



Title	Response to hypertonicity in mesothelial cells : role of Na ⁺ /myo-inositol cotransporter
Author(s)	松岡, 泰子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41770
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	まつ 松 岡 やす 泰 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 2 3 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Response to hypertonicity in mesothelial cells : role of Na ⁺ / myo-inositol cotransporter (高浸透圧刺激に対するラット腹膜中皮細胞の反応—ミオイノシトール輸送体の検討—)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 安東 明夫 (副査) 教 授 堀 正二 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

腹膜透析施行中の腹膜中皮細胞は常に高浸透圧の透析液にさらされている。一般に細胞外の浸透圧が上昇すると、有機浸透圧物質 (organic osmolyte、以下オスモライト) と呼ばれる細胞にとって無害な有機物質を蓄積することにより、細胞内外の浸透圧バランスを保ち、細胞機能を保護することが明らかにされている。本研究では高浸透圧環境に適応するために、腹膜中皮細胞がどのようなオスモライト蓄積機構を有するかを検討した。

【方法】

ラット壁側腹膜より採取した初代培養腹膜中皮細胞を用い、下記の実験を行った。

1. 高浸透圧による腹膜中皮細胞の細胞内オスモライトの変化：等張培養液で培養した腹膜中皮細胞と高浸透圧培養液に変え24時間培養した後の腹膜中皮細胞のオスモライトの細胞内含量をHPLC法にて測定した。ミオイノシトールについては経時的変化についても検討した。
2. 高浸透圧による腹膜中皮細胞のミオイノシトール輸送活性の変化：ミオイノシトール輸送活性については、^[3H] ミオイノシトール取り込み速度を測定した。
 - (1) 経時的変化：高張培養液を用いて培養後0、8、16、24、48時間後のミオイノシトール輸送活性を測定した。
 - (2) 浸透圧依存性：培養液の浸透圧を300～500mOsm/kgにした場合についてミオイノシトール輸送活性を測定した。
3. 腹膜中皮細胞のNa⁺/myo-inositol cotransporter (SMIT) mRNA 発現変化について：腹膜中皮細胞を高浸透圧培養液を用いて培養した後、細胞よりmRNAを抽出し、Northern blot法によりSMIT mRNAの経時的変化を観察した。
4. 高浸透圧環境下における腹膜中皮細胞生存にあたるミオイノシトール競合阻害剤の影響—Colony-Forming Efficiency (CFE) による検討—

高浸透圧下においてミオイノシトールが不可欠であるかどうかを検討するためにミオイノシトールの競合阻害剤である methylene-myoinositol (MMI) の存在下でCFEを行った。10cm dish 1枚につき200個の腹膜中皮細胞を蒔き、等張培養液にて24時間培養後、種々の濃度のMMIを加えた高浸透圧培養液に変更して培養を行い一週間後に形成された1mm以上の大きさのコロニー数を数えて比較した。またミオイノシトールの同時投与による効果を検討した。

【成績】

1. 高浸透圧による腹膜中皮細胞の細胞内オスモライト蓄積：等張浸透圧下では、ミオイノシトール以外のオスモライトは測定感度以下であった。NaClによる高浸透圧下で培養24時間後にはミオイノシトールが最も多く蓄積し、等張浸透圧時の約7倍に増加した。ペタイン、グリセロフォスフォルコリンは、有意に増加した。ソルビトールは感度以下であった。ブドウ糖による高浸透圧下でもミオイノシトールが最も多く蓄積し、次いでソルビトールが増加した。ミオイノシトール含量は、高浸透圧培養液に変更後24時間で明らかな増加が見られ、48時間から72時間でプラトーとなり等張浸透圧下での含量の約9倍を示した。

2. 高浸透圧による腹膜中皮細胞のミオイノシトール輸送活性の変化

(1) 経時的变化：ミオイノシトール輸送活性は、高浸透圧培養液に変更後急速な増加が見られ、16時間でピークとなり約7倍を示した。

(2) 浸透圧依存性：ミオイノシトール輸送活性は、浸透圧依存性に増加し、500mOsm/kgまで増加が認められた。

3. 腹膜中皮細胞のSMIT mRNA発現変化について：SMIT mRNA発現レベルは、高浸透圧培養液に変更後8時間でピークとなり約11倍を示した。

4. 高浸透圧環境下における腹膜中皮細胞の生存にあたるミオイノシトール競合阻害剤MMIの影響：MMIを0.5 mM、1 mM、2 mM添加し高浸透圧培養液で培養すると、MMI非存在下で培養した対照群と比較して有意にコロニー形成は制御された。さらにそれぞれに添加したMMIの3倍濃度のミオイノシトールを同時に添加するとMMIのコロニー形成阻害作用が部分的に抑制された。

【総括】

腹膜中皮細胞は、高浸透圧刺激に対しSMIT mRNAレベルが増加し、ミオイノシトール輸送活性を亢進することによりミオイノシトールを細胞内に蓄積し、浸透圧バランスを保つことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

近年CAPDを長期に継続している患者において腹膜の機能の低下や組織変化が生じることが報告されており、その一因として高浸透圧透析液の使用があげられる。特に腹腔に面する部分に存在する中皮細胞は高張な透析液と接するためその影響を最も受けやすいと考えられるが、腹膜中皮細胞が高浸透圧環境に適応しているかについてこれまで検討はなされていなかった。本研究により、ミオイノシトールが腹膜中皮細胞での主要なオスモライトであり、高浸透圧下での腹膜中皮細胞の生存に重要な役割を果たすことが明らかとなった。CAPD施行中の腹腔内では、一日4回の液交換の際に急激な浸透圧上昇が生じ、その後除水に伴い徐々に浸透圧は低下する。これに対し腹膜中皮細胞ではミオイノシトールの蓄積は緩徐に行われ、CAPD時の急激な浸透圧上昇には十分に適応できない可能性が本研究より示唆される。高浸透圧透析液の使用が一因と考えられている腹膜の機能の低下や組織変化の病態解明、治療戦略に新たな方向性を与えるもので臨床的にも意義深いものであり学位の授与に値すると思われる。