

# 廣瀬弥幸 論文内容の要旨

## 主 論 文

22-Oxacalcitriol prevents progression of peritoneal fibrosis in a mouse model  
(22-Oxacalcitriol はマウスモデルにおける腹膜線維症の進行を抑制する)

Misaki Hirose, Tomoya Nishino, Yoko Obata, Masayuki Nakazawa, Yuka Nakazawa,  
Akira Furusu, Katsushige Abe, Masanobu Miyazaki, Takehiko Koji, and Shigeru Kohno

(Peritoneal Dialysis International)  
〔in press〕

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：河野茂教授)

## 緒 言

腹膜透析は末期腎不全患者に対する有益な治療法であり、血液透析と比較して残腎機能保持や循環動態安定などの利点がある。しかし長期にわたる腹膜透析は腹膜線維化を来し、腹膜機能劣化につながる事が知られている。また、腹膜線維化を来した症例で発症しうる被嚢性腹膜硬化症は予後不良な疾患であるが、未だ有効な治療法が確立されていないため、腹膜透析療法普及の妨げとなっている。これらの背景より、腹膜透析を継続するうえで腹膜線維化を予防することは非常に重要である。今回我々は、線維化を抑制することが報告されているビタミン D 製剤である 22-Oxacalcitriol(OCT)をマウス腹膜線維症モデルに投与し、腹膜線維化進展抑制効果を検討した。

## 対象と方法

8 週齢雄の ICR マウスに 0.1%chlorhexidine gluconate(CG)/ 15%エタノール液(10 mL/kg)を週 3 回、3 週間腹腔内投与して腹膜線維症モデルを作成した。このマウスに OCT(2.0  $\mu$ g/kg)を週 5 回、3 週間皮下投与した群を CG+OCT 群、OCT の溶媒を投与した群を CG 群とした。一方、15%エタノール液(10mL/kg)を腹腔内に週 3 回、3 週間腹腔内投与したマウスを 2 群に分け、OCT を週 5 回、3 週間皮下投与した群を OCT 群とし、同様に OCT の溶媒を投与した群をコントロール群とした。CG 投与開始から 21 日目に壁側腹膜および血液を採取した。

腹膜の形態を評価するためヘマトキシリン・エオジン染色を行い、画像解析装置を用いて腹膜肥厚面積を半定量化した。線維化の評価はコラーゲン III の免疫組織化学

染色を行い、陽性面積を画像解析装置で解析した。腹膜線維化におけるビタミン D の関与を明らかにする目的でビタミン D 受容体を、線維化に関与する因子として線維芽細胞のマーカーである  $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)、transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ )およびその下流にある phosphorylated Smad2/3 の発現を免疫組織化学で検討した。マクロファージのマーカーである F4/80 とその浸潤に関与する monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)についても同様の手法を用いて検討した。また、MCP-1 の上流にある NF- $\kappa$ B の活性化は、southwestern histochemistry で検討した。免疫組織化学染色の陽性細胞数は、1 個体あたり顕微鏡倍率 200 倍でランダムに 10 視野を数えた。southwestern histochemistry については画像解析装置を用い、1 個体あたり顕微鏡倍率 200 倍でランダムに 10 視野の陽性細胞数を数えた。OCT のカルシウム・リン代謝への影響を調べるため、血清カルシウムおよびリンを測定した。それぞれの結果については各群間で比較し、Bonferroni/Dunn 法で統計解析を行った。

## 結 果

ビタミン D 受容体は正常マウスの腹膜中皮細胞に発現しており、CG 群では肥厚した腹膜の線維芽細胞やマクロファージ、腹膜中皮細胞に発現を認めた。腹膜の形態は、コントロール群および OCT 群の腹膜組織は一層の中皮細胞とわずかな結合組織を認めるのみで、正常マウスとの有意な差は認めなかった。一方、CG 群では中皮下腹膜組織の顕著な肥厚を認めたが、CG +OCT 群において腹膜肥厚は有意に抑制された。CG 群では著明なコラーゲン III 蓄積が認められ、 $\alpha$ -SMA、TGF- $\beta$ および phosphorylated Smad2/3 陽性細胞数の著明な増加が見られたが、CG+OCT 群では有意に抑制された。F4/80、MCP-1 および southwestern histochemistry における NF- $\kappa$ B 陽性細胞数は CG 群で顕著に増加していたが、CG+OCT 群では有意に減少した。血清カルシウムおよびリンについては、各群間に有意差を認めなかった。

## 考 察

マウス腹膜線維症モデルにおいて、OCT 投与による線維化抑制効果が明らかとなった。その機序として、OCT が主なコラーゲン産生細胞である線維芽細胞数を減少させたことや、線維化に中心的な役割を果たす TGF- $\beta$ の発現を抑制したことが考えられた。また、OCT が NF- $\kappa$ B の活性化を抑制することで MCP-1 の発現を低下させ、マクロファージの浸潤を抑制したと考えられた。一方、本研究では OCT は血清カルシウムやリン値に影響を与えなかった。これらの結果から、ビタミン D 製剤は腹膜線維化予防に有用な薬剤である可能性が示唆された。