

透析膜の酸化ストレスマーカーと NK 細胞活性に及ぼす影響

吉川雪子 清水礼二 林 幹純

埼玉協同病院

key words : 酸化ストレス, ビタミン E, NK 細胞活性, ビタミン E 固定化ダイアライザー

要 旨

生体には癌細胞やウイルスなどが体内で発生すると排除する免疫機能があり、特に NK 細胞は第一防衛手段を担う細胞として注目されているが、活性酸素により酸化損傷を受け NK 細胞の活性化が低下してしまうことから、透析患者の悪性腫瘍発生率の高さと免疫力低下による易感染性への関与が考えられる。ビタミン E は抗酸化物質の一つであり、ビタミン E 固定化ダイアライザーの使用によって酸化ストレスマーカーが低下することは報告されている。ビタミン E 固定化ダイアライザーに変更群（以下 1 群）7 名と、ビタミン E 固定化ダイアライザーから他の膜に変更群（以下 2 群）7 名で 2 年間使用し、8-OHdG (8-hydroxydeoxyguanosine), NK 細胞活性, two-colore CD 16 × CD 56, CRP を透析膜変更前, 変更後 6 カ月, 1 年, 1 年半, 2 年で測定し透析膜の影響を観察した。8-OHdG は 1 群では 1 年後の値でダイアライザー変更前と比較し有意に低下した。また 1 年半後では変更後 6 カ月と比較して有意に低下した。変更後 2 年後では変更前・6 カ月後・1 年後・1 年半後すべてと比較して優位に低下した。2 群では 1 年後と比較し 1 年半後において有意な上昇が見られた。NK 細胞活性は 1 群, 2 群共に低下しているが後述する CRP の上昇と関与しているのかは不明である。また 6 カ月後で大きく低下したがそれ以外は大きな変化は見られなかった。

NK 細胞の数そのものを表す CD 16(+) CD 56(+) は大きな変化が見られなかった。CRP も有意差こそ検出されなかったが 6 カ月後に上昇した。1 年前の研究結果では検査結果が 9 カ月と短かかったために季節変動の関与が検討できなかったが、2 年間の研究で季節変動との関与はあまりないと予想された。ビタミン E 固定化膜は DNA 酸化障害を抑え、免疫細胞である NK 細胞に影響を与えるものと思われる。

緒 言

透析患者は free radical の過剰産生および抗酸化能の低下により酸化ストレスが亢進した状態にあり、それが透析患者における合併症発症の一因であることが示唆される。本来生体は癌細胞やウイルスを排除する免疫機能があるが、健常者の悪性腫瘍発生率と比べ透析患者は 2~4 倍高いと言われている。原因として細胞性免疫機能の低下が指摘されている。

活性酸素により酸化損傷を受け NK 細胞の活性化が低下する事から、透析患者の悪性腫瘍発生率の高さと免疫力低下による易感染性への関与が考えられる。そこで透析膜の酸化ストレスマーカーと NK 細胞活性への影響を検討した。

1 対象・方法

安定維持透析患者 14 名で、従来膜からビタミン E 固定化ダイアライザーへの変更群（以下 1 群）7 名と、

ビタミンE固定化ダイアライザーから他の膜への変更群（以下2群）7名で2年間使用し、8-OHdG, NK細胞活性, two-colore CD16×CD56, CRPを透析膜変更前, 変更後6カ月, 1年, 1年半, 2年で測定し透析膜の影響を観察した。対象患者は表1参照。

血液サンプルは透析前に採取しNK測定にはクローム51遊離法, CD測定にはフローサイトメトリー法を利用し, 8-OHdG測定にはELISA法を用いた。また透析液中のエンドトキシン濃度は3カ月おきに採取し1EU/L以下であることを確認した。透析条件（時間, 血流量, ヘパリン等）は原則として変更せず, 現在喫煙中の患者は喫煙によって酸化ストレスが増加するといった報告があるため対象から除いた。また感染症陽性の患者については, 肝炎発症時に酸化ストレスが上昇しているということにより対象から除いた。検査実施前に睡眠時間, 健康食品（サプリメント）など活性酸素に影響を及ぼす要因を調査し, 3カ月おきに再調査して日常生活の変化がないか調べた。変化があるときは記録した。成績はすべてmean±SDで表示

表1 対象患者

	1群		2群	
	DM	non-DM	DM	non-DM
患者総数	7		7	
性別 (M:F)	5:2		3:4	
患者数	6	1	3	4
平均年齢	70.2歳	69歳	75.3歳	72.5歳
平均透析歴	5年2カ月	4年8カ月	4年3カ月	6年2カ月

