

# 腹膜透析に伴う被嚢性腹膜硬化症の病因と 病理学的予知因子の検討

伊藤恭彦\*1 多和田光洋\*1 鈴木康弘\*2 水野正司\*2 川西秀樹\*3

\*1 愛知医科大学腎臓・リウマチ膠原病内科 \*2 名古屋大学大学院医学系研究科腎不全システム治療学講座 \*3 土谷総合病院

key words : 腹膜透析, 被嚢性腹膜硬化症, 血管障害, 腹膜炎

## 要旨

1993年から2016年に施行された、被嚢性腹膜硬化症 (EPS) の癒着剥離術時に採取された223人の腹膜を病理学的に評価した。酸性透析液使用群では中性透析液使用群に比べて有意に血管が障害されており (ratio of lumen diameter to vessel diameter; L/V ratio が低下), 血管数は減少していた。またEPSを再発した群ではL/V ratioが有意に低下していた。EPSの再発リスクの多変量解析ではL/V ratioが再発のリスク因子であることが明らかとなった。一方、中性透析液では血管障害はなく、腹膜炎を伴っている症例が多かった。

## 緒言

被嚢性腹膜硬化症 (Encapsulating Peritoneal sclerosis; EPS) は腹膜透析 (PD) のまれではあるが重篤な合併症であり、難治性の頻回に再発する腸閉塞症状を特徴としている<sup>1,2)</sup>。EPSの発症機序は明らかになっておらず、EPSを予測するバイオマーカーは確立していない<sup>3)</sup>。EPS発症の危険因子として、長期PD治療、腹膜炎、若年、および腎移植などが報告されている<sup>1,4,5)</sup>。さらに、高グルコース、酸性、グルコース分解生成物 (Glucose Degradation products; GDP) などの腹膜透析液の非生体適合性因子に長時間さらされることにより、慢性腹膜劣化が発生する<sup>6)</sup>。Second hit 仮説によると、腹膜透析液の非生体適合性 (First hit) による慢性腹膜劣化の存在する条件で、腹膜炎などの発症因

子 (Second hit) が起こることによって、EPSが発症すると考えられている<sup>7)</sup>。過去に、PDカテーテル抜去時に得られた83の腹膜組織を検討し、血管内皮細胞障害がEPSの発症予測因子であることを報告した<sup>8)</sup>。しかしながら、EPS患者の腹膜の病理学的変化は十分に検討されていない。

本研究は、174人のEPS患者の癒着剥離術に得られた腹膜組織を解析した。病理学的所見の特徴とEPSの発症と再発に関連する要因との関係を検討した。さらに、従来の酸性透析液 (酸性液) と低GDP中性透析液 (中性液) を使用して治療した患者の病理学的な違いを調べた。

## 1 対象・方法

### 1-1 対象

本研究は土谷総合病院倫理委員会 (承認番号E160530-1)、および名古屋大学医学部倫理委員会 (承認番号299-7) の承認を得て行い、インフォームドコンセントは全患者から得た。1993年から2016年の間に土谷総合病院にて施行された初回のEPS癒着剥離術223人の患者のうち、標本作製ができなかった組織、また評価不能であった組織を除外し、174人の壁側腹膜組織を評価した。除外された組織の臨床情報は、解析を行った患者群と差はなかった。また本研究では、EPS癒着剥離術の再手術をEPS再発の定義とした。腹腔内の石灰化の程度はCTで評価し、過去の報告のように三つに分類した。Grade 1 : <50%, Grade 2 : 50~80%, Grade 3 : <80%<sup>9)</sup>。

### 1-2 腹膜組織の処理と免疫組織染色

得られた組織は10%ホルマリンで固定し、パラフィンで包埋した。組織切片は、ヘマトキシリンエオジン(HE)およびマッソントリクローム(MT)染色を行い、CD31およびCD68の免疫染色は、過去に報告されているように施行した<sup>8,10)</sup>。CD31(JC/70A; Dako, Glostrup, Denmark)およびCD68(PGM 1; Dako)に対するマウスモノクローナル抗体を一次抗体として使用した。

### 1-3 腹膜組織検討

得られた223人の腹膜組織のうち、中皮下緻密層の同定が困難であった組織(18人)、石灰化により薄切が困難であった組織(31人)は除外した。その結果、174人の癒着剥離術時の腹膜組織の検討を行った。

