

酢酸フリー透析剤の臨床効果

斎藤 明

東海大学医学部内科学系腎・代謝内科

key words : 透析剤, 無酢酸, 臨床効果, 血液透析, クエン酸

要 旨

わが国の従来の重曹透析液には酢酸が8~10 mM含まれており, 治療中・後の血圧低下や頭痛, 倦怠感への影響が危惧された。基礎研究では, 微量の酢酸添加培養による血管内皮細胞のiNOS産生刺激と透析患者血単核球のIL-6発現の亢進が確認された。近年, 酢酸フリー透析剤が臨床治療に用いられ, 約15%に上記の症状, その他の改善が得られている。米国では, ヘパリン量減量やKt/Vの上昇などが報告されている。

はじめに

わが国で最初に開発された透析液は1965年の重曹透析液であったが, Caイオンと重炭酸が結合して沈殿を起こすことによるCa値の不安定さが問題であった。その後, フランスのMionらにより開発された酢酸透析液が, その安定性による使いやすさから1970年代に国際的に普及した¹⁾。しかし, 酢酸のもつ末梢血管抵抗減弱作用による治療中の血圧低下, 全身倦怠感, 頭痛, 足の痙攣などディメリットが患者の生活の質を落とす結果になった。1980年代に入り重曹透析液が普及し, 瞬く間に酢酸透析液に入れ替わった。その後, 20年余に亘り重曹透析液が主な透析液としての役割を果たしてきた。

近年, 透析患者の高齢化と糖尿病透析患者の増加に伴い, わが国における重曹透析液中に8~10 mMの濃度で含まれる酢酸が, 治療中の透析患者の症状の発

現に関与するのではないかという疑問が生じてきた。そんな中で, 2007年7月に酢酸フリー透析剤が保険収載され, その臨床症状の改善効果が注目されるに至った。今回ここでは, 酢酸の内皮細胞や単球のサイトカイン, 一酸化窒素の産生系への影響に関する基礎研究の結果や, 酢酸フリー透析剤の臨床効果などについて述べてみたい。

1 微量の酢酸は末梢血単核球や内皮細胞に影響をあたえるか?

私どもは, 酢酸含有透析液により治療を受ける患者の血管内皮細胞や単核球が, 微量の酢酸暴露に反応することを想定して, 二つの培養実験を行った。一つは, ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いた低濃度の酢酸刺激によるサイトカインと一酸化窒素合成酵素(NOS)のmRNA発現実験, 他の一つは血液透析患者から採取した単核球の同じく低濃度酢酸刺激によるサイトカインのmRNA発現実験である。

1) 低濃度酢酸によるHUVECのNOS mRNA発現

HUVECを6 well plateに 3×10^5 cells/wellの密度で播種し, ウシ胎児血清(FBS)10%を含有するRPMI 1640培地中で培養した。翌日, pH 7.2に酢酸ナトリウム1, 3, 10, 30 mMを添加し, 酢酸ナトリウム溶液はpH 7.2に調整した。浸透圧コントロール用に同濃度の塩化ナトリウム溶液(pH 7.2)を使用した。

