

オンライン血液濾過透析と high-flux 膜血液透析のタンパク結合尿毒素，抗酸化物質の除去効率の比較

岡野一祥 秋葉 隆

東京女子医科大学血液浄化療法科

key words : オンライン HDF, 抗酸化物質, 酸化ストレス, タンパク結合性尿毒素

要 旨

オンライン血液濾過透析 (OL-HDF) が近年、臨床に導入され普及している。しかし、大規模研究において high-flux 膜血液透析 (HD) との有効性の比較をした研究はまだ少なく、さらに前希釈の OL-HDF でも、置換量が少ないなど、詳細な臨床研究は多くはない。いくつかの大規模研究では、生命予後や心血管疾患の発生率などで有意な差は認められず、かろうじて二次解析で有意差を見出している報告が多い。

本研究においては、タンパク結合性尿毒素、抗酸化物質の除去効率について、OL-HDF 群と HD 群に分けて比較検討した。OL-HDF 群はすべて前希釈において施行された。除去量 (quantity of removal (QR)) および除去率 (removal rate (RR)) を各対象について測定した。全体的に、OL-HDF 群は QR および RR ともに高い傾向が認められたが、QR および RR がともに統計的な有意差を持つものはビタミン A であった (QR, $p=0.003$, RR, $p<0.001$)。ビタミン C および E については、有意差を伴わなかった。また治療前の血清中の酸化ストレスマーカーについては、両群に有意差を認めなかった。

これらから、OL-HDF 群はタンパク結合性尿毒素および抗酸化物質の両者ともに、除去は HD 群と比較して良好ではあるものの、酸化ストレスのバランスを悪化させるほどではないと推測された。

1 背 景

オンライン血液濾過透析 (OL-HDF) が近年、臨床に応用され、急速に普及してきている。慢性腎臓病 (CKD) による血液透析治療では、全世界において 2/3 以上が high-flux 膜による血液透析となっている^{1,2)}。OL-HDF の有効性については、これまでもいくつかの大規模研究が施行されてきたが、ランダム化比較試験において有効性が見出せたのは、ESHOL スタディの 1 件のみで、他においては副次的研究結果のみであった³⁻⁹⁾。

前希釈 HDF はいくつかの臨床的な利点が報告されている¹⁰⁾。 β_2 ミクログロブリン (β_2 -MG) は後希釈 HDF にやや劣るものの、タンパク結合性尿毒素は前希釈 HDF のほうが優れている^{11,12)}。対象となる尿毒素によって除去特性は異なるが、OL-HDF による除去効率の詳細な検討はまだなされていない。

本研究においては、前希釈 HDF が通常の high-flux 膜 HD と比較して、タンパク結合性尿毒素および抗酸化物質の除去にどのような特性を持つかを検討した。特に抗酸化物質については、動脈硬化の進展などに重要な役割を果たしていると考えられ、OL-HDF による酸化ストレスバランスの変化は検討に値すると思われる。タンパク結合性尿毒素としては、ホモシチン、インドキシル硫酸、馬尿酸、レプチンといった代表的なものを対象とした。抗酸化物質については、ビタミン

ン A, C, E を対象とした。また、酸化ストレスマーカーとして、酸化 LDL (MDA-LDL) および advanced oxidation protein products (AOPP) を測定し、酸化ストレスバランスの増悪がないかも検討した。MDA-LDL は脂質の、AOPP はタンパク質の酸化ストレスのマーカーである。対照となる群は high-flux 膜を使用した血液透析である。これは本邦において 90% 近い患者が high-flux 膜を使用していることから、対照群として適正であると考えたためである¹²⁾。

2 方法

2-1 患者

27 名の血液透析患者 (HD 群)、および 7 名のオンライン血液濾過透析 (OL-HDF 群) を対象とした。週 3 回の治療を受け、状態の安定している患者であり、3 カ月以上の安定した治療、6 カ月以内の入院歴のないものから選択された。研究は施設での倫理委員会の承認を受け、「ヘルシンキ宣言」および東京女子医科大学の「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し施行された。文書による同意書を得た患者のみを対象とした。

