

# Flow Cytometry による腹膜透析排液中皮細胞分析

神田英一郎\* 高井健治\*\* 前田益孝\* 椎貝達夫

Flow cytometric analysis of mesothelial cells in peritoneal dialysis effluent

Eiichiro KANDA\*, Kenji TAKAI\*\*, Yoshitaka MAEDA\*, and Tatsuo SHIIGAI

\*Nephrology Section, Department of Internal Medicine, Toride Kyodo General Hospital, Ibaraki,

\*\*Center for Molecular Biology and Cytogenetics, Cellular Immunology Section, SRL, Inc., Tokyo, Japan

According to recent reports, deformity and size of mesothelial cells reflect mesothelial condition. We applied flow cytometry (FCM) to the analysis of mesothelial cells in peritoneal dialysis effluent (PDE) and the relationship between the period of peritoneal dialysis (PD) and peritoneal function. Eighteen patients treated for two to 89 months by PD were selected. Their dialysate : plasma creatinine ratio (D/P creatinine) was  $0.67 \pm 0.086$  (0.53 to 0.87). Overnight PDE was drained and centrifuged. The cell population of peritoneal cells identified by anti-cytokeratin, CD14 and 45 antibodies was studied by FCM.

Cytokeratin-positive cells were identified as mesothelial cells, distinct from macrophages, granulocytes or lymphocytes. The forward scatter (FSC) of cytokeratin positive cells, fluorescence intensity of cytokeratin and percentage of cytokeratin-positive cells in PDE were  $395.6 \pm 55.5$  (298.31 to 527.72),  $333.9 \pm 272.9$  (67.55 to 1,071.95), and  $6.75 \pm 6.1$  % (0.44 to 21.14), respectively.

There was a positive correlation between D/P creatinine and FSC, and a negative correlation between D/P creatinine and cytokeratin fluorescence intensity or the percentage of cytokeratin-positive cells. However, there was no correlation between the period of PD and FSC, cytokeratin fluorescence intensity or the percentage of cytokeratin-positive cells. It was suggested that the alteration of mesothelial cells is not necessarily influenced by the period of PD, but influences peritoneal function.

It was found that the analysis of cell population by FCM reflects the morphological and functional changes in the peritoneum of patients on PD.

Jpn J Nephrol 2005 ; 47 : 100-106.

**Key words** : peritoneal dialysis, mesothelial cell, PET, flow cytometry, cytokeratin

## 緒 言

腹膜透析の主な問題点として、機能的形態的な腹膜の変化や encapsulating peritoneal sclerosis (EPS) などの合併症により、長期的継続が困難であることがあげられる。

腹膜の主な構成細胞である中皮細胞の障害や変性が腹膜の変性に影響すると考えられており、腹膜の劣化や EPS 早期診断の指標として、peritoneal equilibration test (PET)<sup>1)</sup> のほか、排液中の CA125<sup>2)</sup>、PIPC や PIII<sup>3)</sup> などが報告されている。また、排液細胞診による細胞面積の検討から、腹膜中皮細胞面積が腹膜透析期間に比例して有意

に増大すること、および大型ないし異型中皮細胞の出現が腹膜組織障害や回復の指標となりうると報告されている<sup>4)</sup>。しかし、これら指標自体の信頼性、限られた検査施設、測定方法の簡便性などの問題が多く残されている。腹膜機能の評価や EPS の予測には、中皮細胞を含めた腹腔内全細胞の状態を把握することができ、かつ臨床現場で簡便に測定できることが要求される。

Flow cytometry (FCM) は、検体中の全細胞を検査することが可能である。その原理は、まず、蛍光染色した細胞を浮遊液の状態にして細い管を通過させ、これにレーザー光線を当てる。細胞に当たった光は散乱光と蛍光の 2 種類

となる。散乱光のうち、直進方向(前方)forward scatter (FSC)は相対的な細胞の大きさを、直進方向(側方)side scatter(SSC)は細胞の内部構造を反映する。一方、蛍光強度は細胞の生物学的特徴(DNA 量, 細胞表面抗原量, 細胞内抗原量など)を反映し、蛋白量, アポトーシスや細胞周期などを測定できる。

今回われわれは、腹膜透析排液中の細胞を FCM にて測定し、腹膜機能と中皮細胞の関係をはじめとして若干の知見を得たので報告する。

ルモの腹膜透析システムを使用していた。検査にあたって患者から文書にてインフォームド・コンセントを得た。患者の概要を Table に示した。

2. 方法

A. PET

Twardowski らの方法に従い、2.5%腹膜透析液(ダイアニール PD-2 2.5<sup>®</sup>, バクスター, 東京, ないしミッドペリック 250<sup>®</sup>, テルモ, 東京)2 l を 4 時間停滞し、D/P creatinine を求めた<sup>5)</sup>。