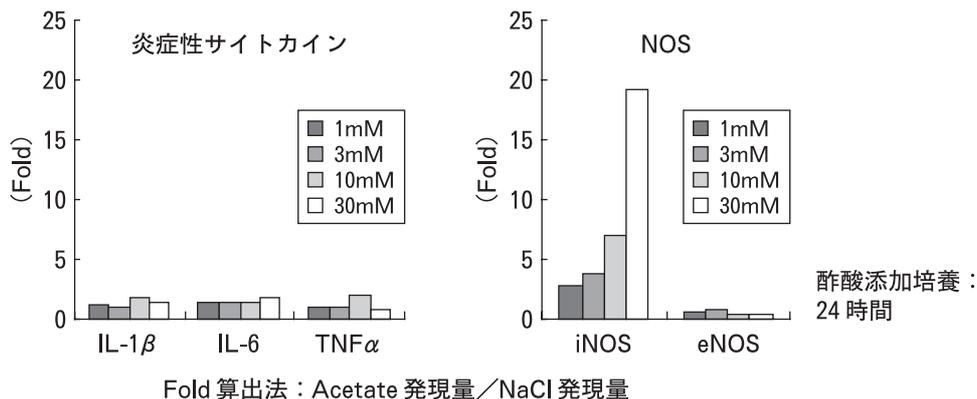
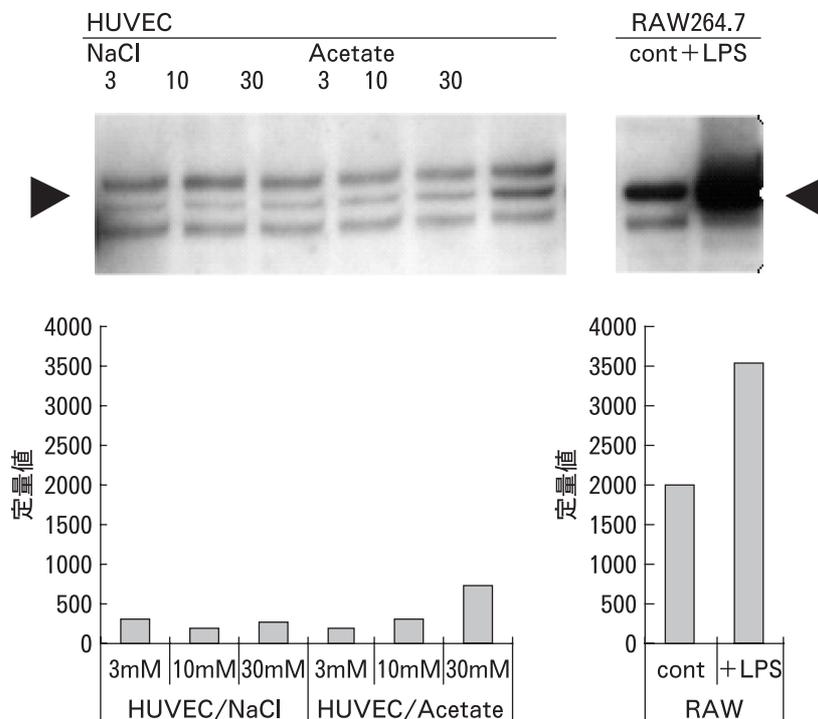


図1 微量酢酸による臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) のサイトカイン, NOS mRNA の発現 NaCl 比してサイトカイン, eNOS mRNA の発現に変化なく, iNOS mRNA 発現は有意に亢進した.



*RAW264.7: マウスマクロファージ由来 cell line NOS 蛋白検出用のポジティブコントロール

図2 NaCl 添加と微量酢酸による iNOS タンパクの産生の比較 RAW 細胞ほどではないが, 30 mM 酢酸添加により有意な再生亢進を認めた.

酢酸添加培養 24 時間または 48 時間後の細胞 viability, 炎症性サイトカインおよび NOS 遺伝子の mRNA 量を real time PCR 法により測定した (図 1). その結果, 炎症性サイトカインの発現上昇は添加酢酸濃度内では見られなかった. また, eNOS の発現誘導は見られなかったが, iNOS 遺伝子は酢酸濃度依存的に誘導が確認された. 3 mM と低濃度酢酸添加培養でも 3.8 倍と iNOS 発現上昇が確認され, 酢酸が直接 HUVEC に作用して iNOS 遺伝子を誘導することが

確認された.

さらに, iNOS の蛋白量を Western Blotting を用いて測定した (図 2). iNOS の蛋白検出のポジティブコントロールとして, マウスマクロファージ由来細胞株 RAW 264 を用いた. この細胞株は LPS 刺激で iNOS 蛋白が誘導される事が知られており, 図 2 右に示すように iNOS 蛋白が多量に誘導される. 一方, 酢酸添加培養 48 時間後の HUVEC では, 元々 iNOS 蛋白は微量しか発現していないが, 30 mM の酢酸添加

