

## 厚生労働科学研究委託費

( 障害者対策総合研究事業 ( 障害者対策総合研究開発事業 ( 身体・知的等障害分野 ) ) )  
「 腎臓機能障害者に対する安全で効果的な腹膜透析法の開発等に関する研究 」

### PD患者における安全な透析液の検討

研究分担者 中山昌明 福島県立医科大学・腎臓高血圧・糖尿病内分泌代謝内科学講座  
研究協力者 朱 万君 福島県立医科大学・腎臓高血圧・糖尿病内分泌代謝内科学講座

#### 【要旨】

腹膜透析(PD)治療に伴う腹膜障害の最初のステップとなるのが中皮細胞障害である。PD患者における生体適合性の高い安全な透析液を検討する目的で、現行のPD透析液による腹膜中皮細胞への影響を調べた。ラット腹腔内に現行の透析液を10日間投与、中皮細胞の形態変化を比較したところ、無処理コントロールの中皮細胞と比較して、PD透析液投与群ではいずれも中皮細胞の立方化等の形態変化が観察された。しかし、その程度は透析液の種類により違い、酸性乳酸液で著明だったのに対し、乳酸中性化液で軽度、さらに乳酸・重炭酸中性化液やイコデキストリン液ではさらにその程度は低かった。一方、乳酸中性透析液ではサイトケラチン、サイトカイン等の生理的因子のmRNA発現が低下していた。以上、現行のPD液では中皮細胞障害性は抑制され、安全性は増していると言えるが、今後の課題として、中皮細胞の持つ生理的機能の保全といった観点からも透析液の安全性を検討する必要があると考えられた。

#### A. 研究目的

研究の背景：在宅型の腎代替療法である腹膜透析(PD)は、末期腎不全患者の社会復帰やQoL維持などの面で多くの利点がある。しかしながら、本邦におけるPDの普及は透析患者全体の3.6%にとどまっている。この理由 - 特に医学的理由として挙げられるのが、PD治療の合併症である細菌性腹膜炎や被嚢性腹膜硬化症(EPS)である。これらの基本的な病態には、PD透析液の生体非適合性が関わっていることが指摘されている。腹膜炎は腹腔局所の感染防御機能を担う腹膜中皮細胞の生理的機能の低下が危険因子となっている。一方、EPSでは中皮細胞の上皮間質細胞形質転換(Epithelial-Mesenchymal transformation : EMT)と細胞脱落によって惹起される腸管癒着がその基本病態となっている。したがって、これらの合併症制圧のためには、腹膜中皮細胞の障害を最小

限とする生体適合性の高い透析液が求められる。本邦においては2014年に、生体適合性の向上が期待される重炭酸を用いた透析液や中性化イコデキストリン液が上市された。しかし、これらと現在標準液として使用されている乳酸中性化透析液との比較したデータは無い。

研究の目的：本研究では、現行の各種PD透析液の中皮細胞に対する影響を比較し、生体適合性が高い安全な透析液を検討することを目的とする。

#### B. 研究方法

現行透析液の生体適合性に関する検討

SDラット(正常腎機能)を対象とする。現行透析液(※)20mLを10日間に亘り一日1回腹腔内投与する。その後、壁側腹膜組織を採取。壁側腹膜のマッソン染色組織標本を作製し形態観察を行う。トリプシン処理にて壁側腹膜から中

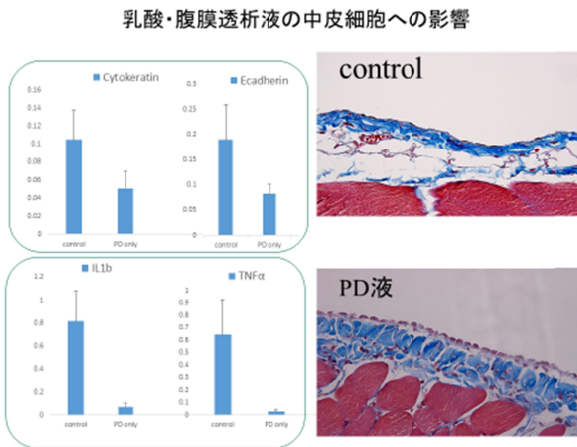
皮細胞を採取、フローサイトメトリーで形態観察、さらに細胞核酸抽出し各種遺伝子発現を検討する。