B. FCM

中皮細胞に対し FITC 標識抗 cytokeratin 抗体, マクロファージ, リンパ球, そして顆粒球に対し PE 標識抗 CD14 抗体と PreCP 標識抗 CD45 抗体にて標識した<sup>6)</sup>。中皮細胞は抗 cytokeratin 抗体に陽性であるが, 抗 CD14 と 45 抗体には陰性である。マクロファージは抗 CD14 と 45 抗体に陽性である。リンパ球は抗 CD45 抗体に陽性であるが抗 CD14 に陰性であり, 同時に顆粒球は抗 CD45 抗体に弱陽性であるが抗 CD14 抗体に陰性である<sup>6)</sup>。

FCM による細胞測定を(株)エスアールエルに依頼した。検査方法の概略は以下の通りであった。

使用試薬：以下の試薬を使用した。CD14-PE

対象と方法

1. 対象

当院で腹膜透析を行っている患者 18 名(男性 14 名, 女性 4 名)を対象とした。患者の年齢は平均 57 歳(33~77 歳), 腹膜透析期間は平均 38 カ月(2~89 カ月)であった。そして, dialysate : plasma creatinine ratio (D/P creatinine) は  $0.67 \pm 0.086 (0.51 \sim 0.87)$ , 原疾患は慢性糸球体腎炎などであった。腹膜透析方法は, CAPD 11 名, APD 6 名, 洗浄のみ 1 名であった。全例, ほかに重篤な合併症はなく安定した状態にあり, バクスターないしはテ

Table. Patient profiles

Case	Gender	Age (years)	Cause	Period (month)	D/P	BUN (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Ultra filtration (ml)	Urine (ml)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	IPTH (pg/ml)	Hb (g/dl)	Hct (%)
1	M	59	CGN	25	0.7	33	12.6	200	130	9.6	3.8	84	10	29.2
2	M	33	IgAN	6	0.7	67	14.65	300	2,000	7.7	7.6	140	8.1	24.3
3	M	56	CGN	62	0.53	76	16.23	400	1,300	10.6	8.1	440	10.6	31.9
4	M	68	CGN	38	0.69	35	9.7	400	0	10.3	2.8	131	10.7	32.1
5	F	55	CGN	84	0.87	31	8.32	600	100	10.1	4.7	130	7.6	24.2
6	F	65	CGN	7	0.54	54	9.42	900	50	8.7	5.7	690	7.9	24.3
7	M	49	IgAN	32	0.74	107	9.1	0	1,300	8.6	5.1	357	9.4	29.2
8	F	61	NL	89	0.7	40	8.13	600	0	9.6	4.3	569	12.7	40.1
9	M	77	CGN	7	0.64	27	9.59	500	200	8.8	3.2	120	10.7	30.8
10	F	55	NIDDM	66	0.72	30	5.42	600	100	8.7	3.5	170	9.6	29.4
11	M	55	NIDDM	45	0.7	31	8.62	800	200	9.2	3.7	120	10.8	33
12	M	57	NS	54	0.73	35	11.35	800	0	9.2	4	247	8.2	24.9
13	M	45	IgAN	24	0.51	57	13.97	700	600	10.4	5.2	180	11.3	33.6
14	M	62	NIDDM	2	0.67	57	12.89	800	1,000	8	6.8	140	8.3	24.9
15	M	51	CGN	84	0.6	64	15.16	1,500	0	10.6	5.6	345	11	33.8
16	M	62	NIDDM	19	0.7	63	12.26	1,100	300	9.9	5.6	92	9.3	28.2
17	M	55	CGN	12	0.63	59	16.99	700	50	10.3	6.1	302	7.4	23.5
18	M	55	NIDDM	30	0.71	56	8.96	2,000	450	9.3	5	47	9.1	26.7

Abbreviations : PD, peritoneal dialysis ; M, male ; F, female ; D/P, D/P creatinine ; BUN, blood urea nitrogen ; Cr, creatinine ; Ca, calcium ; P, phosphorus ; IPTH, intact-parathyroid hormone ; Hb, hemoglobin ; Ht, hematocrit ; CGN, chronic glomerulonephritis ; IgAN, IgA nephropathy ; NL, nephrolithiasis ; NIDDM, non-insulin-dependent diabetes mellitus ; NS, nephrosclerosis