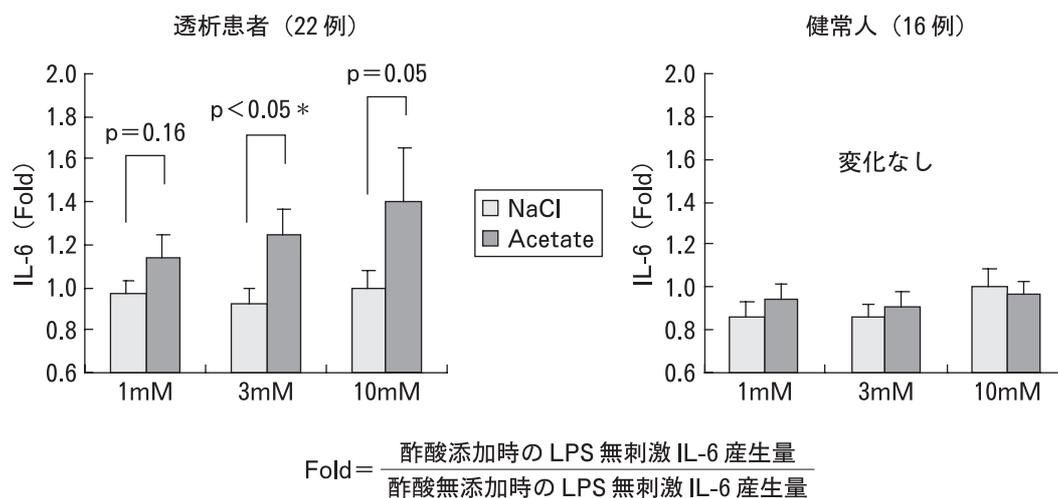


図3 透析患者と健常人の単核球の低濃度酢酸添加培養におけるIL-6 mRNAの発現
健常人の単核球におけるIL-6の発現はNaCl添加時に比して差がなく、22例の透析患者では3mMの酢酸添加により有意にIL-6 mRNAの発現が亢進した。

でiNOSの蛋白発現が増加していることが確認された。浸透圧対照用の30mM塩化ナトリウム添加培養ではまったくiNOS蛋白の誘導は見られていないことより、このiNOS蛋白の誘導は、酢酸の直接作用であることが確認された。RAW細胞と比較すると誘導されるiNOS蛋白量は微量ではあるが、mRNAは誘導されており、透析液に含まれる低濃度酢酸でも長期間透析を受けることによりiNOSが誘導されることが懸念された。

2) 低濃度酢酸による透析患者単核球のサイトカインmRNA発現

同一透析膜(ニプロFB-P)、同一エンドトキシン濃度(30~40 EU/L)の透析液を用いた、安定した維持血液透析患者22例から透析前に採取した各血液15mlからLymphoprep tubeを用いて末梢血単核球を分取、96穴プレートに 1×10^5 cells/wellを播種し一晚培養後、酢酸ナトリウム添加培養を開始した。酢酸濃度は透析に含まれる酢酸が10mM以下なので、1, 3, 10mMの3点で検討、培養時間は48時間で、培養上清中のLPS刺激IL-6産生量を測定した。その結果、酢酸添加時のLPS無刺激時、すなわち酢酸添加のみのIL-6産生は、透析患者では3mMで有意な差が見られ、10mMでは有意差は見られなかったが増加傾向を示した(図3)。濃度依存性は見られていないが、透析患者では酢酸添加のみでIL-6産生が増加する傾向を示した。一方健常人では酢酸添加による差は見られなかった。

2 酢酸フリー透析剤の臨床効果

酢酸フリー透析剤は、すでに米国において10年余の臨床試験から市販による一般治療の経験を持っている²⁾。米国では2.3%のクエン酸が含まれることからクエン酸透析液として用いられている。米国の重曹透析液に含まれる酢酸濃度は僅か1%であるので、米国における透析液酢酸濃度は患者の血圧低下、そのほかの副作用を発揮することはない。その点、国の実情によりその治療目的は異なる。ここでは、米国とわが国における酢酸フリー透析剤の臨床効果を別々に述べる。

