

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15326

研究課題名(和文) 血液透析患者の低乳酸・高ケトン血症のメタボロミクスによる解明と個別医療の検討

研究課題名(英文) Metabolomic studies on hypolactatemia and hypoketonemia in hemodialysis patients and on personalized medicine

研究代表者

佐藤 博 (Sato, Hiroshi)

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：60215829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：高効率透析中の患者の代謝応答を血液のメタボロミクスにより観察した。低分子代謝物(乳酸、アラニン、ケトン体など)はNMR法を用い定量し、インスリン定量は血漿の外注検査で、水溶性ビタミンであるビオチンはELISA法および、新規にMS法を開発してインタクトビオチンのみ定量した。糖尿病患者は透析後半に乳酸値が低く、ケトン体(3-ヒドロキシ酪酸)値が高くなる症例を発見した。低血糖でないのにこの症状が観測され、インスリンの透析による流出と関係した。透析中にインスリンと栄養を補充する治療により代謝が回復したことも見出した。透析患者の体内にビオチン代謝物が蓄積し、透析合併症との関連があることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Metabolic responses during hemodialysis (HD) have studied by metabolomics of blood. Low molecules (lactate, pyruvate, alanine, 3-hydroxybutyrate (3-HB), and etc.) were measured by ¹H NMR spectroscopy of dialysate, IRI (blood insulin) was quantified by the CLIA method. Plasma biotin and its metabolites were totally measured by the ELISA method. We developed a new selective method for determination of plasma biotin using UHPLC-MS/MS. We found the group of patients in hemodialysis who had very low values of plasma lactate, pyruvate and alanine, with high values of plasma 3-HB. We have named these conditions as hypolactatemia and hyperketonemia, which often appeared in HD patients with diabetic mellitus. These metabolic profiling in the patients had correlation with plasma insulin removal during hemodialysis session. Biotin metabolites were revealed to accumulate in plasma of HD patients with cramp complications.

研究分野：腎臓内科

キーワード：代謝応答 乳酸 ケトン体 メタボロミクス 糖尿病 ビオチン

科学研究費助成事業 研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

本邦で血液透析を受ける患者のうち糖尿病を持つ患者 (DM) が増え続け、約 4 割を占める。DM 透析患者は 5 年生存率が 5 割と極端に予後が悪い。透析合併症のサルコペニア進行が予後に影響を与えることも指摘されている。我々は DM 患者の血中で乳酸値が正常より低値でケトン体が高値になることを見出した。このエネルギー代謝の偏りは予後に影響すると予想した。

2. 研究の目的

近年いわゆる高効率血液透析では、重要な有機酸、アミノ酸、脂肪酸、インスリンをはじめとするホルモン、水溶性ビタミンなども高効率で漏出する。アミノ酸喪失が長期的貧栄養をもたらす報告はあるが、各回の透析に於ける中～低分子量代謝物および生理活性物質の大量漏出がもたらす、透析治療中に惹き起こされる患者代謝への擾乱はほとんど研究されてこなかった。

糖尿病を持たない透析患者 (non-DM) は透析治療中の乳酸漏出に対する補償反応があり、血中恒常性を保つこと、各患者は固有の反応パターンを示すことを見いだした。この応答結果は個別化医療に結びつく可能性を示した。

一方 DM は導入初期のみ non-DM と同様の補償反応を示すが年ごとに減弱していく。異常な低値を示す患者は予後が悪かった。さらにピルビン酸、アラニンも異常低値を示した。同時にケトン体がパニック値まで跳ね上がる飢餓状態同様の代謝を示すことを発見した。これを“低乳酸・高ケトン体症”と名付けた。この DM 特有の代謝を解明することを

目的とした。

3. 研究の方法

透析中の急速な代謝擾乱に対する応答を、一斉定量可能な NMR 法で多検体測定し、糖・エネルギー代謝系の各人の個別応答特性を定量的に検出した。透析前後だけでなく透析中 1, 2, 3 時間目の血漿と廃液を採取して代謝物の定量を行った。