(CALTAG, CA, USA), CD45-PerCP(BD Biosciences, 東京), Cytokeratin-FITC(Beckman Coulter, 東京), BSA-PBS(自家調製), 細胞固定・浸透試薬(Fix & PERM: CALTAG, CA, USA), Flow-Count(Beckman Coulter, 東京)

測定機: FACSCalibur(BD Biosciences, 東京)を用いて測定し, CELL Quest(BD Biosciences, 東京)を用いて解析した。

#### 処理手順:

検体調整; 2.5%腹膜透析液 2 l を夜間約 8 時間以上貯留した後, 排液を回収した。腹膜透析排液を 50 ml の遠沈管に分注し, 室温で 1,800 rpm 5 分間遠心し沈渣を回収した。回収した細胞成分を室温で 1,800 rpm 5 分間, BSA-PBS で遠心洗浄した。1×10<sup>7</sup>/ml 以下になるように BSA-PBS で細胞数を調整し調整検体とした。

反応; 調整検体を CD14-PE, CD45-PerCP と 4°C で 20 分間反応させた。次に, 4°C 1,800 rpm 5 分間, BSA-PBS で遠心洗浄した。細胞固定試薬(Fix & PERM A 液)を添加し室温で 15 分間固定処理を行い, 4°C 1,800 rpm 5 分間, BSA-PBS で遠心洗浄した。細胞固定試薬(Fix & PERM B 液)とブロッキング液(正常ウサギ血清)を添加し室温暗所で 5 分間放置した。Cytokeratin-FITC を添加し室温で 20 分間反応させ, BSA-PBS で 2 回, 4°C 1,800 rpm 5 分間, 遠心洗浄した。沈渣を 0.5 ml の BSA-PBS に浮遊させ, Flow-Count を添加した。

検体を FACSCalibur で測定し, CELL Quest を用いて解析した。

### 3. 統計学的処理

測定値を平均±標準偏差で表示した。また, 腹膜透析排液全細胞中の cytokeratin 陽性率を以下の数式で求めた。

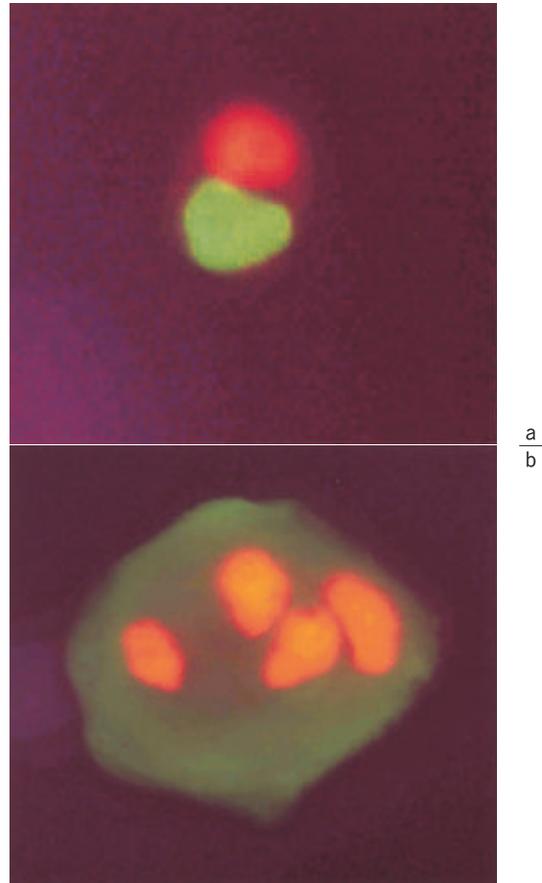
$$\text{Cytokeratin 陽性率(\%)} = \frac{\text{Cytokeratin 陽性細胞数}}{\text{全細胞数}} \times 100$$

また, 2 群間の相関関係は単回帰分析にて検定を行い, R は Pearson の相関係数を示した。分析では危険率(p) 0.05 未満を統計学的有意とした。

### 4. 基礎的検討

再現性の検討: 5 名の患者を対象として, 上記の方法でそれぞれ 5 回ずつ高井が測定し, coefficient of variation (CV) を検討した。

形態的検討: 上記方法と同様に検体調整し, Cytokeratin-FITC で標識した。核染色のため propidium iodine 溶液(0.5 mg/ml) (自家調整) を 1 μl 添加した。この調整した検体の適量をスライドグラスにとり, 蛍光顕微鏡



**Fig. 1. Immunolabelling of cytokeratin in mesothelial cells**

Fluorescence micrographs of anti-cytokeratin fluorescein isothiocyanate(FITC) staining for cytokeratin and propidium iodine(PI) staining for double-stranded regions of both deoxyribonucleic acid(DNA) and ribonucleic acid(RNA) are shown. Anti-cytokeratin FITC and PI fluoresced with green and red light respectively. (a and b, ×400)

- a : Normal mesothelial cell : Cytokeratin existed in the cytoplasm of mesothelial cell.  
b : Dyskaryotic and giant mesothelial cell.

