

論文内容要旨

報告番号	甲 栄 第 300 号	氏名	亀井 優輝
題 目	Humoral and Cellular Factors Inhibit Phosphate-Induced Vascular Calcification during the Growth Period (液性因子および細胞性因子が成長期におけるリン誘導性の血管石灰化を抑制する)		
<p>高リン血症は、慢性腎臓病（CKD）患者における心血管疾患および死亡に関わる独立したリスク因子である。細胞外リン濃度の上昇は、直接的に血管平滑筋細胞に作用して血管石灰化を誘導することが知られているが、その詳細なメカニズムは不明である。また、高リン血症の是正のために用いられるリン吸着薬やリン制限食は、アドヒアランスの低さが課題であり、血管石灰化に対する新たな治療法の開発が求められている。血清リン濃度はライフステージによって大きく異なり、その濃度は骨形成が活発な乳児期に最も高い。乳幼児～幼児期における血中リン濃度(4～7 mg/dL)は、末期のCKD患者における高リン血症(5～10 mg/dL)に匹敵する濃度であるにも関わらず、これらの成長期には血管石灰化が生じない。本研究では、成長期におけるリン誘導性の血管石灰化に対する防御メカニズムについて、マウスを用いて液性因子と細胞性因子の2つの観点から検討を行った。</p> <p>液性因子による血管石灰化の抑制機構を調べるために、成長期(3週齢)および成熟期(9～10ヶ月齢)の雄性C57BL/Jマウスから血清を採取した。各血清に対して過飽和なリン酸カルシウムを加えてインキュベートし石灰化傾向を経時的に測定した結果、成長期の血清は成熟期の血清と比較して石灰化傾向が低いことが明らかになった。成長期における血清の石灰化傾向の低さの原因を調べるために、血漿中に含まれる石灰化の抑制因子を比較したところ、予想に反して血漿中のピロリン酸濃度は成熟期と比較して成長期で有意な低値を示した。これは肝臓でのピロリン酸産生が低いためではなく、ピロリン酸を無機リン酸へと分解する組織非特異的アルカリホスファターゼ(TNAP)の大腿骨におけるmRNA発現が高く、血中TNAP活性が高いためと考えられた。一方で、別の石灰化抑制因子であるFetuin-Aについては、血中濃度および肝臓でのmRNA発現が成熟期と比較して成長期で有意に高いことが明らかになった。続いて、細胞性因子による血管石灰化の抑制機構を調べるため、成長期(3週齢)および成熟期(9～10ヶ月齢)の雄性C57BL/Jマウスから胸部大動脈を採取した。細胞外リン濃度の増加による影響を比較するため、採取した大動脈を<i>in vitro</i>にて高リン濃度(5 mM)で8日間培養したところ、成熟期の血管では顕著な石灰化染色像およびカルシウム沈着が確認されたが、成長期の血管では石灰化は生じていなかった。培養後の大動脈におけるmRNA発現を調べたところ、成熟期ではTNAPおよび炎症性サイトカインの一つであるインターロイキン-6の発現がコントロール群と比較して高リン群で有意に上昇していたが、成長期ではこれらの変化は認められなかった。TNAPの阻害剤であるレバミソールを添加すると成熟期の血管石灰化が抑制されたことから、成長期の血管においてTNAPの発現が上昇しないことが血管石灰化の抑制に重要であると考えられた。</p> <p>以上より、成長期には血中Fetuin-A濃度の高値という液性因子と、血管におけるTNAPの抑制という細胞性因子の少なくとも2つの石灰化の抑制メカニズムが存在している可能性が示唆された。</p>			

報告番号	甲 栄 第 300 号	氏名	亀井 優輝
審査委員	主査 瀬川 博子 副査 酒井 徹 副査 馬渡 一論		
題目	Humoral and Cellular Factors Inhibit Phosphate-Induced Vascular Calcification during the Growth Period (液性因子および細胞性因子が成長期におけるリン誘導性の血管石灰化を抑制する)		
著者	Yuki Kamei, Yosuke Okumura, Yuichiro Adachi, Yuki Mori, Maiko Sakai, Kohta Ohnishi, Hirokazu Ohminami, Masashi Masuda, Hisami Yamanaka-Okumura & Yutaka Taketani		
	令和 5 年 2 月 24 日 Journal of Clinical Biochemistry and Nutritionに受理済		
要旨	<p>本研究は、慢性腎臓病(CKD)でみられる血管石灰化の新たな予防・治療法の開発を目指すために、成長期には成熟期よりも血清リン濃度が高いにもかかわらず血管石灰化が生じないことに着目し、成長期に血管石灰化を抑制する因子を検討したものである。高リン血症は、CKD患者における心血管疾患および死亡に関わる独立したリスク因子である。細胞外リン濃度の上昇は、直接的に血管平滑筋細胞に作用して血管石灰化を誘導することが知られているが、その詳細なメカニズムは不明である。血清リン濃度はライフステージによって大きく異なり、その濃度は骨形成が活発な乳児期に最も高い。乳幼児～幼児期における血中リン濃度(4～7 mg/dL)は、末期のCKD患者における高リン血症(5～10 mg/dL)に匹敵する濃度であるにも関わらず、これらの成長期には血管石灰化が生じない。本研究では、成長期にリン誘導性の血管石灰化に対する抑制因子について、マウスを用いて液性因子と細胞性因子の2つの観点から検討を行った。</p> <p>液性因子による血管石灰化の抑制機構を調べるために、成長期(3週齢)および成熟期(9～10ヶ月齢)の雄性C57BL/6Jマウスから血清を採取した。これらの血清が、リン酸カルシウム結晶形成に及ぼす影響を比較したところ、成長期の血清ではリン酸カルシウム結晶の形成が遅延しており、石灰化を抑制する因子の存在が示唆された。可能性のある因子を探索したところ、石灰化抑制因子の1つである血清Fetuin-A濃度が成長期には有意に高値であり、Fetuin-Aが液性因子の1つであると考えられた。細胞性因子による血管石灰化の抑制機構を調べるため、成長期および成熟期の雄性マウスから胸部大動脈を採取し、器官培養を行い、高リン培地による石灰化を誘導したところ、成長期の血管では石灰化が抑制された。成長期の血管では、組織非特異的アルカリホスファターゼおよびインターロイキン-6の発現が低く、また、アルカリホスファターゼ阻害剤により成熟期の血管の石灰化が抑制されたことから、成長期には組織非特異的アルカリホスファターゼの発現低下が血管石灰化の抑制因子として機能していると考えられた。</p> <p>本研究は、成長期の石灰化抑制機構に着目し、血管石灰化の液性および細胞性の抑制因子を明らかにしたものであり、慢性腎臓病の病態の理解と新たな治療・予防に資する重要な知見が得られたことから、博士(栄養学)の学位授与に値すると判定した。</p>		