1) 米国におけるクエン酸透析液の臨床効果

米国の重曹透析液は酢酸を僅か1~2%含むに過ぎず、先述したように臨床的に酢酸がもたらす副作用は現れていない²⁾。したがって、酢酸フリー透析剤というよりも、クエン酸加透析液としてのメリットを引き出す臨床研究が行われている。

透析液における2.3mMのクエン酸濃度は、それ自体患者体内における血液凝固延長効果を発揮しないが、体外循環中の血液透析中空糸膜における膜孔の中や、血液側膜孔周辺におけるクエン酸とCaイオンとの結合により血小板凝集や、それと蛋白とのコンプレックス形成を防止する効果があることを臨床成績は推測させている。すなわち、通常透析液で長期透析治療を受けている患者にクエン酸透析液を用いた血液透析を約3カ月行い、その後さらに3カ月治療継続した。その

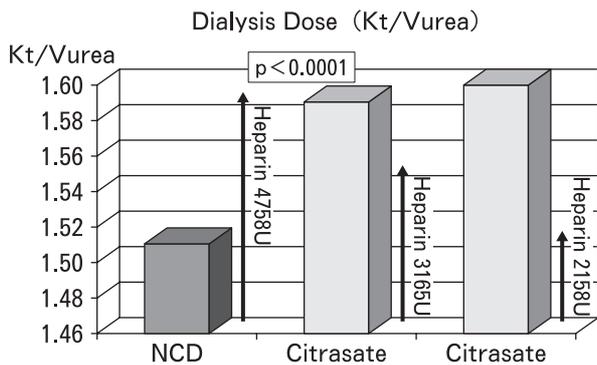


図4 非クエン酸・クエン酸透析液による Kt/V の比較

従来の非クエン酸透析液 (NCD) からクエン酸透析液 (Citrasate) に変更することにより, 3カ月後投与ヘパリン量は 4758 U から 3165 U に減少し, さらに Citrasate を 3カ月継続使用することにより 2158 U にまで減少できた. 一方, Kt/V では従来の NCD では 1.51 であったが, Citrasate 使用により 1.59, さらに 1.60 に上昇した.

結果, 通常透析時に用いられていたヘパリンは, クエン酸透析液を用いた治療 3カ月で平均 33% 減少し, さらに 3カ月治療を継続することによりさらに 33% のヘパリンが減少できた³⁾. 一方, Kt/V はそれぞれの 3カ月間に有意に上昇した (図 4)⁴⁾. また, ダイアライザーとしてフレゼニウス社の Polysulfone F-60 または F-80 を用いた繰り返しの (再使用の) 血液透析により, 有意に血清 β_2 -microglobulin 値が低下していた⁴⁾.

これらの米国における結果は, ダイアライザーが 30 回前後再使用される国での臨床結果であることを申し添えたい. わが国のようにその都度新しいダイアライザーを使用する国で, ヘパリン減量効果や Kt/V の上昇などの同様の結果が得られるかどうかは不明であり, 今後の検討を待ちたい.

米国においてはすでにクエン酸含有 4% の透析液も市販されており, 今後の臨床評価の進展を見守りたい.

2) わが国における酢酸フリー透析剤 SZ-D21

(カーボスター®) の臨床効果

わが国の重曹透析液の酢酸含有濃度 8~10 mEq/L

は, 恐らく透析液の保管安定性のために設定されていると思われるが, 欧米に比して明らかに高い. しかし, 酢酸代謝部位である筋肉と, 肝臓の一つである筋肉量の少なくなる高齢透析患者や長期透析患者が増加するにつれて, 酢酸のもつ副作用が一層大きな問題になっている. また, すでに報告したが, 酢酸ナトリウムが血液中の単核球を刺激してサイトカインの産生を増加させることが指摘されている. 酢酸フリー透析剤のもたらす臨床効果は, その国の重曹透析液の酢酸濃度により異なるが, わが国で期待できる効果についてすでに臨床評価がなされているし, またこれからも評価が進展すると考えられる. ここでは, 現在までの臨床試験や市販後調査の結果を述べてみたい.

① 臨床治験による臨床評価

酢酸フリー透析剤 SZ-D21 多施設共同比較臨床試験 (第 III 相試験) において, 多施設 112 例の透析患者は 56 例ずつ SZ-D21 と従来重曹透析液 (AK-DL) (表 1) を用いた治療を行い, 両者の治療を受ける患者の臨床データを比較した⁵⁾.

