

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461256

研究課題名(和文)カルボニルストレス軽減・腹膜透析患者腹膜庇護薬「ピリドキサミン」の開発

研究課題名(英文) Examination of pharmacokinetics and pharmacodynamics of pyridoxamine as a protective agent of peritoneal membrane

研究代表者

角田 隆俊 (KAKUTA, Takatoshi)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：50276854

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：カルボニル・ストレスの阻害薬であるピリドキサミン(PM)は、腹膜透析(PD)患者の腹膜ろ過機能の低下を軽減する事が知られている。実際に、PMを経口投与した腎不全ラットでは腹膜の劣化(小分子透過率の上昇、血管とリンパ管の増生、最終糖化産物の増加等)が軽減されていた。PMの薬物動態と薬力学を検討するため、PD患者へPMを経口投与して、その動態を観測して対照健常者群と比較すると共に、腹腔内透析液の総カルボニル濃度を測定してPM投与による有意な濃度低下を検出した。今回の研究で、PMの内服によるカルボニル・ストレス軽減と腹膜保護効果が確認され、その薬物動態と薬力学が明らかにされた。

研究成果の概要(英文)：Peritoneal membrane dysfunction and ultrafiltration failure are ameliorated by administration of pyridoxamine (PM), an inhibitor of carbonyl stress. The present study examined the pharmacokinetics and pharmacodynamics of PM given orally to uremic rats and to patients on peritoneal dialysis (PD). Rats were suffered subtotal nephrectomy plus 3 weeks of daily PD with daily gavage of 50 mg PM. The increase in small solute transport, mesenteric vessel densities and circulating pentosidine were mitigated in PM treated group in comparison with non-treated control. In human study, six patients undergoing PD were given a single oral dose of 600 mg PM. Pharmacokinetics was compared to that of eight healthy adults. The pharmacodynamics was assessed by the total carbonyl content in PD effluent. Total carbonyl levels decreased significantly compared with the PD effluent from the same patients without oral PM. In conclusion, PM ameliorates peritoneal carbonyl stress and thus protects the peritoneum.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：腹膜透析 腹膜保護 ピリドキサミン 内服薬 カルボニル・ストレス

1. 研究開始当初の背景

腹膜透析は操作が比較的容易で、医療スタッフの居ない自宅や職場などでも本人や家族により安全に行うことが可能で、コストも安価に抑えることができる。しかしながら、少なからぬ患者が腹膜透析開始後数年のうちに腹膜の劣化と過機能の低下により腹膜透析を断念する事態に陥る。この時、血中の尿毒素と透析液（腹膜カルボニルストレス）に由来する反応性カルボニル合成物（RCO）の蓄積により、腹膜内に毛細血管が増生し、元からあった血管も構造変化を起こすことで腹膜の血管表面積が増大することが知られている。RCO はタンパク質とのアミノカルボニル反応により終末糖化産物（AGE）を生成して腹膜の不可逆的な変性を引き起こすと共に、VEGF などの成長因子やサイトカインあるいは NO 合成酵素などを増加させ、腹膜における血管新生の増悪を促進していると考えられている。

ピリドキサミン（PM）はビタミン B6 のアイソフォームであり、RCO を吸着してカルボニルストレスと AGE の生成を抑制することが知られている。既に私たちは腎不全ラットの腹膜透析治療の際に PM を投与することにより、腹膜の機能改善と変性の抑制が見られることを報告している（Kakuta, 2005）。また、国外のグループで腹膜透析患者へ PM を投与した報告もあるが、臨床応用に不可欠な PM の薬物動態と薬力学については詳細な検討はなされていない。

