

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08487

研究課題名(和文)慢性腎臓病における代謝性アシドーシスの治療介入がもたらす腎保護機序の解明

研究課題名(英文)Reno-protective mechanism by therapeutic intervention of metabolic acidosis on chronic kidney disease

研究代表者

阿部 倫明(Abe, Michiaki)

東北大学・大学病院・准教授

研究者番号：40400246

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)：本研究における主な発見を以下に記す。

1. アルカリ性化剤介入前後における血漿および尿のLC-MS/MSによる尿毒症物質の定量的メタボローム解析の結果、クエン酸Na・K投与群でインドキシル硫酸・パラクレジル硫酸・アルギニノコハク酸の尿中排泄が増加し、インドキシル硫酸の血中濃度が低下した。
2. クエン酸Na・K投与によって酸性尿の改善が認められたが、特に早朝尿に比べ随時尿のpH改善が大きいほど腎機能は良い傾向が認められた。クエン酸Na・Kは重曹とは異なりアルカリ性化以外の腎保護効果が期待できる可能性が示唆された。今後の慢性腎臓病の新規治療戦略の骨幹となる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、アルカリ性化剤は比較的軽症の慢性腎臓病・軽度腎機能障害から腎保護効果を期待できるということを実証する目的で行われた。しかしながら、現時点では軽症の腎障害を鋭敏かつ適切に評価できる検査指標はない。本研究ではそのような腎障害マーカーの探索も行っている。サンプル保存を維持するため単施設で進められたので、昨年12月で登録患者の検査データの収集が終了した。全研究データはモニタリング・クリーニングなどを経て3月31日に固定された。現在解析中。

研究成果の概要(英文)：The main findings of this study are described below;

1. As a result of quantitative metabolomic analysis of uremic toxins by LC-MS/MS of plasma and early-morning urine before and after alkalinizing agent intervention, urinary excretions of indoxyl sulfate, paracresyl sulfate and argininosuccinic acid were increased in Na/K citrate administration. And plasma levels of indoxyl sulfate was decreased.
2. The improvement of aciduria was observed by the administration of Na/K citrate, the renal function tended to be better as seen in the pH improvement of the spot urine was larger than that of early-morning urine. Na/K citric could be expected different mechanisms on renal protection effect other than alkalization from Na bicarbonate. It is considered this would be a new main stream of therapeutic strategies for chronic kidney disease.

研究分野：腎臓内科

キーワード：慢性腎臓病 酸性尿

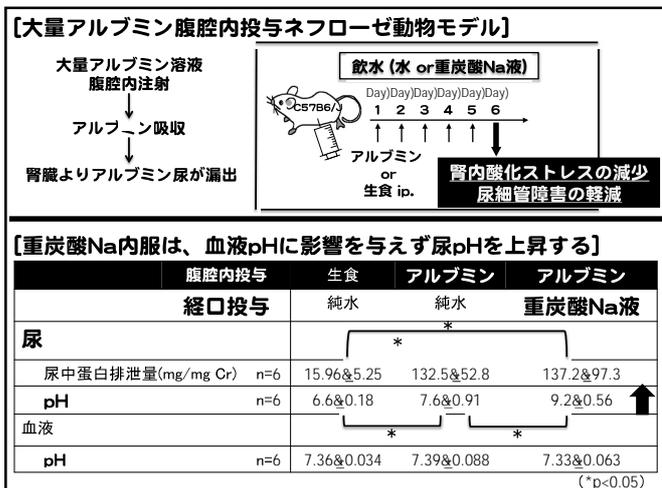
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦における CKD 患者は 130 万人と推計され、日本人の成人の 8 分の 1 にも匹敵する。CKD は加齢や生活習慣病を背景に進行し、高齢者人口率の高い先進国では深刻な問題となっている。CKD は末期腎不全・透析導入のみならず脳心血管疾患、死亡のリスクにもなっている。腎臓における Strain Vessel の傍髄質部輸入細動脈が障害されると、最初に尿中アルブミン排泄が増加する [Hypertens Res. (2009)32;115-21]。健常者でも糸球体濾過されるアルブミン量は 1 日 200~9000mg と推定される [Kidney Int. (2006) 69;440-9]。生理的な微量アルブミン尿は 30mg/日未満と定義され、残りのほとんどの原尿中のアルブミンは、尿細管上皮細胞のエンドサイトーシス受容体 (Megalin・Cubilin 複合体等) に結合して細胞内に取り込まれ [J Biomed Biotechnol. (2010)403272]。尿細管細胞に取り込まれ処理される過程で酸化ストレスが産生する [Kidney Int. (2006)70;724-731]。従って、微量でもアルブミン尿の増加は CKD 患者で脳心血管障害のリスクとなり、また尿細管障害の予測マーカーにもなる [Circulation (2005)112;969-975, JAMA (2001)286;421-426]。