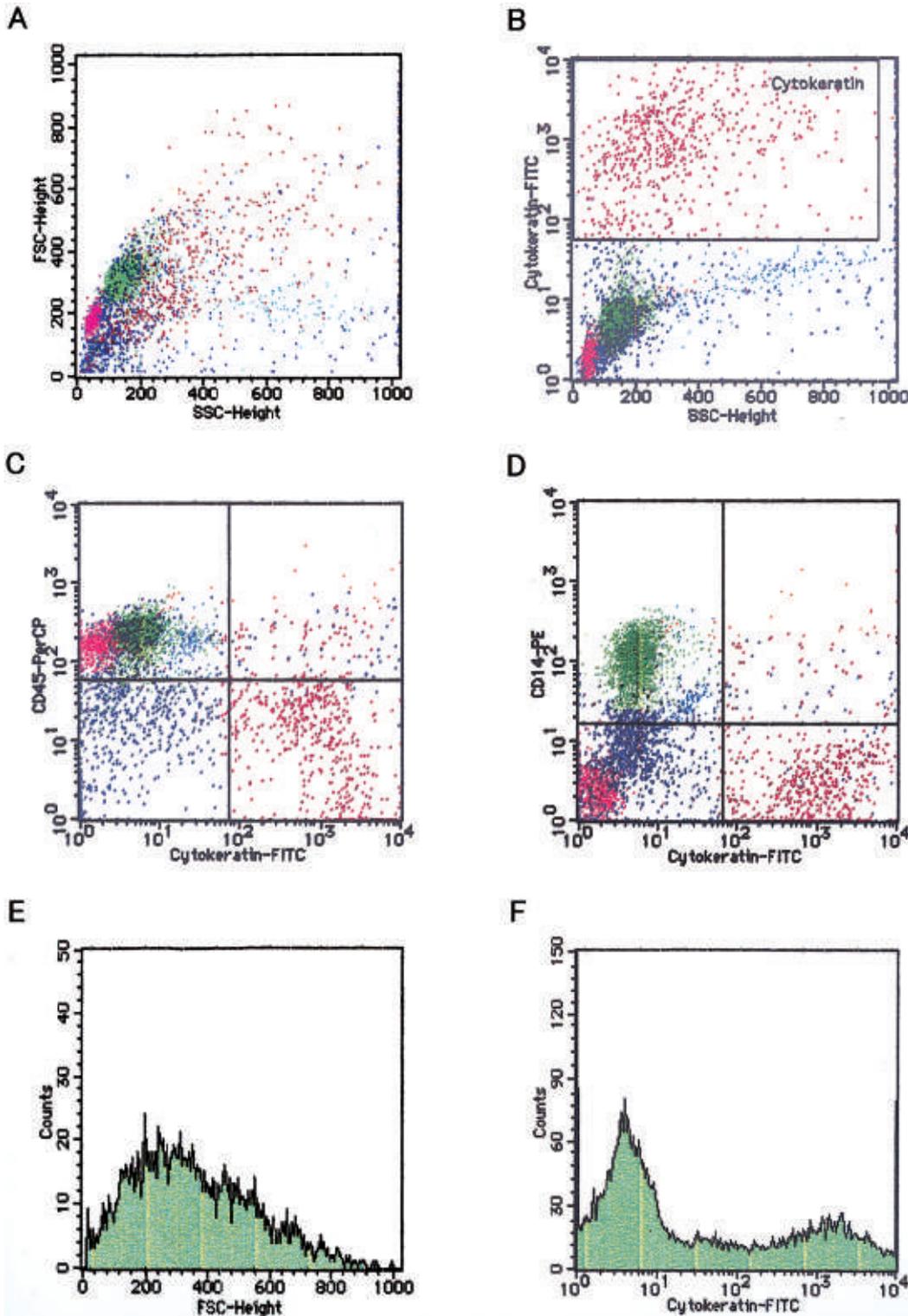
Nikon OPTIPHOT(ニコン, 東京)を用いて観察し, OLYMPUS 顕微鏡デジタルカメラ DP50(オリンパス, 東京)にて撮影した。

## 結 果

### 1. 基礎的検討

調査前に行った再現性の検討として, cytokeratin 陽性率, FSC, そして cytokeratin 蛍光強度を測定した。CV はそれぞれ 4.4%, 3.2%, 10.6%であった。

また, 形態的検討として一部の検体を蛍光顕微鏡で観察



**Fig. 2. Cell population in the peritoneal dialysis effluent of case 1**

Cytokeratin-positive cells are shown as brown dots.

