

論文審査の結果の要旨

Pattern Recognition Analysis of Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Extracts of Intestinal Epithelial Cells under Oxidative Stress

プロトン NMR スペクトルのパターン認識による腸管上皮細胞の酸化ストレスに関する基礎研究

日本医科大学大学院医学研究科 侵襲生体管理学分野

大学院生 中田 敬司

Journal of Nippon Medical School (2014年掲載予定)

腸粘膜損傷後の修復過程において、腸管上皮細胞の増殖による粘膜被覆は重要な過程である。一方、ショックに伴う腸管虚血再灌流は、強い酸化ストレスによる腸粘膜脱落とバリア機能の破綻を惹起させ全身状態悪化の要因となるが、その詳細は明らかではない。本研究はラット腸管上皮細胞 (IEC-6 細胞) を用いて様々な程度の酸化ストレス傷害モデルを作成し、プロトン NMR スペクトル解析を行い、それぞれの細胞増殖能及び細胞傷害の程度と NMR スペクトル解析結果との関連性について検討した。

方法は IEC-6 細胞に酸化ストレスとして 0.25mM、および 0.5mM の過酸化水素(H₂O₂)に 24 時間暴露と、0.5mM H₂O₂ 暴露時間 0、6、12、24 時間の各群 (各群 n=10) を作成し、細胞増殖能と細胞傷害の程度を評価した。さらに暴露後それぞれの群で IEC-6 細胞を採取し、プロトン NMR 計測により得られたスペクトルデータを PLS-DA 法により解析を行った。

細胞増殖能は過酸化水素の濃度とともに、また暴露時間とともに優位に抑制が認められた。さらに細胞生存率も濃度依存的、暴露時間とともに低下した。各群でプロトン NMR スペクトル解析を行った結果、コントロール群、0.25mM 群、0.5mM 群でそれぞれ別個のクラスターとして分離された。暴露時間では暴露 6 時間群と 12 時間群でのクラスターは類似し、24 時間群は別個のクラスターを形成していた。以上から、酸化ストレスに対する腸管上皮細胞はその程度で異なった反応を示し、細胞増殖能及び細胞傷害の程度と NMR スペクトル解析結果は関連することが示唆された。

学位論文第二次審査においては、腸管上皮細胞 (IEC-6細胞) の選定理由、腸管における虚血再灌流障害の機序、酸化ストレスに関係する免疫細胞群、NMRスペクトルのパターン認識と多変量解析の詳細、臨床への応用等幅広い質疑がなされたが、いずれも的確な応答がなされた。

本研究は虚血、その後に発生する酸化ストレスに対する腸管上皮細胞の細胞増殖能、細胞傷害の程度を示し、今後体内で生じる複雑な病態の解明の発展に寄与するものと考えられた。

以上より本論文は学位論文として価値のあるものと認定した。