2. 研究の目的

今回の研究では、腎不全ラットと腹膜透析患者に PM を経口投与することで、腎不全において蓄積されているカルボニルストレスや AGE を軽減できるか、また腹膜透析液中のカルボニル関連物質を減少させることができるかどうかを検証することを主目的とする。また、健常者では経口投与された PM は速やかに尿中に排泄されるも、血液中でカルボニルストレスを軽減しながら代謝されることが確認されているが、腎不全患者での薬物動態は検証されていない。現状でも安全性の高い治療薬であるが、臨床第 2 相試験を行う前に、無尿である腎不全患者、特に腹腔内に透析液の存在する腹膜透析患者において PM がどのような動態をとるのか、血液および透析廃液で確認していくことも行う。また、腹膜透析患者における PM の代謝・分解・排泄など薬力学的な研究も同時に検討していく。

3. 研究の方法

(1) 腎不全ラットへの PM 経口投与

7 週齢の SD ラットを 5/6 腎摘により腎不全とし、さらにカテーテルに繋いだラット-o-ポートを腹腔内に留置して腹膜透析の準備を行った。腹膜透析は、1 日に 2 回、カテーテルを通じて 30ml ずつの透析液の注入を行っ

た。腹膜のダメージを促進するために、透析液には代表的な RCO である 10mM のメチルグリオキサールが添加された。実験群（NxPM）には 1 匹当たり 50mg の PM を含む水を 1 日 1 回、胃管投与した。対照群（NxPD）とシャム群（腎摘なし、腹膜透析なし）には、同量の水を同様に投与した。3 週間の腹膜透析の後、腹膜平衡機能検査を行い、血液と組織を採取して機能、形態および生化学的な検査を行った。以上の実験は東海大学動物実験委員会の承認と指導の下に行われた。

(2) 腹膜透析患者への PM 経口投与

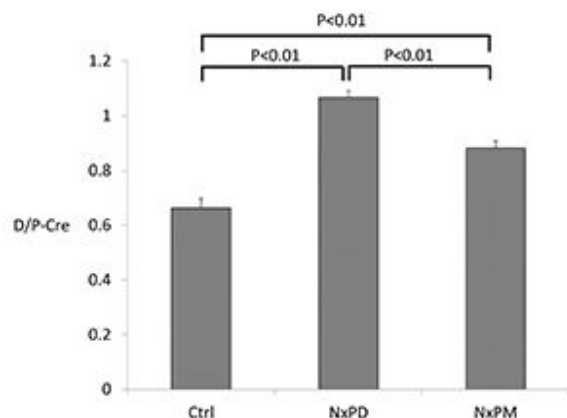
維持療法として腹膜透析を受けている末期腎不全患者 6 名（男性 1 名、女性 5 名、36～57 歳）および健常者ボランティア 8 名は事前にインフォームドコンセントを受けている。腹膜透析患者は 1 人当たり PM 600mg の経口投与を受けた後、6 時間の透析液滞留（腹膜透析）を連続 4 回行い（計 24 時間）この間に血液、尿、透析廃液を採取し、薬物動態と薬力学の測定を行った。別の日に同じ患者に対して PM の投与無しで同じスケジュールの腹膜透析を行って検体採取を行い、対照データとした。健常者に対しては 1 人当たり PM 600mg を経口投与して血液サンプルを経時的に採取し、薬物動態の測定を行った。以上の試験はヘルシンキ宣言に基づき、東海大学臨床研究審査委員会の承認と指導の下に行われた。

4. 研究成果

(1) 腎不全ラットへの PM 経口投与の効果

経口投与した PM は 1 時間後には血中および透析廃液中に検出され、その濃度は共に 20 μg/ml を超えていた。また、投与 3 週間後の腹膜クレアチニン透過率の上昇は、PM 投与群（NxPM）では非投与群（NxPD）に対して有意に抑制されており、腹膜機能を維持されていることが示された（下図）。

