

貧血のメカニズム解明に向けた慢性炎症モデルの作製

◎宮本由唯¹⁾、藁谷 優香¹⁾、埴 晴雄¹⁾、渡邊 博昭¹⁾、阿部 拓也¹⁾
新潟医療福祉大学医療技術学部臨床技術学科¹⁾

【背景】ヒトの慢性疾患に伴う貧血は、炎症性サイトカインにより肝臓でのヘプシジン産生が亢進し、マクロファージからの鉄の放出、腸管からの鉄の吸収を抑制することによって生じるとされている。慢性感染症はその代表的な疾患であるが、ペプチドグリカン多糖類ポリマー (PGPS) は炎症反応を引き起こす毒性を持ち、慢性炎症を引き起こすことが知られている。

【目的】本研究は、PGPS 投与による慢性炎症モデルを作成し、貧血やその機序を検討することを目的とする。

【方法】Lewis ラット (雌・8 週齢) に PGPS を腹腔内投与した群、Control としてリンゲル液を腹腔内投与した群に分け、3 週後に検血、血清鉄、血清フェリチン、血清ヘプシジンを測定し、また、肝臓、腎臓、骨髄などの臓器の鉄関連蛋白の遺伝子発現を定量的 RT-PCR にて調べた。

【結果・考察】Control 群と比較し、PGPS 投与群で白血球

数 (WBC) の増加、ヘモグロビンと血清鉄の減少、血清ヘプシジンの上昇、血清フェリチンの上昇が顕著にみられた。また、肝臓での IL-6 の上昇、腎臓でのエリスロポエチンの上昇、骨髄でのトランスフェリン受容体 1、エリスロフェロンの上昇がみられ、この貧血の主な原因は、ヘプシジンの上昇による鉄の利用障害による貧血が考えられた。

【結論】本研究では、PGPS の腹腔内投与により慢性炎症を伴う貧血モデルを作製した。この貧血モデルを用いることで、慢性疾患による貧血のメカニズムの解明や新たな治療法の創出に寄与できる可能性がある。

連絡先：takuya-abe@nuhw.ac.jp

検体の保存状況におけるエクソソーム抽出効率の検討

◎江ヶ寄梓¹⁾、金子 京平¹⁾、森田 邦恵²⁾
新潟医療福祉大学 保健学専攻 医療技術安全管理学分野¹⁾、新潟医療福祉大学²⁾

体液中 Exosome を用いたリキッドバイオプレシーが癌研究において注目されている。Exosome は免疫応答の誘導・調整細胞間コミュニケーション・遺伝子転写速度の調節の役割を持つことから、Exosome はタンパク質・核酸のような分子で由来細胞の状況を反映した情報が内包されている。このため疾患組織由来の Exosome を解析し新たなバイオマーカーを見出す可能性が期待されている。

Exosome の抽出方法として発見当初から超遠心法が行われているが抽出工程が難しく超遠心機が必要なことから臨床での応用は不向きに考えられている。2015 年から血清・血漿・培養細胞から Exosome を抽出する試薬が多く開発されているが各社を比較する評価報告が少ない。そのため過去に我々の研究グループが各社の血清・血漿・培養細胞から Exosome の RNA（以下 ExoRNA）を抽出する試薬に対する評価を行い QIAGEN 社の試薬が最も抽出効率が高いことを確認した。

血液中 Exosome のバイオマーカーを臨床応用するため、さらに検体が凍結か新鮮血の違いと血漿か血清での違いに

よる ExoRNA 抽出効率の比較が必要となる。そこで QIAGEN 社の Exosome 抽出試薬で⁻⁸⁰°Cで凍結保存を行った検体と採取後すぐに解析を行った場合と解析を行う検体が血清と血漿による条件の違いで ExoRNA 抽出効率の比較を Exosome マーカー CD9・C63・CD81 による real-time PCR で評価し検討した。

結果、凍結保存を行った患者検体の場合の方が新鮮血よりも Exosome 抽出効率が高いことが確認された。血清・血漿の比較では Exosome の抽出効率に差は見られなかった。

将来的にはこの結果から、凍結した検体または培養細胞の上層から抽出した Exosome を用いバイオマーカーを同定し疾患（特に癌疾患）の早期発見に貢献していきたいと考えている。

連絡先

メールアドレス：hcm23002@nuhw.ac.jp

電話番号：025-257-4492

糖尿病病態における超音波診断用造影剤の主要臓器に及ぼす影響

◎裏澤 光雪¹⁾、鳥谷 周平¹⁾、藤井 豊¹⁾、渡邊 博昭¹⁾、阿部 拓也¹⁾
新潟医療福祉大学医療技術学部臨床技術学科¹⁾

【背景】超音波検査において、肺で代謝される超音波診断用造影剤は実臨床で不可欠なツールとなっている。一方で、実臨床では、検査後にこの造影剤が生体に与える弊害についての評価は行われていない現状である。加えて糖尿病など血管内皮傷害を有した病態ごとの投与基準は明確に定められていない。これまでに、我々は健常ラットにおいて、超急性期におけるこの造影剤が引き起こす炎症性サイトカイン遺伝子の発現を明らかにしている。本研究では、糖尿病病態における造影剤起因の炎症性遺伝子の発現を評価した。

【目的】糖尿病病態における超音波診断用造影剤投与起因の臓器局所での炎症性遺伝子の発現を評価し、造影超音波検査の安全性基準の確立に寄与することを目指す。

【方法】実験には、健常モデルラット (SD) 12-14 週齢 (オス・400-500g)、糖尿病モデルラット (SDT) 22-24 週齢 (オス・600-700g) およびを使用し、超音波診断用造影

剤として Sonazoid® を使用した。Sonazoid® を大腿静脈から臨床的な投与量 (0.015mL/kg) で投与し、10 分間超音波照射した。1 日後に安楽死させ、心臓、肝臓、腎臓、肺から cDNA を抽出し、リアルタイム PCR を使用して炎症性遺伝子である MCP-1 の遺伝子発現を評価した。

【結果・考察】SD と SDT の比較により、MCP-1 の発現量は、造影剤投与後 1 日後にすべての臓器で MCP-1 が有意に増加し、特に心臓において顕著であった。毛細血管での造影剤の滞留集積による血管内皮傷害が臓器内の炎症を引き起こす可能性がある。

【結論】糖尿病病態では超音波診断用造影剤投与により、臓器局所での炎症が助長し、その傷害は一様ではないことを明らかとした。造影超音波検査の際には、基礎疾患の有無で投与量を減量するなど新たな基準が必要である。

連絡先：takuya-abe@nuhw.ac.jp