

公募助成「CKD（慢性腎臓病）病態研究助成」研究サマリー

研究名	浸透圧刺激による細胞骨格応答が血管石灰化機構と連動するメカニズムの解明
所属機関	九州大学病院 腎・高血圧・脳血管内科
氏名	山田 俊輔
<p>血管石灰化は慢性腎臓病(CKD)患者の重要な合併症で、心血管疾患との発症にも関係しているため、予防法および治療法の開発は急務である。我々は、低ナトリウム(Na)血症や浸透圧の変化が血管石灰化に及ぼす影響を検討するために今回の実験を企画立案した。</p> <p>まず、ヒト由来の培養血管平滑筋細胞(VSMCs)を高リン、高カルシウムを含む石灰化培地で培養し、8日で細胞外マトリックスへの石灰沈着が十分に起こることを確認した。この血管石灰化系において、低Na濃度、正Na濃度、高Na濃度の培地を準備した。これら3つの異なるNa濃度培地にさらに石灰化刺激を負荷すると、細胞外マトリックスへの石灰沈着量は低Na濃度培地で増悪し、逆に高Na濃度培地で軽減された。Na濃度そのものではなく低浸透圧が直接原因である可能性を考慮して、マンニトールでも同様の検討を行い、マンニトールの負荷でも石灰沈着を低減することを確認した。さらに、C57BL/6Jマウス由来の大動脈リングを石灰化培地に曝露し、低Na濃度と高Na濃度の培地で培養した。<i>In vitro</i>の結果と同様、<i>ex vivo</i>においても低Na濃度培地でマウス大動脈リングの石灰化は増悪した。</p> <p>低Na濃度培地が血管石灰化を促進する機序を解明するために培養VSMCsの遺伝子変化を確認した。低Na濃度培地ではVSMCsの骨芽細胞様細胞への形質変化が促進されることが明らかになった。また、低Na濃度ではミトコンドリア機能が障害されてその膜電位が低下し、酸化ストレスが増加することが判明した。さらに、低Na濃度が血管石灰化を促進する背景にある細胞内シグナル伝達を同定するために、RNA-sequencingによって遺伝子発現を網羅的に解析し、Akt経路が重要であることを見出した。しかも、低浸透圧環境はRac1を活性化し、その下流にあるAkt経路を活性化することも見出した。Rac1阻害薬およびAkt経路阻害薬は石灰化を抑制した。加えて、低Na濃度培地は血管石灰化の直接原因と目されるcalciprotein particles (CPPs)の産生および成熟を抑制することも示された。</p> <p>低Na濃度環境をVSMCsが感知する実体として細胞膜に発現するNa-カルシウム(Ca)交換輸送体(NCX1)に着目した。VSMCsにおけるNCX1の発現は低Na濃度培地で低下すること、NCX1阻害薬の投与によって細胞外へのCa流出が抑制されること、血管石灰化が増悪することを確認した。すなわち、血管石灰化にとって重要な細胞内Ca濃度の上昇が低Na濃度によって維持されることが、一連の血管石灰化機構を持続的に活性化する最上流に位置する可能性も示唆された。</p> <p>以上の実験結果から、低Na濃度および低浸透圧環境では血管石灰化が促進されるため、低Na血症を回避しつつ低Na血症を補正するような治療がCKD患者の血管石灰化の進展を抑制するうえで重要である可能性が示唆された。</p>	