

慢性腎臓病における血管石灰化とその調節因子

吉田 理

慶應義塾大学医学部血液浄化・透析センター

key words : 慢性腎臓病, 血管石灰化, リン, 慢性炎症

要 旨

慢性腎臓病における血管石灰化は、生命予後を左右する重要な合併症である。腎不全病態における高リン血症は血管平滑筋細胞を骨様細胞に形質変換させることで石灰化を進行させることが知られているが、慢性炎症に伴う NF- κ B 経路の持続的活性化も病態に関与している可能性がある。今回、我々は、血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスとコントロールマウスのそれぞれに、腎不全病態を誘導して血管石灰化の状態を検討した。大動脈の石灰化を検討したところ、コントロールマウスでは腎不全状態かつ高リン食給餌時に石灰化が認められた。一方で、血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスでは、コントロールマウスと比較して石灰化が減弱していた。この結果は、平滑筋細胞における NF- κ B 経路の活性化がリンと協調して石灰化に関与することを示している。現在、その詳細なメカニズムを検討中である。

1 目 的

糖尿病、高血圧といった生活習慣病に罹患する患者数の増加に伴い、慢性腎臓病患者も年々増加している。「心腎連関」あるいは「Cardio-Renal Anemia 症候群」といった病態で表現されるように、慢性腎臓病においては心血管合併症の発症率が有意に高いことが知られている。特に、血管石灰化病変の形成・進展は患者の生命予後を左右する重要な合併症であり、解決すべき

課題である。

慢性腎臓病における血管石灰化病変はメンケベルグ型と呼ばれ、中膜に存在する血管平滑筋層を中心とした石灰化像を呈する¹⁾。これまでの研究によって、慢性腎臓病に伴う高リン血症が、石灰化病変の形成・進展に重要な役割を果たすことが判明している。高リン刺激が血管平滑筋細胞を骨様の細胞に形質変換することで石灰化を進行させる。分子レベルで見ると、平滑筋細胞では高リン刺激によって、SM α -actin, SM22 α といった平滑筋分化マーカーの発現が低下し、代わりに Runx2, osteopontin, alkaline phosphatase といった骨分化マーカーの発現が誘導される。我々もこれらの変化を培養血管平滑筋細胞および慢性腎不全モデルラットで確認しており、転写因子 KLF4 がこれらの変化に関与することを報告している²⁾。しかし、高リン血症は末期腎不全にきわめて近い、高度に腎機能の低下した状態でようやく認められる³⁾。疫学的に、慢性腎臓病の早期段階から血管石灰化病変および心血管合併症が有意に多く認められる点を考慮すると、高リン血症以外の因子も病変形成に強く関与していることが推察される。

近年、我々は NF- κ B 経路に注目している。慢性腎臓病では高サイトカイン血症を示し、血清中の interleukin-1 β や tumor necrosis factor- α が高値を示すことが知られている⁴⁾。これらの高サイトカイン血症は、NF- κ B 経路の持続的活性化を誘導し、血管に慢性炎症をもたらす可能性がある。そのような慢性炎症による

ストレス応答が血管平滑筋細胞の形質変換にも寄与し、石灰化に関与している可能性を考えた。

最近、我々は細胞特異的に NF- κ B 経路を抑制することが可能なマウスを作成した^{5,6}。例えば、このマウスを利用して血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスを作成すると、血管傷害に対して新生内膜形成が減少するという結果が得られた⁵。これは、内膜肥厚型動脈硬化に対して、NF- κ B が重要な役割を果たすということを示唆している。また、線維芽細胞特異的に NF- κ B 経路を抑制したマウスでは、一側尿管結紮による水腎症モデルにおいて、腎臓の線維化が有意に抑制された⁶。これらの結果は、細胞特異的な NF- κ B 抑制マウスを用いることで、NF- κ B の疾患への関与を解析できることを示している。

今回、我々は、血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスに慢性腎不全を引き起こした場合、コントロールマウスと比較して、大動脈における血管石灰化がどのように変化するかを検討することとした。通常のマウスは血管石灰化に抵抗性を示すために、マウスのバックグラウンドを C57BL/6 から DBA/2 に変更することで検討を行った。

2 方法

血管平滑筋細胞特異的に Cre recombinase を発現するマウスと、Cre-LoxP システムにより NF- κ B を持続的に抑制可能な I κ B Δ N を過剰発現するマウスのそれぞれを、8 世代以上のバッククロスによって、遺伝的背景を C57BL/6 から DBA/2 に変更した。変更後、それらを交配することで、血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスを作製した。同腹の陰性マウスをコントロールマウスとした。血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスとコントロールマウスのそれぞれに、慢性腎不全を誘導した。誘導から 10 週間後にマウスを屠殺し、血管の石灰化を検討した。

3 結果と考察

コントロールマウスにおいて腎不全を引き起こさない場合、血管石灰化を認めなかった。腎不全状態にしても血管石灰化を認めなかった。また、高リン食を給餌しても血管石灰化を認めなかったが、腎不全状態にして高リン食を与えると血管石灰化が生じた。一方、

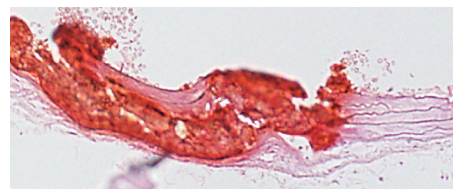


図 1 高リン食を給餌した腎不全マウスにおける血管石灰化像
大動脈における Alizerin Red 染色を示す。上が内腔側，下が外膜側。

血管平滑筋細胞特異的 NF- κ B 抑制マウスでは、腎不全かつ高リン食給餌における血管石灰化が減弱するという結果が認められた。

これらの結果は、リンが腎不全病態において、血管石灰化を誘導する重要な因子であることを再確認する結果であるが、同時に NF- κ B による炎症経路がリンの働きを修飾していることを示唆している。現在、血管における平滑筋分化マーカーの発現や骨分化マーカーの発現を検討したり、NF- κ B シグナル伝達経路がどのように石灰化に関与するか、そのメカニズムを動物および培養細胞系を用いて解析中である。

この研究は、平成 25 年度透析医会公募研究助成によって行われた。

文 献

- 1) Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, et al. : Arterial calcification in chronic kidney disease : key roles for calcium and phosphate. *Circ Res* 2011; 109 : 697-711.
- 2) Yoshida T, Yamashita M, Hayashi M : Krüppel-like factor 4 contributes to high phosphate-induced phenotypic switching of vascular smooth muscle cells into osteogenic cells. *J Biol Chem* 2012; 287 : 25706-25714.
- 3) Kuro-o M : Klotho and the aging process. *Korean J Intern Med* 2011; 26 : 113-122.
- 4) Pereira BJ, Shapiro L, King AJ, et al. : Plasma levels of IL-1 β , TNF α and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. *Kidney Int* 1994; 45 : 890-896.
- 5) Yoshida T, Yamashita M, Horimai C, et al. : Smooth muscle-selective inhibition of nuclear factor- κ B attenuates smooth muscle phenotypic switching and neointima formation following vascular injury. *J Am Heart Assoc* 2013; 2 : e000230.
- 6) Inoue T, Takenaka T, Hayashi M, et al. : Fibroblast expression of an I κ B dominant-negative transgene attenuates renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21 : 2047-2052.