し, 統計解析はpaired t-testで検討した。いずれも危険率5%未満をもって統計学的に有意と見なした。

2 結果

1) 8-OHdG

1群は1年後でダイアライザー変更前と比較し有意に低下した。また1年半後は変更後6カ月と比較して有意に低下した。変更後2年後は変更前・6カ月後・1年後・1年半後すべてと比較して優位に低下した。

2群は1年後と比較し1年半後で有意な上昇が見られた。図1参照。

2) NK細胞活性

1群は6カ月後で変更前と比較して優位に低下した。1年後は変更後6カ月と比較して優位に上昇した。1年半後は6カ月後と比較して優位に上昇した。

2群は6カ月後で変更前と比較して有意に低下した。1年後は6カ月後と比較し有意に上昇した。1年半後は6カ月後と比較し有意に上昇した。図2参照。

3) リンパ球表面マーカー (CD16(+) CD56(+))

1群, 2群共に有意な変化は見られなかった。図3参照。

4) CRP

1群, 2群共に有意な変化は見られなかった。図4参照。

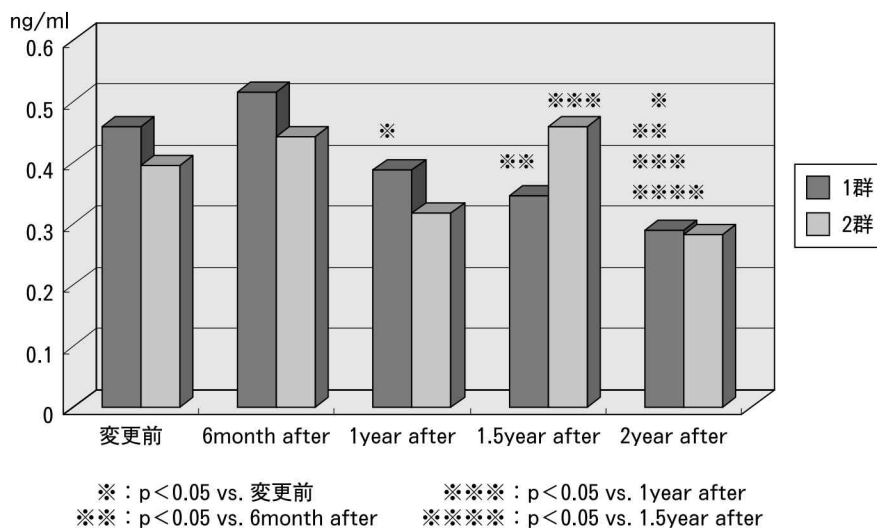


図1 8-OHdG

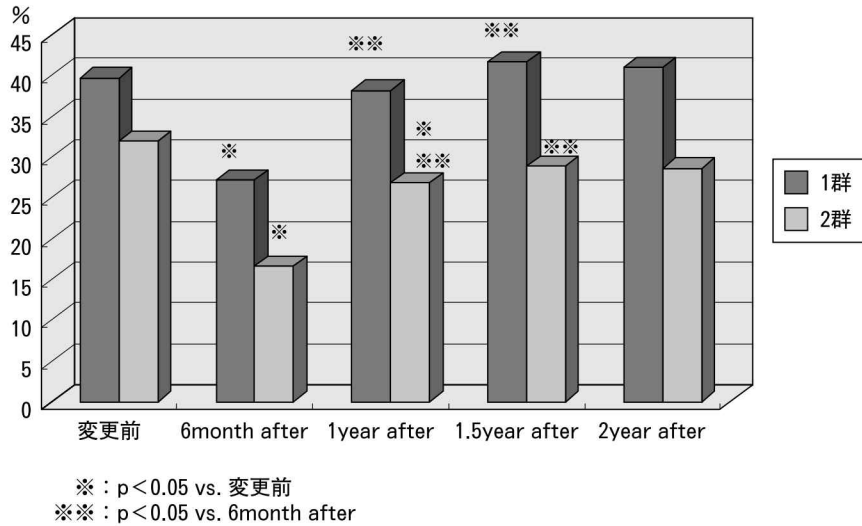


図2 NK細胞活性

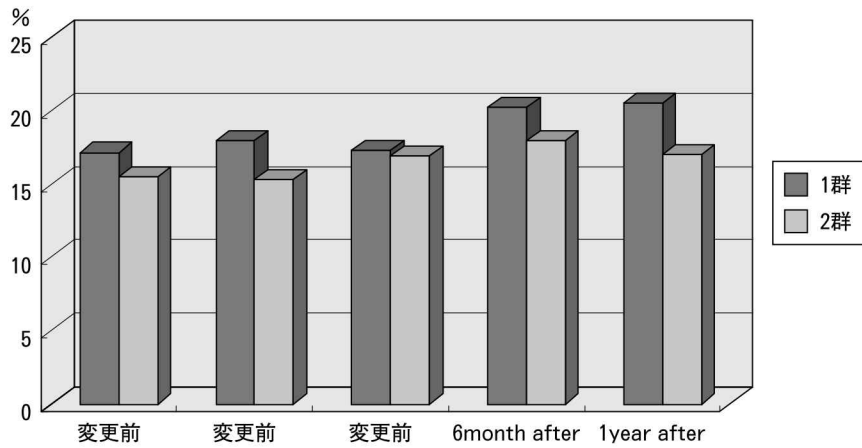


図3 リンパ球表面マーカー (CD 16(+) CD 56(+))