インスリンについては外注検査で血中値をモニターした。我々はすでにエネルギー代謝の偏りに補酵素水溶性ビタミンであるピオチンが関与することを想定し、透析患者の蓄積と透析による除去の測定を行って来た。ピオチンとピオチン代謝物の全体をアビジン拮抗法 ELISA で測定を行い、透析合併症であるけいれんとの関係を議論した。今回は新しくピオチンのみ (ピオチン代謝物と区別して) を特異的に測定可能な UPLC-MS/MS 法を開発した。

4. 研究成果

透析液に糖濃度が 150 mg/dl 含まれ、実際に低血糖でない状態でも DM 患者がしばしば透析後半に、低乳酸・高ケトン体症という飢餓様の代謝を示した。インスリンの透析前後の測定により、上記代謝がインスリンの透析による除去に関連することが明らかになった。血中の糖を組織に運ばずに筋肉では糖のない飢餓状態となり解糖系が停滞することを示した。飢餓状態は筋肉蛋白をアミノ酸へ異化し糖新生回路に動員する。この代謝は容易にサルコペニアに結びつく。

この異常代謝を回避することが重要になる。この治療としては、透析中にインスリンとアミノ酸の補給、または摂食が効果をもたらすことも我々の試行により導かれた。

ピオチンとピオチン代謝物の動態測定では、透析合併症であるけいれんを持つ患者の血漿中

にビオチン代謝物が大きく蓄積していることが判明した。この結果はビオチンのみを特異的に測定できる新規方法(UHPLC-MS/MS)を開発したことで可能となった。

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 5 件)

Masako Fujiwara, Itiro Ando, Shigeaki Yagi, Manabu Nishizawa, Shiro Oguma, Keisuke Satoh, Hiroshi Sato and Yutaka Imai, Plasma Levels of Biotin Metabolites Are Elevated in Hemodialysis Patients with Cramps. *Tohoku J. Exp. Med.* 2016.239, 263-267 doi: 10.1620/tjem.239.263. 査読あり

Masako Fujiwara, Itiro Ando, Hiroshi Sato, Keisuke Sato and Yutaka Imai. RECENT HAEMODIALYSIS INDUCES FASTING STATE DURING HAEMODIALYSIS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS *Nephrol. Dial. Transplant.* (2016) 31 (suppl 1): i559. doi: 10.1093/ndt/gfw199.05 査読あり

Shigeaki Yagi, Manabu Nishizawa, Itiro Ando, Shiro Oguma, Emiko Sato, Yutaka Imai and Masako Fujiwara. A simple and rapid ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to determine plasma biotin in hemodialysis patients. *Biomed. Chromatog* 2016 30,1285-1290. 査読あり doi:10.1002/bmc.3680.

安藤一郎、藤原正子、佐藤博、佐藤慶祐 高効率透析下における糖尿病患者の代謝変動---NMR メタボロミクス法による観察 第44回宮城県腎不全研究会会誌 2015, p111 査読なし

藤原正子、安藤一郎、今井潤、石田亜希、大槻剛、阿部未奈、宍戸洋 HD中の補液の効果 ~ NMR メタボロミクスによる観察~ 第44回宮城県腎不全研究会会誌 2015, p113 査読なし

[学会発表](計 15 件)

戸恒和人、藤原正子、安藤一郎、宍戸洋、根本直 再吸収補完型透析の開発による糖尿病性透析患者の合併症克服~NMR メタボロミクスを用いて~ 第16回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会、

2017.1.31.つくば産業技術総合研究所

安藤一郎、藤原正子、佐藤博、石田亜希、大槻剛、阿部未奈、宍戸洋 HDにおけるIDPN(経静脈栄養輸液)下の代謝物動態~NMRメタボローム解析を用いて~ 第45回宮城県腎不全研究会 2016.11.20 仙台、東北文化学園大学

