

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「無血清培地により培養されたヒト近位尿細管上皮細胞を用いたバイオ人工尿細管デバイスの作製と評価」

学位申請者 高橋 浩雄

本論文は、バイオ人工尿細管デバイス(BTD)の臨床応用に対する安全性を確立するために、無血清培地を用いてヒト近位尿細管上皮細胞(hRPTEC)を大量培養し、その機能を、従来の有血清培地で培養したhRPTECの性能と比較して評価し、腎不全に対するBTD体外循環治療の作用機序を検討したものである。

本研究では、これまで有血清培地を用いて行われてきたhRPTECの大量培養法を基盤として無血清培地で培養したhRPTECに細胞周期調節因子に対するsiRNAを導入してRNA干渉による遺伝子ノックダウンを一定の間隔で繰り返し行うことで本来の分裂寿命を超えた増殖を誘導し、有血清培地を用いた場合と細胞集団倍加数(CPD)を比較することで評価した。さらに、重症腎不全ヤギに無血清培地BTDを接続して体外循環治療を行い、生存時間と病勢緩和の効果を有血清培地BTDによる体外循環治療と比較して有効性を評価した。その結果、無血清培地を用いたhRPTECの培養に対しRNA干渉を繰り返し行うことにより、本来の分裂寿命であるCPD15回を大きく超えたCPD50回以上の分裂増殖が達成され、従来と同じ方法で大量培養が可能であることが示された。また、この無血清培地BTDを用いて重症急性腎不全ヤギの体外循環治療を行った時の平均生存時間は、hRPTECを播種していないシャムデバイスで体外循環を行った場合の平均生存時間を大きく上回り、有血清培地BTDによる体外循環治療の場合と比較してほぼ同一の成績が認められた。さらに、病勢の緩和効果とサイトカイン産生抑制に関しても有血清培地BTDと同程度の効果を示した。以上の結果から、無血清培地で分裂寿命を延長させたhRTECを用いてBTDを作製することにより、従来の有血清培地BTDと同様の機能を保持しながら、より高い安全性を確立することが可能となり、重症急性腎不全の新たな治療法に向けた、臨床応用可能なBTDの開発に寄与できることが示された。よって本研究結果は、より安全な新しい急性腎不全治療法を提案すると同時に、今後の課題についても明確に論議されており、博士論文に十分値するものと考えられる。

本論文内容に関して、背景、目的、方法、結果、考察、結論の各項目別に質疑を行い、各委員から以下のような質問がなされた。

1. ヒト近位尿細管上皮細胞の返却血への混入防止法はどのようにすべきか
2. 無血清にしたデメリットはなかったのか
3. 現在のBTDの機能は生体腎と比してどの程度のものか
4. BTD使用後に、尿細管細胞のアクアポリン1の遺伝子発現が亢進しグルコーストランスポーター1の遺伝子発現が抑制されるのはどうしてか
5. BTDを用いるとヤギ末梢血単核球のサイトカイン産生が抑制される機序はどの様なものが考えられるか
6. 以前米国でHumesらによって行われていたものと、どこが違うのか
7. 使用している中空糸のカットオフが、尿細管細胞の存在によってどう変わるのか
8. Study design として Historical control だけでよいのか、少なくとも何らかのControlは必要で

はないのか

9. 他の血液浄化法との組み合わせ方、あるいは使用方法はどうすれば効果的だと考えられるか

10. 現行プロジェクトに一般企業の参画を得て、実用化を加速することが賢明ではないか

これらの質問に対して申請者は、自身のデータに加え、文献的な知見も織り交ぜながら的確に回答し、それらは科学的説得力を十分に有しており、新たな急性腎不全の治療法の開発を目指した基礎研究として高い評価が得られた。また本研究に関連する領域だけではなく、医学全般に関する学識も十分に高いと判断された。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 高橋 浩雄氏は、東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	坂部 貢	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	川口 章	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	高木 敦司	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	遠藤 正之	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	深川 雅史	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）