

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Inhibition of transglutaminase 2 reduces peritoneal injury in a chlorhexidine induced peritoneal fibrosis model

トランスグルタミナーゼ2の抑制はクロルヘキシジン腹膜線維化モデル
における腹膜障害を抑制する

日本医科大学大学院医学研究科 腎臓内科学分野
大学院生 久能木 俊之介
Laboratory Investigation (2023年) 掲載予定

腹膜透析において、腹膜透過性の亢進は予後不良につながる重要な問題である。その病態において、腹膜線維化と血管新生が病理学的因子となっているが、その詳細なメカニズムは未だ多くが不明であり、有効な治療法も見つかっていない。一方、近年 Transglutaminase 2 (TG2) が線維化を持続させる新たなメディエーターとして報告された。

本論文において申請者は、TG2 と腹膜線維化の関係を明らかにし、TG2 が腹膜線維化の治療標的になり得るか検討することを目的とした。腹膜の炎症・線維化モデルとして広く使用されているグルコン酸クロルヘキシジン (CG) モデルを用いた動物実験を行い、免疫組織学的染色や RT-PCR で解析を行った。CG の腹腔内投与により腹膜線維症モデルラットを作成し day 0、day 1、day 3、day 7、day 14 と経時的に TG2 や成長因子、線維化の指標を免疫組織学的染色で解析した。また、CG の腹腔内投与と同時に Transforming Growth Factor- β (TGF- β) type I receptor inhibitor (TGF- β RI) を腹腔内に投与することで、腹膜線維化抑制モデルを作成し、TGF- β RI の TG2 発現・活性への影響を検討した。また、TG2 の抑制実験としては TG2 KO マウスを用い、線維化の指標を評価した。さらに、ヒトの腹膜組織についても免疫組織学的解析を行った。長期腹膜透析患者と腹膜透析関連腹膜炎患者の腹膜組織を腹膜透析カテーテル抜去術時に採取し、コントロールとしては腎移植ドナーの腹膜組織を腎移植術時に採取した。

CG の腹腔内投与により、腹膜の線維化は経時的に増加し、これに伴って TG2 の発現・活性も増加した。このことから TG2 は腹膜線維化プロセスに関与することが示唆された。2重染色を行ったところ、TG2 活性は α -SMA 陽性筋線維芽細胞、CD31 陽性血管で強くみられ、一部の ED1 陽性マクロファージでも活性を認めた。線維化腹膜における TG2 陽性毛細血管は α -SMA 陽性、Vimentin 陽性、VE-Cadherin 陰性と、Endothelial-mesenchymal transition (EndMT) の特徴を示した。また、TGF- β RI の投与により線維化は軽減し、同時に TG2 の発現・活性も減少した。一方で TG2 KO マウスは野生型と比較して線維化が軽減し、TGF- β 1

も抑制された。RT-PCR による解析を行ったところ、TG2 KO マウスはコラーゲンや TGF- β 1 の mRNA 発現が抑制されており、組織染色と同様の結果が得られた。CD31 と VE-Cadherin の 2 重染色を行ったところ、線維化とともに血管の VE-Cadherin 陽性率は低下するが、TG2 KO マウスでは VE-Cadherin 陽性率が維持されることが示され、TG2 が EndMT に関与することが示唆された。ヒトの腹膜組織の解析では腹膜透析患者の組織で腹膜肥厚や線維化、血管新生、マクロファージ浸潤が増加しており、同時に TG2 の発現も増加していた。腹膜炎患者では線維化領域や血管で TG2 の強い発現を認めており、CG モデル動物の腹膜組織の特徴と類似していた。

腹膜の炎症や腹膜炎、腹膜透析液の非生体適合性といった因子が TGF- β 1 を誘導することが広く知られている。今回の実験の結果から TGF- β 1 と TG2 の相互誘導作用が示され、この悪循環が腹膜線維化や血管新生を加速することが示された。また、TG2 の EndMT への関与が示唆された。培養細胞を用いた過去の実験でも TGF- β 1 と TG2 の相互作用と EndMT への関与が報告されており、本研究でも、過去の報告と合致する結果が動物実験で得られた。さらに、ヒトの腹膜組織を用いた解析でも長期腹膜透析患者や腹膜透析関連腹膜炎患者で TG2 の発現増加が示され、TG2 は腹膜透析における腹膜線維化にも関連する可能性が示唆された。

第二次審査では、TG2 と TGF- β 1 の相互作用の機序について、TG ファミリー分子について、線維化における EndMT の意義について、腹膜以外の臓器での TG2 の役割について、TG2 阻害剤を用いた治療応用への可能性に関して質疑がなされ、それぞれに対する的確な回答が得られ、本研究に関する知識を十分に有していることが示された。

本研究は、他の臓器線維化と同様に腹膜の線維化においても、TG2 が強く関与することを明らかにするとともに、申請者が自立した研究者としての資質を備えていることを示している。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。