

主論文の要旨

**C1 inhibitor mitigates peritoneal injury in
zymosan-induced peritonitis**

〔 C1 インヒビターがザイモザン誘発性腹膜炎の腹膜傷害を軽減する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 腎臓内科学分野

(指導：丸山 彰一 教授)

尾関 俊和

【緒言】

腹膜透析 (PD) 療法を長期的に継続するためには、腹膜の障害とそれに伴う機能障害を解決する必要がある。腹膜障害の原因としては、生体適合性のない PD 液 (PDF) への暴露、腹膜の PDF への長期暴露、PD 関連腹膜炎などが挙げられる。特に真菌性腹膜炎を発症した PD 患者の予後は悪く、致命的な合併症として被嚢性腹膜硬化症 (EPS) を発症する危険性がある。

補体系は自然免疫において重要な役割を果たしており、補体活性化システムは古典的に、微生物や病原性免疫複合体などの異物から宿主を守るために迅速に働く。しかし、ひとたび補体系が過剰に働くと、宿主の様々な組織に予期せぬ炎症が引き起こされることもある。補体系は、腹膜のホメオスタシスを維持することが報告されている。PDF に曝された腹膜では、補体経路の活性化と調節のバランスが変化し、この補体系の調節異常が、動物モデルやヒトにおいて、線維化を伴う腹膜傷害の誘発につながる可能性がある。

PD 関連腹膜炎における補体制御に関して、我々はこれまでに、酵母の細胞壁成分であるザイモザンが、ラットモデルにおいて、補体活性化を伴う重度かつ長期の腹膜傷害を誘発すること、また、補体系の調節障害が EPS の初期段階として腹膜内のフィブリン滲出の過剰な活性化を促進する可能性があることを報告してきた。ここ数十年で、いくつかの抗補体剤が臨床的に使用できるようになり、市販の C1 阻害剤 (C1-INH; C1 エラスターゼ阻害剤、Berinert, CSL Behring, Marburg, Germany) が遺伝性血管性浮腫 (HAE) の治療薬として承認されている。本研究では、ザイモザン/擦過性腹膜炎のラットモデルにおいて、C1-INH の腹膜傷害予防効果を調べた。

【方法】

0 日目にラットの腹膜を擦過した後、ザイモザン懸濁液を腹腔内に注射し、その後 1 から 4 日目にかけてザイモザンと PDF を連日注入しザイモザン/擦過性腹膜炎モデルを作成、5 日目に腹膜組織を採取し評価した。C1-INH 25 単位の 1 日 1 回腹腔内投与を行う群 (第 2 群) および 1 日 2 回腹腔内投与を行う群 (第 3 群)、等張食塩水のみを投与する群 (第 1 群) に分け効果を検討した。

【結果】

組織所見において、C1-INH 投与群 (第 2 群および第 3 群) では、腹膜の厚さが対照群 (第 1 群) と比較して有意に減少した。腹膜における炎症細胞の浸潤を調べたところ、好中球とマクロファージ (CD68 陽性細胞) は、C1-INH 投与群 (第 2 群および第 3 群) では、対照群 (第 1 群) に比べて有意に減少していた (Fig 1 A-H)。マクロファージの浸潤を評価したところ、iNOS 陽性の M1 マクロファージは、C1-INH 投与群 (第 2 群および第 3 群) では、対照群 (第 1 群) に比べて有意に抑制された (Fig 1 I-L)。一方、CD163 陽性の M2 マクロファージの数は、1 群、2 群、3 群ともに変化がなかった (Fig 1 M-P)。

腹膜中皮の損傷を HBME-1 染色で評価したところ、腹膜の陽性領域には 3 群間で有

意な差はみられなかったが、C1-INH 投与群(第 2 群、第 3 群)では、対照群(第 1 群)と比較して、腹膜中皮細胞が維持される傾向にあった(Fig 2 A-E)。腹膜上のフィブリノゲンの沈着と PTAH によるフィブリン層の評価においては、C1-INH 投与の第 2 群と第 3 群では第 1 群に比べて有意に抑制されていたが(Fig 2 F-O)、腹膜の線維化を Masson's trichrome と Picrosirius red の両染色法で評価したところ、群間で違いは認められなかった(Fig 2 P-Y)。

腹膜における補体活性化産物について、C3 の沈着は、C1-INH を投与した群(第 2 群および第 3 群)では、対照群(第 1 群)に比べて有意に減少した(Fig 3 K-O)。一方、C5b-9 の沈着量は、第 2 群と第 3 群では第 1 群に比べて有意ではないものの減少傾向がみられた(Fig 3 P-T)。C1q と C4 の沈着量は各群間で有意な差はなかったが、C4 の沈着量は第 2 群と第 3 群で減少する傾向にあった(Fig 3 A-J)。

【考察】

本研究では、臨床で利用可能な抗補体剤である C1-INH が、C3 や C5b-9 などの補体活性化産物の沈着を防ぐことができ、また、腹膜におけるフィブリン層の形成やフィブリノゲンの沈着という点で、腹膜傷害を減弱させることを示した。

ザイモザンは真菌の細胞成分であり、主にオルタナティブ経路(AP)を活性化し、C5 転換酵素として作用する強力なザイモザン-C3bBb 複合体を生成することで生物学的効果を誘発する。しかし、最近、ザイモザンによる補体の活性化は、AP だけでなく、レクチン経路(LP)と古典経路(CP)の両方を介して影響を受けることが報告された。本研究では、モデルラットの腹膜における補体成分の染色では、C3 の強い染色に加えて C4 が弱く、C1q はなかった。このような観点から、ザイモザン/擦過性腹膜炎モデルでは、AP による傷害を中心に、LP による傷害も含めて、腹膜損傷が起こっている可能性がある。C1-INH は、もともとは CP の補体制御剤として発見されたが、C1-INH は LP のマンノース結合レクチン(MBL)-MBL 関連セリンプロテアーゼ(MASP)複合体と直接作用することが報告され、また、MASP に関連したプロファクターD の活性化を抑制することで AP を制御する可能性があること、C3b と結合し、C3b が B 因子と結合することを阻害することで、AP を不活化することができると報告されている。これらの報告は、C1-INH が補体系の 3 つの経路のすべてを制御しうることを示唆している。さらに、C1-INH は、補体系とも関連している、キニン-カリクレイン、線溶系および凝固系を制御するとされており、C1-INH の抗線溶性作用と抗凝固作用の両方が、フィブリノゲンの沈着の減少とフィブリン層の改善に寄与している可能性がある。これらの理由から、C1-INH は腹膜炎に伴う腹膜傷害を予防し、フィブリン形成を抑制するとともに AP、CP、LP を抑制する可能性がある。

【結語】

今回の結果は、C1-INH が補体系の抑制を介して腹膜傷害の進行を抑制する可能性を示唆している。今回使用した C1-INH は市販されており、近い将来、ヒト腹膜炎へ

の応用が期待される。特に真菌性腹膜炎に伴う腹膜傷害を保護し、その結果、EPS への進行を防ぐことが期待される。