

慢性腎臓病における高回転型ならび低回転型骨代謝異常と心・腎・血管の異所性石灰化および線維化に関する検討

Characterization of High and Low Turnover Bone Disease Associated with Chronic Kidney Disease: Study on Ectopic Calcification and Fibrosis in Heart, Kidney and Aortic.

伊藤 哲平 (Teppeï ITO)

Bone mineral metabolism disorders associated with chronic kidney disease (CKD) can be classified into high and low turnover bone disease. We previously showed that the femur in high turnover disease was characterized by a decrease in the number of trabeculae, mineral-to-matrix ratio, carbonate-to-phosphate ratio, and collagen fiber orientation. However, an increase in hydroxyapatite crystallite orientation has been reported to cause a decrease in bone strength under multiple stresses. In this work, rat femurs in both high and low turnover disease associated with CKD were examined using FTIR imaging to characterize and compare bone quality between high and low turnover disease.

【研究背景】

慢性腎臓病(CKD)に伴うミネラル代謝異常(CKD-MBD)はさまざまな臓器障害を引き起こし、心臓や腎臓では異所性石灰化や線維化を発症することがある¹⁾。CKD-MBDには骨代謝が亢進する高回転型と停滞する低回転型が報告されており、いずれも骨折リスクが増大するが、このような骨代謝異常と異所性石灰化、線維化の関連については解明されていない。

これまで我々は、赤外イメージング、ラマンイメージング、同位体顕微鏡によるラットやマウスの生体組織の解析を行い、可視化技術が病態解析に有効であることを示してきた²⁾。

本研究では、CKDに伴う高回転型ならび低回転型骨代謝異常を示すラットを作製し、可視化技術を開発しながら病態組織の解析を行い、骨代謝異常と心・腎・血管の異所性石灰化、線維化の関連について検討することを目的とする。尚、本報告では研究の一部である「骨アパタイトとコラーゲン線維配向性評価法の確立」ならび「慢性腎臓病における高回転型ならび低回転型骨代謝異常が骨アパタイトならびコラーゲン線維配向性に及ぼす影響」について発表する。

【実験動物】

配向性評価法の確立には、SDラット雄(6、12、33週齢)を用いた。CKDモデルには、7週齢のSDラット雄に5/6腎摘出術を施した高回転型(H-CKD)および5/6腎摘出術と副甲状腺摘出術を施した低回転型(L-CKD)を作製し、PとCaの量を調整した飼料を与えながら18週間飼育した。

【実験方法】

安楽死後に各ラットの大腿骨を摘出し、PMMA包埋を施して3 μ mの薄切片にした。石灰化度、炭酸塩含有率、結晶化度、結晶成熟度の評価には赤外イメージング、骨アパタイト結晶とコラーゲン線維配向性の評価には赤外二色性イメージングを用いた。

【結果・考察】

骨アパタイトとコラーゲン線維配向性評価法の確立

リン酸バンドは 7 成分に波形分離した³⁾。各成分について吸光度角度依存性を調べた結果、1110 cm⁻¹ に認められた低結晶性アパタイトのバンドは、amide I バンドと同様な角度依存性を示した(Fig1)。赤外二色性イメージによる低結晶性アパタイトとコラーゲン線維の配向性を調べた結果、週齢に伴い配向性は向上し、コラーゲン線維の配向性がより高いことを認めた。また、各配向性は骨幹端に比べて骨幹が高いことを認めた。一方、他のリン酸バンドは、コラーゲン線維の配向性と一致しなかった。これらの結果から、コラーゲン線維の配向性は低結晶性アパタイトの配向性に支配的であると考えられる。

高回転型ならび低回転型骨代謝異常の骨アパタイトとコラーゲン線維配向性

各 CKD モデルは、生化学検査によりH-CKD ならび L-CKD であることを確認した。骨質解析の結果、石灰化度、結晶化度に有意差は認めないが、炭酸塩含有率は H-CKD ラットにおいて有意に減少した。低結晶性アパタイトの角度依存性を調べた結果、H-CKD、L-CKD 共に骨幹で角度依存性を示した(Fig2)。また、赤外二色性イメージを比較した結果、骨幹端における低結晶性アパタイトとコラーゲン線維の配向性は健常ラットに比べて低下し、その傾向は H-CKD の方が著しいことを認めた。これらの結果から、CKD に伴う骨脆弱性は、骨幹端における低結晶性アパタイトとコラーゲン線維の配向性低下に特徴付けられる。

【結論】

低結晶性アパタイトのバンドと amide I バンドの配向性を比較検討することは、骨質評価法として極めて有効である。CKD に伴う骨脆弱性は、骨幹端における低結晶性アパタイトとコラーゲン線維配向性低下に特徴付けられ、この傾向は H-CKD で著しい。

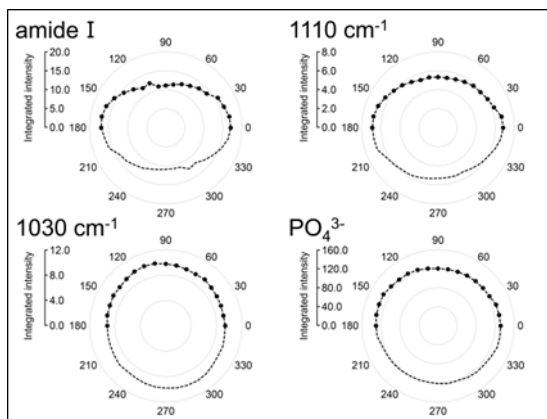


Fig1. Polar plots of max absorbance in FTIR spectrum of 12-week-old rat femur.

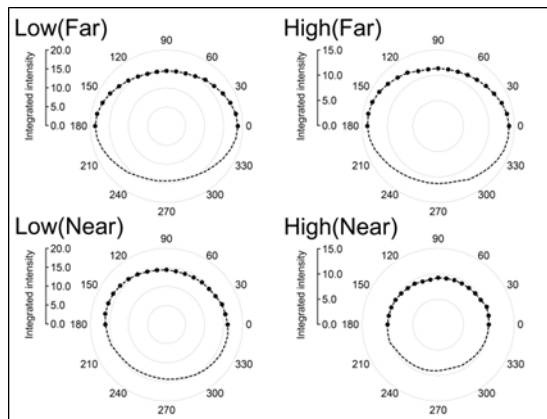


Fig2. Polar plots of absorbance at 1110 cm⁻¹ in FTIR spectrum of H-CKD and L-CKD.

- 1) Young EW, Akiba T, Albert JM, et al. *Kidney Int.*, 67, 1179-1187 (2009)
- 2) Kimura-Suda H, Ito T, Kanazawa K, e-J. *Surf. Sci. Nanotech.* 13, 244-246 (2015)
- 3) Gadaleta, S. et al. *Calcif Tissue Int* (1996) 58:9-16