血液酸塩基平衡の是正効果の指標として, 試験期間 8 週 1 回目の透析前の血中重碳酸濃度を指標として検証した結果, SZ-D21 では 22.27 ± 2.68 mEq/L であったのに対し, AK-DL 群では 19.30 ± 2.12 mEq/L で, 有意に SZ-D21 群のほうが高値を示した ($p < 0.0001$).

すなわち, 血液酸塩基平衡の是正効果における SZ-D21 の AK-DL に対する優越性が検証された. さらに, 透析前のイオン化 Ca において, SZ-D21 群は前観察期間に比べ試験期間で高値を示したが, AK-DL 群に比べて低値であった (図 5).

また, 透析後のイオン化 Ca では, SZ-D21 群は前観察期間と同じくらいの値で推移したのに対し, AK-DL 群では前観察期間と比べ試験期間で高値を示した. 残念ながら SZ-D21 群と AK-DL 群とで有意差は認められなかったが, SZ-D21 に含まれるクエン酸が Ca 濃度に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられ

表 1 希釈調製後の電解質濃度 (理論値)

	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Ca (mEq/L)	Mg (mEq/L)	Cl (mEq/L)	HCO ₃ (mEq/L)	Acetate (mEq/L)	ブドウ糖 (g/L)
SZ-D21 ^{†1}	140	2.0	3.0	1.0	111	35	0	1.5
AK-DL	140	2.0	3.0	1.0	111 ^{†2}	25	10	1.0

†1 pH 調節剤としてクエン酸を約 2 mEq/L 含有する.

†2 別に pH 調節剤として塩酸を 2 mEq/L 含有する.

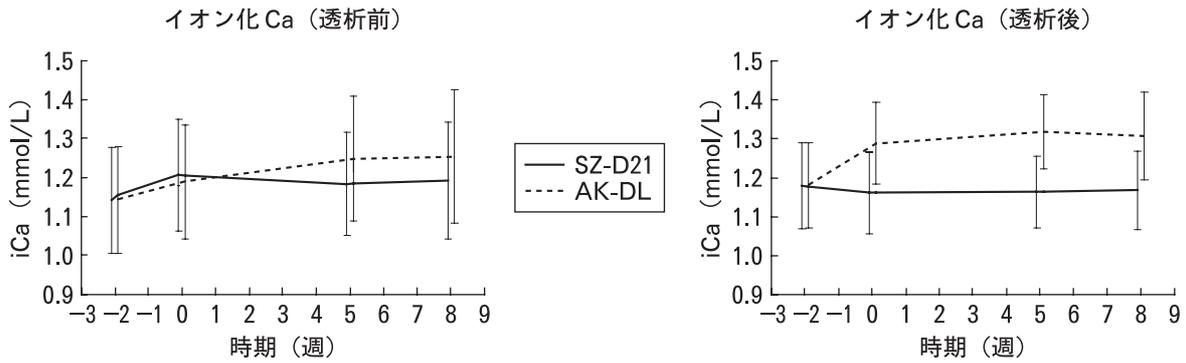


図5 SZ-D21 透析と AK-DL 透析における透析前と透析後のイオン化 Ca の推移
透析前においても透析後においても、SZ-D21 と AK-DL におけるイオン化 Ca 濃度では SZ-D21 使用時において低下傾向にあったが、何れも正常域であり、両者の間に差を認めなかった。