過去の報告のように<sup>8)</sup>、新生被膜を除く中皮下緻密層の厚さを5カ所で測定し、その平均を腹膜の厚さとした。血管障害は、外径25~50 $\mu\text{m}$ <sup>11)</sup>のpost capillary venuleにおける管腔直径と血管直径の比(L/V ratio)として評価した。また新生血管ではなく既存の血管を評価するために、L/V ratioの低い5カ所の血管の平均値を使用した。血管数とCD68陽性マクロファージの数は、CD31陽性血管の数/腹膜表面の長さ(mm)、CD68陽性細胞の数/腹膜表面の長さ(mm)としてそれぞれ評価した<sup>6)</sup>。すべての組織は、ScanScope<sup>®</sup> AT Turbo scanner (Leica Biosystems, Nussloch, Germany)、ImageScope software (Leica Biosystems)を使用して評価した。

### 1-4 統計

すべての統計分析は、IBM SPSS Statistics version 25.0 (International Business Machines Corporation, Armonk, NY)を使用した。Shapiro-Wilk検定にて、正規性を評価し、正規分布は平均値 $\pm$ 標準偏差(SD)、非正規分布は中央値と四分位範囲で表した。連続変数の比較はStudent's t-testまたはMann-Whitney U test、カテゴリーデータの検定として、Fisher's exact testを行った。

L/V ratioとEPSの再発との関連を、単変量および多変量Cox比例ハザードモデルを使用して評価した。モデルは、次の交絡因子に対して段階的に調整した。モデル1:未調整、モデル2:腹膜の病理学的所見

(腹膜肥厚、L/V ratio、CD31、CD68)、モデル3:モデル2の共変量と臨床パラメーター(年齢、PD治療期間、EPS発症から手術までの期間)、モデル4:モデル3の共変量とステロイドの使用。共変量の比例ハザードは、Scaled Schoenfeld residualsを用いた。いずれも $P<0.05$ を統計学的有意差ありとした。

## 2 結果

### 2-1 患者背景

174人のEPS患者が初回の癒着剥離術を施行され、そのうち47人が2回目、8人が3回以上の癒着剥離術が施行された。174人の患者のPD治療期間は128.1 $\pm$ 44.1カ月で、初回手術時の年齢は56.0歳(49.0~62.0歳)、41人がEPS発症直前に腹膜炎に罹患していた。EPS発症から手術までの期間は7.4カ月(3.8~15.5カ月)、165人が酸性液で治療され、9人が中性液で治療されていた。120人(69%)にステロイド治療が行われており、47人(27%)がEPSを再発した。1年死亡率は19%、3年死亡率は33%であった。

### 2-2 酸性液と中性液の比較

酸性液はEPSのリスク因子であると報告されている<sup>8,12)</sup>。酸性液165人と中性液9人の比較において、PD治療期間は中性液群よりも酸性液群で有意に長期であった(酸性液132.9カ月(105.4~157.2カ月)、中性液63.1カ月(29.8~83.1カ月)、 $P<0.001$ )。またEPS発症直前に酸性液群20%、中性液群89%で腹膜炎を認めた( $P<0.001$ )。年齢、ステロイド治療の有無、CTによる石灰化評価では両群間に有意差を認めなかった。酸性液群では28%に再発を認めたが、中性液群では再発は1例も認めなかった。

病理学的評価では、L/V ratioによって評価された血管障害は、中性液群よりも酸性液群において有意に強い障害を認めた(酸性液0.00(0.00~0.51)、中性液0.67(0.64~0.78)、 $P<0.001$ )。CD31陽性血管数は中性液群が酸性液群よりも有意に多かった(酸性液12.5(5.7~23.7)、中性液29.0(12.3~56.0)、 $P=0.013$ )。腹膜肥厚とCD68陽性マクロファージにおいては有意差を認めなかった(図1)。