図. 腎不全ラットの腹膜クレアチニン透過率

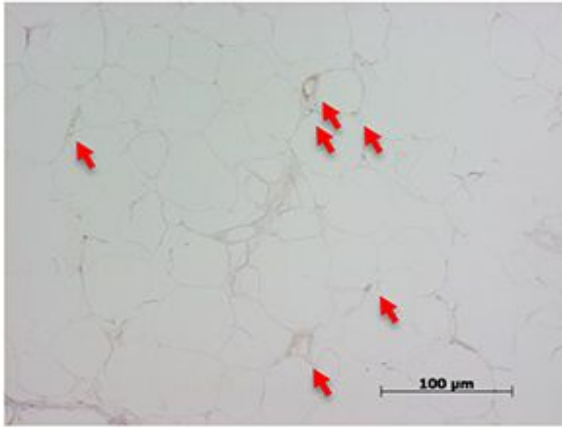


また、中皮下基質層（SML）の肥厚の測定では、PM 投与群（NxPM）と非投与群（NxPD）で差は

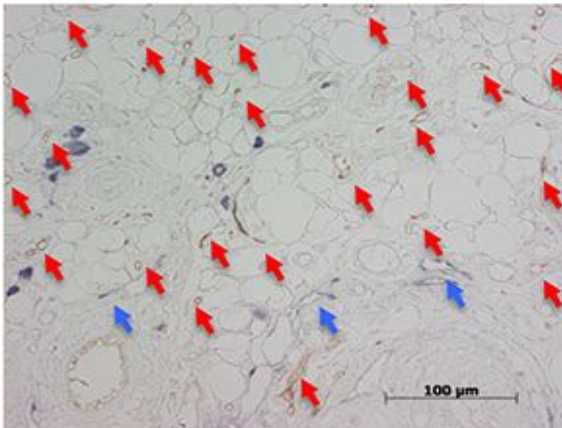
見られなかったが、腸間膜での血管とリンパ管の密度の増加は PM 投与群(NxPM)では有意に抑制されていた(下図)。

図 .ラット腸間膜で検出された血管(赤矢印)とリンパ管(青矢印)の分布

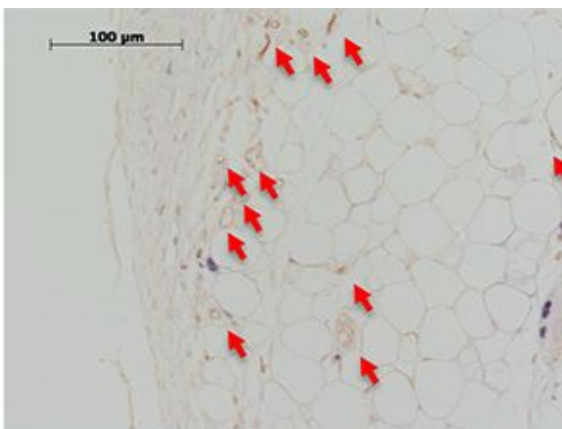
シャム



PM 非投与群(NxPD)



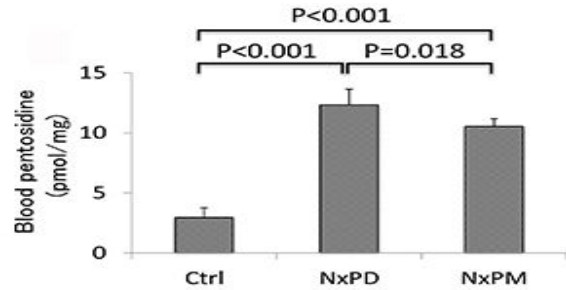
PM 投与群(NxPM)



さらに、代表的な AGE であるペントシジンの血中濃度を測定したところ、PM 投与

群(NxPM)において有意な抑制が観察された(下図)。

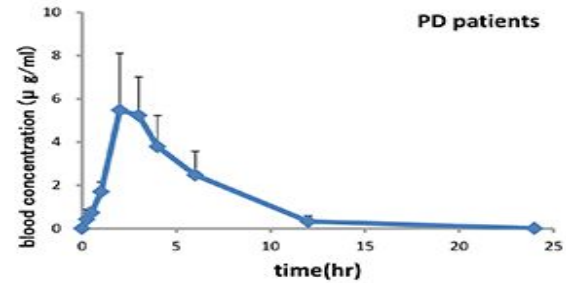
図. ペントシジンの血中濃度



以上の結果から、PM の経口投与により腎不全ラットにおける AGE の蓄積と腹膜の変性が軽減されることが明らかになった。

(2) 腹膜透析患者への PM 経口投与の効果
経口投与した PM の血中濃度を追跡し、薬物動態を検討した(下図と表)。透析患者の血中ピーク濃度は健常者の 1.7 倍であり、濃度-時間曲線の下面積は健常者の約 3 倍であった。

