

論文内容要旨 (甲)

論文題名 血管平滑筋細胞の石灰化に対する 25-ヒドロキシビタミン D₃ の影響

掲載雑誌名 昭和学会雑誌 第73巻 第6号 2013年12月 掲載予定

内科系内科学 (腎臓内科学分野) 専攻 荒井典子

内容要旨

【背景】慢性腎臓病は、血管石灰化の発症・進展を促進する病態である。動脈硬化は主として内膜にみられる粥状動脈硬化と中膜にみられる血管石灰化に大別される。いずれの病態も心血管病の発症・進展に寄与する。慢性腎臓病においては中膜にみられる血管石灰化が特徴的であり、血管石灰化が促進する背景には、高リン (P) 血症をはじめとするミネラル代謝異常、炎症および酸化ストレスなどの石灰化促進因子の上昇と石灰化抑制機構の障害などが関与している。

血管石灰化は、血管平滑筋細胞 (vascular smooth muscle cell: VSMC) の骨芽細胞様細胞への形質転換という能動的プロセスによって制御される。炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子- α (tumor necrosis factor- α : TNF- α) は血管の石灰化を促進する因子であることが示されている。

ビタミン D は、ミネラル代謝を調節する全身性ホルモンとしての作用のみならず、あらゆる組織に発現しているビタミン D 受容体 (vitamin D receptor: VDR) を介し、局所で様々な生理機能を有している。ビタミン D 代謝が障害された慢性腎臓病患者においては、最大死因が心血管病であり、心血管組織に VDR や 1 α 水酸化酵素 (1 α -hydroxylase) が存在していることから、慢性腎臓病患者の生命予後とビタミン D 代謝異常の間に密接な関連性が示唆されている。また、VDR アクティベーターが保存期も含めて慢性腎臓病患者の生命予後改善と関連することも示されている。

VDR アクティベーターが高 P および炎症性サイトカインによる血管石灰化を抑制することが明らかにされているが、25-ヒドロキシビタミン D₃ [25(OH)D₃] の血管組織での作用は不明である。今回我々は、25(OH)D₃ の、高 P および TNF- α により惹起される石灰化や細胞増殖などへの役割に着目し、VSMC の形質転換と、ビタミン D 代謝への影響について検討した。

【方法】高 P および TNF- α による VSMC 培養系に 25(OH)D₃ (10⁻⁶~10⁻⁸ M)

を添加し6日間培養した後に、細胞を脱灰させ、カルシウム含量を定量比較した。さらに、Cbfal/Runx2、オステオカルシン (OC)、VDR、 1α -hydroxylase の遺伝子発現を、リアルタイム RT-PCR 法を用いて検討した。

【結果】高 P および TNF- α により VSMC の石灰化は促進し、 $25(\text{OH})\text{D}_3$ は石灰化を抑制した。 $25(\text{OH})\text{D}_3$ により VDR mRNA と 1α -hydroxylase mRNA 発現の上昇や Cbfal/Runx2 mRNA と OC mRNA 発現低下が認められた。

【結語】 $25(\text{OH})\text{D}_3$ は、P および TNF- α により誘導された VSMC の骨芽細胞様細胞への形質転換を抑制し、石灰化に伴い低下した VDR や 1α -hydroxylase の mRNA 発現を回復させる傾向を示した。P および TNF- α 刺激により障害された VSMC 内のビタミン D 代謝系を $25(\text{OH})\text{D}_3$ が調節して、石灰化プロセスを抑制することが示唆された。基質となる $25(\text{OH})\text{D}_3$ が、VSMC 内のビタミン D 代謝を調節して $1,25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 の産生を促進することで、もしくは直接的に VDR を活性化させることにより石灰化抑制作用を発揮し、その石灰化抑制作用には VDR 活性化による抗炎症作用が関与していることが想定された。

キーワード: 血管石灰化、骨芽細胞様細胞、 $25(\text{OH})\text{D}_3$ 、TNF- α 、VDR、 1α -hydroxylase

Abstract: Calcification of vascular smooth muscle cells (VSMC) is a major feature of atherosclerosis. Calcification is associated with the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells. $25(\text{OH})\text{D}_3$ is known to inhibit calcification in VSMC. We investigated the effect of $25(\text{OH})\text{D}_3$ on calcification in VSMC under high phosphate (P) and TNF- α stimulation.

Methods: VSMC were cultured in the presence of P and TNF- α . The effect of $25(\text{OH})\text{D}_3$ on calcification and gene expression was evaluated. Calcification was measured by calcium content. Gene expression was measured by real-time RT-PCR.

Results: High P and TNF- α promoted calcification and the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells. $25(\text{OH})\text{D}_3$ inhibited calcification and the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells.

Conclusion: $25(\text{OH})\text{D}_3$ inhibits calcification and the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells. $25(\text{OH})\text{D}_3$ may regulate the vitamin D metabolic system in VSMC and inhibit calcification.

Keywords: vascular calcification, bone-like cells, $25(\text{OH})\text{D}_3$, TNF- α , VDR, 1α -hydroxylase

Introduction: Calcification of vascular smooth muscle cells (VSMC) is a major feature of atherosclerosis. Calcification is associated with the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells. $25(\text{OH})\text{D}_3$ is known to inhibit calcification in VSMC.

We investigated the effect of $25(\text{OH})\text{D}_3$ on calcification in VSMC under high phosphate (P) and TNF- α stimulation. Calcification was measured by calcium content. Gene expression was measured by real-time RT-PCR.

Results: High P and TNF- α promoted calcification and the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells. $25(\text{OH})\text{D}_3$ inhibited calcification and the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells.

Conclusion: $25(\text{OH})\text{D}_3$ inhibits calcification and the phenotypic transition of VSMC to bone-like cells. $25(\text{OH})\text{D}_3$ may regulate the vitamin D metabolic system in VSMC and inhibit calcification.

Keywords: vascular calcification, bone-like cells, $25(\text{OH})\text{D}_3$, TNF- α , VDR, 1α -hydroxylase