

論文の内容の要旨

論文題目

「二次性副甲状腺機能亢進症の副甲状腺細胞における、シナカルセト塩酸塩による
アポトーシス誘導に関する組織学的、細胞学的研究」

学位申請者 巽 亮子

キーワード： アポトーシス、シナカルセト塩酸塩、CYP27B1、
二次性副甲状腺機能亢進症、CKD-MBD

慢性腎臓病（CKD）患者にみられる骨ミネラル代謝異常は、それに伴う血管石灰化が引き金となり心血管疾患の原因となって生命予後に大きく影響することが強く認識されている。そのためこの病態に対してCKD患者の全身疾患として捉えたChronic kidney disease-Mineral bone disorder（CKD-MBD）という概念が提唱されている。CKD-MBDにおける中心的な疾患である二次性副甲状腺機能亢進症（SHPT）には、様々な治療が行われている。日本で2006年より新たにCa感受容体作動薬、シナカルセト塩酸塩（シナカルセト）がSHPT治療薬として採用となった。多くの研究において、シナカルセトがSHPT患者の血清Ca、P、PTH濃度を低下させることが示されている。さらに、近年の報告では、シナカルセトによる腫大副甲状腺の縮小も報告されており、シナカルセトが副甲状腺過形成を改善させうることを示唆された。しかしながら、腫大副甲状腺の縮小の詳細なメカニズムは解明されておらず、副甲状腺細胞にアポトーシスが誘導されるか否かは明らかでない。

そこで、本研究では、SHPT患者の副甲状腺細胞において、シナカルセトによるアポトーシスの誘導が生じるか否かを検討することを目的に、患者より摘出した副甲状腺細胞について、組織学的、細胞学的変化を、シナカルセト投与群、非投与群で比較検討した。さらに、摘出副甲状腺の培養細胞を用いて、シナカルセトの直接的な細胞死への影響も検討した。

まず、副甲状腺摘出術を施行し摘出した副甲状腺細胞について、TUNEL染色陽性細胞率およびKi67染色陽性細胞率をシナカルセト投与群とシナカルセト非投与群で比較した。この結果、TUNEL染色陽性細胞率、Ki67染色陽性細胞率ともにシナカルセト投与群で有意に高い結果となった。

次に、培養したヒト副甲状腺細胞を用いて、シナカルセト存在下でのアポトーシスの誘導について検討した。この結果、シナカルセトを培地に含まないコントロールと比較して、シナカルセト含有培地で培養された副甲状腺培養細胞におけるTUNEL染色陽性細胞の割合は、時間依存的、用量依存的に増加を認めた。さらに、培地にシナカルセトを添加して培養された副甲状腺培養細胞において、添加6、12、24、48、72時間後の副甲状腺細胞RNAを回収し、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(qRT-PCR)を用いて、それぞれの内因性 β -actinに対するcaspase-3mRNAの相対量を比較した。この結果、添加後12時間以降では、シナカルセトを培地に添加した副甲状腺培養細胞において、シナカルセトを培地に添加していないコントロールと比較しcaspase-3 mRNAが有意に高く発現した。

さらに、シナカルセトにより副甲状腺培養細胞の25 - ヒドロキシビタミンD-1 α -ヒドロキシラーゼ (CYP27B1) の発現を増加させるという最近の報告を受け、我々は、SHPTを有する患者から摘出した副甲状腺組織を用いqRT-PCRを行い、CYP27B1活性を調べた。グリセルアルデヒド3 - リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) mRNA に対するCYP27B1 mRNAの相対量を、シナカルセト投与群およびシナカルセト非投与群で比較したところ、シナカルセト非投与群のものと比較して、シナカルセト投与群の摘出副甲状腺におけるCYP27B1発現は3倍の結果となった。

以上の結果より、シナカルセトにより副甲状腺細胞のアポトーシスが誘導されることを示した。さらに、副甲状腺細胞のCYP27B1発現がシナカルセト投与群の患者で促進されているという結果を得た。これらの結果は、二次性副甲状腺機能亢進症の治療薬であるシナカルセトについて新たな可能性を提示するものである。しかしながら、本研究の対象となった症例のように、シナカルセトによる治療抵抗性があり甲状腺摘出術を要する程の重症二次性副甲状腺機能亢進症においては、アポトーシスは副甲状腺細胞のより活発な細胞増殖に凌駕されていると考えられた。