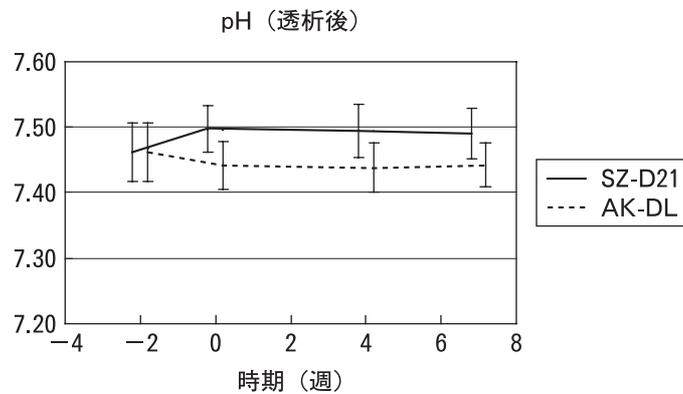


図6 SZ-D21 と AK-DL 治療期間前、中の透析後 pH
透析後 pH では、AK-DL に比して SZ-D21 群において上昇傾向であったが、透析前値には差を認めなかった。

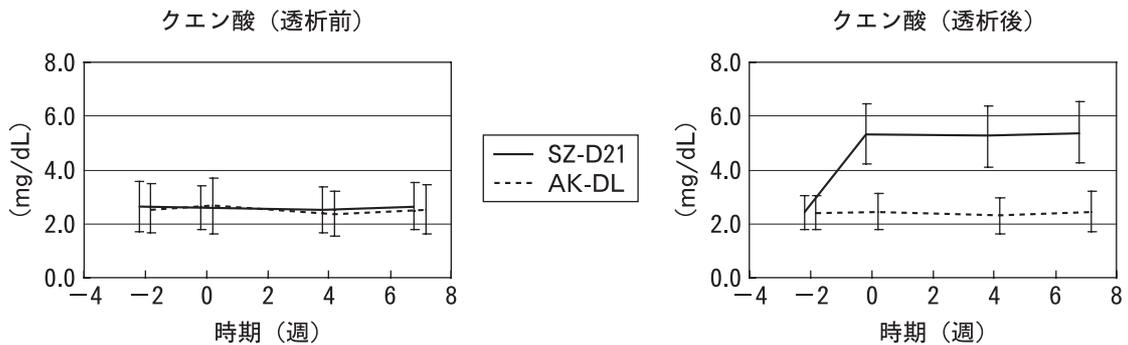


図7 SZ-D21 と AK-DL 治療期間前、中の透析前・後のクエン酸濃度
透析前・後のクエン酸値では、SZ-D21 群で透析後において、前観察期間より試験期間で高値を示したが、一定の値を推移し、経時的な上昇は認められなかった。また、透析前の値は AK-DL 群と同等の値であった。

た。クエン酸カルシウムは透析膜を通過するので、透析液中でキレートを形成していても体の中に入る Ca の総量は AK-DL と同じである。したがってイオン化 Ca 濃度は AK-DL と SZ-D21 で同じになると予想される。しかし実際は SZ-D21 のほうが低くなった。こ

のことは SZ-D21 においてイオン化 Ca 濃度を下げる何らかの作用があることを示している。その候補として一番考えられるのがクエン酸である。

クエン酸については図7に示すごとく、SZ-D21 群で透析後において、前観察期間より試験期間で高値を

表2 SZ-D21 と AK-DL 使用透析における治療患者の
治療前 i-PTH レベルと治療後の変化

i-PTH 濃度 (pg/ml)	SZ-D21		AK-DL	
	前観察期	各期 9 週	前観察期	各期 9 週
60 未満 (CA : n=21) (AK : n=20)	27±16.6	56±64.1 +107%	27±17.0	28±21.9 +4%
60~180 (n=37)	109±32.2	126±61.5 +16%	109±32.2	104±52.0 -5%
180 以上 (n=43)	287±109.6	262±143.3 -9%	288±109.6	229±136.6 -20%

示したが、一定の値を推移し、経時的な上昇は認められなかった。また、透析前の値は AK-DL 群と同等の値であった。

また、表 2 に示されるように、わが国の骨・ミネラル代謝治療ガイドラインの基準値 60~180 pg/ml に基づいて⁶⁾、本治験参加透析患者を i-PTH 濃度 60 以下、60~180、180 pg/ml 以上に分けて検討した。その結果、i-PTH 値 60 pg/ml 以下の症例で酢酸フリー透析剤 SZ-D21 治療期におけるその i-PTH 値の増加が認められ (表 2)、低回転骨型症例の骨代謝改善効果が示唆された⁵⁾。血中イオン化 Ca 濃度が低くなることとの関連も含め今後の検討が待たれる。