2-2 治療および検体採取

高性能ポリスルホン膜、つまり PES (ニプロ, 大阪, 日本) および Toraylight (東レ・メディカル, 東京, 日本) が全 HD 群に使用された。OL-HDF 群には ABH 膜 (旭化成, 東京, 日本) が使用された。HD 群では、血液流量は 200~300 mL/分であり、透析液流量は 500 mL/分とした。OL-HDF は全例、前希釈で施行し、透析液流量は 400 mL/分、補充液流量は 200 mL/分であり、4 時間の治療で補充液量は 48 L とした。血液サンプルは週半ばの治療開始前に採取した。

2-3 研究のデザイン

研究は横断研究として施行された。透析効率の指標 Kt/V は Daugirdas の式を使用して計算した。患者の血清量は以下のように推定して計算した。

$$\text{治療後血清量 (Vpost)} = \text{標準体重} \times 0.05$$

$$\text{治療前血清量 (Vpre)}$$

$$= \text{Vpost} + \text{治療による除水量}$$

治療による除去効率の指標としては、quantity of removal (QR) および removal rate (RR) を用いた。式は以下ようになる。

$$\begin{aligned} \text{QR} &= \{ \text{治療前の血清濃度 (Cpre)} \\ &\quad \times \text{Vpre} - \text{治療後の血清濃度} \\ &\quad \times \text{Vpost} \} / \text{標準体重} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{RR} (\%) &= (\text{Cpre} \times \text{Vpre} - \text{Cpost} \times \text{Vpost}) \\ &\quad \times 100 / (\text{Cpre} \times \text{Vpre}) \end{aligned}$$

QR は標準体重で割ることで対照者間での比較を可能とした。また透析効率の指標としてクリア・スペース率も採用し、両群にて比較した¹³⁾。計算は以下のようになる。

$$\text{クリア・スペース (L)}$$

$$= \text{総除去量 (mg)} / \text{治療前の血清濃度 (mg/L)}$$

2-4 統計的解析

結果は平均値 ± 標準偏差 (SD) として表記した。t テストおよび Mann-Whitney U テストを、それぞれパラメトリックおよびノンパラメトリックなデータの解析に採用した。統計的な有意差は 0.05 未満を持って有意と考えた。

3 結果

表 1 に示すように、OL-HDF 群と HD 群では基礎データに差は認められない。表 2 は両群のクリア・スペース率であるが、OL-HDF 群において、小分子に関してみても、少し率が高い傾向が認められるものの、統計的な有意差を伴うものはリンおよびカルシウムのみであった。中分子のクリア・スペース率は OL-HDF 群が高い傾向があり、 β_2 -MG ($p=0.015$)、 α_1 -MG ($p=0.001$)、アルブミン ($p=0.002$) であった。これらから示唆されることは、OL-HDF 群では中分子の除去効率が HD 群に比べて有意に高いことであった。

表 3 はタンパク結合性尿毒素、酸化ストレスマーカー、抗酸化物質の透析治療前の血清濃度を示している。両群において、タンパク結合性尿毒素の濃度に差は認められなかった。抗酸化物質および酸化ストレスマーカーも統計的な差は認めなかったものの、OL-HDF 群はやや酸化ストレスのバランスが悪化している傾向を示した。

表 4 はタンパク結合性尿毒素の除去率を示した。QR は透析により除去した量を標準体重で除したものである。RR は透析により除去した量を透析前の体内量 (血清濃度 × 治療前血清量) で割ったものであり、除去率を示す。全体として、OL-HDF 群においては、

