

## 腹膜透析が腹膜に及ぼす影響

### Effect of Peritoneal Dialysis on the Peritoneum

大塚知恵, 堀内孝\*, 太田裕治

Chie OHTSUKA, Takashi HORIUCHI\*, and Yuji OHTA

お茶の水女子大学ライフサイエンス専攻, \*東亜大学生命科学科

#### 1. はじめに

腹膜透析は腹腔内に透析液を貯留し、腹膜を介して体内の老廃物や水分を除去する透析法である。腹膜透析のメリットは、血液を体外に出さない為体液の恒常性が保たれる事、血液透析より安価である事、何処でも行える為社会復帰が可能である事等が挙げられる。このように多くのメリットがあるため、特に社会復帰可能な慢性維持透析法として、持続的腹膜透析法 Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD) が取り入れられてきている。

一方、腹膜透析のデメリットには、血液透析に比べ効率が低い事、経カテーテルの腹膜炎の可能性を否定できない事、長期施行すると腹膜が傷害を受ける事等が挙げられる。不可逆的な機能劣化に至る前であれば、一過性の腹膜機能低下は一旦透析を中断し腹膜が修復するのを待つことで対処できる。もとの機能まで回復できれば、透析を再施行する事ができる。また、腹膜の傷害は細菌による感染だけでなく、透析液との接触という不休的な透析操作からも起る可能性がある。本研究の目的は、腹膜の傷害と修復に関する基礎研究を行うことにより、腹膜透析を恒久的治療法にする治療指針を提言することである。本稿では正常な腹膜の組織学と腹膜透析が腹膜に及ぼす影響について述べる。

#### 2. 正常な腹膜

腹膜 peritoneum は腹腔全面を覆う複合膜で、臓器を覆う臓側腹膜 visceral peritoneum と腹壁を覆う壁側腹膜 parietal peritoneum (Fig.1) に

大別される。その構造は基底膜 basement membrane の上に並んだ単層中皮細胞と結合組織である。結合組織中には線維芽細胞 fibroblast, 常在性のマクロファージ macrophage, 肥満細胞 mast cells, 脂肪細胞 lipocyte が含まれる。また、脈管系として血管 blood vessels, リンパ管 lymphatic vessels, 神経束 nerve fibers 等を含む。腹膜は通常とても薄く、大網では  $30-40\mu\text{m}$  で、横隔膜 diaphragm や壁側腹膜ではそれよりもいくらか厚い。



Fig.1 Parietal peritoneum (bar =  $100\mu\text{m}$ )<sup>1)</sup>

##### (1) 中皮層

中皮層は中皮細胞を含み  $2.5-3\mu\text{m}$  の厚さである。中皮細胞は平らで非常に薄い。中皮細胞は長さが約  $30\mu\text{m}$  程度であり、微繊毛で覆われている。殆どの中皮細胞は扁平であるが、形状は部位によって異なる。腸間膜、横隔膜、腹壁の中皮は扁平であるのに対し、卵巣 ovaries や肝臓 liver, 脾臓 spleen のような腹部の臓器を包む中皮細胞は立方体に近い。この中皮細胞の厚さは  $12-15\mu\text{m}$  に達し、細胞質で満たされた細胞小器官 organelles, 多くの微繊毛 microvilli を有するのが特徴である。一方、扁平な中皮細胞の特徴は、核 nucleus の部分が盛り上がっている事、細胞質 cytoplasm と細胞小器官は殆ど無い事、そしてま

ばらに微絨毛があるという事である。

## (2) 微絨毛 microvilli

中皮細胞上の微絨毛の直径は約  $0.1\mu\text{m}$  長さ約  $2\mu\text{m}$  で、複雑に枝分かれしている。微絨毛の中の細胞質には (アクチンと考えられる) 極細のフィラメント filaments が入っている。このフィラメントは微絨毛の縦軸に平行に配置している。既に述べたように微絨毛は臓側腹膜の中皮細胞に多く生えており (Fig.2), 一方, 壁側腹膜と横隔膜を覆う腹膜には生えていない (Fig.3)。臓側腹膜中皮細胞の微絨毛の密度は, 膀胱 bladder で  $230\text{本}/\mu\text{m}^2$ , 胃 stomach で  $360\text{本}/\mu\text{m}^2$ , 脾臓 spleen で  $540\text{本}/\mu\text{m}^2$  である。

微絨毛の機能の一つは, 細胞と腹水 peritoneal fluid との間の物質交換において細胞表面積を増加させる事である。Moog<sup>2)</sup>の計算によると微絨毛は腹膜表面積を 40 倍に増加させ物質交換の効率を上げている。

また, 微絨毛の他の機能は, 漿液を吸着する事, 即ちリン脂質 phospholipid を微絨毛に結合することにより腹膜に粘性を与え臓器の動きから中皮を守る事である。Nichola<sup>1)</sup>らは, 負に帯電した微絨毛の枝分かれの先端が, 正に帯電されたリン脂質分子を引き付けると述べている。癒着から保護する役割も微絨毛の重要な機能である。



