

(様式11)

論文審査の要旨（課程博士）

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 宮浦 千里 ㊞

副査 大島 登志男 ㊞

副査 田中 あかね ㊞

副査 田中 剛 ㊞

副査 稲田 全規 ㊞

学位申請者	平成 <u>24</u> 年度入学 学籍番号 <u>12702105</u> 氏名 <u>平田 淳也</u>
申請学位	博士 (生命科学)
論文題目	尿毒症物質インドキシル硫酸の骨代謝への影響に関する研究

論文審査要旨 (2,000 字程度)

慢性腎臓病 (CKD) 患者では、腎機能の低下に伴い様々な合併症を発症する。その中でも、骨代謝異常は CKD における代表的な合併症の 1 つであり、CKD 患者や血液透析患者において高頻度に認められる。近年、骨代謝異常は生命予後を悪化させる疾患であることが明らかとなり、骨代謝異常の予防や治療が臨床において重要視されている。

一方、CKD 患者では、腎機能低下に伴い尿毒症物質と呼ばれる様々な物質の血中濃度が増加する。尿毒症物質は CKD の進行や合併症の発症に関与すると考えられている。しかしながら、骨代謝異常における尿毒症物質の関与については、ごく一部の尿毒症物質が骨形成を担う骨芽細胞に影響を及ぼすことが *in vitro* での研究から示唆されているものの、報告は少ない。

そこで、本研究では、代表的尿毒症物質であるインドキシル硫酸 (IS) について、骨代謝への影響を細胞を用いた系で検討するとともに、動物を用いて明らかにすることを目的とした。

第 2 章では、IS の骨吸収への作用について、骨髄細胞及び骨芽細胞の共存培養系やマウス頭頂骨器官培養系、骨髄マクロファージ培養系を用いて検討した。これらにより、IS が骨吸収を担う破骨細胞の形成や骨吸収を直接的に抑制することを明らかとした。また、マウス初代骨芽細胞培養系を用いた検討により、IS が骨芽細胞上に発現する破骨細胞分化誘導因子 receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL) の発現を低下させることも明らかとなった。

第 3 章では、IS の骨形成への作用について、マウス初代骨芽細胞培養系を用いて検討した。これにより、IS が直接的に骨形成を抑制することが明らかとなり、また、骨形成に関する遺伝子発現の変化も認められた。

第 4 章では、IS の生体における骨代謝への作用について検討した。IS は食餌由来のトリプトファンが腸管内において腸内細菌によりインドール (ID) へと変換された後、吸収されて肝臓において硫酸抱合を受けて生成されることから、本検討では IS の前駆体である ID をラットに 4 週間混餌経口投与し、骨代謝が最も盛んである二次海綿骨の骨形態計測を中心に IS の骨代謝への影響を検討した。ID 投与により血中 IS 濃度が増加し、二次海綿骨において、破骨細胞数の指標である破骨細胞面及び骨吸収の指標である吸収面が減少した。このように、IS が細胞培養系での検討と同様、生体内において破骨細胞分化や骨吸収に影響を及ぼすこ

とを明らかとした。一方、骨形成については IS の影響は認められなかった。これについては、生体における骨代謝は骨芽細胞や破骨細胞のみならず、様々な臓器やホルモン等の因子の調節により厳密に制御されていることから、細胞培養系でみられた IS の骨形成への作用が生体での骨代謝調節機構により覆い隠されたと推察された。

第 5 章では、骨代謝異常下での IS の作用を明らかとするため、骨形成の低下を特徴とする骨代謝異常である低代謝回転骨を副甲状腺摘出 (PTX) により誘発したラットを作製した。このラットに ID を 4 週間混餌経口投与し、二次海綿骨の骨形態計測を中心に IS の低代謝回転骨進行への影響を検討した。その結果、IS は二次海綿骨において、PTX により生じた骨形成に関する各指標の数値の低下及び骨芽細胞数の指標である骨芽細胞面の減少を亢進させた。また、血中の骨芽細胞の機能マーカーであるアルカリフォスファターゼや骨密度の減少も認められた。このように、低代謝回転骨下における骨形成の抑制を IS が増悪させることを明らかとし、この機序として骨芽細胞数の減少や骨芽細胞機能の抑制が関与していることが示唆された。一方、骨吸収については IS の影響は認められなかったが、これは PTX による骨芽細胞の減少に伴い、破骨細胞の分化を担う因子である RANKL の発現量が低下したことに起因すると推察された。

本研究では、in vitro 及び in vivo の両面から IS の骨代謝への影響について検討し、IS の生体における骨代謝への作用及び作用機序を明らかとした。さらに、CKD 患者や血液透析患者で多くみられる低代謝回転骨下においても、IS が骨形成を低下させることで病態を増悪させる可能性を見出した。本研究において IS の影響がみられた細胞培養系での IS 処理濃度や動物での血中 IS 濃度は CKD 患者や血液透析患者における血中 IS 濃度と同程度であることから、本研究において得られた知見は、腎機能低下により血中 IS 濃度が増加した CKD 患者や透析患者における低代謝回転骨の進行に IS が関与していることを示唆している。このことから、CKD 患者や血液透析患者の血中 IS 濃度を低下させることが低代謝回転骨の治療につながると考えられた。

以上のとおり、博士論文最終試験の審査基準を満たし、合格と判断した。