表 1 HD 群および OL-HDF 群の基礎的データ

	HD 群 (n=27)	OL-HDF 群 (n=7)	P
一般			
年齢 (年)	59.7 ± 11.3	59.3 ± 10.7	0.924
男性 (%)	11 (40.7)	2 (28.5)	0.569
透析			
透析歴 (年)	12.8 ± 11.3	17.4 ± 9.7	0.335
Kt/V	1.23 ± 0.31	1.17 ± 0.22	0.091
腎機能障害の原疾患			
慢性糸球体腎炎	19	5	0.966
糖尿病性腎症	4	1	0.983
嚢胞腎	2	1	0.782
腎硬化症	2	0	0.766
身体・臨床所見			
収縮期血圧 (mmHg)	136.6 ± 19.7	135.2 ± 20.4	0.806
拡張期血圧 (mmHg)	77.2 ± 13.6	80.1 ± 13.7	0.244
心血管既往歴	8	1	0.536
BMI (kg/m ²)	21.3 ± 4.6	24.5 ± 4.6	0.109
検査所見			
ヘモグロビン (g/dL)	10.9 ± 1.2	10.7 ± 0.9	0.648
アルブミン (g/dl)	3.7 ± 0.3	3.5 ± 0.3	0.681
尿素窒素 (mg/dL)	63.6 ± 11.5	67.7 ± 14.1	0.434
クレアチニン (mg/dL)	11.4 ± 2.7	12.7 ± 1.3	0.205
カルシウム (mg/dL)	9.1 ± 0.8	8.6 ± 0.9	0.249
リン (mg/dL)	5.7 ± 1.6	7.0 ± 2.4	0.672
HDL コレステロール (mg/dL)	56.9 ± 20.0	55.1 ± 17.8	0.832
LDL コレステロール (mg/dL)	95.8 ± 25.6	104.1 ± 18.8	0.428
中性脂肪 (mg/dL)	91.6 ± 55.4	82.7 ± 32.2	0.835
鉄飽和度 (%)	17.3 ± 8.0	15.9 ± 9.7	0.527
フェリチン (ng/mL)	81.9 ± 86.0	35.2 ± 36.9	0.174
CRP (mg/dL)	0.37 ± 0.63	0.14 ± 0.14	0.345
内服治療			
レニン・アンギオテンシン系阻害薬	26	7	0.453
カルシウム拮抗薬	12	2	0.610
β 阻害薬	9	1	0.331
リン吸着薬	25	7	0.464
活性型ビタミン D	15	5	0.453
シナカルセト	9	3	0.643

数値は平均値 ± SD または積算数 (パーセント)

表 2 クリア・スペース (L)

分子量 (ダルトン)	HD 群 (n=27)	OL-HDF 群 (n=7)	P
カリウム (19)	58.9 ± 6.8	72.7 ± 8.7	0.001
尿素窒素 BUN (28)	20.6 ± 4.5	26.0 ± 6.8	0.045
リン (31)	15.0 ± 2.9	16.2 ± 3.4	0.481
カルシウム (40)	80.6 ± 8.8	88.9 ± 6.9	0.083
クレアチニン (179)	14.8 ± 2.4	17.8 ± 2.9	0.031
β ₂ ミクログロブリン (11,800)	5.7 ± 1.3	7.4 ± 1.9	0.015
α ₁ ミクログロブリン (30,000)	0.61 ± 0.24	1.05 ± 0.20	0.001
アルブミン (66,000)	0.39 ± 0.18	0.71 ± 0.19	0.002

表 3 タンパク結合性尿毒素, 抗酸化物質および酸化ストレスマーカーの治療前血清濃度

	分子量 (ダルトン [†])	HD 群 (n=27)	OL-HDF 群 (n=7)	P
タンパク結合性尿毒素				
ホモシスチン (nmol/mL)	268	29.9±13.8	32.3±15.4	0.675
インドキシル硫酸 (μg/mL)	251	28.7±10.8	36.0±4.6	0.144
馬尿酸 (μg/mL)	179	91.6±55.4	82.7±32.2	0.835
レプチン (ng/mL)	16,000	5.7±1.6	7.0±2.4	0.672
抗酸化物質および酸化ストレスマーカー				
ビタミン A (IU/dL)	287	221.9±81.1	193.4±100.3	0.418
ビタミン C (μg/mL)	176	22.4±38.4	9.3±2.8	0.382
ビタミン E (mg/mL)	417	1.1±0.3	1.1±0.2	0.608
酸化 LDL (U/L)	540,000	77.4±25.9	86.6±26.3	0.390
AOPP (U/L)	80,000~600,000	43.5±6.4	41.1±5.8	0.437