A : Cytokeratin was used to identify mesothelial cells.

B : Mesothelial cells were gated by cytokeratin/side scatter(SSC). By gating on cytokeratin positivity along with SSC, the gated cells did not include high number of other cells.

C : CD45 of mesothelial cells were negative.

D : CD14 of mesothelial cells were negative.

E : Forward scatter (FSC) histogram of mesothelial cells

F : Fluorescence intensity of cytokeratin of mesothelial cells

Abbreviations : FSC, forward scatter ; SSC, side scatter ; FITC, fluorescein isothiocyanate

し、cytokeratin 陽性細胞が中皮細胞由来であることを確認した(Fig. 1)。

## 2. 腹膜透析排液細胞の解析

代表的な解析結果(症例 1)を Fig. 2 に記した。腹膜透析排液中の細胞を測定し、FSC と SCC を表示した(Fig.

2A)。

Cytokeratin 陽性細胞は独立した分布を示し(Fig. 2B), cytokeratin 陽性率は  $6.75 \pm 6.1\%$  (0.44~21.14)であった。

次に cytokeratin ないし CD45 陽性の細胞を表示したところ、cytokeratin 強陽性細胞と CD45 強陽性細胞はそれ

それぞれ独立した細胞群を示した(Fig. 2C)。また, cytokeratin陽性細胞とCD14陽性細胞を比較したところ, 同様に独立した分布を示した(Fig. 2D)。

細胞の大きさの分布解析のため, cytokeratin陽性細胞のFSCを求めた(Fig. 2E)。全患者のFSCは $395.6 \pm 55.5$  ( $298.31 \sim 527.72$ )であった。

腹膜透析の経過を経て中皮細胞の形態は変化し, cytokeratin含有量およびcytokeratin蛍光強度がそれに伴い変化する<sup>7)</sup>。cytokeratin蛍光強度を調査したところ, 全患者の蛍光強度は $333.9 \pm 272.9$  ( $67.55 \sim 1,071.95$ )であった(Fig. 2F)。

各症例の解析結果(cytokeratin陽性細胞のFSC, cytokeratin蛍光強度またはcytokeratin陽性率)をD/P creatinineと比較したところ, すべてに相関関係を認め, 回帰直線が得られた(Fig. 3A~C)。D/P creatinineはFSCと正の相関関係を示した(Fig. 3A)が, cytokeratin蛍光強度またはcytokeratin陽性率とは負の相関関係を示した(Fig. 3B, C)。

