

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08437

研究課題名(和文) 結合率に着目した蛋白質結合性尿毒素の効率的な除去を可能とする新規血液透析法の開発

研究課題名(英文) Investigation of new blood purification therapy which enables efficient removal of protein-bound uremic toxins

研究代表者

山本 武人 (Yamamoto, Takehito)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・講師

研究者番号：00376469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、慢性腎臓病患者や血液透析導入患者における心血管疾患リスクを上昇させることが知られているタンパク結合性尿毒素を、効率的に除去することを可能とするため、透析液中にタンパク結合性尿毒素を強く結合する結合剤を添加する新たな血液浄化療法を開発するための基礎的検討を行うことを目的とした。

研究期間を通じ、種々の結合剤添加時のタンパク結合性尿毒素の除去効率をin vitro実験により測定することを試みたが、適切な実験条件設定に難渋し、タンパク結合性尿毒素の効率的な除去が可能となるか否かについて十分な検証をするには至らなかった。今後さらなる研究が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、現状の血液浄化療法では除去が困難なタンパク結合性尿毒素を、透析液に結合剤を添加することにより効率的に除去可能とすることを目指したものである。種々の検討を行ったものの、研究期間内に十分な検証をするには至らなかったが、今後さらに検討を進めることで、タンパク結合性尿毒素の効率的な除去を可能とする新たな血液浄化療法の構築に繋がる基礎的知見を得ることが出来ると期待される。

研究成果の概要(英文)：The protein-bound uremic toxins are known to increase the risk of cardiovascular diseases in patients with chronic kidney disease or undergoing hemodialysis. The aim of this study is to develop the new blood purification method which enables effective removal of protein-bound uremic toxins from the body by adding appropriate binders in the dialysate. Throughout the 3 years of study period, the principal investigator has tried to evaluate the removal rate of protein-bound uremic toxins by in vitro hemodialysis system with dialysate supplemented with various binders. However, the principal investigator could not obtain sufficient data due to the difficulty in setting up the optimal experimental condition. Further study is needed to achieve the final goal of this study.

研究分野：医療薬学

キーワード：血液透析 慢性腎臓病 タンパク結合性尿毒素

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease : CKD) は、種々の原因により慢性的に腎機能低下が継続する状態を示す疾患概念であり、日本における患者数は約 1,300 万人に上ると推定されている。CKD 患者は、心血管疾患 (Cardiovascular diseases : CVD) による死亡率が高いことが知られており [Lipids Health Dis. 15:22, 2016]、CKD は CVD の独立したリスクファクターであることも様々な報告から明らかとなっている [Lancet. 380:1649, 2012]。また、CKD は腎機能低下の程度に応じて Stage 1~5 に分類されており、最重症の Stage 5 では血液透析 (hemodialysis : HD) 等の血液浄化療法が導入される。現在我が国における HD 導入患者は 30 万人を超えているが、HD 導入患者の死因の約 25% は心不全であることが報告されている [図説我が国の慢性透析療法の現況 (2015)]。そのため、CKD 患者、特に HD 導入患者における CVD リスクを低減させることは極めて重要である。

CKD 患者では、腎機能低下により尿中への老廃物排泄能が低下しているため、様々な尿毒素が体内に蓄積することが知られている。現在、European Uremic Toxins Work Group (EUToxWG) により約 130 種類の内因性物質が尿毒素としてリストアップされているが [J Am Soc Nephrol. 23:1258, 2012]、中でも蛋白質結合性尿毒素は、血清アルブミンと強く結合することから、通常の HD による除去は困難であり、HD 患者の体内に蓄積しやすいことが知られている。さらに、代表的な蛋白質結合性尿毒素であるインドキシル硫酸 (Indoxyl sulfate : IS) や 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate (CMPF) が活性酸素種 (Reactive oxygen species : ROS) の産生上昇や細胞増殖抑制を惹起することが腎尿管や血管内皮細胞を用いた検討により明らかとされたこともあり [Blood Purif. 35:20, 2013]、HD 患者の体内から蛋白質結合性尿毒素を効率的に除去することは CVD を防ぐ上で重要と考えられている。現在では、長時間 HD やタンパク漏出性 HD が蛋白質結合性尿毒素の除去効率をある程度改善した HD として臨床適用されているが、前者は患者を 8 時間程度という長時間拘束してしまう点が難点であり、後者は蛋白質結合性尿毒素がアルブミンと共に除去されるためアルブミンが体内から喪失することが欠点である。すなわち、生体にとって毒性の高い蛋白質結合性尿毒素のみを効率的に除去可能な血液浄化法は未だ開発されておらず、新しいメカニズムに基づき蛋白質結合性尿毒素の除去効率を向上させた血液浄化療法の開発が望まれている。

