

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009年～2011年

課題番号：21591062

研究課題名（和文） 腹膜透析被嚢性腹膜硬化症の機序解明と予防薬開発

研究課題名（英文） Research for the progression of encapsulating peritoneal sclerosis

研究代表者 角田 隆俊 (KAKUTA TAKATOSHI)  
東海大学・医学部・准教授

研究者番号：50276854

## 研究成果の概要（和文）：

腹膜透析液による腹膜障害を軽減する薬剤としてピリドキサミンの効果を評価する研究を行っている。腎不全ラットに腹膜透析液を繰り返し腹膜透析液を注入し腹膜障害を起こしたモデルラットにピリドキサミン内服投与を行ったが、腹膜障害の程度が軽微すぎるなどの理由で十分に効果を証明することができなかった。現在、腹膜障害を起こすメチルグリオキサールをより多く透析液に追加する、ピリドキサミンの内服量を増量するなどして再実験を行っている。少人数の腹膜透析患者に対するピリドキサミンの薬物動態の検討も行ったが、ピリドキサミン内服後血中、次いで腹腔内のピリドキサミン血中濃度が上昇することを確認できた。

## 研究成果の概要（英文）：

This study is to assess the efficacy of pyridoxamine against the peritoneal damage under induced by the peritoneal dialysis fluid. We administered pyridoxamine to the peritoneal damage and renal failure model rat. However, we couldn't prove this efficacy of the drug from some reasons, for example, rather minor damage of the peritoneum. We are currently on the re-experiment. Which intends to induce more damage on the peritoneum raising the dose of methylglyoxal, one of the Glucose degradation products. Concurrently, raising the dose of pyridoxamine to make the effect of pyridoxamine more definite. We also examined the pharmacokinetics of the drug with a small number of chronic renal failure patients on peritoneal dialysis. The pyridoxamine concentration in blood and subsequently, concentration of the drug in the peritoneal dialysis fluid effluent raised.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：ピリドキサミン、腹膜透析、最終糖化産物、カルボニル化合物、メチルグリオキサール

## 1. 研究開始当初の背景

腹腔内に直接透析液を注入して行う腹膜透析は血液透析と比べて、透析施設に通う頻度が少なく済む、残腎機能が残りやすいなど利点の多い方法である。しかし、5年以上くらい長期間それを続けていると、腹膜に慢性炎症、線維化を来し、除水能が低下してくる。さらに、被嚢性腹膜硬化症(EPS: encapsulating peritoneal sclerosis)という、腸管などの腹腔内臓器がこの線維組織で癒着しあい、一塊となって、腸閉塞などを引き起こす、致命的な合併症を起こすこともあり、医療者にとっても、患者にとっても強い不安要素となっている。透析液に含まれるブドウ糖などが変性してできたブドウ糖分解産物(GDP: glucose degradation products)、それにより蛋白質などが変質した終末糖化産物(AGE: advanced glycation end products)が EPS の原因の一つであることがわかっている。

## 2. 研究の目的

我々は、この GDP や AGE を減少されることが腹膜変性の予防につながると考え、これらの産生を阻害するピリドキサミンについて検討を行っている。2005 年にピリドキサミンの腹腔内投与で、ラットの腹膜透析液による腹膜障害が軽減されることを確認し、専門誌に発表した。ヒトへの臨床応用に向け、引き続きラットの腹膜障害モデルや、ヒトでの検討を行っていくが、現在行っているのはピリドキサミン経口投与によって腹腔内投与を行ったときと同様に腹膜障害軽減効果を得られるかの検討である。

## 3. 研究の方法

腹膜透析液を投与し腹膜障害を起こしたラットにピリドキサミンの経口投与を行い、腹膜の機能や形態的变化、ピリドキサミンの薬物動態や血中、腹腔内の GDP や AGE を減少させるかなどを検討する。

## 4. 研究成果

まず、予備実験として内服したピリドキサミンが血中、腹腔内に達し、GDPs 濃度を低下させるかの検討をラットにて行った。その結果、ピリドキサミン内服によって、ピリドキサミンの血中、腹腔内濃度は上昇し、GDPs も消去しうることが確認できた(図1、図2)。