### 2-3 PD治療期間による比較

川西らによる報告では、PD治療期間が8年を超え

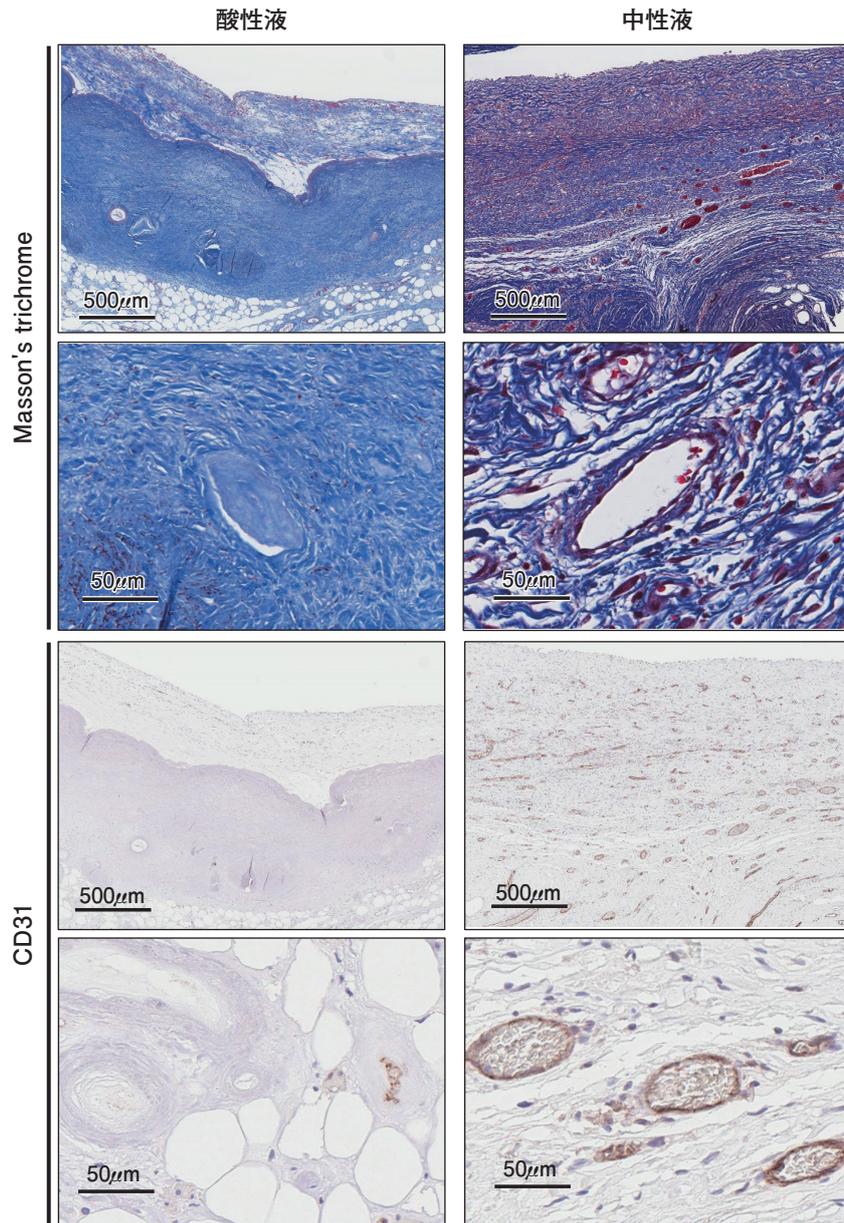


図1 酸性液と中性液のEPS腹膜組織の差異

酸性液ではL/V比低下し血管障害が高度である。一方中性液では血管障害は軽度。

ることが、日本におけるEPS発症の危険因子であった<sup>13)</sup>。それに基づき、PD治療期間が8年を超える長期群 (n=137) と8年未満の短期群 (n=37) の症例を比較した。PD期間は短期群77.1カ月 (48.7~82.2カ月)、長期群142.4カ月 (119.8~162.6カ月)であった。短期群では、直近での腹膜炎が多く (短期群17 (50%)、長期群24 (20%)、 $P=0.001$ )、中性液は全例が短期群であった。年齢、再発の有無、ステロイド治療の有無、CTによる石灰化評価では両群間に有意差を認めなかった。

また病理学的所見では、短期群では血管障害が軽度であり (短期群0.56 (0.10~0.71)、長期群0.00 (0.00~

0.40)、 $P<0.001$ )、血管数が有意に多かった (短期群14.4 (9.3~31.5)、長期群12.3 (5.1~23.4)、 $P=0.020$ )。腹膜肥厚やCD68陽性マクロファージでは有意差を認めなかった。

#### 2-4 PDカテーテル抜去時腹膜組織と EPS腹膜組織の比較

本研究での腹膜癒着剥離術時に採取された腹膜組織と、PD終了後にEPSを発症した患者のPD中止時の腹膜組織 (n=10) を比較検討した。PD治療期間、年齢、透析液では有意差を認めず、病理所見においても腹膜肥厚、血管障害、CD31陽性血管では有意差を

認めなかった。しかしながら CD68 マクロファージは、癒着剥離術時組織のほうに有意に高値であった（抜去時 8.6 (0.6~15.4), 癒着剥離術時 30.2 (13.6~64.8),  $P=0.002$ ).