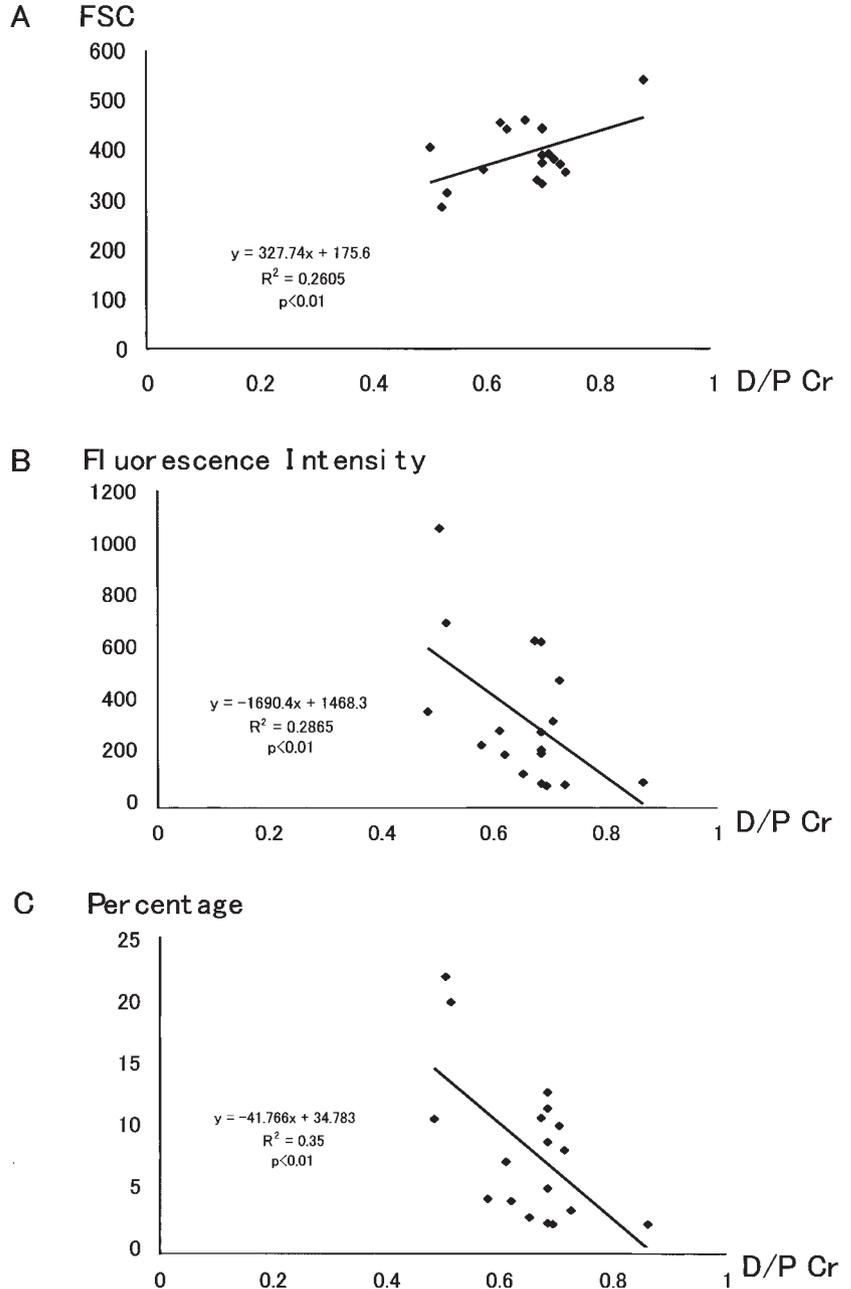
各症例の解析結果(cytokeratin陽性細胞のFSC, cytokeratin蛍光強度またはcytokeratin陽性率)を腹膜透析期間と比較したが相関関係を認めなかった。

## 考 察

われわれは腹膜透析排液を採取し, 抗cytokeratin, CD14, ないしCD45抗体にて標識した後FCMにて測定した。

Cytokeratin陽性細胞は, マクロファージ, 顆粒球やリンパ球と異なる分布を示す独立した細胞集団であった。D/P creatinineはFSCと正の相関関係を示したが, cytokeratin蛍光強度またはcytokeratin陽性率とは負の相関関係を示した。

一方, 腹膜透析期間とFSC, cytokeratin蛍光強度またはcytokeratin陽性率の間に相関関係を認めなかった。



**Fig. 3. Correlations between D/P creatinine and the results of FCM**

A : Positive correlation between D/P creatinine and forward scatter(FSC) of cytokeratin-positive cells

B : Negative correlation between D/P creatinine and fluorescence intensity of cytokeratin-positive cells

C : Negative correlation between D/P creatinine and percentage of cytokeratin-positive cells

Abbreviations : R, Pearson's correlation coefficient ; FSC, forward scatter ; D/P Cr, D/P creatinine

Cytokeratin陽性細胞は, CD14ないしCD45陽性細胞と異なる細胞集団であることを示した(Fig. 2C, D)。腹膜透析排液中には, 主として, マクロファージ, リンパ球,

好中球,そして中皮細胞が存在する<sup>8)</sup>。中皮細胞の細胞質内には cytokeratin が存在し,抗 cytokeratin 抗体にて染色される<sup>9)</sup>。年数とともに出現する異常な中皮細胞も抗 cytokeratin 抗体にて標識され<sup>10)</sup>,FCM では抗 cytokeratin 抗体にて中皮細胞をマクロファージ,リンパ球,そして好中球から鑑別することができる<sup>6)</sup>。腹膜透析排液中の細胞数や FCM による分布解析および蛍光顕微鏡を用いた形態観察(Fig. 1)から,FCM にて認識された cytokeratin 陽性細胞は中皮細胞ないし中皮細胞由来の細胞とほぼ一致すると考えられた。