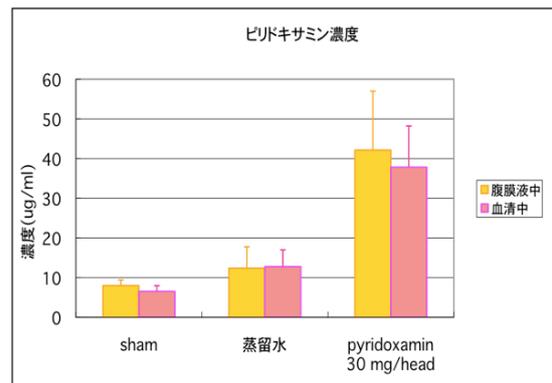


図1: pyridoxamine 30mg/body 内服後の血清、腹膜透析液中 pyridoxamine 濃度。

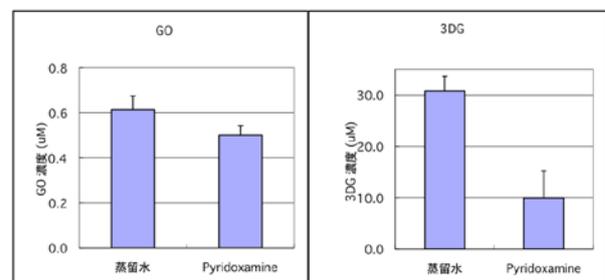


図2: control の蒸留水と pyridoxamine 30mg/body 内服後の腹膜透析液中 GO(glyoxal) と 3DG(3-deoxyglucosone)の濃度の変化

5 週齢 SD 系ラットを用い、腹膜透析液を繰り返し腹腔内投与を行うことによって腹膜障害を起こした腹膜障害モデルラットを用いて、検討を行った。なお、腹膜障害を際立たせるために GDP の一種であるメチルグリオキサル(MGO)をこの透析液に混入している。

まず、予備実験と同様にピリドキサミン内服により血中、腹膜透析液中のピリドキサミン濃度が上昇し、GDP や AGE が減少するかを検討したが、ピリドキサミン内服のタイミングが悪く、有意な結果を得ることができなかった。

腹膜障害を来すと、腹膜下層の肥厚を来すが、この肥厚を検討した。しかし、ピリドキサミン内服による有意な肥厚の改善は認めなかった。

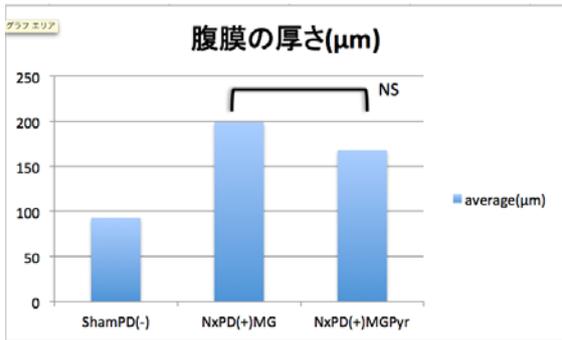


図3：各群の腹膜肥厚の程度。  
 (ShamPD(-)：腎臓摘出を行わず、腹膜透析も行っていない群、NxPD(+)/MG：5/6腎摘を行い、MG0 5mM/L 入りの腹膜透析液を腹腔内投与した群、NxPD(+)/MGPyr：NxPD(+)/MGと同条件のラットにピリドキサミン 15mg/body/day を投与した群、以下のグラフの同様)

腸間膜の炎症性サイトカインTGFβ1などの mRNA 発現を検討した。しかし、予想に反してピリドキサミン内服群で TGFβ1 mRNA の発現減少を観察することはできなかった(図4)。VEGF、FGF2、TNFαについても同様であり、ピリドキサミンを屠殺当日に内服させなかったことに関係していると考えた。

