

# 透析膜の酸化ストレスマーカーと NK 細胞活性に及ぼす影響

吉川雪子 清水礼二 林 幹純

埼玉協同病院

key words : 酸化ストレス, NK 細胞, ビタミン E 固定化ダイアライザー

## 要 旨

生体はガン細胞やウイルスなどが体内で発生すると排除する免疫機能があり、特に NK 細胞は第一防衛手段を担う細胞として注目されているが、活性酸素により酸化損傷を受け NK 細胞の活性化が低下してしまうことから、透析患者の悪性腫瘍発生率の高さと免疫力低下による易感染性への関与が考えられる。ビタミン E は抗酸化物質の一つであり、ビタミン E 固定化ダイアライザーの使用によって酸化ストレスマーカーが低下することは報告されている。ビタミン E 固定化ダイアライザーに変更群（以下 1 群）6 名とビタミン E 固定化ダイアライザーからほかの膜に変更群（以下 2 群）6 名で 9 カ月間使用し 8-OHdG (8-hydroxydeoxy guanosine), NK 細胞活性, two-color CD 3×CD 56 を透析膜変更前, 変更後 3, 6, 9 カ月で測定し透析膜の影響を観察した。

8-OHdG は 1 群は 6 カ月後がダイアライザー変更前, 3 カ月後と比較し有意に上昇した。また 9 カ月後は 3 カ月後と比較し有意に低下した。2 群は 3 カ月後と比較し 6 カ月後は有意な上昇が見られた。

NK 細胞活性は 1 群は統計学的に有意な変化は見られなかったが、2 群より NK 細胞活性が維持されている傾向にあった。2 群は 3 カ月後が変更前と比較して有意に上昇した。また 6 カ月後は 3 カ月後と比較し有意に低下した。

CD 3 (−) CD 56 (+) は 1 群は変更前と比較して 6 カ月後, 9 カ月後が有意に上昇した。2 群は変化が見られなかった。

CL-EE 膜は DNA 酸化障害を抑え免疫細胞である NK 細胞に影響を与えるものと思われる。

## 緒 言

透析患者は free radical の過剰産生および抗酸化能の低下により酸化ストレスが亢進した状態にあり、それが透析患者における合併症発症の一因であることが示唆される。本来生体は癌細胞やウイルスを排除する免疫機能があるが、健常者の悪性腫瘍発生率と比べ透析患者は 2~4 倍高いと言われている<sup>6)</sup>。原因として細胞性免疫機能の低下が指摘されている<sup>7)</sup>。

活性酸素により酸化損傷を受け NK 細胞の活性化が低下する事から透析患者の悪性腫瘍発生率の高さと免疫力低下による易感染性への関与が考えられる。そこで透析膜の酸化ストレスマーカーと NK 細胞活性への影響を検討した。

## 1 対象, 方法

安定維持透析患者 12 名で、従来膜からビタミン E 固定化ダイアライザーに変更群（以下 1 群）6 名と、ビタミン E 固定化ダイアライザーからほかの膜に変更群（以下 2 群）6 名で 9 カ月間使用し、8-OHdG, NK 細胞活性, two-color CD 3×CD 56 を透析膜変更

前, 変更後 3, 6, 9 カ月で測定し透析膜の影響を観察した. 対象患者は表 1 参照.

血液サンプルは透析前に採取し, NK 測定にはクローム 51 遊離法, CD 測定にはフローサイトメトリー法を利用し, 8-OHdG 測定には ELISA 法を用いた. また透析液中のエンドトキシン濃度は 3 カ月おきに採取し, 1 EU/L 以下であることを確認した. 透析条件(時間, 血流量, ヘパリン等)は原則として変更せず, 現在喫煙中の患者は喫煙によって酸化ストレスが増加するといった報告があるため対象から除いた. また感染症陽性の患者については, 肝炎発症時に酸化ストレスが上昇しているということにより対象から除いた. 検査実施前に睡眠時間, 健康食品(サプリメント)など活性酸素に影響を及ぼす要因を調査し, 3 カ月おきに再調査して日常生活の変化がないか調べた. 変化があるときは記録した. 成績はすべて mean±SD で表示し, 統計解析は paired t-test で検討した. いずれも危険率 5% 未満をもってを統計学的に有意と見なした.

## 2 結果

### 1) 8-OHdG

1 群は 6 カ月後がダイアライザー変更前, 3 カ月後と比較し有意に上昇した. また 9 カ月後は 3 カ月後と比較し有意に低下した. 2 群は 3 カ月後と比較し 6 カ月後は有意な上昇が見られた. 図 1 参照.

### 2) NK 細胞活性

1 群は統計学的に有意な変化は見られなかったが, 2 群より NK 細胞活性が維持されている傾向にあった. 2 群は 3 カ月後が変更前と比較して有意に上昇した. 6 カ月後は 3 カ月後と比較し有意に低下した. 図 2 参照.