HD では拡散による物質が除去されるが、血液から透析液中への拡散速度は血液中および透析液中の非結合型物質濃度 (それぞれ  $C_{b,U}$  および  $C_{d,U}$ ) の差と、透析膜透過性 (KoA) との積により規定される。一方で、HD による物質除去速度は透析液流量と透析液中全濃度 ( $C_d$ ) の積で記述されるが、通常の HD では透析液中の結合率はゼロであるため  $C_{d,U}$  と  $C_d$  は一致する。HD による物質除去が受動拡散による以上、 $C_{d,U}$  は  $C_{b,U}$  を超えないことを考慮すれば、タンパク結合率が高く  $C_{b,U}$  が低い物質では結果的に  $C_{d,U}$ 、 $C_d$  も低く効率的な除去が困難となることが結論できるが、これは逆説的には透析液中に結合剤を添加することで  $C_d$  に対して  $C_{d,U}$  を低くすることができれば、蛋白質結合性尿毒素の除去効率が向上する可能性があることを意味している。

このようなコンセプトに基づく血液浄化法として、透析液にヒトアルブミンや活性炭を添加し、急性薬物中毒時の原因薬物除去や肝性脳症時のビリルビン・アンモニアの除去する治療が海外の報告で認められる。しかし、これらの手法による蛋白質結合性尿毒素の除去効率に関する臨床報告は皆無であり、数種類の蛋白質結合性尿毒素を対象に、*in vitro* 透析実験において透析液に活性炭を添加することで蛋白質結合性尿毒素のクリアランスが上昇したことが報告されているのみであった [J Am Soc Nephrol. 18:868, 2007]。従って、HD 導入患者体内からの蛋白質結合性尿毒素の除去における、透析液に結合剤を添加した HD (以下、結合剤添加 HD) の有用性は未だ不明な点が多く残されており、*in vitro*、*in vivo* 両面から更なる検討を行う意義が十分にあるものと考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究において研究代表者は、まず結合剤添加 HD により蛋白質結合性尿毒素の効率的除去が可能となるかを *in vitro* 実験系により速度論的に検討することを目標に定めた。また、*in vitro* 実験系により蛋白質結合性尿毒素の効率的除去が確認された場合には、実験動物を用いた血液透析モデルを用いて、*in vivo* においても同様の効率的除去が認められるかも検証すること、および蛋白質結合性尿毒素が除去されたことによる血管障害の改善効果が認められるかについても検証することも目標に設定した。

### 3．研究の方法

研究開始当初は、*in vitro* 実験系として一般的なペリスタリックポンプを用いて、臨床使用されるダイアライザー（旭化成社製 APS 15SA）に 5%アルブミン溶液（模擬血液）および透析液を灌流させる回路を用いて検討を進めていたが、透析液流量や濾過量のコントロールに難渋した。研究 2 年目に、附属病院で透析装置の交換があり、臨床使用されている透析装置を実験用に入手することが出来たため、この透析装置を利用した検討に切り替えた。

検討対象の蛋白結合性尿毒素としては IS、CMPF、p-クレシル硫酸等を選択した。また、透析液に添加する結合剤としては研究当初に予定していた活性炭に加え、ヘキサデシル基結合セルロースやシクロデキストリンなども検討した。

### 4．研究成果

研究期間を通じ、*in vitro* 実験系を用いて種々の結合剤添加時の蛋白結合性尿毒素の除去効率を測定することを試みたが、適切な実験条件設定に難渋し、蛋白結合性尿毒素の効率的な除去が可能となるか否かについて十分な検証をするには至らなかった。しかし、今後さらに検討を進めることで、蛋白結合性尿毒素の効率的な除去を可能とする新たな血液浄化療法の構築に繋がる基礎的知見を得ることが出来ると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takada T, Yamamoto T, Matsuo H, Tan JK, Ooyama K, Sakiyama M, Miyata H, Yamanashi Y, Toyoda Y, Higashino T, Nakayama A, Nakashima A, Shinomiya N, Ichida K, Ooyama H, Fujimori S, Suzuki H	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of ABCG2 as an Exporter of Uremic Toxin Indoxyl Sulfate in Mice and as a Crucial Factor Influencing CKD Progression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-29208-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto K, Asano S, Yamamoto T, Toyono T, Yamaguchi R, Okada Y, Okugawa S, Suzuki H, Moriya K, Aihara M	4. 巻 26
2. 論文標題 Poor Penetration of Cefcapene Into Aqueous Humor After Oral Administration of Cefcapene Pivoxil to Patients Undergoing Cataract Surgery.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 312-315
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jiac.2019.08.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yamamoto T, Ogiue N, Miyata Y, Suzuki H
2. 発表標題 Quantitative prediction of drug removal rate by hemodialysis based on the permeation clearance of hemodialyzer.
3. 学会等名 15th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田龍平, 宮田大資, 豊田優, 山梨義英, 山本武人, 鈴木洋史
2. 発表標題 腸管と腎・尿細管のクロストーク：吸収から物質輸送まで 腸管・腎尿細管の尿酸輸送と高尿酸血症
3. 学会等名 第50回日本消化吸収学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平田純生, 竹内裕紀, 古久保拓, 大野能之, 山本武人	4. 発行年 2020年
2. 出版社 株式会社じほう	5. 総ページ数 899
3. 書名 腎不全と薬の使い方Q&A 第2版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----