

氏 名	渡瀬 謙仁
(ふりがな)	(わたせ けんじ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第1184号
学位審査年月日	令和3年1月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Possible Roles of Periostin in the Formation of Hemodialysis Vascular Access Stenosis after Polytetrafluoroethylene Graft Implantation in Dogs (イヌの PTFE 人工血管移植後の血液透析ブラッドアクセス狭窄形成におけるペリオスチンの関与)
論文審査委員	(主) 教授 東 治人 教授 根本 慎太郎 教授 森 龍彦

### 学位論文内容の要旨

#### 《目的》

血液透析患者の内シャントには、しばしば狭窄による機能不全が生じる。これは特に、PTFE製人工血管を埋植された内シャント (arteriovenous graft: AVG) の場合に顕著である。このバスキュラーアクセス機能不全が生じた時には、カテーテルによる狭窄拡張や再手術を必要とする場合があり、入院や手術などの苦痛による患者負担ばかりでなく、医療経済的にも問題となる。この狭窄の発生機序は未だに不明な点が多く、病態の解明ならびに予防・治療法の開発が必要とされている。

ペリオスチンは近年新しく見つかったマトリセルラー蛋白の一つであり、血管損傷や狭

窄に伴うリモデリングに関与している可能性が報告されている。そして、AVGに用いられるPTFE製人工血管の偽性内膜肥厚形成過程においてもペリオスチンが関与している可能性がある。

本研究では、イヌを用いたPTFE製人工血管埋植AVGモデルを作製し、偽性内膜肥厚部を病理組織学および分子生物学的に経時的に観察し、ペリオスチンの関与を検討した。

#### 《方 法》

全身麻酔下にイヌの頸部の動静脈間をバイパスするように直径0.6 cm、長さ7-8 cmのPTFE製人工血管をU字状に埋植した。人工血管埋植後、1ヵ月(n=6)、2ヵ月(n=6)および4ヵ月(n=6)の時点で吻合部の動静脈と共に摘出した人工血管を、静脈との吻合部、中間部、動脈との吻合部の3つの部位に分けた。そして、それぞれをパラフィン包埋して切片を作製し、Azan-Mallory染色(偽性内膜断面積測定)、各種免疫学的染色(ペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、ビメンチンおよび $\alpha$ -SMA)を行い組織学的に検討した。また、パラフィンブロックから血管組織を薄切し、RT-PCRを用い、ペリオスチン、TGF- $\beta$ 1およびコラーゲンIのmRNA発現量を測定し分子生物学的検討を加えた。

#### 《結 果》

PTFE製人工血管埋植後の偽性内膜肥厚は、1ヵ月後に動静脈吻合部で発生し(静脈側>動脈側)、2ヵ月後には中間部でも形成されるようになり、4ヵ月後には全ての部位で偽性内膜の断面積が増加していた。

ペリオスチンとTGF- $\beta$ 1の染色では、埋植1ヵ月後の時点で人工血管の偽性内膜肥厚部と周囲組織で陽性であり、経時的な偽性内膜肥厚の増加がさらに顕著になった。また、mRNA発現量も経時的な増加を示した。

人工血管壁と偽性内膜の境界領域ではビメンチンのみが陽性、偽性内膜肥厚実質部ではビメンチンと $\alpha$ -SMAが共に陽性の細胞に占められていた。Azan-Mallory染色で染色

される偽性内膜肥厚部ではコラーゲン I の mRNA の発現量も同様な経時的变化を示した。

ペリオスチン、TGF- $\beta$ 1 およびコラーゲン I の mRNA の発現量は部位別、時期別においても正の相関関係または相関傾向を示した (TGF- $\beta$ 1 とコラーゲン I :  $r=0.714$ 、 $p<0.01$ 、TGF- $\beta$ 1 とペリオスチン:  $r=0.668$ 、 $p<0.01$ 、コラーゲン I とペリオスチン:  $r=0.485$ 、 $p<0.01$ )。

#### 《考 察》

本研究において、AVG としての PTFE 製人工血管埋植後の偽性内膜肥厚は、動静脈吻合部から出現し、経時的に人工血管中間部に伸展することが観察された。これは臨床像とも非常によく一致している。偽性内膜の細胞構成を見ると人工血管壁と偽性内膜境界部では線維芽細胞、そして、偽性内膜肥厚部では筋線維芽細胞であり、境界部から中心部への形質転換が生じていると考えられた。

分子生物学的には偽性内膜肥厚が増加するにつれ、ペリオスチンと TGF- $\beta$ 1 およびコラーゲン I の mRNA 発現レベルが有意に増加し、かつ三者に強い正の相関関係を認めており、これらが線維芽細胞増殖・形質転換を相乗的に引き起こしている可能性が示唆された。今回の検討から、AVG としての PTFE 製人工血管埋植後の偽性内膜肥厚形成および進展において、ペリオスチンの関与が示唆された。

#### 《結 論》

限られた分子生物学的検討と比較的短い観察期間という問題点があるものの、臨床で行われる AVG としての PTFE 製人工血管埋植後に生じる偽性内膜肥厚の形成にはペリオスチンが強く関与することが示唆された。ペリオスチンの制御が PTFE 製人工血管を用いた AVG の機能不全に対する治療となる可能性がある。

## 論文審査結果の要旨

血液透析患者の内シャントには、しばしば狭窄による機能不全が生じる。これは特に、PTFE製人工血管を埋植された内シャント (arteriovenous graft: AVG) の場合に顕著である。この機能不全が生じた時には、カテーテルによる狭窄拡張や再手術を必要とする場合があり、入院や手術などの苦痛による患者負担ばかりでなく医療経済的にも問題となる。この狭窄の発生機序は未だに不明な点が多く、病態の解明ならびに予防・治療法の開発が必要とされている。

本研究では、この狭窄を生じる人工血管内偽性内膜形成過程におけるマトリセルラー蛋白の一つであるペリオスチンの関与に着目し、TGF- $\beta$ 1とコラーゲンIとの関与と共に検討した。

イヌを用いた頸動静脈シャントをPTFE製人工血管で作製し、組織学および分子生物学的に観察した。偽性内膜肥厚は血管吻合部、特に静脈側より出現し、経時的に人工血管本体に進展していた。免疫組織染色では、人工血管壁と偽性内膜接合部では線維芽細胞、内膜肥厚部では筋線維芽細胞に占められていた。経時的な偽性内膜肥厚増加に伴い、ペリオスチン、TGF- $\beta$ 1およびコラーゲン I の染色で顕著に陽性となり、それぞれの mRNA の発現量の有意な増加も伴っていた。三者の mRNA 発現量に強い正の相関関係あるいは相関傾向もあり、この偽性血管内膜肥厚形成・進展においてペリオスチン～TGF- $\beta$ 1系が重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。限られた分子生物学的検討と比較的短い観察期間という問題点があるものの、血液透析患者のバスキュラーアクセス機能不全においてはペリオスチン制御が治療または予防となる可能性が示唆される興味ある報告である。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

International journal of molecular sciences

21(9): 3251, 2020 May 〈オンライン掲載〉

doi: 10.3390/ijms21093251.