図. 経口投与した PM の薬物動態
腹膜透析患者の PM 血中濃度の変化



健常者の PM 血中濃度の変化

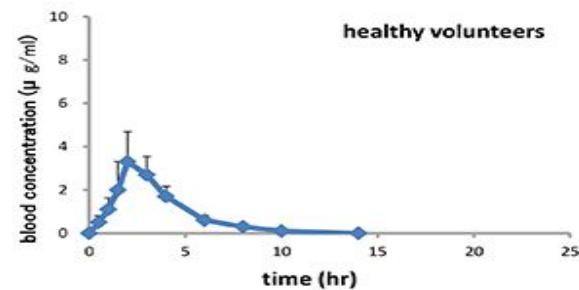


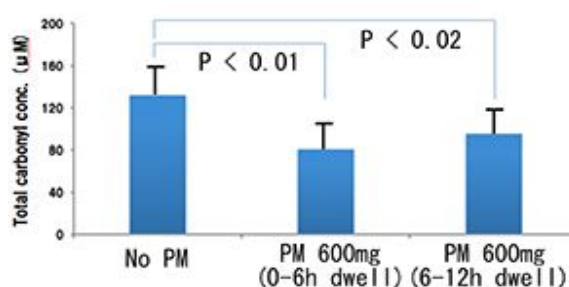
表. PM の薬物動態

	ピーク濃度 (μg/ml)	ピーク時間 (hr)
健常者	3.70 ± 1.04	2.44 ± 0.82
透析患者	6.28 ± 2.45	2.50 ± 0.55

	血中濃度 下面積 (μg·hr/ml)	時間曲線 半減期 (hr)
健常者	10.90 ± 1.30	1.32 ± 0.16
透析患者	30.10 ± 11.4	1.95 ± 0.18

また、透析廃液の解析から、PM 経口投与の 0-6 時間後で 1.8 μg/ml、6-12 時間後に 0.51 μg/ml の PM が透析廃液中に検出された。PM の薬力学的検査として透析廃液中の総カルボニル濃度を測定したところ、PM の経口投与により、投与後 0-6 時間および 6-12 時間に腹腔内に滞留した透析廃液中の総カルボニル濃度が有意に減少していることが明らかになった(下図)。

図．透析廃液中の総カルボニル濃度



以上のように、腹膜透析患者および健常者における PM の薬物動態とカルボニルストレスに対する薬力学的検討が行われ、腹膜保護薬としての PM の有効性が確認された。今後は内服薬としての臨床への適用について検討する予定である。

<引用文献>

Kakuta T, Tanaka R, Satoh Y, Izuhara Y, Inagi R, Nangaku M, Saito A, Miyata T. Pyridoxamine improves functional, structural, and biochemical alterations of peritoneal membranes in uremic peritoneal dialysis rats. *Kidney Int.* 2005; 68: 1326-1336.

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)

Mori Y, Kakuta T, Miyakogawa T, Takekoshi S, Yuzawa H, Kobayashi H, Kawakami A, van Ypersele de Strihou C, Fukagawa M. Oral administration of pyridoxamine lower peritoneal carbonyl stress in uremic rats. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2016 in press.

[学会発表](計1件)

Yoshitaka Mori. Pyridoxamine as a protective agent against progressive

deterioration of peritoneal function in peritoneal dialysis patients. APCN2014, 2014年5月15日、品川プリンスホテル(東京都)

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

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

(2)研究分担者

深川 雅史 (FUKAGAWA, Masafumi)
東海大学・医学部・教授
研究者番号: 00211516

小林 広幸 (KOBAYASHI, Hiroyuki)
東海大学・医学部・教授
研究者番号: 60195807