

# 北村 峰昭 論文内容の要旨

主 論 文

Epigallocatechin gallate suppresses peritoneal fibrosis in mice.  
(エピガロカテキンガレートはマウス腹膜線維症を抑制する)

Mineaki Kitamura, MD., Tomoya Nishino, MD., PhD., Yoko Obata, MD., PhD.,  
Akira Furusu, MD., PhD., Yoshitaka Hishikawa, MD., PhD., Takehiko Koji, PhD.,  
Shigeru Kohno, MD., PhD.

(Chem Biol Interact. 2012;195(1):95-104)

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

日本の透析患者数は増加の一途をたどり現在約 30 万人にのぼるが、そのうち腹膜透析療法を受けている患者は 1 万人程度である。腹膜透析療法の普及を妨げる理由として、長期間の腹膜透析に伴い腹膜の形態学的変化と機能低下が惹起され、腹膜線維症や予後不良の被嚢性腹膜硬化症をきたすことがあげられる。これらの変化は、腹膜透析液中のメチルグリオキサール (MGO) などの糖代謝産物が advanced glycation end products (AGEs) を形成し、receptor for AGEs (RAGE) を介して NF- $\kappa$ B を活性化し炎症と血管新生を引き起こすことが一因とされている。

近年、茶カテキンの一種のエピガロカテキンガレート (EGCG) が NF- $\kappa$ B を抑制し抗炎症作用や血管新生抑制効果を有することが示されているが、腹膜線維化に対する効果は検証されていない。今回我々は EGCG をマウス MGO 腹膜線維症モデルに投与し、腹膜線維化抑制効果について検討した。

## 対象と方法

10 週齢雄の C57/BL6 マウスを以下の 4 群に分けた。①MGO 含有腹膜透析液を腹腔内投与し、生理食塩水を皮下投与した群 (MGO 群)、②MGO 含有腹膜透析液投与し、生理食塩水に溶解した EGCG を皮下投与した群 (EGCG 群)、③腹膜透析液を投与し、生理食塩水を皮下投与した群 (PD 群)、④腹膜透析液を投与し、EGCG を投与した群 (PD+EGCG 群) MGO は 2.5%ブドウ糖液含有腹膜透析液に 40 mM となるよう調製し 2.5 ml を週 5 回投与した。EGCG は生理食塩水に溶解し 50 mg/kg/day を連日投与した。3 週後に採取した壁側腹膜を 4%パラホルムアルデヒドで固定し、パラフィン包埋後 4  $\mu$ m の切片標本作製した。腹膜線維化の評価は、マッソントリクロム染色を行い顕微鏡倍率 200 倍で無作為に 10 視野選択し、腹膜肥厚長を画像解析ソフトにて

計測した。

さらに AGEs の一種である carboxymethyl lysine (CML)、RAGE、筋線維芽細胞のマーカーである  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)、形質転換を誘導する transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )、酸化ストレスに関して 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)、血管内皮のマーカーである CD31、血管新生に関して vascular endothelial growth factor (VEGF)、マクロファージのマーカーの F4/80 とその浸潤に関与する monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の発現を免疫組織化学的に検討した。NF- $\kappa$ B の活性化についてはサウスウェスタン組織化学法にて評価した。各染色での陽性細胞数は顕微鏡倍率 200 倍で無作為に 10 視野を数え、平均陽性細胞数を各群間で比較した。

## 結 果

中皮下結合組織において MGO 群では CML の沈着を認め、腹膜線維症患者と同様に AGEs が存在することを確認し、同部位に RAGE の発現も認めた。一方 PD 群では、CML の沈着や RAGE の発現はほとんど認めなかった。PD 群と比較し、MGO 群では有意な腹膜の肥厚を認めた。また、CD31 陽性血管、VEGF 陽性細胞、F4/80 陽性マクロファージ、MCP-1 陽性細胞数の有意な増加を認めた。さらに、 $\alpha$ -SMA 陽性筋線維芽細胞、TGF- $\beta$  陽性細胞、8-OHdG 陽性細胞も有意な増加を認め、NF- $\kappa$ B の活性化も認めた。一方、MGO 群と比較し EGCG 群ではこれらの変化は有意に抑制されていた。なお、PD 群と PD+EGCG 群では有意な差を認めなかった。

## 考 察

腹膜透析患者と同様に、腹膜に AGEs の沈着を認めるマウス腹膜線維症モデルを確立した。腹膜透析に伴う腹膜線維化の機序を考慮すると、これまでの主流であったクロルヘキシジングルコネート投与モデルよりも、本 MGO モデルは実際の腹膜線維症に類似していると考えられる。

また本研究により、マウス腹膜線維症モデルにおける EGCG の腹膜線維化抑制効果が明らかとなった。主な機序として、EGCG が NF- $\kappa$ B を抑制することで血管新生と炎症を抑制したと考えられた。血管新生や炎症の抑制により、局所へのマクロファージの浸潤が抑制されマクロファージに由来する TGF- $\beta$  が抑制される。TGF- $\beta$  は腹膜中皮細胞や線維芽細胞からコラーゲン産生能を持つ筋線維芽細胞への分化を誘導することが知られており、結果的に腹膜の線維化が抑制されたと考えられた。また上記の経路とは別に酸化ストレスも抑制されており、EGCG の持つ抗酸化作用も腹膜線維化抑制に関与したと考えられた。

以上の結果より、EGCG は腹膜線維症に対する有効な治療の一つとなりうることを示唆された。