

ヘキサデキル基固定セルロースビーズによる 蛋白結合尿毒症物質の吸着効果

山本 卓*^{1,2} 佐藤茉美*¹ 佐藤容子*¹ 若松拓也*¹ 高橋良光*¹ 井口 昭*³
大森健太郎*⁴ 鈴木 靖*³ 恵 以盛*⁵ 金子佳賢*¹ 後藤 眞*¹ 風間順一郎*⁶
下條文武*^{1,7} 成田一衛*¹

*1 新潟大学大学院医歯学総合研究科腎・膠原病内科 *2 新潟大学医歯学総合病院血液浄化療法部 *3 済生会新潟第二病院
*4 大森内科医院 *5 山梨第二医院 *6 福島県立医科大学腎臓高血圧内科 *7 新潟薬科大学

key words : ヘキサデキル基固定セルロースビーズ, 蛋白結合尿毒症物質, 吸着, 直接血液灌流

要 旨

背景・目的：蛋白結合尿毒症物質 (protein-bound uremic toxins; PBUTs) の血中濃度高値は種々の透析関連合併症の原因となる。我々はヘキサデキル基固定セルロースビーズ (hexadecyl-immobilized cellulose bead; HICB) のPBUTsの吸着効果について臨床的に検討した。

方法：HICBを含有したカラム (リクセル S-35[®]) を維持血液透析患者に使用した。カラム通過前後と2週間使用前後の血清インドキシル硫酸 (indoxyl sulfate; IS), インドール酢酸 (indole acetic acid; IAA), フェニル硫酸 (phenyl sulfate; PhS), そしてpクレシル硫酸 (p-cresyl sulfate; PCS) 濃度を質量分析により測定した。

結果：リクセル S-35 通過後に蛋白結合していない血中フリー IS, IAA, PhS と PCS 濃度は $34.4 \pm 30.0\%$, $34.8 \pm 25.4\%$, $28.4 \pm 18.0\%$ と $34.9 \pm 22.1\%$ 減少した。しかし、蛋白結合したPBUTsはカラム通過後に有意に減少しなかった。リクセルを2週間使用したが、血中PBUT値は有意に低下しなかった。

結論：HICBsはPBUTsを部分的に吸着した。この吸着効果は臨床的に十分でなく、今後PBUTs吸着効果のより優れた血液浄化器の開発が望まれる。

緒 言

蛋白結合尿毒症物質 (protein-bound uremic toxins; PBUTs) の蓄積は慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD) に関連した全身疾患に関連する^{1,2)}。インドキシル硫酸 (indoxyl sulfate; IS), pクレシル硫酸 (p-cresyl sulfate; PCS), インドール酢酸 (indole acetic acid; IAA) はCKDの進行に伴い増加し、生命予後や心血管病の発症に関連し、その傾向は透析患者で顕著である³⁻⁵⁾。近年の透析療法の進歩により水溶性低分子、中分子尿毒症物質の除去効率は向上したが、現行の拡散、濾過による血液浄化療法では、アルブミンなどの蛋白質と高率に結合するPBUTsの除去は不十分である⁶⁾。そのためPBUTsの除去効率を向上する追加的な治療が必要である。

ヘキサデキル基固定セルロースビーズ (hexadecyl immobilized in porous cellulose beads; HICBs) で構成される血液浄化器 (リクセル[®]) は、 β_2 ミクログロブリン (β_2 -microglobulin; β_2 -m) を直接血液灌流により選択的に吸着することで、透析アミロイドーシスの治療に使用されている⁷⁻⁹⁾。しかし、HICBは β_2 -mだけでなく分子量4,000~20,000 Daの分子も吸着することが基礎研究により報告されている¹⁰⁾。その効果はリクセルを使用すると血中 β_2 -m値の低下だけでなく、疼痛

Adsorption of protein-bound uremic toxins through direct hemoperfusion with hexadecyl-immobilized cellulose beads in patients undergoing hemodialysis

Division of Blood Purification Therapy, Niigata University Medical and Dental Hospital
Suguru Yamamoto

Division of Clinical Nephrology and Rheumatology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
Mami Sato
Ichiei Narita

など関節症状の改善を伴うことから示唆される^{11,12)}。そのため我々は、HICBsが種々のPBUTsを吸着する可能性を考えた。本研究は血液透析患者のPBUTsがリクセルで吸着される効果について検討した。