## 2-5 EPS 再発因子

EPS を再発した 47 人と再発しなかった 127 人を検討した。再発群では非再発群に比べてステロイド治療を受けている患者を多く認めた（再発群 37 (88%), 非再発群 83 (68%),  $P=0.011$ ). PD 治療期間, 年齢, 直近の腹膜炎の有無, CT による石灰化評価では両群間に有意差を認めなかった。病理学的所見では再発群において L/V ratio が有意に低値であった（再発群 0.00 (0.00~0.39), 非再発群 0.04 (0.00~0.64),  $p=0.021$ ).

さらに, 単変量コックス比例ハザードモデルの検討では, L/V ratio は再発と有意に関連があることが明らかとなった (0.1 増加あたり: ハザード比 (HR) = 0.87, 95% CI 0.77~0.97,  $P=0.009$ ). 調整されたモデル (Model 2~4) においても, L/V ratio と再発の間の関連性を認めた (0.1 増加あたり, Model 1: HR = 0.85, 95% CI 0.74~0.96,  $P=0.008$ , Model 2: HR = 0.84, 95% CI 0.73~0.96,  $P=0.008$ , および Model 3: HR = 0.85, 95% CI: 0.74~0.98,  $P=0.030$ ).

## 3 考察

EPS の発症率は 0.4~3.3% と報告されており<sup>1,13~15</sup>), 症例数が少ないため大規模な検討はできず, 十分な病理学的検討は行われていなかった。いままでに EPS 病理の特徴としてフィブリン沈着や血管新生, リンパ管新生等が報告されているが<sup>7,16,17</sup>), 臨床情報との相関は検討されてこなかった。

今回の検討において, 中性液群は酸性液群よりも EPS 症例ははるかに少なかった。また中性液群では直前に腹膜炎の既往があり, 腹膜炎と EPS の関連を認めた。PD 期間が短いにもかかわらず重度の腹膜炎により EPS を発症する症例や, 明らかな Second hit がないにもかかわらず EPS を発症した症例も報告されている<sup>18,19</sup>). そのため EPS には, さまざまな要因によって誘発される可能性があるため, 病理学的 EPS 所見を臨床要因で区別して検討することが重要である。酸性液群のほとんどの症例で重度の血管障害を認めた

が, 血管新生は顕著ではなかった。血管障害は, 酸性液における終末糖化産物 (advanced glycation end-products; AGEs) の蓄積によって誘発される可能性がある<sup>20,21</sup>).

我々は酸性液 ( $n=54$ ) および中性液 ( $n=73$ ) による長期 PD 治療後の腹膜組織を検討し報告している。その結果, 酸性液群では有意に腹膜が肥厚しており, 血管障害が重度であった<sup>10</sup>). また, カテーテル抜去時の腹膜組織の病理学的検討から EPS 発症を予測する因子を探索した<sup>8</sup>). EPS の予測因子として, 血管障害が酸性液で治療された患者における最も重要な予測因子であることが明らかとなった<sup>8</sup>). これらのことから, 酸性液による長期 PD 治療によって引き起こされる血管内皮細胞障害が血管透過性を亢進し, 血漿成分の漏出, フィブリン滲出, そして新生被膜を生じ EPS に至ることが推測された<sup>7,8</sup>).

本研究では透析液により EPS に至る要因が異なっていた。より高度の血管障害を伴う長期 PD 治療は, 酸性液使用群においては EPS 進展への重要な要素である。また EPS の再発症例ではより血管障害が高度であるため, 血管障害の進行が EPS 再発の重要な要因であることを示唆している。対照的に, 血管内皮細胞が保たれている中性液使用群では再発の症例は見られなかった。これらは, 中性低 GDP 透析液の使用と腹膜炎の予防が EPS の予防に役立つ可能性があることを示している。

