

新井 英之 論文内容の要旨

主 論 文

Thalidomide prevents the progression of peritoneal fibrosis in mice
(サリドマイドはマウス腹膜線維症の進展を抑制する)

Hideyuki Arai, MD., Akira Furusu, MD., PhD., Tomoya Nishino, MD., PhD.,
Yoko Obata, MD., PhD., Yuka Nakazawa, MD., Masayuki Nakazawa, MD.,
Misaki Hirose, MD., Katsushige Abe, MD., PhD., Takehiko Koji, PhD.,
Shigeru Kohno, MD., PhD.

(ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA)
[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

腹膜透析療法は、末期腎不全患者にとって残腎機能保持や循環動態の安定といった観点から有益な治療法であるが、腹膜透析期間が長期にわたると、中皮細胞の脱落を伴った腹膜線維化や限外濾過不全といった腹膜の形態学的・機能的変化が惹起されることが知られている。近年の報告で、腹膜透析患者の腹膜組織における血管数の増加が腹膜線維化の進展及び限外濾過不全に強く関与している可能性が示唆されている。これらの背景より、血管新生の抑制が、腹膜の線維化進展抑制や腹膜機能障害に保護的にはたらくものと期待される。今回我々は、血管新生阻害作用や抗線維化作用を有するとされるサリドマイドをマウス腹膜線維症モデルに投与し、腹膜線維化進展並びに機能変化への効果を検討した。

対象と方法

8週齢雄のICRマウスに、0.1%クロルヘキシジン・グルコネート (CG)/15%エタノール液、10mL/kgを腹腔内に週3回、3週間投与し、腹膜線維症モデルを作成した。このモデルマウスに、メチルセルロースを経口で週5回、3週間投与した群をCG群とした。一方、メチルセルロースで溶解したサリドマイド (10mg/kg) を経口で週5回、3週間投与した群をCG+サリドマイド群とした。また、15%エタノール液10mL/kgを腹腔内に週3回、3週間隔日投与し、メチルセルロースを経口で週5回、3週間投与した群をコントロール群とした。

CG 投与開始から 21 日目に腹膜機能検査を行った後、血液並びに壁側腹膜組織を採取した。

腹膜の形態的变化、特に中皮下腹膜組織の肥厚の程度はヘマトキシリン・エオジン染色で評価し、その程度は画像解析装置を用いて定量化した。血管内皮細胞のマーカーとして CD31、細胞増殖のマーカーとして proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、vascular endothelial growth factor (VEGF)、myofibroblasts のマーカーとして α -smooth muscle actin (α -SMA)、type III collagen、transforming growth factor- β (TGF- β) の発現を免疫組織化学的手法で検討した。アポトーシスは、terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) 法にて検討した。各免疫組織化学染色での陽性細胞数並びに TUNEL 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、その平均陽性細胞数を各群間で比較した。腹膜機能検査は、2.5% ブドウ糖含有腹膜透析液を 8ml 腹腔内投与し、60 分後のクレアチニン透析液/血漿濃度比を測定することで腹膜透過性を検討した。

結 果

コントロール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、正常マウスとの変化は認めなかった。一方、CG 群では中皮下腹膜組織は顕著に肥厚し、CG + サリドマイド群では CG 群と比較してその肥厚の程度は有意に抑制された。また、サリドマイド投与群の肥厚部位における CD31、PCNA、VEGF、 α -SMA、TGF- β 陽性細胞数は、CG 群と比較してそれぞれ有意に減少した。Type III collagen 染色における陽性領域も CG 群と比較して CG + サリドマイド群では有意に減少した。TUNEL 陽性細胞数は、両群間で有意差を認めなかった。腹膜機能検査では、CG + サリドマイド群では CG 群と比較し、腹膜透過性の亢進は抑制された。

考 察

本研究により、マウス腹膜線維症モデルにおけるサリドマイドの腹膜線維化抑制効果が明らかとなった。その機序として、腫瘍性疾患などの病態で内皮細胞の増殖や血管透過性、血管新生に重要な役割を果たしているとされる VEGF の発現及び、コラーゲン産生細胞である線維芽細胞の増殖や細胞外基質の産生亢進並びに分解抑制に関与しているとされる TGF- β の発現が、サリドマイド投与により抑制されたことが本モデルでの血管新生抑制や線維化抑制効果につながったと考えられた。一方、本研究におけるサリドマイドのアポトーシス誘導の可能性について TUNEL 法で検討したが、CG 群と CG + サリドマイド群間とに有意差を認めなかったことから、サリドマイドの線維化抑制機序におけるアポトーシスの関与は否定的であった。更に重要な点として、サリドマイドは線維化進展に伴う腹膜機能透過性亢進にも保護的に作用したが、これは血管新生抑制による効果が主体と考えられた。

以上より、サリドマイドは血管新生や主に線維芽細胞の増殖を抑制することで、腹膜線維化の進展を抑制したと考えられた。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。