることから浸透圧などへの影響も少ないことが推察される。</p> <p>本研究では細胞実験として、まず、tsSV40T Tgラットより単離されたラット腹膜中皮細胞(RPMCs)を使用した。D-グルコースまたはD-グルコースの一部を異なる濃度のD-アロースで置換した培地に細胞を暴露し、細胞生存率、酸化ストレス、サイトカイン産生を評価した。また、腹膜傷害を評価するため、Sprague-Dawley (SD)ラットに、生理食塩水、4%のD-グルコースを含むPDF(PDF-G4.0%)、また3.6%のD-グルコースと0.4%のD-アロースを含むPDF(PDF-G3.6%/A0.4%)を1日1回、4週間投与した。腹膜傷害と腹膜透析の効率、それぞれ免疫組織学的染色および腹膜平衡化試験を用いて評価した。高血糖の改善に関しては、24時間絶食させたSDラットに生理食塩水またはPDFを単回注射した後、120分間にわたって血糖値を測定した。RPMCsの生存率は、D-グルコース溶液(G4%)と比較し、10%をD-アロースに置換した群(G3.6%/A0.4%)、20%をD-アロースに置換した群(G3.2%/A0.8%)で生存率の有意差を認めた。しかし、5%をD-アロースに置換した群(G3.8%/A0.2%)では、生存率の有意な改善はみられなかった。酸化ストレスの指標となるジヒドロエチジウム(DHE)染色レベルも同様に、10%置換群(G3.6%/A0.4%)、20%置換群(G3.2%/A0.8%)でDHEの染色レベルが有意に減少した。サイトカイン(VEGF)の産生は、10%置換群(G3.6%/A0.4%)において軽減することが観察された。以上より、RPMCsにおいてD-グルコースの一部をD-アロースへ置換することで、D-グルコース単独群と比較して細胞生存率が上昇し、酸化ストレスおよびサイトカイン産生が減少する結果となった。</p>				

腹膜保護効果の検討として、生理食塩水、PDF-G4.0%、また、10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)をカテーテルから腹腔内に4週間連続投与した後、腹膜肥厚を検討した。その結果、腹膜の厚さは生理食塩水群に比べPDF-G4.0%群・10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)ともに増大し、10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)ではPDF-G4.0%群と比較して減少した。また、浸透圧に有意差はなかった。次に、食塩水、PDF-G4.0%及び10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)を4週間投与したラットに、PDF-G4.0%を腹腔内注射してから0、30、60、120分後に頸静脈と腹腔から血液サンプルと透析液を採取し、腹膜平衡検査および血糖測定を行った。腹膜の透過性は、透析液中クレアチニンと血中クレアチニンの対比(D/P)と、透析液からのグルコース吸収量(D/D0)で評価した。結果、生理食塩水投与群とPDF-G4%及び10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)に差を認めたが、PDF-G4%群と10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)に差は認められなかった。また、10%置換群(PDF-G3.6%/A0.4%)において血糖上昇抑制効果を示した。よって、D-グルコースをD-アロースで部分的に置換することにより、PD効率には影響を与えず、高濃度D-グルコースによる腹膜傷害および高血糖が改善される可能性が示唆された。

今回、D-アロースに一部置換することでサイトカインの発現が減少し、RPMCsの生存率の改善や傷害の軽減、腹膜の厚さも軽減した。また、血糖上昇も抑制しうる結果を示した。

今後に関しては、本研究がRPMCsとラットモデルであり、ヒトPMCに対するD-アロースの影響を理解するためには、さらなる研究が必要である。加えて、D-アロースの排泄経路である腎臓との関連に関しては、腎不全モデルにおける検討も考えられる。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和5年11月22日に行われた。

本研究は、ラット腹膜中皮細胞へのグルコースの傷害と腹腔内投与における血糖上昇に関して細胞傷害の軽減や血糖の上昇抑制効果を指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、希少糖のさらなる利用価値や発展に対して意義があり、学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士(医学)の学位論文に十分値するものと判断した。

審査においては、

1. 細胞実験において、コントロールにグルコースは入っているのか。また、浸透圧による細胞への影響はどう考えるのか。

→ コントロールにも入っており、浸透圧による細胞傷害もある。しかし、それに加わるグルコースの傷害を、D-アロースは軽減しうる結果を示したと考える。

2. D-アロースを使用して実験を行ったのはなぜか。また、他の希少糖は検討するのか。

→ 抗酸化作用の報告もあり、これを考慮して使用した。D-アロースには血糖上昇抑制作用もあり、今後は、代謝経路など機序の分かっている他の希少糖も検討を考えている。

3. グルコースの細胞傷害メカニズムは何か。直接傷害を引き起こすのか。

→ 細胞内に取り込まれた際にミトコンドリア傷害を引き起こし、これが酸化ストレスになると考える。

4. VEGFの軽減となるが、血管新生は悪いものなのか。

→ 溶質の透過性があがることから、除去効率としてはよい。しかし、治療目的として除水効果を求める場合は、血管床の増加に伴う透過性亢進からグルコースが早期に吸収されてしまうため、除水効果は低下し、治療へ悪影響を及ぼす。そのため、抑制したい。

5. 今後どのような検討を追加するか。また対象患者をどう考えるか。

→ 蓄積性の問題から、腎不全モデルの検討が必要と考える。また、1日1回の制限にて全腹膜透析患者への使用や、糖尿病性腎不全の方への積極的使用を検討したいと思う。

などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも明確に回答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲載誌名	Peritoneal Dialysis International on line		
(公表予定) 掲載年月	2023年 7月	出版社(等)名	Sage Journals

(備考) 要旨は、1,500字以内にまとめてください。