† 質量は必ずしも血中での存在する質量を表したものではない。

表 4 タンパク結合性尿毒素の除去量・除去率

物質名 (ダルトン [†])	HD 群 (n=27)	OL-HDF 群 (n=7)	P
ホモシスチン (135)			
QR (nmol/mL)	2.16±1.04	2.48±1.65	0.507
RR (%)	70.7±4.9	70.9±5.5	0.926
インドキシル硫酸 (251)			
QR (μg/mL)	2.07±1.01	2.67±0.85	0.215
RR (%)	68.1±6.5	70.6±8.7	0.400
馬尿酸 (179)			
QR (μg/mL)	2.35±1.51	3.75±1.49	0.048
RR (%)	83.1±3.8	86.1±4.5	0.064
レプチン (16,000)			
QR (ng/mL)	1.99±4.78	4.28±8.88	0.308
RR (%)	57.7±16.7	67.3±27.3	0.207

† 質量は必ずしも血中での存在する質量を表したものではない。

表 5 抗酸化物質および酸化ストレスマーカーの除去量・除去率

物質名 (ダルトン [†])	HD 群 (n=27)	OL-HDF 群 (n=7)	P
ビタミン A (287)			
QR (IU/kg)	12.16±5.78	14.60±12.60	0.167
RR (%)	52.8±7.0	68.0±15.4	<0.001
ビタミン C (176)			
QR (mg/kg)	1.04±0.68	0.82±0.24	0.696
RR (%)	81.8±5.6	79.9±9.2	0.484
ビタミン E (417)			
QR (μg/kg)	47.2±26.6	48.7±25.5	0.893
RR (%)	41.5±11.5	41.3±14.7	0.974
酸化 LDL (540,000)			
QR (U/kg)	2.81±1.77	3.08±1.41	0.713
RR (%)	35.4±17.4	33.3±7.0	0.767
AOPP (80,000~600,000)			
QR (U/kg)	2.46±0.89	2.50±1.02	0.931
RR (%)	53.8±6.8	57.5±5.1	0.338

† 質量は必ずしも血中での存在する質量を表したものではない。

タンパク結合性尿毒素の QR は HD 群よりも高い傾向にあったが、統計的な有意差を認めただけは馬尿酸のみであった。馬尿酸の RR は両群間に有意差を持たなかった。

抗酸化物質および酸化ストレスマーカーの QR および RR を示したのが表 5 である。分子サイズはすべて小分子に属するが、ビタミン A と E は脂溶性であるため、血清中ではタンパク結合して運ばれている。ビタミン A の除去効率は OL-HDF 群で高く、QR ($p=0.003$), RR ($p<0.001$) であった。水溶性ビタミンであるビタミン C の除去率は両群ともに高かった。

4 考 察

これまで HEMO, MPO, CONTRAST そして Turkish スタディなどの大規模研究が OL-HDF の有用性を確認するために施行されてきたが、一つの研究を除いて、一次解析において有効性を証明することはできなかった³⁻⁹。しかし、中分子の除去やタンパク結合性尿毒素などの除去については可能性が示唆されてきた。この大規模研究の問題の一つは、治療の置換液量が不ぞろいであったことである。本研究においては、タンパク結合性尿毒素や抗酸化物質の除去について、OL-HDF が有意に HD に比較して多いとは示せなかったが、馬尿酸とビタミン A については有意であるとの結果を得た。