### 3) リンパ球表面マーカー(CD 3 (-) CD 56 (+))

1 群は変更前と比較して 6 カ月後, 9 カ月後が有意に上昇した. 2 群は変化が見られなかった. 図 3 参照.

表 1 対象患者

	1 群		2 群	
患者総数	6		6	
性別 (M:F)	3:3		2:4	
原疾患	DM	non-DM	DM	non-DM
患者数	6	0	3	3
平均年齢	69.6 歳	—	75.3 歳	75.7 歳
平均透析歴	5 年 2 カ月	—	2 年 6 カ月	2 年 6 カ月

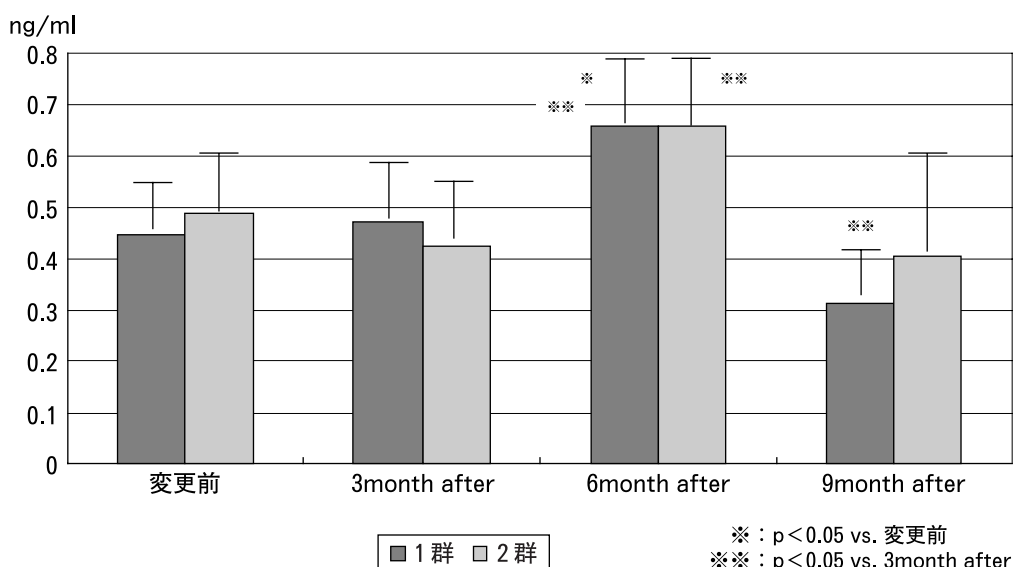


図 1 8-OHdG

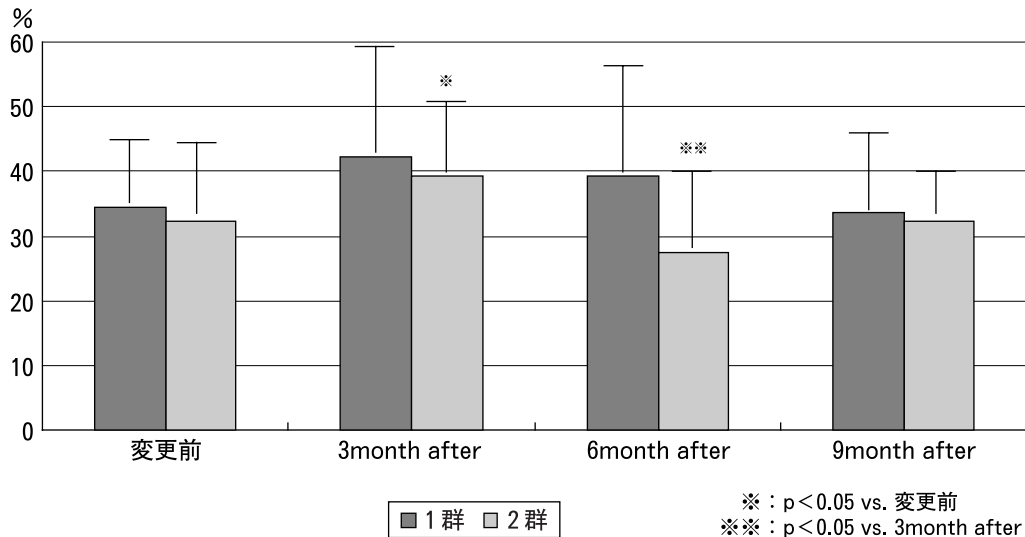


図2 NK細胞活性

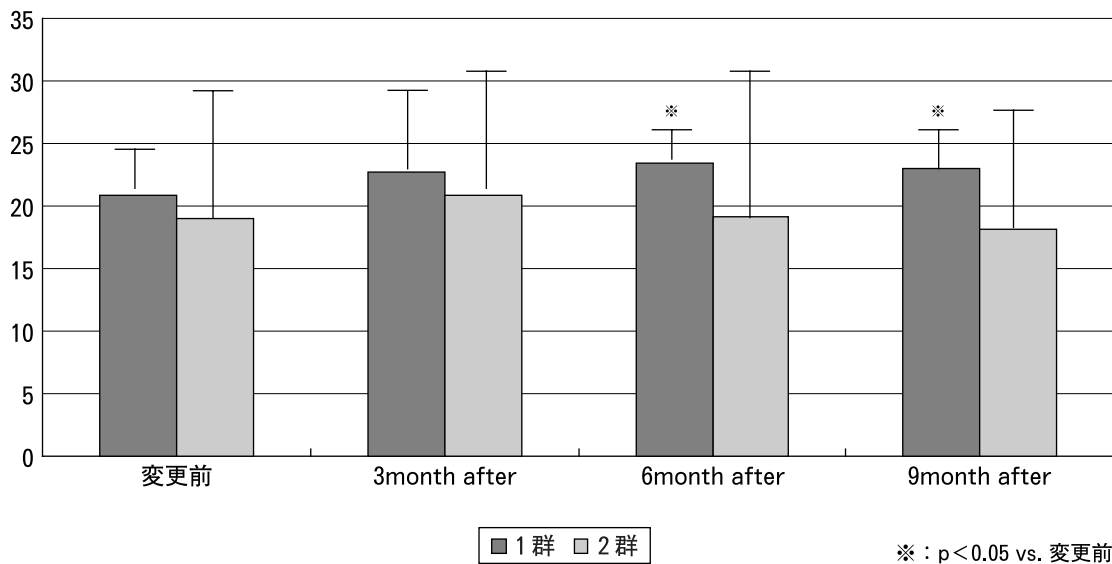


図3 リンパ球表面マーカー CD3 (-) CD56 (+)

### 3 考察

透析患者は活性酸素生成能を有し、また接着性を持つ白血球の体内循環によって絶えず酸化ストレスに暴露されている。CL-EE膜は再生セルロース膜にビタミンEを固定化した物で、透析中に産生されたラジカルを消去し抗酸化能を発揮すると推測され、透析患者の酸化ストレスを軽減する。DNAの酸化的障害のマーカーである8-OHdGが、従来膜からビタミンE固定化ダイアライザーに変更群で低下したことはDNA酸化的障害が軽減したものと考えられるが、6カ月後のデータが両群共に上昇しているのは、季節的な変動によるものなのか、もしくはほかの因子があるのか今後検討して行かなくては把握できないと思われる。