藤原正子、安藤一郎、佐藤博、石田亜希、大槻剛、阿部未奈、宍戸洋 オンラインHDFとHDの代謝物動態比較~NMRメタボローム解析を用いて~ 第45回宮城県腎不全研究会 2016.11.20 仙台、東北文化学園大学

藤原正子、安藤一郎、佐藤博、石田亜希、大槻剛、阿部未奈、宍戸洋 透析中の代謝物動態観察によるHDとHDFの比較の試み NMRメタボローム法を用いて 第22回HDF研究会 2016.10.21 甲府富士屋ホテル

Masako Fujiwara, Itiro Ando, Keisuke Sato, Yutaka Imai, Hiroshi Sato ¹H NMR metabolomics of plasma and dialysate from hemodialysis patients--diagnosis of patients with diabetic mellitus. ICMRBS (生体系 NMR 国際会議) 2016.8.23. 京都国際会館

藤原正子、安藤一郎、佐藤博、石田亜希、大槻剛、阿部未奈、宍戸洋 糖尿病患者に対する血液透析中インスリン治療の効果~代謝物動態観察~ 第61回日本透析医学会総会 2016.6.12 大阪

安藤一郎、藤原正子、佐藤博、佐藤慶祐

高効率血液透析下における糖尿病患者の低乳酸・高ケトン体症~NMR法による観察~ 第61回日本透析医学会総会 2016.6.12, 大阪

Masako Fujiwara, Itiro Ando, Keisuke Satoh, Hiroshi Sato, Yutaka Imai, RECENT HAEMODIALYSIS INDUCES FASTING STATE DURING HAEMODIALYSIS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS. ERA-EDTA (欧州腎臓透析移植学会)(国際会議) 2016.5.23, Austria, Vienna

藤原正子、安藤一郎、今井潤、石田亜希、大槻剛、阿部未奈、宍戸洋 HD中の補液の効果-NMRメタボロミクスによる観察 第44回宮城県腎不全研究会 2015,12,3 フォレスト仙台

安藤一郎、藤原正子、佐藤博、佐藤慶祐 高効率透析下における糖尿病患者の代謝変動 NMRメタボロミクス法による観察 第44回宮城県腎不全研究会 2015.12.3 フォレスト仙台

藤原正子、安藤一郎、八木成明、西澤学、小熊司郎、佐藤慶祐、今井潤 透析患者における難分解性ビタミン代謝物蓄積; LC/MS/MSによるビオチン定量、第9回メタボロームシンポジウム 三島国立遺伝研究所 2015.10.1

藤原正子 慢性腎臓病の個別化医療を目指したNMR-メタボリック・プロファイリング ~10年の歩みとこれから~ (招待講演) JASISカンファランス 幕張メッセ国際会議場 2015.9.2

八木成明、西澤学、安藤一郎、小熊司郎、佐藤博、今井潤、藤原正子 透析患者血漿中ビオチン濃度測定: その2 LC/MS/MSによる測定法の開発 28回バイオメディカル分析化学シンポジウム 2015.8.21. 長崎大学

安藤一郎、八木成明、西澤学、小熊司郎、
佐藤博、今井潤、藤原正子 透析患者血
漿中ピオチン濃度測定 その1 - 透析性
痙攣との関係 第28回バイオメディカル
分析化学シンポジウム 2015.8.21. 長
崎大学
藤原正子、安藤一郎、竹内和久、佐藤慶
祐、佐藤博、今井潤 透析中の血中イン
スリンおよびCペプチド値の測定 第60
会日本透析医学会 2015年6月26日パ
シフィコ横浜

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：平成 年 月 日
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：平成 年 月 日
取得年月日：平成 年 月 日
国内外の別：

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 博 (SATO, Hiroshi)
東北大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号：60215829

(2) 研究分担者

藤原 正子 (FUJIWARA, Masako)
東北大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号：10466534