このように SZ-D21 は透析後に一過性のクエン酸上昇を呈したが、透析前には AK-DL と同適度になっていること、および経時的な上昇が認められないことから、クエン酸およびクエン酸ナトリウムの血中クエン酸濃度への影響は少なく、安全性に問題は無いものと考えられた。

② 市販後調査による評価

酢酸フリー透析剤 SZ-D21 が本邦で認可された 2007 年 7 月から約 6 カ月間経過した 2008 年 1 月末に、国内製薬会社により市販後調査が行われた⁷⁾。この調査は、その製薬会社の MR が夫々の施設の主治医に、治療に伴う患者の合併症や全身状態の変化について口答で聴取した結果を解析したものであり、科学的な調査でないことから、参考資料に過ぎない。

その結果、全症例 1,119 例中 104 例 (9.3%) に血圧低下に関する改善、27 例 (2.4%) に嘔気・嘔吐、25 例 (2.2%) に頭痛、131 例 (11.8%) に疲労感や活動意欲に関する改善が認められ、合計 172 例 (15.4%) に何らかの臨床症状の改善が得られた。一

方、数は少ないものの逆に症状が新たに発現した例もあり、頭痛 3 例、止血不良 3 例、透析後 $\text{HCO}_3^- > 30$ mM 4 例など合計 16 例 (1.4%) に何らかの症状の発現が見られた。

症状の変化と酢酸フリー・クエン酸添加との関連性などについて、今後慎重な検討が必要である。特に、体重 50 kg 以下の比較的体重の軽い患者における治療直後の HCO_3^- の値と、臨床データや症状との関連性については慎重な評価が望まれる。

おわりに

以上、微量酢酸の HUVEC、透析患者単核球への影響と酢酸フリー透析剤 SZ-D21 の臨床症状について、国内外の結果を踏まえて述べてみた。3 mM 程度の微量な酢酸が直接 HUVEC に作用して iNOS の発現を促進し、また、透析患者単核球の IL-6 mRNA の発現を亢進することが明らかとなった⁸⁾。また、従来の重曹透析液に僅か 1~2 mM の酢酸しか含有しない米国では、酢酸フリー透析剤に変更したことによる血圧低下などの臨床症状の改善傾向はなく、8~10 mM 含有するわが国では、15% 近い臨床症状の改善が得られている。一方、米国ではダイアライザーの 30 回近い再使用という条件下で、ヘパリンの減量と Kt/V の改善などが報告されている。臨床使用が始まって 1 年を経っていないわが国におけるその評価は緒についたところであり、これからと言うべきである。皆様方の積極的な検討に期待したい。

文 献

- 1) Mion CM, Hegstrom RM, Boen ST, et al.: Substitution of sodium acetate for sodium bicarbonate in the bath fluid for hemodialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 10; 110-114, 1964.
- 2) Ahmad S, Callan R, Cole JJ, et al.: Dialysate made from dry chemicals using citric acid increases dialysate dose. *Am J Kidney Dis*, 35; 493-499, 2000.
- 3) Kossmann RJ, Callan R, Ahmad S: Fifty-five percent heparin reduction is safe with citrate dialysate in chronic dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 17(Abstract Issue); 109 A, 2006.
- 4) Kossmann RJ, Callan R, Ahmad S: Increased dialysis dose and decreased concentration of β_2 -microglobulin with citrate dialysate. *J Am Soc Nephrol*, 17(Abstract Issue); 410 A, 2006.
- 5) 斎藤 明, 秋澤忠男, 佐藤 隆, 他: 酢酸フリー透析剤

- SZ-D 21 多施設共同比較臨床試験（第 III 相試験）. 診療と新薬, 44; 260-278, 2007.
- 6) 日本透析医学会: 透析患者における二次性副甲状腺機能亢進症治療ガイドライン. 透析会誌, 39; 1435-1455, 2006.
- 7) 味の素ファルマ (株): 市販後調査, 2008 年 1 月末現在.
- 8) 斎藤 明, 他: 現在投稿中.