1 方法

慢性血液透析患者17名にリクセル S-35 を使用した。患者年齢、透析期間などの背景は中央値（25～75パーセンタイル）で表した。体外循環開始5分後でリクセルカラム通過前後の血中PBUTs (IS, IAA, PhS, PCS) を測定することにより機器の吸着効果を調査した。またリクセルを2週間使用し、使用前後の血中PBUTsを測定し、治療効果を検討した。PBUTsは質量分析で蛋白に結合していない型（フリー体）と、蛋白に結合したもの、しないものを含む（トータル体）を測定した。カラム通過前後、2週間使用前後の変化（減少率%）を対応のあるt検定で検定し、 $p < 0.05$ を有意と判断した。

研究はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に則り、新潟大学倫理委員会に承認され、UMIN 臨床試験登録システムに登録のうえ（UMIN000014744）行われた。研究参加者は書面によるインフォームドコンセントを行った。

2 結果

維持血液透析患者17名にリクセル S-35 を2週間使用した。2例が血圧低下のため使用を中断した。参加した15例の年齢は65.5（62.3～68.0）歳、女性の割合は60.0%であった。透析期間は7.3（6.5～8.2）年で全例に残腎機能がなかった（表1）。

カラム通過前後の血中PBUTs値を比較すると、蛋白結合していないフリーPBUTsは有意に減少した [IS: 通過前 $153.8 \pm 129.0 \mu\text{g/dL}$ vs. 通過後 $97.3 \pm 121.3 \mu\text{g/dL}$ ($p < 0.001$, 減少率 $34.4 \pm 30.0\%$); IAA: 通過前 $11.7 \pm 7.8 \mu\text{g/dL}$ vs. 通過後 $8.3 \pm 7.0 \mu\text{g/dL}$ ($p < 0.001$, 減少率 $34.8 \pm 25.4\%$); PhS: 通過前 $215.8 \pm 265.2 \mu\text{g/dL}$ vs. 通過後 $153.1 \pm 210.4 \mu\text{g/dL}$ ($p = 0.002$, 減少率 $28.4 \pm 18.0\%$); PCS: 通過前 $121.9 \pm 125.6 \mu\text{g/dL}$ vs. 通過後 $69.2 \pm 62.7 \mu\text{g/dL}$ ($p = 0.019$, 減少率 $34.9 \pm 22.1\%$)] (図1 A, C, E, G)。しかし蛋白結合をしたもの、しないものを含めたトータルPBUTsは有意に変化しなかった (図1 B, D, F, H)。

表1 患者背景

患者数	15
年齢 (歳)	65.5 (62.3～68.0)
男性/女性	6/9
body mass index (kg/m ²)	19.8 (18.8～23.2)
腎臓病の原疾患 (CGN/DM/その他)	7/6/2
収縮期血圧 (mm Hg)	138 (113～147)
透析期間 (年)	7.3 (6.5～8.2)
透析膜 (PS/PMMA)	13/2
検査結果	
Kt/V _{urea}	1.54 (1.35～1.76)
尿素窒素 (mg/dL)	55.5 (45.8～63.0)
クレアチニン (mg/dL)	12.1 (11.4～13.8)
アルブミン (g/dL)	3.7 (3.5～3.8)
β_2 ミクログロブリン (mg/L)	31.7 (29.9～35.4)
ヘモグロビン (g/dL)	10.5 (10.0～11.7)
インタクトPTH (pg/mL)	132 (67～268)
C反応性タンパク (mg/dL)	0.55 (0.30～1.11)

CGN: chronic glomerulonephritis (慢性糸球体腎炎), DM: diabetes mellitus (糖尿病), PMMA: polymethyl methacrylate, PS: polysulfone, PTH: parathyroid hormone (副甲状腺ホルモン)

リクセル非使用と2週間使用後の透析前の血中トータルPBUTs値を測定したが変化を認めなかった。[IS: 非使用 $3.42 \pm 1.64 \text{ mg/dL}$ vs. 2週間使用 $3.34 \pm 1.45 \text{ mg/dL}$ ($p = 0.605$); IAA: 非使用 $0.14 \pm 0.13 \text{ mg/dL}$ vs. 2週間使用 $0.14 \pm 0.11 \text{ mg/dL}$ ($p = 0.956$); PhS: 非使用 $1.57 \pm 1.44 \text{ mg/dL}$ vs. 2週間使用 $1.49 \pm 1.78 \text{ mg/dL}$ ($p = 0.709$); PCS: 非使用 $2.35 \pm 1.62 \text{ mg/dL}$ vs. 2週間使用 $2.25 \pm 1.66 \text{ mg/dL}$ ($p = 0.659$)]。