Fig.2 Microvilli of a peritoneal mesothelial cell of the liver  
( bar =  $1\mu\text{m}$  )<sup>1)</sup>



Fig.3 The microvilli of the parietal peritoneum  
( bar =  $1\mu\text{m}$  )<sup>1)</sup>

## (3) 基底膜 basement membrane

中皮細胞は連続的な基底膜の上に乗っている。基底膜は約  $40\text{nm}$  の厚さで, 主にIV型コラーゲン typeIV collagen, ラミニン laminin, フィブロネクチン fibronectin, そしてプロテオグリカン proteoglycan といった細胞外マトリックス成分から構成されている。基底膜は中皮細胞を支持し, 中皮細胞が修復する際, 遊走しやすくする働きをもつ。

## (4) その他の腹膜細胞

その他の腹膜細胞には, マクロファージ Macrophages, 線維芽細胞 Fibroblasts, 肥満細胞 Mast cells, 白血球 Leukocytes, 単球 Monocytes, 形質細胞 Plasma cells がある。

マクロファージ: マクロファージは組織の傷害時に, その数を増やすとともに, 貪食作用, 殺菌作用, 分泌作用を増強する。Sulowicz<sup>3)</sup>によると透析液中には2つのタイプのマクロファージが存在する。正常なマクロファージと, それよりも小さい透析患者特有のマクロファージである。

線維芽細胞: 形態学的には体内の別の部位の線維芽細胞と同様である。線維芽細胞とマクロファージは腹腔内で化学的走化性因子と前炎症性因子の産生に寄与している。

肥満細胞: 一般的に血管周囲の腹膜結合組織中に存在する。肥満細胞の大きさは約  $20-30\mu\text{m}$  で, 細胞内部は特徴的な顆粒で満たされている。顆粒の形状は層状, 螺旋状である。顆粒はヘパリン, ヒスタミン, セロトニンを含む。それらの物質は細胞が刺激を受けたときに結合組織に放出される。白血球 (単球等): 形態学的には体内の別の部位の白血球と同様である。

形質細胞: 形態学的には体内の別の部位の形質細胞と同様である。数は少ないが, 腹膜炎時に増加する。

含脂肪細胞: 含脂肪細胞は大網や腸間膜に存在し, 脂肪を形成する。病理組織学的には含脂肪細胞の重要性は低い。

### 3. 透析による腹膜の変化

腹膜の形態学や機能に関する研究は腹部外科後の創傷治癒として 19 世紀に行われたが、腹膜透析の導入以来、この 20 年間でまた新たな形態学的、機能的知見が解き明かされている。

腹膜は傷害を受けやすく、開腹手術の間約 10 分空気に曝されただけで細胞傷害を受ける。更に 20 - 25 分の空気への曝露では中皮細胞の壊死 Necrosis を引き起こす。それゆえ、生体適合性の低い透析液への長期間曝露や薬物損傷、感染は容易に腹膜組織の変化を生じさせる。

#### (1) 腹膜中皮

長期透析においては中皮表面が日焼けをしたかのように茶色に変化する。Dobbie<sup>9)</sup>はこの色の変化は透析液に使われている D 型グルコースの酸化物が原因であると述べている。酸化物である 3 - アセチルアクリル酸 3-acetyl acrylic acid は、黄色がかった茶色をしている。

腹膜透析に伴う腹膜の変化として、細胞損傷、間質浮腫の他、腹膜中皮細胞の脱落や腹膜中皮細胞層下にある間質への傷害があげられる。腹膜透析開始 1 日目、既に細胞小器官の発達が始まる。それは細胞の活動の活性化を示している。その後、中皮細胞は扁平な形状から丸く、立方体のように変化してゆく。そして更に管腔下 subluminal の原形質膜 plasma membrabe と基底膜の間に隙間が生じ細胞が剥離する。(Fig.4)



Fig.4 The mesothelium of human parietal peritoneum begins to detach. (bar = 40  $\mu$ m)<sup>9)</sup>

腹膜透析下では中皮細胞の形態は正常のものとは異なり分泌細胞や培養中皮細胞に似る。これらの変化は、腹膜透析液の細胞傷害性によるものだけでなく、腹膜透析操作によって惹起される非

生理的な腹腔内環境変化によると考えられる。なぜなら腹膜透析をしていない状況下では中皮細胞によって分泌されたリン脂質 phospholipids が循環を、プロスタグランジン prostaglandins, プロスタサイクリン prostacyclins が腹腔内の血管の収縮・弛緩を、抗線維素溶解物質 antifibrinolytic が癒着を防ぐ役割を司っているが、これらの分泌物は透析液により取り除かれてしまうからである。その為、透析を連続して施行すると中皮細胞は分泌を続け、中皮細胞の肥大に繋がる。このような変化が中皮細胞層や結合組織の構造変化を引き起こすのであろう。

#### (2) 微絨毛

微絨毛は中皮細胞の中で典型的に傷害を受ける場所である。傷害を受けるとまず短くなり、微絨毛の数が減る。そして 8 - 10 ヶ月の透析後には中皮細胞の微絨毛は殆ど消失する。

#### (3) 基底膜

細胞間結合が開く為、基底膜は非常に厚くなる。(4  $\mu$ m 以上)