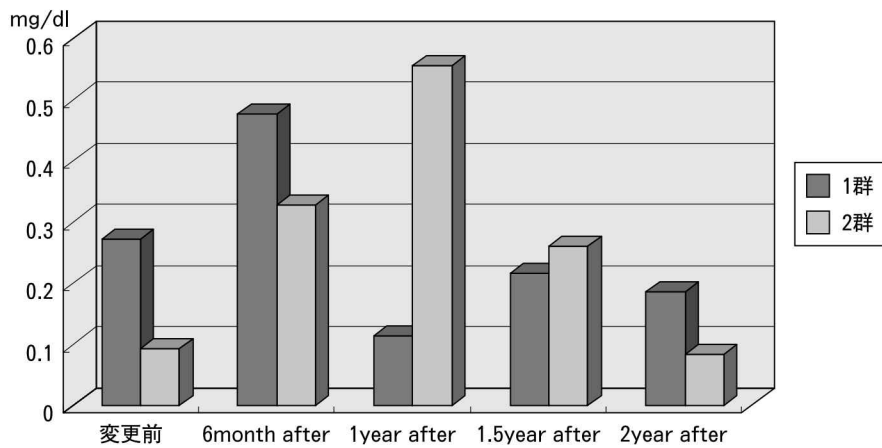


図4 CRP

3 考察

透析患者は活性酸素生成能を有し、また接着性を持つ白血球の体内循環によって絶えず酸化ストレスに暴露されている。ビタミンE固定化ダイアライザーは

ビタミンEを膜に固定化した物であり、透析中に産生されたラジカルを消去し抗酸化能を発揮すると推測され、透析患者の酸化ストレスを軽減しうる。DNAの酸化的障害のマーカーである8-OHdGが、従来膜からビタミンE固定化ダイアライザーに変更群で低

下したことは、DNA 酸化的障害が軽減したものと考えられる。

NK細胞活性は6カ月後で1群、2群共に大きく低下したがそれ以外は大きな変化は見られなかった。後述するCRPの上昇と関与があるのかは不明である。NK細胞の数そのものを表すCD16(+) CD56(+)は大きな変化は見られなかった。CRPも有意差こそ検出されなかったが6カ月後に上昇した。1年前の研究結果では、検査結果が9カ月と短かったために季節変動の関与が検討できなかったが、2年間の研究で季節変動との関与はあまりないと予想された。

今後はこれらのメディエーターだけでなく臨床症状等も観察していきたい。また悪性腫瘍罹患率や感染症罹患率も今後追って行く予定である。

結語

ビタミンE固定化膜は、DNA酸化障害を抑え、免疫細胞であるNK細胞に影響を与えるものと思われる。

文献

- 1) 吉川敏一:別冊・医学のあゆみ 酸化ストレス フリーラジカル医学生物学の最前線; 医歯薬出版, 東京, pp. 29-32, 2001. 同 pp. 108-111.
- 2) 右田俊介, 高橋信弘:別冊・医学のあゆみ CD抗原ハンドブック; 医歯薬出版, 東京, pp. 3-23, 1999.
- 3) 宮田敏男, 稲城玲子, 黒川 清:腎不全合併症とカルボニルストレス. Vitamembrane 透析と活性酸素, 2; 1-11, 2002.
- 4) 青柳一正:腎疾患における活性酸素の増加とその機構. Vitamembrane 透析と活性酸素, 4; 1-8, 2004.
- 5) 佐藤 稔, 山崎康司, 長宅芳男, 他:維持透析患者におけるビタミンE固定化ダイアライザーの抗酸化効果. 腎と透析(別冊 ハイパフォーマンスメンブレン), 47; 168-171, 1999.
- 6) 木下 攝:血液浄化療法ハンドブック; 協同医書出版, 東京, pp. 362-364, 1999. 同 pp. 60-62.
- 7) 佐藤 稔, 山崎康司, 長宅芳男, 他:ビタミン固定化ダイアライザー長期使用による酸化ストレス軽減. Vitamembrane 透析と活性酸素, 2; 21-25, 2002.

(この研究は日本透析医会公募助成(平成18年度)によって行われた。)