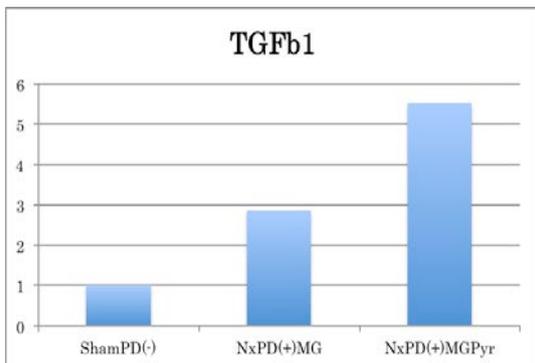


図4：各群の腸間膜 TGFβ1 mRNA 発現。

腹膜障害が進行すると、腹膜の毛細血管が増加しブドウ糖などの浸透圧物質の吸収が亢進し、除水能力が低下する。これを評価する方法として臨床でも行われている腹膜機能検査を行った。

血中と腹膜透析液中の尿素窒素、クレアチニン、グルコースを測定して各々計算される、D/Pクレアチニン(D/P Cre)、D/Purea、D60/D0glucose という指標が用いられる。

D/Pcre と D/Purea は腹膜透析が長くなり、除水機能が落ちてくると上昇し、D60/D0 glucose は低下する傾向があるが、これでもピリドキサミンの抑制効果は見られなかった(図5)。

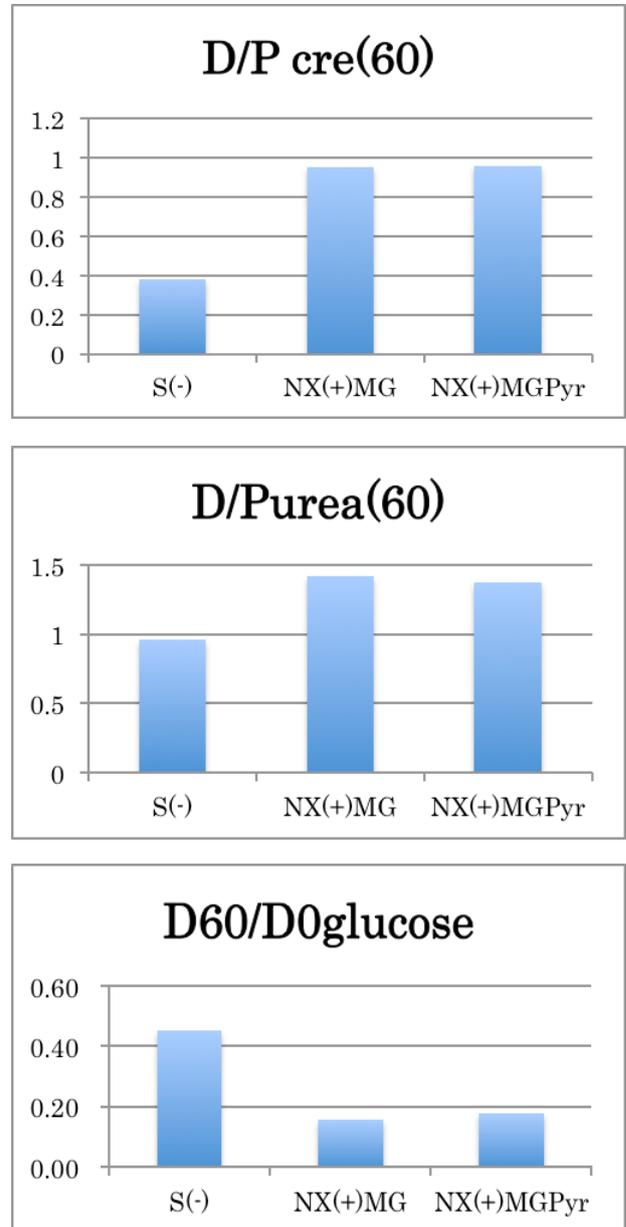


図5：腹膜機能検査

この除水能低下の一因として、腹膜の毛細血管の増加が挙げられるため、腸間膜の血管とリンパ管を免疫染色し、その数の群間の変化を検討した。

これでもピリドキサミンによる有意な変化を認めなかった(図6)