置換量を増やすことがタンパク結合性尿毒素の除去に有効であるとの報告はあり、馬尿酸やインドキシル硫酸などの例が報告されている^{12,14}。他のタンパク結合性尿毒素である p-cresol については 60 L の大量置換でも報告によって違いが認められる^{15,16}。本研究は以前の報告とかなり合致している。尿毒素物質のアルブミンからの乖離には、希釈と pH 変化が有効であると言われている。このことから、大量置換の OL-HDF がこれらタンパク結合性尿毒素の除去に有効である可能性は高いが、現実の治療に適用される置換量にて有意差を確認することは困難なのかもしれない¹⁷。透析液流量の増加や膜面積の増加でもタンパク結合性尿毒素の除去は増やせるかもしれないが、検討は今後の課題である¹⁸。

ビタミン A はレチノールとしても知られており、血液中では retinol-binding protein 4 (RBP4) と結合している¹⁹。腎機能の低下によりレチノール代謝に変化が

起こるため、結果としてレチノールは RBP4 の増加に伴って蓄積する傾向にある^{19,20}。High-flux 膜の後希釈 HDF で、RBP4 は RR で 15~40% 程度の除去が可能との報告がある¹⁴。本研究においてレチノール除去は OL-HDF のほうが HD に比べて高かった。血清のビタミン A 濃度は両群で差を認めなかったことは、OL-HDF による除去増加は体内のビタミン A の総量に大きく影響はしない可能性があり、肝臓における RBP4 合成や蓄積しているビタミン A の影響をより多く受けている可能性も考えられた。

ビタミン E はトコフェロールと呼ばれる複合体ファミリーの総称として使われている²¹。αトコフェロールの血中濃度についてはまだはっきりしない点があるが、血液浄化療法において血中濃度の変化はないとされている^{22,23}。αトコフェロールの投与が透析患者において酸化ストレスバランスの改善につながるとの報告はない^{24,25}。本研究においても、OL-HDF はビタミン E の除去を増加はせず、これまでの報告と同じであった。

透析患者において、ビタミン C は低い傾向にある²⁶。透析治療自体が、この水溶性ビタミンの喪失につながる^{27,28}。本研究においても、OL-HDF がさらなるビタミン C の除去にはつながらないことが示された。

ビタミン A は有意に OL-HDF での除去が増加したが、それによって酸化ストレスマーカーである MDA-LDL や AOPP の悪化は、HD 群と比較して認められなかった。本研究からは、OL-HDF によって酸化ストレスバランスが悪化しない結果となったわけだが、これらは、除去の増加は摂取や体内で産生や蓄積によって代償されうる可能性を示唆する。また、ビタミン A 自体だけを見ても HD 群と比較して大きな差がないことは、酸化ストレス全体のバランスに OL-HDF が悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

本研究のリミテーションとしては、サンプル・サイズが少ないことが第一にあげられる。他には、単一の施設にて行われた研究であることもあげられる。

結論として、大量置換の前希釈 OL-HDF は high-flux 膜を用いた通常の HD に比較して、タンパク結合性尿毒素や抗酸化物質の除去に優れるが、統計的な有意差を持つものはビタミン A のみであった。除去率の増加によって酸化ストレスバランスの増悪を認めることはなかった。今後の大規模研究によって、この結果につ