\*対象 PD 透析液

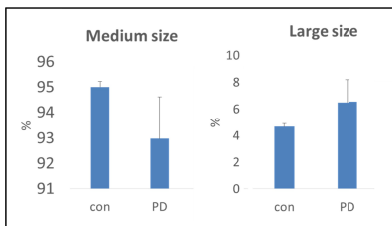
- 乳酸中性化液 (2.5%グルコース(G))
- 乳酸酸性液 (4.25%G)
- 乳酸・重炭酸中性化液 (2.5%G)
- 酸性イコデキストリン液
- 中性化イコデキストリン液

C. 研究結果

下図：腹膜組織と中皮細胞 mRNA 発現 (コントロール群と乳酸中性液群の比較)



下図：中皮細胞サイズ：フローサイトメトリーによる解析 (コントロール群と乳酸中性液群の比較)



● 腹膜中皮細胞の細胞形態変化への影響

(各 6 ~ 9 匹の平均所見を示す)  
 コントロール群 (無処理群) との比較：  
 乳酸中性化液：立方化 + + , 脱落 +  
 乳酸酸性液：立方体 + + 扁平化 + 凝集 + 脱落 + +

乳酸・重炭酸中性化液：立方化 +/- 脱落 +/-  
 酸性イコデキストリン液：立方化 +/- 脱落 +  
 中性化イコデキストリン液：立方化 +/- 脱落 +

● 回収細胞の形態フローサイトメトリー (乳酸中性液)

コントロールに比較して、乳酸中性化透析液群では、細胞面積が拡大している比率が増加する傾向が認められた。

● 回収細胞の mRNA 発現 (乳酸中性液)

コントロールに比較して、乳酸中性液では、コラーゲン I、フィブロネクチンの発現が増強、TGF、VEGF、Snail は著変なかった。一方、サイトケラチン、E-カドヘリン、インターロイキン 1、TNF は有意に低下していた。

D. 考察

本研究は現行の PD 透析液の生体適合性を評価することを目的にしたものである。ラット腹腔内に 10 日間透析液を投与、壁側腹膜を採取し中皮細胞の形態と各種因子の発現を検討した。形態変化として、無処理のコントロール群と比較し透析液投与群では中皮細胞の立方化が観察された。フローサイトメトリーの検討でも、乳酸透析液で細胞面積が増大する傾向が確認されたのは、この変化を反映するものと考えられた。しかし、この程度は透析液の種類によって異なり、乳酸・重炭酸透析液、イコデキストリン液では比較的軽度であった。一方、高濃度 G の乳酸酸性液では、中皮の立方化に加えて、細胞の凝集、脱落が確認され中皮障害が顕著であった。以上の結果から、乳酸、酸性、高濃度 G は中皮細胞障害に対する危険因子となることが考えられた。

現行の標準液である乳酸中性化透析液の群を対象に、中皮細胞の mRNA の発現を検討した。無処理群と比較して、サイトケラチン、E-カドヘリン発現が低下しており、上皮細胞の特性が変化している可能性が考えられた。しかし、Snail 発現に増加は認められなかったことから、この病態に

は EMT とは別の機序が関わる可能性が想定された。中皮細胞の機能として、局所免疫能がある。この指標としてサイトカインの発現を見た。透析液群ではインターロイキン 1、TNF は著明に低下しており、生理的機能の低下、障害が惹起されていること示唆された。

本邦においては、2004 年以降、乳酸中性化透析液が標準的な透析液として使用されている。最近の検討で、乳酸中性化透析液の導入後、腹膜組織障害が抑制され、EPS 発症頻度が低下していることが確認されている。しかしその一方で、PD の早期離脱に関しては改善傾向がなく、その理由として PD 関連腹膜炎が関与している(Nakayama M, et al. Perit Dial Int 2014;34:766-774.)。これらの報告は、腹膜硬化抑制に対する乳酸中性化透析液の有効性を示している。本検討でも、酸性液では中皮細胞障害は顕著であったのに対し、酸性液と乳酸中性化液とでは、中皮細胞障害は前者で著明だったことは、これを支持するものと考えられる。一方、PD 関連腹膜炎が依然として大きな問題である事実は、現行透析液により腹膜の局所免疫能などの生理的機能が阻害されている可能性を示すものと考えられる。事実、本検討でも、乳酸中性化透析液で中皮細胞のサイトカイン mRNA 発現が低下していた。2015 年から上市された乳酸・重炭酸透析液、中性イコデキストリン液がこれにどのような影響があるのか、検討する必要があると考えられる。

#### E. 結論

現行の標準 PD 液（乳酸中性化透析液）では中皮細胞障害性は抑制されているが、生理的機能の保全においては課題がある。

乳酸・重炭酸液や中性化イコデキストリン液がこれにどのような影響があるのかは重要な検討課題である。

#### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし