

## 学 位 論 文 要 旨

研究題目

Iron-induced calcification in human aortic vascular smooth muscle cells through interleukin-24 (IL-24), with/without TNF- $\alpha$

(ヒトの大動脈平滑筋細胞において、TNF- $\alpha$ の有無に関わらず、鉄が IL-24 を介して石灰化を促進する)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学 専攻

器官・代謝制御 系

腎臓病 学 (指導教授 中西 健 )

氏 名

川田 早百合

【背景】慢性腎臓病 (CKD) 患者における中膜石灰化 (メンケベルグ型石灰化) は生命予後を悪化させる重要な合併症の一つである。これまで血管内膜の石灰化 (粥状硬化) についての研究はなされてきたが、メンケベルグ型石灰化のメカニズムはまだ明らかにされていない。動脈硬化巣での鉄の有意な蓄積の報告もあり、我々は鉄代謝と血管中膜石灰化における関連の有無を研究した。

【方法】ヒトの大動脈平滑筋細胞 (HASMCs) を培養し、石灰化培地に変更した時点を day0 とし、鉄 (holo-Tf) と TNF- $\alpha$  をそれぞれ濃度別に加えて計約 3 週間培養し、アリザリン染色で石灰化の程度を確認した。アリザリン染色による石灰化の程度をイメージ J で解析した。石灰化のマーカーとして、鉄と TNF- $\alpha$ 、両方添加それぞれの day1、3 における BMP2 の遺伝子発現量を Realtime PCR で確認した。マイクロアレイの結果を基に、IL-24 の遺伝子発現を Realtime PCR で確認、ELISA で細胞の上清における IL-24 の濃度を測定した。同様の方法で holo-Tf の代わりに rh-IL-24 を負荷してアリザリン染色を行い、イメージ J で石灰化の程度を解析した。rh-IL-24 と TNF- $\alpha$ 、両方添加それぞれの day1、3 における BMP2 の遺伝子発現量を測定した。同様の方法で rh-IL-24 と共に anti-IL-24 を添加してアリザリン染色を施行し、イメージ J で石灰化の程度を解析した。

【結果】ヒトの大動脈平滑筋細胞において、holo-Tf の負荷で濃度依存的に石灰化が増強、TNF- $\alpha$  の負荷で石灰化は亢進、holo-Tf と TNF- $\alpha$  の両方の負荷でさらに石灰化が増強していた。BMP2 の遺伝子発現量は、holo-Tf、TNF- $\alpha$  を負荷したもので増加、両方の負荷でさらに増加していた。マイクロアレイの結果を基に IL-24 の遺伝子発現を Realtime PCR で確認すると、同様に day1、3 では holo-Tf、TNF- $\alpha$  の負荷で増加、その両方の負荷で相乗的に増加していた。日数の経過で IL-24 の遺伝子発現量は更に増加した。細胞の上清中の IL-24 の濃度も、day1、3 共に holo-Tf、TNF- $\alpha$  を負荷すると増加、その両方の負荷で相乗的に増加していた。日数の経過で上清中の IL-24 の濃度は増加した。holo-Tf の代わりに rh-IL-24 を負荷してアリザリン染色を行うと、IL-24 の濃度依存的に石灰化が増強していた。BMP2 の遺伝子発現量は、rh-IL-24、TNF- $\alpha$  を負荷したもので増加、両方の負荷でさらに増加していた。さらに、rh-IL-24 の作用を anti-IL-24 を用いて中和すると、TNF- $\alpha$  添加の有無に関わらず、アリザリン染色で石灰化が抑制された。

【結論】血管中膜石灰化の促進因子の一つとして鉄が挙げられ、そのメカニズムとして IL-24 が関与している可能性が示唆された。