いてのさらに詳細な結論が必要と思われた。

本研究に利益相反はない。また、本研究は平成 24 年度日本透析医会公募研究助成によって行われた。

文 献

- 1) Blankestijn PJ, Ledebro I, Canaud B : Hemodiafiltration : clinical evidence and remaining questions. *Kidney Int* 2010; 77 : 581-587.
- 2) Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, et al. : Review on uremic toxins : classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003; 63 : 1934-1943.
- 3) Cheung AK, Levin NW, Greene T, et al. : Effects of high-flux hemodialysis on clinical outcomes : results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 : 3251-3263.
- 4) Delmez JA, Yan GF, Bailey J, et al. : Cerebrovascular disease in maintenance hemodialysis patients : results of the HEMO study. *Am J Kidney Dis* 2006; 47 : 131-138.
- 5) Locatelli F, Martin-Malo A, Hannedouche T, et al. : Effect of membrane permeability on survival of hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20 : 645-654.
- 6) Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, et al.; Hemodialysis (HEMO) Study Group : Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance haemodialysis. *N Engl J Med* 2002; 347 : 2010-2019.
- 7) Grooteman MP, van den Dorpel R, Bots M, et al. : Effect of online hemodiafiltration on all-cause mortality and cardiovascular outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23 : 1087-1096.
- 8) Ok E, Asci G, Toz H, et al. : Mortality and cardiovascular events in online hemodiafiltration (OL-HDF) compared with high-flux dialysis : results from the Turkish OL-HDF study. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28 : 192-202.
- 9) Maduell F, Moreso F, Pons M, et al. : High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24 : 487-497.
- 10) Santoro A, Canova C, Mancini E, et al. : Protein loss in online hemofiltration. *Blood Purif* 2004; 22 : 261-268.
- 11) Meert N, Eloit S, Waterloos MA, et al. : Effective removal of protein-bound uraemic solutes by different convective strategies : a prospective trial. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 : 562-570.
- 12) Eloit S, Dhondt A, Van Landschoot M, et al. : Removal of water-soluble and protein-bound solutes with reversed mid-dilution versus post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27 : 3278-3283.
- 13) Pedrini LA, De Cristofaro V, Comelli M, et al. : Long-term effects of high-efficiency on-line haemodiafiltration on uraemic toxicity. A multicentre prospective randomized study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26 : 2617-2624.
- 14) Krieter DH, Hackl A, Rodriguez A, et al. : Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25 : 212-218.
- 15) Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, et al. : Removal of the protein-bound solute p-cresol by convective transport : a randomized crossover study. *Am J Kidney Dis* 2004; 44 : 93-101.
- 16) Sirich TL, Luo FJG, Plummer NS, et al. : Selectively increasing the clearance of protein-bound uremic solutes. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27 : 1574-1579.
- 17) Meert N, Beerenhout C, Schepers E, et al. : Evolution of protein-bound uremic solutes during predilution haemofiltration. *J Nephrol* 2009; 22 : 352-357.
- 18) Frey SK, Nagl B, Henze A, et al. : Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic disease of the kidney but not of the liver. *Lipid Healthy Dis* 2008; 7-29.
- 19) Vintani D, Dellapenna D : Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering. *Science* 1998; 282 : 2098-2100.
- 20) Himmelfarb J, Kane J, McMonagle E, et al. : Alpha and gamma tocopherol metabolism in healthy subjects and patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2003; 64 : 978-991.
- 21) Smith KS, Lee CL, Ridlington JW, et al. : Vitamin E supplementation increases circulating vitamin E metabolites tenfold in end-stage renal disease patients. *Lipids* 2003; 38 : 813-819.
- 22) Galli F, Buoncristiani U, Conte C, et al. : Vitamin E in uremia and dialysis patients. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1031 : 348-351.
- 23) Morena M, Cristol JP, Bosc JY, et al. : Convective and diffusive losses of vitamin C during hemodiafiltration session : a contribute factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 : 422-427.
- 24) Meyer TW, Walther JL, Pagtalunan ME, et al. : The clearance of protein-bound solutes by hemofiltration and hemodiafiltration. *Kidney Int* 2005; 68 : 867-877.
- 25) Meyer TW, Leeper EC, Bartlett DW, et al. : Increasing dialysate flow and dialyzer mass transfer area coefficient to increase the clearance of protein-bound solutes. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 : 1927-1935.
- 26) Richter A, Kuhlmann MK, Seibert E, et al. : Vitamin C deficiency and secondary hyperparathyroidism in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23 : 2058-2063.
- 27) Morena M, Cristol JP, Bosc JY, et al. : Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session : a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 : 422-427.
- 28) Nascimento MM, Suliman ME, Murayama Y, et al. : Effect of high-dose thiamine and pyridoxine on advanced glycation end products and other oxidative stress markers in hemodialysis patients : a randomized placebo-controlled study. *J Ren Nutr* 2006; 16 : 119-124.