われわれは,FSC が細胞の大きさを表すことから,中皮細胞の FSC を測定した。細胞に当たったレーザー光線の散乱光から FSC を測定しているため,FSC は細胞の断面的な大きさを表しているが,必ずしも断面積や体積と比例していない。しかし,細胞の全体的な大きさの傾向を把握し,細胞の種類の鑑別や全体的な分布の変化を比較することが可能である。まず,リンパ球は大きさがほぼ均一のため,各症例についてリンパ球の FSC 分布を調査したところ,各症例とも均一な分布を示した。一方,cytokeratin 陽性細胞の FSC は均一な分布を示さず(Fig. 2E),中皮細胞や中皮細胞由来の細胞は大きさが不均一であることが示された。なお,測定誤差として,FSC は細胞の浮遊液屈折率や細胞間距離の影響を受ける可能性があったため,われわれは細胞浮遊液の組成を一定に統一し,かつ細胞濃度を一定値以下とすることで,できるだけ測定誤差を小さくした。

山本らによれば,腹膜透析排液中の中皮細胞面積は,腹膜透析期間と強い相関関係にあり,FAST-PET 値とは弱い正の相関関係にある。また,異常中皮細胞出現率と中皮細胞面積も正の相関関係にあり,腹膜透析期間に相関した中皮細胞面積の増加は,正常細胞および核異常細胞面積が増加することと,異常細胞出現率が増加することが原因であると報告されている<sup>10)</sup>。われわれは中皮細胞の FSC を測定し,D/P creatinine または腹膜透析期間と比較したところ,D/P creatinine と正の相関関係を認めた(Fig. 3A)が,腹膜透析期間とは相関関係を認めなかった。次に,腹膜透析期間と D/P creatinine を比較したが相関関係を認めなかった。FSC は中皮細胞の面積や体積と必ずしも比例しないが,全体の傾向として中皮細胞の大きさを表しており,腹膜透析効率の指標となりうることが示された。また,腹膜機能には,腹膜透析期間のみではなく,腹膜の個人差,使用している透析液の pH や濃度,そして腹膜炎の既往などの諸要因も影響するため,腹膜透析期間と相関関

係を認めなかったと考えられた。

中皮細胞は cobblestone-like, transitional, fibroblast-like, mixed の 4 種類に分類され,腹膜透析期間とともに cobblestone-like の中皮細胞が減少し, fibroblast-like が増殖する。それぞれの形態の cytokeratin 蛍光強度を FCM にて測定したところ, cobblestone-like は transitional と fibroblast-like よりも強く, Western blotting による各型細胞の cytokeratin 量の比較では, cobblestone-like は transitional や fibroblast-like よりも多く cytokeratin を含有している<sup>7)</sup>。われわれは, cytokeratin 蛍光強度を測定し D/P creatinine と比較したところ,負の相関関係を認めた(Fig. 3B)。cytokeratin 蛍光強度の減少は,中皮細胞が cobblestone-like から transitional や fibroblast-like へ変化していることを示唆し,D/P creatinine と負の相関関係にあったことから,その形態変化により腹膜透析効率が上がると考えられた。また, Fig. 2F に示したように,蛍光強度にピークが 2 つ以上存在する症例と 1 つ存在する症例を認めた。中皮細胞の複数結合による蛍光強度の増強は,測定前に検体をフィルターで濾過し予防した。さらに,顕微鏡で検体を確認したが,中皮細胞の複数結合は認めなかった。また,再検したが同様の結果を得た。本調査では,ピークの数と症例の特徴に明らかな関連性は認めなかった。形態的に複数の種類の中皮細胞が存在している可能性があり,今後も引き続き調査する予定である。

Cytokeratin 陽性率は D/P creatinine との間に負の相関関係を認めた(Fig. 3C)。中皮細胞数は腹膜炎を頻回に生じる患者で高値であり,中皮細胞の turnover rate の指標になると報告されている<sup>11)</sup>。cytokeratin 陽性率の減少は,中皮細胞の剝離が減少し,腹腔内細胞構成が変化していることを示しており,腹腔内細胞構成の変化に伴い D/P creatinine の上昇を認めたと考えられた。また, cytokeratin 陽性細胞率は腹腔内全細胞を対象とするため,測定誤差が小さく,良い相関関係が得られたと推測された。

2000 年の EPS ガイドラインによれば, EPS の組織所見は,中皮細胞の完全な剝離,線維芽細胞増加を伴うか,もしくは無細胞性のコラーゲン沈着を伴う中皮下間質の著明な肥厚であり,炎症細胞浸潤も認めることがあるが全例ではないとされている<sup>12)</sup>。一方, EPS の症例検討によれば,腹膜透析中止時の D/P creatinine が検討できた 11 例中 8 例が high transport を呈しており,長期腹膜透析で high transport となる患者は EPS になる可能性が高いと報告されており<sup>1)</sup>,腹膜組織の劣化により D/P creatinine が影響を受け, EPS の指標となりうると思われている。今回