血管数の増加は, 腹膜透過性の亢進と関連していると考えられており<sup>6</sup>), VEGF-A の腹膜での発現は, EPS 患者で上昇していることが報告されている<sup>22</sup>). 本田らは, 腹膜の毛細血管密度は, 酸性液で治療された患者では増加せず, 対照的に中性液使用患者では増加すると報告している<sup>23</sup>). また, カテーテル抜去時腹膜組織, EPS の癒着剥離術時のどちらにおいても, 中性液群では酸性液群に比べて CD31 陽性血管が多く, 血管障害は軽度であった<sup>10</sup>). 酸性液群では, 血管内皮細胞の障害が, グライコカリックスと NO の減少により, 血漿およびフィブリンの滲出につながると考えられる<sup>24~26</sup>). 対照的に, 中性液群では, EPS はほとんどが腹膜炎と関連していた。この場合, 血漿およびフィブリンの滲出は, 腹膜炎による炎症により生じる。したがって, 血管数ではなく, 血管内皮障害が EPS の発症と再発のさいにより重要な役割を果たすと考えられる。

ステロイド療法はEPSの一般的な治療法であるが、その効果については議論の余地がある<sup>5,27,28)</sup>。本研究では、全体の69%がステロイド療法を受けていた。EPSの予防または治療におけるステロイド治療の効果は明らかではなかった。

本研究の限界は、これは後ろ向きの観察研究であり、患者はすべて日本人であったため、遺伝的傾向は評価できなかった。第二に、中性液群ではEPS発症予防のために、PD治療期間を8年未満にすることが推奨されたため<sup>29)</sup>、酸性液群に比し短くなっていた。よって、酸性液群と同等期間治療を受けた患者の病理所見の比較は不可能であった。さらに、透過性が亢進した患者では早期に離脱する傾向がある。したがって、中性液群の治療期間は、酸性液群よりも有意に短かった。中性液への変更後、EPSの発生率は著しく低下した。これは、中性液群のEPS発症数が少ないことに関連しており、日本でのEPS調査と一致している<sup>12)</sup>。酸性液群と比較して、中性液群では病理学的所見においてEPSの再発因子は見いだせなかった。ただし、この研究コホートには、中性液群のEPS症例が少数しか含まれていなかった。したがって、これらの調査結果を確認するにはさらなる研究が必要である。

第三に、酸性液群、中性液群は同じ時期ではないため、EPS発症に影響を与える臨床因子を反映している可能性がある。第四に、石灰化により組織を薄切できない場合を除外した。ただし、除外された症例の臨床的特徴は評価した群と比較して差は認められなかった。第五に、EPSを発症した患者の一部は1985年以前にPDを開始したため、一部の症例は臨床情報を欠いていた。第六に、本研究では成人PD患者を分析したため、これらのデータを子供のEPSと比較することは困難である。

#### 4 結論

EPS手術時に採取された腹膜組織の比較による本研究では、EPS発症の病理学的所見が酸性液と中性液で異なることが示唆された。血管障害は、長期の酸性液で治療された患者のEPSの発症に重要な役割を果たしている。高度の血管障害は、EPSの再発の危険因子であるが、対照的に、中性液を使用している患者の間では、腹膜炎による癒着プロセスがEPSの発症における重要な要因である可能性がある。

平成28年度日本透析医会公募研究助成により得られた成果は、原著論文として現在投稿中であり、二重投稿となることを避けるため本報告書では、投稿中の図、表を割愛しその概要を総論的に記載した。

本論に関しての利益相反はない。

#### 文 献

- 1) Johnson DW, Cho Y, Livingston BE, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis : incidence, predictors, and outcomes. *Kidney Int* 2010; 77(10) : 904-912.
- 2) Kawaguchi Y, Kawanishi H, Mujais S, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis : definition, etiology, diagnosis, and treatment. *International Society for Peritoneal Dialysis Ad Hoc Committee on Ultrafiltration Management in Peritoneal Dialysis. Perit Dial Int* 2000; 20(Suppl 4) : S43-55.
- 3) Korte MR, Sampimon DE, Betjes MG, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis : the state of affairs. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7(9) : 528-538.
- 4) Korte MR, Sampimon DE, Lingsma HF, et al. : Risk factors associated with encapsulating peritoneal sclerosis in Dutch EPS study. *Perit Dial Int* 2011; 31(3) : 269-278.
- 5) Balasubramaniam G, Brown EA, Davenport A, et al. : The Pan-Thames EPS study : treatment and outcomes of encapsulating peritoneal sclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(10) : 3209-3215.
- 6) Devuyst O, Margetts PJ, Topley N : The pathophysiology of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(7) : 1077-1085.
- 7) Honda K, Oda H : Pathology of encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int* 2005; 25(Suppl 4) : S19-29.
- 8) Tawada M, Ito Y, Hamada C, et al. : Vascular Endothelial Cell Injury Is an Important Factor in the Development of Encapsulating Peritoneal Sclerosis in Long-Term Peritoneal Dialysis Patients. *PLoS One* 2016; 11(4) : e0154644.
- 9) Kawanishi H, Banshodani M, Yamashita M, et al. : Surgical Treatment for Encapsulating Peritoneal Sclerosis : 24 Years' Experience. *Perit Dial Int* 2019; 39(2) : 169-174.
- 10) Tawada M, Hamada C, Suzuki Y, et al. : Effects of long-term treatment with low-GDP, pH-neutral solutions on peritoneal membranes in peritoneal dialysis patients. *Clin Exp Nephrol* 2019; 23(5) : 689-699.
- 11) Williams JD, Craig KJ, Topley N, et al. : Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(2) : 470-479.
- 12) Nakayama M, Miyazaki M, Honda K, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis in the era of a multi-disciplinary approach based on biocompatible solutions : the NEXT-PD study. *Perit Dial Int* 2014; 34(7) : 766-774.