NK細胞活性は従来膜からビタミンE固定化ダイアライザーに変更群が維持されているのに比べ、ビタミンE固定化ダイアライザーからほかの膜に変更群は低下した。NK細胞の数そのものを表すCD3(-)CD56(+)が、従来膜からビタミンE固定化ダイアライザーにおいて上昇したのに比べ、ビタミンE固定化ダイアライザーからほかの膜に変更群では変化が見られなかった。今後はこれらのメディエーターだけでなく臨床症状等も観察していきたい。また悪性腫瘍罹患率や感染症罹患率も今後追って行く予定である。

### 結語

CL-EE膜はDNA酸化障害を抑え免疫細胞であるNK細胞に影響を与えるものと思われる。

この結果は第 50 回日本透析医学会学術集会・総会で発表した。

#### 文 献

- 1) 吉川敏一: 別冊・医学のあゆみ 酸化ストレス フリーラジカル医学生物学の最前線; 医歯薬出版, 東京, pp. 29-32, 2001. 同 pp. 108-111.
  - 2) 右田俊介, 高橋信弘: 別冊・医学のあゆみ CD 抗原ハンドブック; 医歯薬出版, 東京, pp. 3-23, 1999.
  - 3) 宮田敏男, 稲城玲子, 黒川 清: 腎不全合併症とカルボニルストレス. Vitamembrane 透析と活性酸素, 2; 1-11, 2002.
  - 4) 青柳一正: 腎疾患における活性酸素の増加とその機構. Vitamembrane 透析と活性酸素, 4; 1-8, 2004.
  - 5) 佐藤 稔, 山崎康司, 長宅芳男, 他: 維持透析患者におけるビタミン E 固定化ダイアライザーの抗酸化効果. 腎と透析(別冊 ハイパフォーマンスマンブレン), vol. 47; 168-171, 1999.
  - 6) 木下 攝: 血液浄化療法ハンドブック; 協同医書出版, 東京, pp. 362-364, 1999. 同 pp. 60-62.
  - 7) 佐藤 稔, 山崎康司, 長宅芳男, 他: ビタミン E 固定化ダイアライザー長期使用による酸化ストレス軽減. Vitamembrane 透析と活性酸素, 2; 21-25, 2002.
- (この研究は, 日本透析医会公募助成(平成 17 年度)によって行われた.)