示した FCM の解析結果(中皮細胞の大きさ, cytokeratin 蛍光強度または cytokeratin 陽性率)と D/P creatinine および腹膜透析期間の比較から, 中皮細胞の形態的变化や, 中皮細胞数の減少を含めた腹腔内細胞構成の変性, および腹膜の荒廃, などの腹腔内変化は, 必ずしも腹膜透析期間だけに影響されないが, 腹膜透析機能へ影響することが示唆された。すなわち, 経年的な変化も含めた様々な要因により, 中皮細胞の大型化, cobblestone-like から transitional や fibroblast-like への形態変化が腹膜機能へ影響し, 腹膜透析効率が上がると考えられた。これらの腹腔内変化は EPS の指標となる可能性があり, 今後組織標本と比較検討する必要がある。また, FCM の測定値(FSC や蛍光強度など)は全体的な傾向の変化が重要であるため, 今後, 腹膜透析方法, 腹膜透析液の pH や濃度, 貯留時間などの条件による影響や経時の変化を調査する予定である。

FCM は抗体を変更することにより, 中皮細胞以外の細胞分布, サイトカイン, アポトーシスや細胞周期なども測定できるため, 腹腔内の状態を多角的に検査することが可能である。さらに, PET 検査時の腹膜透析排液を検査に用いたことで, 患者の負担を軽くし, 簡便に検査を行うことができた。FCM を用いた腹膜透析排液細胞の分析は腹膜変性の指標として, また実地臨床において有効であると言える。

#### 謝 辞

本研究にご協力いただきました臨床工学部坂本貢氏, 検査部細谷和佳氏, そして透析室・病棟諸兄姉に篤く感謝いたします。

#### 文 献

1. Nakayama M. The greater incidence of encapsulating peritoneal sclerosis if not the result of overdiagnosis. *Perit Dial Int* 2001 ; 21(Suppl 3) : S72-74.
2. Ho-Dac-Pannekeet MM, Hiralall JK, Struijk DG. Longitudinal follow-up of CA125 in peritoneal effluent. *Kidney Int* 1997 ; 51 : 888-893.
3. Joffe P, Jensen LT. Type I and Type III procollagens in CAPD : markers of peritoneal fibrosis. *Adv Perit Dial* 1991 ; 7 : 158-160.
4. Yamamoto T, Izumotani T, Ootoshi T, Kim M. Morphological studies of mesothelial cells in CAPD effluent and their clinical significance. *Am J Kidney Dis* 1998 ; 32 946-952.
5. Twardowski ZJ, Nolph KD, Khanna R, Prowant BF, Ryan LP, Noore HL, Nielsen MD. Peritoneal equilibration test. *Perit Dial Bull* 1987 ; 7 : 138-147.
6. Lai KN, Lai KB, Lam CW, Chan TM, Li FK, Leung JC. Changes of cytokine profiles during peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2000 ; 35 644-652.
7. Yanez-Mo M, Lara-Pezzi B, Selgas R, Ramirez-Huesca M, Dominguez-Jimenez C, Jimenez-Heffernan JA, Aguilera A, Sanchez-Tomero JA, Bajo MA, Alvarez V, Castro MA, del Peso G, Cirujeda A, Gamallo C, Sanchez-Madrid F, Lopez-Cabrera M. Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 403-413.
8. Fernandez de Castro M, Selgas R, Jimenez C, Auxiliadora Bajo M, Martinez V, Romero JR, de Alvaro F, Vara F. Cell populations present in the nocturnal peritoneal effluent of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis and their relationship with peritoneal function and incidence of peritonitis. *Perit Dial Int* 1994 ; 14 : 265-270.
9. 長村義之. 細胞診. *臨床検査* 1987 ; 31 : 1343-1349.
10. 山本忠司, 金 昌雄. CAPD 排液中中皮細胞の形態とその臨床的意義について. *透析会誌* 1997 ; 30 : 1225-1231.
11. Betjes MG, Bos HJ, Krediet RT, Arisz L. The mesothelial cells in CAPD effluent and their relation to peritonitis incidence. *Perit Dial Int* 1991 ; 11 : 22-26.
12. Kawaguchi Y, Kawanishi H, Mujais S, Topley N, Oreopoulos DG. Encapsulating peritoneal sclerosis : Definition, etiology, diagnosis, and treatment. *Perit Dial Int* 2000 ; 20(Suppl 4) : S43-S55.