







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 565 号	氏 名	青木 宏平
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	三股浩光 
		副査氏名	小野克重 
		副査氏名	宮本伸二 
<p>論文題目 Role of indoxyl sulfate as a predisposing factor for atrial fibrillation in renal dysfunction.                  (インドキシル硫酸は腎機能障害における心房細動の誘発因子である)</p> <p>論文掲載雑誌名                  Journal of the American Heart Association. (Open Access WEB Journal)</p> <p>論文要旨</p> <p>【緒言】腎機能障害は心房細動の主要な危険因子である。腎機能障害において、尿毒素であるインドキシル硫酸が心筋線維化を増悪させることが示唆されているが、心房細動誘発との関連性は不明である。腎機能障害モデルラットを用いて、尿毒素吸着剤の左房線維化と心房細動誘発の抑制効果について検討した。</p> <p>【対象および方法】8週齢雄Sprague-Dawleyラットに5/6腎摘(5/6Nx)またはSham手術を行い、さらに尿毒素の経口吸着薬であるAST-120投与群と非投与群(VEH)に分け、計4群(Sham+VEH、Sham+AST-120、5/6Nx+VEH、5/6Nx+AST-120)を作成した。AST-120を4週間投与し、左房の酸化ストレス、炎症、線維化、心房細動誘発率などを評価した。酸化ストレスはmalondialdehydeとNOX2及び4の発現はWestern blotにて検討し、単球が介在する炎症についてはCD68とMCP-1、VCAM-1の発現をWestern blot及び免疫染色にて検討した。線維化についてはTGF-βとα-SMA、collagen type 1の発現をWestern blotにて測定し、Masson trichrome染色にて線維組織を評価した。また左房より線維芽細胞を分離培養し、インドキシル硫酸の直接作用について検討し、さらに摘出心灌流実験にて心房細胞の誘発とAST-120の抑制効果を検討した。</p> <p>【結果】血清インドキシル硫酸濃度は5/6Nxで増加し、AST-120投与で減少した。左房組織では、5/6NxによりNOX2やNOX、malondialdehyde、CD86、collagen type1、α-smooth muscle actin等の発現はいずれも亢進し、これらの発現はAST-120投与により抑制された。免疫組織化学的検討では、5/6NxラットにおいてMCP-1とVCAM-1は左心房の内皮細胞に高発現しており、AST-120はこれらの発現を抑制した。5/6Nxでは、CD68発現細胞は左心房間質の線維化部位に増加しており、AST-120投与によりCD68陽性細胞は減少していた。培養線維芽細胞を用いた実験においても、インドキシル硫酸投与により酸化ストレス、炎症、線維化のマーカー遺伝子の発現はいずれも亢進していた。左房のMasson trichrome染色による組織学的評価においては、5/6Nxの左房では線維化がびまん性に惹起されており、AST-120によって線維化は抑制された。摘出心灌流実験では、5/6Nx群では心房間伝導時間および心房細動持続時間が延長しており、全例で心房細動が誘発されたが、AST-120はこれらを有意に抑制した。</p> <p>【結論】腎機能障害においてインドキシル硫酸は酸化ストレスや炎症を介して左房線維化を増悪させ、心房細動誘発性を亢進させる可能性が示唆された。</p> <p>本論文は、尿毒素のインドキシル硫酸が心房の酸化ストレスや炎症、線維化を惹起して心房細動を誘発することを明らかにしており、慢性腎不全患者の心房細動の原因解明と治療薬の開発に寄与するものと思われる。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験  
の結果の要旨  
~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第565号	氏名	青木宏平
審査委員会委員		主査氏名	三股浩光 
		副査氏名	川野克重 
		副査氏名	宮本伸二 

学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。

- 1 本研究データではparametric比較とnon-parametric比較をどのように使い分けて解析したのか。
- 2 心房細動誘発実験ではどの程度の左心房圧下で電気刺激を加えたのか。
- 3 本実験モデル(5/6腎摘モデル)ではインドキシル硫酸が心房筋細胞に直接作用していると考えて良いのか。
- 4 インドキシル硫酸がどのような経路で線維芽細胞内に取り込まれていると想定しているのか。
- 5 本実験モデル(5/6腎摘モデル)ではどうして心房の電氣的リモデリングの生じない心房細動モデルを示すのか。
- 6 2回に分けて腎臓手術をした理由は侵襲が大きいからか。
- 7 AST-120を添加した食事の摂取量は非添加の摂取量と同程度であったのか。
- 8 一般に腎不全では尿量が減少して体重が増加するが、本腎不全モデルラットにおいて尿量の変化はみられたのか。
- 9 8週齢のラットを用いた理由について述べよ。Sham群のラットは経時的に体重は増加しているが、成獣でも体重は増加し続けるのか。
- 10 超音波検査は小動物用の特殊な機器を用いたのか。超音波での計測は小動物用の特殊な機器を用いたのか。かなり小さい心臓の計測であるから精度に問題はないのか。結果に100分の何ミリと記載することに意味があるのか。
- 11 心筋肥大、拡張障害がISで引き起こされるのは後負荷ではなく、ISの直接的な心筋への作用という論旨であるが、心筋細胞と線維細胞のどちらの変化で肥大が起こっていたのか。
- 12 今回は線維芽細胞への影響のみ調べているが心筋細胞への影響もあると考えられるか。
- 13 血清インドキシル硫酸の測定を高速液体クロマトグラフィーで測定しているが、前処理はどのようにしたのか。
- 14 ラット心房の線維芽細胞の培養にbromodeoxyuridineを添加しているが、その理由は何か。
- 15 Figure 7ではMCP-1は心房内皮細胞に発現しているの、Eの図では内皮下に線維化が起こっているのか。
- 16 MDA expressionと記載しているが、MDAは過酸化脂質なので、MDA contentとすべきではないか。
- 17 本実験でのAST-120の1日摂取量は、臨床で用いる1日投与量と同程度なのか。
- 18 線維芽細胞の実験では150~500μMのインドキシル硫酸を添加しているが、腎不全モデルラットの血清インドキシル硫酸濃度に合致するのか。
- 19 インドキシル硫酸は血液透析では除去されにくいので、AST-120は血液透析患者に対しても心房細動の治療に有効と考えられるのか。文献的にそのような臨床研究の報告はあるのか。
- 20 心房細動は肺静脈-左心房移行部の心筋細胞の異常興奮によって生じるのであれば、移行部に焦点を絞って検討した方が良かったのではないか。
- 21 インドキシル硫酸のような低分子の解析にメタボローム解析が用いられているが、今後はそのような解析で新規の尿毒症物質を検索する予定はあるのか。

以上の質問に学位申請者は概ね良好に回答した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。