3 考察

PBUTsが蓄積すると種々のCKD関連疾患の原因となり、それは透析患者で顕著である。そのため、血液浄化療法におけるPBUTsの除去効率の向上は透析患者のCKD関連疾患の発症抑制、およびQOL, ADLを改善する可能性がある。これまで長時間血液透析¹³⁾、透析器の改良¹⁴⁾、または血液透析濾過¹⁵⁾など、拡散や濾過による除去の改善が報告されたが効果は部分的であった。

我々はこれまで、経腸的に吸着炭が血液透析患者の血中PBUTsを低下させることを報告し¹⁶⁾、吸着による直接血液灌流がPBUTs除去に有用なのではないかと考えた。本研究で、リクセルは血中フリーPBUTsを吸着した (図1)。HICBsはもともと $\beta_2\text{-m}$ がヘキサデキル基と疎水性相互作用により結合し、さらに $\beta_2\text{-m}$ 分子が結合するのに適切な孔面積で設計されている。

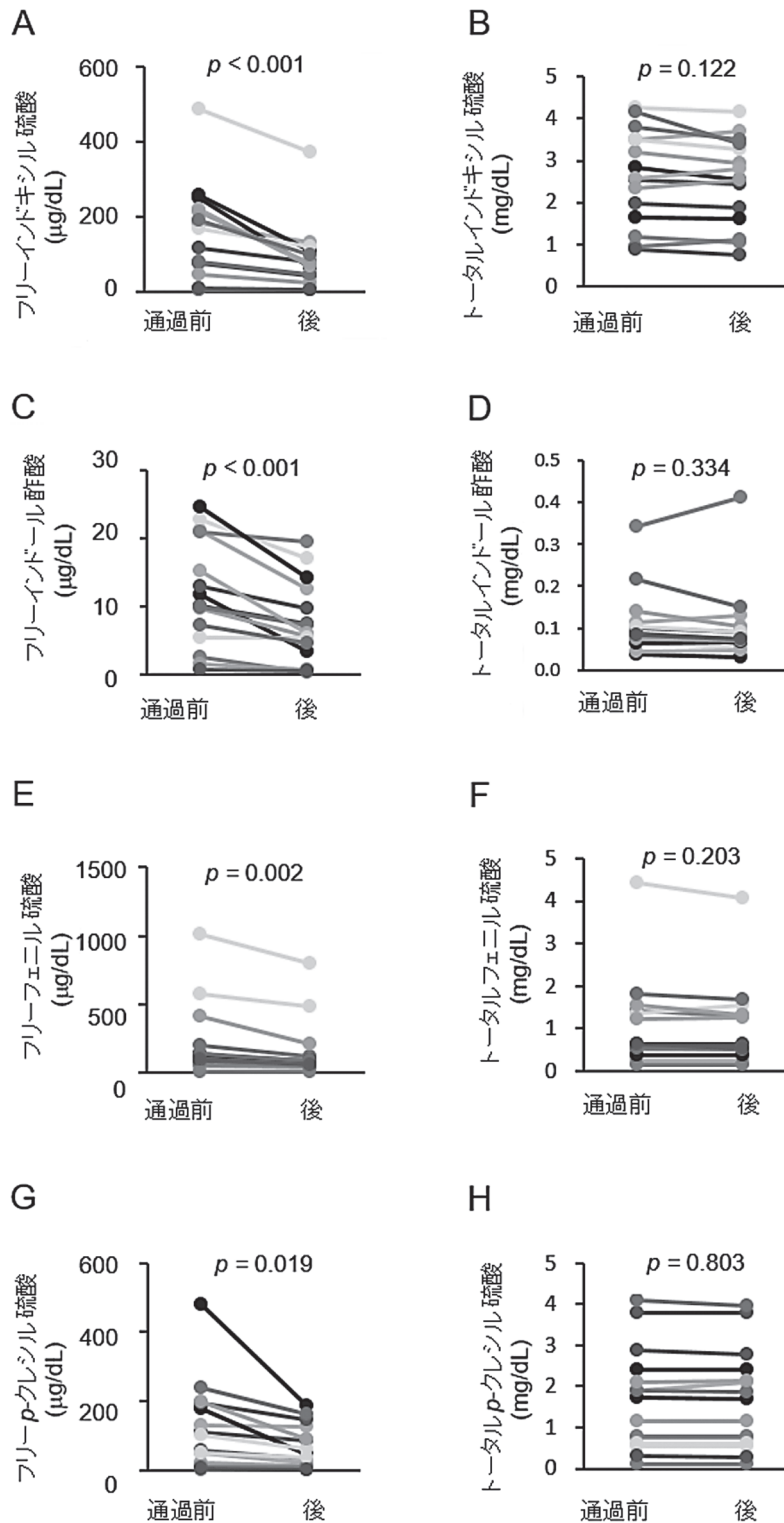


図1 リクセルによる蛋白結合尿毒症物質の除去効果

リクセル通過前後の血液透析患者血清フリーとトータル血清インドキシル硫酸 (A, B), インドール酢酸 (C, D), フェニル硫酸 (E, F), *p*クレシル硫酸濃度 (G, H) を測定した。