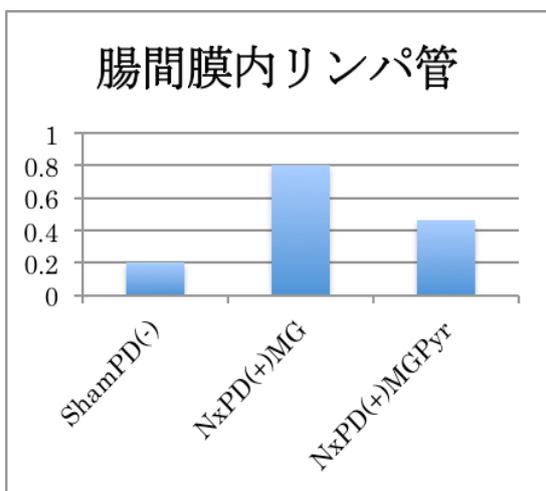
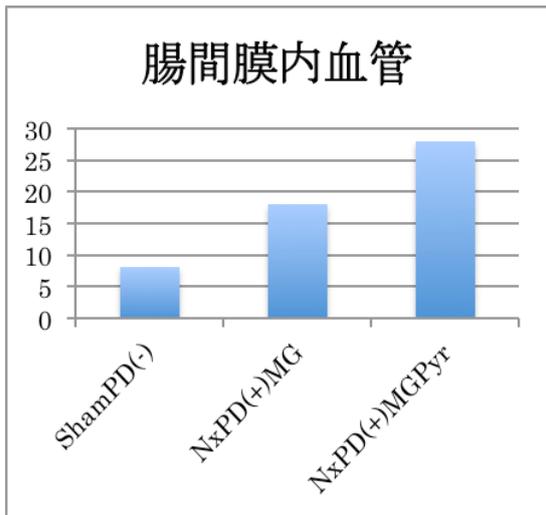
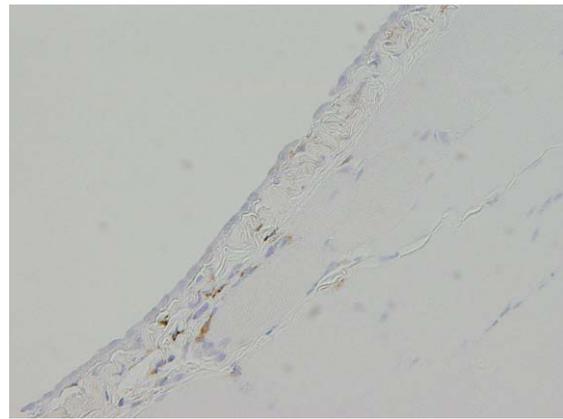


図 6：各群の腸間膜中の顕微鏡観察(x200)一視野あたりの血管、リンパ管数の変化

炎症、線維化、血管新生の指標として  $TGF\beta 1$ 、 $TNF\alpha$ 、 $FGF2$ 、 $VEGF$  について免疫組織学的評価を行ったが、いずれも治療群、非治療群間で明らかな差は無かった(図 7)



Sham



NxPD(+),MG



NxPD(+),MGPyr

図 7：免疫組織学的評価、腹膜、 $FGF2$  染色。

十分に効果を証明することができなかったのは、ラットモデルの腹膜障害の程度が軽微であったためと、ピリドキサミン内服のタイミングが不相当であったためであると考えた。このため、MGO を増量し、またピリドキサミンの量も増量し、再実験を行っている。少人数の腹膜透析患者に対してピリドキサミンの薬物動態の検討も行ったが、少なくともピリドキサミン内服後に血中、続いて腹腔内のピリドキサミン濃度も上昇することが確認できた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

T. Kakuta, R. Tanaka, T. Hyoudou, H. Suzuki, G. Kanai, M. Nagaoka, H. Takahashi, N. Hirawa, Y. Ogushi, T. Miyata, H. Kobayashi, M. Fukagawa, A. Saito  
Effect of Sevelamer and Calcium-Based Phosphate Binders on Coronary Artery Calcification and Accumulation of Circulating Advanced Glycation End

Products in Hemodialysis Patients  
Am J Kidney Dis 査読有 2011 57(3)P. 422-431

6. 研究組織

(1) 研究代表者

角田 隆俊 (KAKUTA TAKATOSHI)  
東海大学・医学部・准教授  
研究者番号：50276854

(2) 研究分担者

田中 礼佳 (TANAKA REIKA)  
東海大学・医学部・講師  
研究者番号：10372947