京都大学	博士（　医　学）	氏　名	石　村　拓　也
論文題目	Matrix metalloproteinase-10 deficiency has protective effects against peritoneal inflammation and fibrosis via transcription factor NFκB pathway inhibition (マトリックスメタロプロテアーゼ-10 欠損は転写因子 NFκB 経路を抑制することで腹膜の炎症と線維化に対して保護的な効果を示すことに関する研究)		

（論文内容の要旨）

近年、慢性腎臓病患者数は増加の一途であるが、進行した腎不全に対しては生命維持のために腎代替療法の施行が必要となる。腎代替療法には血液透析、腹膜透析、腎移植があり、本邦では血液透析が主流であるが、比較的生活の制限が少ないことなどから腹膜透析患者数は近年増加傾向にある。腹膜透析の抱えるもっとも大きな問題の一つは長期腹膜透析の施行による腹膜機能低下であり、腹膜の線維化ならびに血管増生により腹膜透析液中ブドウ糖の体内への吸収速度増加のため腹膜透析液の浸透圧維持が出来なくなることであるが、その分子学的メカニズムは不明である。近年 MMP（マトリックスメタロプロテアーゼ）ファミリーが慢性腎臓病において重要な働きを担っていることが報告されており、その中でも MMP-10 は慢性腎臓病患者の血中で上昇していることが報告されている。本研究では MMP-10 に着目し、その腹膜劣化における役割を検討した。

まずクロルヘキシジングルコン酸塩（CG）により障害されたマウス腹膜のマイクロアレイ解析では MMP-10 の mRNA 発現が約 8.6 倍に増加しており、免疫蛍光染色にて MMP-10 は中皮細胞およびマクロファージに発現していた。さらにヒト腹膜生検標本において、MMP-10 はマウスと同様に中皮細胞およびマクロファージに発現しており、血清 MMP-10 濃度と腹膜平衡試験（PET）により示された腹膜溶質移動速度との間には正の相関を認めた。続いて CG を野生型マウスおよび MMP-10 ノックアウト(KO)マウスの腹腔内に投与し腹膜傷害モデルを作成したところ、MMP-10 KO マウスにおいて腹膜の肥厚・線維化・マクロファージの浸潤が抑制されていることを明らかにした。また、*Emr1*、*Ccl2* などの炎症性 mRNA 発現や *Fn1*、*Ctgf* などの線維化関連 mRNA 発現も CG 投与 MMP-10 KO マウスでは CG 投与野生型マウスと比べて抑制を認めた。さらに炎症反応に関与する転写因子 NFκB のリン酸化も CG 投与 MMP-10 KO マウスでは抑制されていた。CG 投与野生型マウスでは腹膜溶質移動速度は上昇していたが、CG 投与 MMP-10 KO マウスでは抑制されており、血管増生と VEGF-A 陽性細胞数も同様に抑制されていた。これらのことから、MMP-10 が腹膜の障害に関与しており、その遺伝子欠損により腹膜障害は抑制されることを明らかにした。

次に *ex vivo* での検討を行うために MMP-10 KO マウスから腹腔マクロファージおよび中皮細胞を採取し検討を行った。MMP-10 KO マウス由来細胞では野生型マウス由来細胞と比べて、リボポリサッカライド（LPS）やインターロイキン-6（IL-6）刺激による炎症性 mRNA 変化や NFκB のリン酸化が抑制されていることを示した。さらに MMP-10 を一過性に過剰発現させたマクロファージ様細胞 RAW264.7 およびヒト不死化中皮細胞 MeT-5A の機能を検討したところ、NFκB のリン酸化亢進とともに IL-6 や IL-1β といった炎症性サイトカイン mRNA 発現の上昇を認めた。

本研究により、腹膜マクロファージおよび中皮細胞において MMP-10 を介した NFκB 活性化によって引き起こされる腹膜の炎症および線維化が MMP-10 を欠損させることにより改善することを明らかにした。今後、MMP-10 が腹膜透析中止のマーカーや長期腹膜透析における治療ターゲットとなる可能性を示唆した。

（論文審査の結果の要旨）

腹膜透析は比較的生活の制限が少ない腎代替療法であるが、長期腹膜透析は腹膜機能の低下を引き起こす。腹膜機能の維持は透析継続に必須であるが、腹膜機能低下に対する有効な治療法は確立していない。本研究では MMP（マトリックスメタロプロテアーゼ）ファミリーに属する MMP-10 の腹膜機能低下における役割を検討した。

MMP-10 はヒト、マウス腹膜ともに中皮細胞およびマクロファージに発現しており、傷害腹膜で発現が亢進していた。さらに腹膜透析患者の血清 MMP-10 濃度と腹膜平衡試験（PET）により示された腹膜溶質移動速度との間には正の相関を認めた。また MMP-10 ノックアウト(KO)マウスでは、クロルヘキシジングルコン酸投与による腹膜の炎症・肥厚・線維化・透過性の亢進が抑制され、転写因子 NFκB が関連していることを示した。MMP-10 KO マウスから採取された腹腔マクロファージおよび中皮細胞では LPS や IL-6 刺激に対して NFκB のリン酸化が抑制されていることを示し、MMP-10 を過剰発現させたマクロファージ様細胞 RAW 264.7 およびヒト不死化中皮細胞 MeT-5A では NFκB のリン酸化亢進とともに IL-6 や IL-1β といった炎症性サイトカイン mRNA 発現上昇を認めた。

以上の研究は、腹膜透析における MMP-10 の役割解明、ならびに腹膜細胞内シグナルの解明に貢献し、腎臓病学発展に貢献するところが多い。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和　5 年　12 月　11 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降