フリー PBUTs はおそらく静電的相互作用によりヘキサデキル基に結合する。しかし、アルブミンと結合した PBUTs は、分子の大きさにより HICBs に結合しないのではないかと考えられた。結果として、リクセルを使用するとフリー PBUTs を吸着するが、その効果

は2週間使用による臨床的な効果としては部分的であると考えた。今後はPBUTs除去に特化した血液浄化療法の開発が望まれる。

結 語

リクセルは血液透析患者の血中PBUTsを部分的に吸着した。吸着を原理とした血液浄化療法はPBUTsの除去を向上する可能性がある。

この研究は、平成26年度日本透析医会公募研究助成によってなされた。

文 献

- 1) Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, et al. : The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate : a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25 : 1897-1907.
- 2) Moradi H, Sica DA, Kalantar-Zadeh K : Cardiovascular burden associated with uremic toxins in patients with chronic kidney disease. *American journal of nephrology* 2013; 38 : 136-148.
- 3) Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H, et al. : Free serum concentrations of the protein-bound retention solute p-cresol predict mortality in hemodialysis patients. *Kidney International* 2006; 69 : 1081-1087.
- 4) Barreto FC, Barreto DV, Liabeuf S, et al. : Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2009; 4 : 1551-1558.
- 5) Dou L, Sallee M, Cerini C, et al. : The cardiovascular effect of the uremic solute indole-3 acetic acid. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26 : 876-887.
- 6) Davenport A : How can dialyzer designs improve solute clearances for hemodialysis patients? *Hemodial Int* 2014; 18 (Suppl 1) : S43-47.
- 7) Gejyo F, Homma N, Hasegawa S, et al. : A new therapeutic approach to dialysis amyloidosis : intensive removal of beta 2-microglobulin with adsorbent column. *Artif Organs* 1993; 17 : 240-243.
- 8) Furuyoshi S, Nakatani M, Taman J, et al. : New adsorption column (Lixelle) to eliminate beta2-microglobulin for direct hemoperfusion. *Therapeutic apheresis : official journal of the International Society for Apheresis and the Japanese Society for Apheresis* 1998; 2 : 13-17.
- 9) Gejyo F, Kawaguchi Y, Hara S, et al. : Arresting dialysis-related amyloidosis : a prospective multicenter controlled trial of direct hemoperfusion with a beta2-microglobulin adsorption column. *Artif Organs* 2004; 28 : 371-380.
- 10) Kutsuki H : beta (2)-Microglobulin-selective direct hemoperfusion column for the treatment of dialysis-related amyloidosis. *Biochimica et biophysica acta* 2005; 1753 : 141-145.
- 11) Yamamoto Y, Hirawa N, Yamaguchi S, et al. : Long-term efficacy and safety of the small-sized beta2-microglobulin adsorption column for dialysis-related amyloidosis. *Ther Apher Dial* 2011; 15 : 466-474.
- 12) Gejyo F, Amano I, Ando T, et al. : Survey of the effects of a column for adsorption of beta2-microglobulin in patients with dialysis-related amyloidosis in Japan. *Ther Apher Dial* 2013; 17 : 40-47.
- 13) Basile C, Libutti P, Di Turo AL, et al. : Removal of uraemic retention solutes in standard bicarbonate haemodialysis and long-hour slow-flow bicarbonate haemodialysis. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2011; 26 : 1296-1303.
- 14) De Smet R, Dhondt A, Eloit S, et al. : Effect of the super-flux cellulose triacetate dialyzer membrane on the removal of non-protein-bound and protein-bound uraemic solutes. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2007; 22 : 2006-2012.
- 15) Krieter DH, Hackl A, Rodriguez A, et al. : Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2010; 25 : 212-218.
- 16) Yamamoto S, Kazama JJ, Omori K, et al. : Continuous Reduction of Protein-Bound Uraemic Toxins with Improved Oxidative Stress by Using the Oral Charcoal Adsorbent AST-120 in Haemodialysis Patients. *Sci Rep* 2015; 5 : 14381.