- 13) Kawanishi H, Kawaguchi Y, Fukui H, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis in Japan : a prospective, controlled, multi-center study. *Am J Kidney Dis* 2004; 44(4) : 729-737.
- 14) Kawanishi H, Long-Term Peritoneal Dialysis Study G : Encapsulating peritoneal sclerosis in Japan : prospective multi-center controlled study. *Perit Dial Int* 2001; 21(Suppl 3) : S67-71.
- 15) Brown MC, Simpson K, Kerssens JJ, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis in the new millennium : a national cohort study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(7) : 1222-1229.
- 16) Sherif AM, Yoshida H, Maruyama Y, et al. : Comparison between the pathology of encapsulating sclerosis and simple sclerosis of the peritoneal membrane in chronic peritoneal dialysis. *Ther Apher Dial* 2008; 12(1) : 33-41.
- 17) Yaginuma T, Yamamoto I, Yamamoto H, et al. : Increased lymphatic vessels in patients with encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int* 2012; 32(6) : 617-627.
- 18) Gupta S, Woodrow G : Successful treatment of fulminant encapsulating peritoneal sclerosis following fungal peritonitis with tamoxifen. *Clin Nephrol* 2007; 68 (2) :125-129
- 19) De Oleo RR, Villanueva H, Lwin L, et al. : Time Is Not Always the Matter : An Instance of Encapsulating Peritoneal Sclerosis Developing in a Patient on Peritoneal Dialysis for a Short Term. *Adv Perit Dial* 2016; 32 : 19-21.
- 20) Nakayama M, Kawaguchi Y, Yamada K, et al. : Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end-products in the peritoneum and its possible pathophysiological role in CAPD. *Kidney Int* 1997; 51(1) : 182-186.
- 21) Honda K, Nitta K, Horita S, et al. : Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultra-filtration. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(6) : 1541-1549.
- 22) Abrahams AC, Habib SM, Dendooven A, et al. : Patients with encapsulating peritoneal sclerosis have increased peritoneal expression of connective tissue growth factor (CCN2), transforming growth factor-beta1, and vascular endothelial growth factor. *PLoS One* 2014; 9(11) : e112050.
- 23) Kawanishi K, Honda K, Tsukada M, et al. : Neutral solution low in glucose degradation products is associated with less peritoneal fibrosis and vascular sclerosis in patients receiving peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2013; 33(3) : 242-251.
- 24) Flessner MF : Endothelial glycocalyx and the peritoneal barrier. *Perit Dial Int* 2008; 28(1) : 6-12.
- 25) Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG : The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *J Cell Sci* 2008; 121(Pt 13) : 2115-2122.
- 26) Predescu D, Predescu S, Shimizu J, et al. : Constitutive eNOS-derived nitric oxide is a determinant of endothelial junctional integrity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 289(3) : L371-381.
- 27) Brown EA, Bargman J, van Biesen W, et al. : Length of Time on Peritoneal Dialysis and Encapsulating Peritoneal Sclerosis - Position Paper for ISPD : 2017 Update. *Perit Dial Int* 2017; 37(4) : 362-374.
- 28) Danford CJ, Lin SC, Smith MP, et al. : Encapsulating peritoneal sclerosis. *World J Gastroenterol* 2018; 24(28) : 3101-3111.
- 29) Kawaguchi Y, Saito A, Kawanishi H, et al. : Recommendations on the management of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan, 2005 : diagnosis, predictive markers, treatment, and preventive measures. *Perit Dial Int* 2005; 25(Suppl 4) : S83-95.