#### (4) 腹膜剥離 (細胞診 cytological examination)

腹膜透析排液の細胞診は腹膜炎とその初期診断上で有効である。細胞診は透析排液に含まれる細胞を偏光位相差顕微鏡で観察し、単位量当たりに含まれる細胞の数、種類、性質から腹膜炎の診断を行う方法である。細胞診を行う際、腹膜炎でない時には 500mL、腹膜炎の時には 10mL の透析排液が必要とされる。透析排液 1  $\mu$ L 中に通常の細胞数の 1.5 倍以上である 100 個の白血球が含まれていると腹膜炎と診断できる。

排液中の細胞割合は中皮細胞とマクロファージが 70%、残りをリンパ球と多形核細胞が占める。腹膜漿膜組織が炎症を起こすと、排液中の細胞数が増加する。このとき排液中には主に好中球 neutrophils, リンパ球 lymphocytes, マクロファージ macrophages, 中皮細胞 mesothelial cells, 好酸球 eosinophls, 好塩基球 basophils が含まれている。

透析液交換は通常一日に平均 4 回行うが、一日の最初の透析液交換では平均 1200 cells / mL の

細胞が見つかる。その後の交換では排液に含まれる細胞ははるかに少ない。腹膜炎が起きているときは更に多くの細胞が排液に含まれる。透析排液中の多形核細胞 polymorphonuclear cells とリンパ球は体内のものと変わらないが、傷害と感染症の後、マクロファージが多量に増加する。腹膜透析患者のマクロファージは小さく単球に似ているのが特徴である。

#### (5) 巨細胞 Giant Mesothelial Cells

巨細胞 (Fig.5) は、直径  $35\mu\text{m}$  よりも大きな細胞である。これは、通常の中皮細胞の直径平均  $17.6\mu\text{m}$  に標準偏差  $5.5\mu\text{m}$  の2倍である  $11\mu\text{m}$  を足し、 $6.4\mu\text{m}$  の余裕を持たせ定義した数値である<sup>1)</sup>。巨細胞の特徴は細胞質が顆粒物質に富んでおり、核に対する細胞質の大きさの割合が大きい。巨細胞は通常培養中皮細胞中に見られるが、上皮細胞やマクロファージの培養でも見られる。腹膜炎や出血の兆候のない透析患者の CAPD 廃液中には巨細胞は含まれない。しかし、腹膜炎を起こしている CAPD 施行患者の廃液には細胞直径が  $200\mu\text{m}$  を超える巨細胞が含まれることから巨細胞の増加から透析液の評価が可能であり、巨細胞が増加すれば、透析液の生体適合性は低いと考えられている。



Fig.5 Giant mesothelial cell in culture

(bar =  $20\mu\text{m}$ )<sup>1)</sup>

#### 4. おわりに

これまで述べたように、腹膜は大変繊細であるために腹膜透析を長期施行すると様々な傷害を受ける。腹膜傷害は中皮細胞の形態変化、剥離、基底膜肥厚の順に起こる。腹膜機能が低下すると透析を中断し腹膜透析を再施行する為に中皮細胞の遊走と増殖による修復を待つが、短時間で修復させる必要がある。そこで現在傷害修復のメカニズ

ムを解明する為に培養中皮細胞に傷害を作成し、傷害修復過程を CCD カメラで撮影し、細胞の遊走と増殖について解析を行っている。その結果、傷害はまず細胞の遊走により修復される事が分かった。そこで、現在個々の細胞の遊走経路、速度、面積変化、扁平率変化について経時的トラッキングを行っている。

我々の傷害モデルでは中皮細胞と中皮細胞の一種である巨大細胞 (Giant cell) が見られる。また、特に傷害後に出現する小形で動きの速い細胞 (pioneer cell と称せられている) が見られる。これは通常の細胞とは性質の異なる中皮細胞である pheno-type との推測が強い。中胚葉由来の pheno-type がどのような性質変換をするのか今後の実験的、文献的考察が必要である。というのは、ある種の細胞の pheno-type は hill&valley 運動 (飛び跳ねて山谷を駆け巡るといふ意) をすることが指摘されており細胞接着に何らかの関連があると推測されるからである。また、2次元での培養中皮細胞傷害修復過程の観測結果において pioneer cell は不自然な速度変化を繰り返しており、今後の研究課題として Giant cell 同様に興味あるものである。

#### 参考文献

1. Nichola Di Paolo and Giovanni Sacchi, ATLAS OF PERITONEAL HISTOLOGY in Normal and During Peritoneal Dialysis, Peritoneal Dialysis International vol20 Supplement3 2000
2. Moog F. The lining of the small intestine., Sci Am, 1981
3. Sulowicz W et.al Ultrastructural study of human macrophages from peritoneal dialysate. Acta Morphol Hung, 1991
4. Dobbie JW, Zaki MA. The ultrastructure of the parietal peritoneum in normal and uremic man in patients on CAPD. Frontiers in peritoneal dialysis. 1986
5. Bruce Alberts et.al, Molecular Biology of The Cell Third Edition, Newton Press, 1995