

氏名(国籍)	張	民	杰	(中 国)
学位の種類	博	士	(医 学)	
学位記番号	博	甲	第 2954 号	
学位授与年月日	平成14年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	培養ヒト肺微小血管内皮細胞に対する外因性クレアチンの作用の検討			
主査	筑波大学教授	医学博士	深	尾 立
副査	筑波大学教授	医学博士	田	中 直 見
副査	筑波大学講師	医学博士	三	輪 佳 宏
副査	筑波大学講師	博士(医学)	村	田 秀 行

論文の内容の要旨

(目的)

クレアチンの血管内皮細胞に対する抗炎症効果を証明することが本研究の目的である。

クレアチンは、細胞内に取り込まれ細胞内エネルギーであるATPの産生源となる。最近、クレアチンの炎症性病態への関与を類推させる基礎的研究が散見されるようになった。しかし、炎症に大きく関与する血管内皮細胞に対するクレアチンの役割は明かでない。

本研究ではヒト肺微小血管の培養内皮細胞を用いて、クレアチンの1)血管内皮透過性抑制作用、2)血管内皮細胞への炎症細胞接着抑制作用、3)血管内皮細胞の接着分子発現抑制作用を検討することにより、クレアチンの血管内皮細胞に対する抗炎症効果の証明を試みた。

(方法)

- 1) ヒト肺微小血管内皮細胞を人工膜上で培養し、FITC-デキストランを用いて内皮透過性測定系を作成した。この系に炎症性メディエーターであるセロトニン、 H_2O_2 及びサブスタンスPを加えて亢進させた内皮透過性に対する添加クレアチンの透過性抑制作用を評価した。
- 2) 培養血管内皮細胞を炎症性サイトカインTNF- α で刺激し、 ^{51}Cr 標識好中球を添加する血管内皮一好中球接着に与える影響を評価した。
- 3) 上記モデルを使い、血管内皮細胞上のE-セレクトインとICAM-1の発現に与えるクレアチンの効果をELISA法により測定し評価した。
- 4) 血管内皮細胞に対するクレアチンの抗炎症作用が、細胞内高エネルギーリン酸化合物の増加によるものであるか否かを、血管内皮細胞内のクレアチン、ホスホクレアチン及びATPを定量することにより評価した。

(結果)

- 1) セロトニン、 H_2O_2 、及びサブスタンスPによる内皮透過性亢進は、添加クレアチンにより用量依存性に抑制された。
- 2) TNF- α 刺激による血管内皮細胞への好中球接着増加は、添加クレアチンにより用量依存性に抑制された。

- 3) TNF- α 添加による血管内皮細胞表面のE-セレクトリン及びICAM-1の発現は、添加クレアチンにより用量依存性に抑制された。
- 4) 血管内皮細胞を24時間0.5mMクレアチン添加下で培養することにより、内皮細胞内のクレアチン及びホスホクレアチンは有意に増加した。その増加はクレアチントランスポーター阻害薬により抑制され、セロトニン投与により減少した。一方、細胞内ATPは、上記のいずれの処置によっても変化しなかった。

(考察)

高濃度クレアチンは、内皮透過性抑制作用、血管内皮細胞への好中球接着抑制作用、血管内皮細胞表面の接着分子発現抑制作用、及び血管内皮細胞内ホスホクレアチン増加作用を示すことが明らかとなった。従来、クレアチンの筋細胞や神経細胞に対する作用は知られているが、血管内皮細胞に対してもクレアチンが薬理作用を示すことを初めて証明した。また血管内皮細胞に対するクレアチンの作用が抗炎症効果を現すという点も新しい知見である。クレアチンの抗炎症効果発現機序は、細胞内ホスホクレアチンを増加させることによる細胞内エネルギー貯蔵量の増加によるものであると推察される。しかし、血管内皮細胞内ATPのクレアチン添加による増加は認められなかった。これは筋細胞内ATP量は一定に保たれるという他のデータと一致するが、今後その詳細な作用機序についての解析が必要である。

(結論)

外因性クレアチンは、血管内皮細胞に対して抗炎症作用を示した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、クレアチンの血管内皮細胞に対する抗炎症作用を持つという仮説を証明するために、新規に考案した実験モデルを使い、段階を追って実験を組み立てて仮説を証明し、それらの知見が全く新しいものであることを高く評価する。なお、クレアチン添加による血管内皮細胞内エネルギー貯蔵量の解析に関する実験条件に若干の追加をすればより完成度の高い論文になったと考えられた。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。