腎不全では尿細管上皮に発現する有機アニオン輸送体が減少し、生体内で産生された老廃物や代謝物が尿中排泄されにくくなり体内に蓄積する [J Am Soc Nephrol. (2009)20;2546-2555, Proc Natl Acad Sci USA. (2004)101;3569-3574, Am J Physiol Renal Physiol. (2003)285;F1188-F1197]。この老廃物や代謝物は尿毒症物質と呼ばれ、不揮発の酸性物質であり代謝性アシドーシスの原因となる。不揮発酸の尿中排泄は尿を酸性化するため、代謝性アシドーシスは酸性尿を増強する。酸性尿は CKD の予測因子となるが [Kidney Blood Press Res. (2012)35; 77-81]、代謝性アシドーシスや酸性尿の改善が CKD の治療となるかどうかは未だ不明である。尿細管内 pH は、近位尿細管刷新縁と細胞内の炭酸脱水酵素により糸球体濾過された重炭酸イオンが再吸収され、また遠位尿細管管腔側の NH₄⁺/Na⁺交換輸送体によりアンモニアが排泄されることにより生理的に酸性化する [Pflugers Arch. (1986)407;245-251]。糸球体濾過後の原尿は血清と同じ pH 7.4 であるが、近位尿細管遠位部で pH 6.5、遠位尿細管で pH 5.9 にまで低下する。また酸性尿は補体活性化を介し CKD を進行させる可能性がある [Front Immunol. (2015)6;00215, J Clin Invest. (1987)80;207-215]。尿毒症物質や高食塩負荷が腎尿細管や動脈内皮における酸化ストレス産生を増加させ [Free Radical Res. (2010)44;101-107, Am J Physiol Renal Physiol. (2006)291;F350- F357]、腎髄質の酸化ストレスが食塩感受性高血圧や腎障害を増悪させ悪循環を形成する [Am J Physiol Renal Physiol. (2015)308;F179-F197, Hypertension (2007)49;1336-1341]。CKD における代謝性アシドーシスは重炭酸イオン 23mEq/L 以上に保つと腎予後が改善する [Am J Kidney Dis. (2014)64;534-541, Am J Kidney Dis. (2013)62;670-678]。重炭酸 Na 溶液によるアルカリ性化療法はある薬物中毒の尿中排泄を促進させる。末期 CKD 患者では重炭酸 Na の内服が透析導入を遅らせるという報告はあるが、腎保護作用機序については未だ不明である [Curr Hypertens Rev. (2014)10;112-20, J Am Soc Nephrol. (2009)20;2075-2084]。

申請者らはアルブミン負荷ネフローゼモデル動物に重炭酸 Na を投与することにより尿中アルブミンの刺激による酸化ストレス産生が低下し腎尿細管障害が予防されることを報告した [J Am Soc Nephrol. (2011)22;635-648]。この過程で慢性的な重炭酸 Na 投与は血液 pH を上昇させることなく尿中 pH を上昇させ安全に酸性尿を改善できる可能性が示唆された。CKD の早期 stage から『CKD 患者において経口アルカリ性化剤が代謝性アシドーシスの改善や酸性尿の軽減を介し、腎保護作用を発揮する』という仮説を立てた。



2. 研究の目的

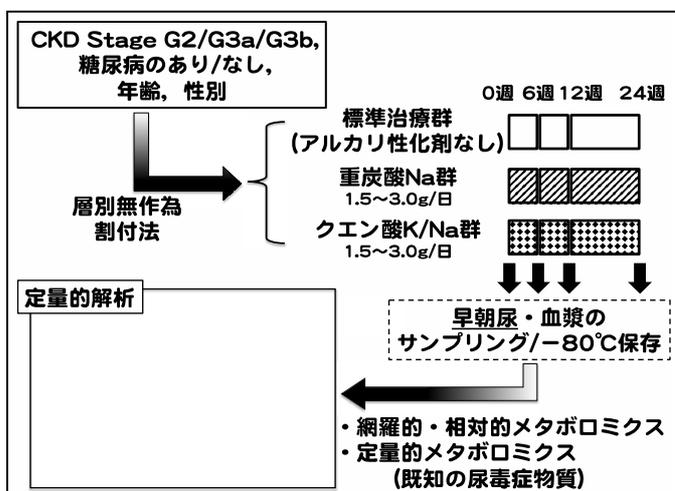
本研究課題では、経口アルカリ性化剤が尿毒症物質等の代謝物を尿中排泄促進（薬物的血液浄化）できるかどうかを検証し、その腎保護作用機序を病態生理学的に解明したい。

3. 研究の方法

本邦で安全性の確立されている2種類の経口アルカリ性化剤（重炭酸 Na とクエン酸 K/Na）を投与し標準治療群と比較する単施設 RCT コホート研究『慢性腎臓病における経口アルカリ性化剤による腎保護効果の検討(CKOALA 研究)/臨床研究登録 UMIN-ID:000010059, jRCTs021180043』を研究中である（現在、登録・コホート追跡終了）。本研究は東北大学病院倫理委員会と東北大学利益相反マネジメント委員会の承認の下、2014年3月より開始した。

『慢性腎臓病における経口アルカリ性化剤による腎保護効果の検討(CKOALA 研究)』	
研究デザイン	コホート研究，並行群間ランダム化比較試験
対象	酸性尿のある CKD 患者(stageG2,G3a,G3b)，年齢 20 歳以上・81 歳未満
割付け方法	年齢・性別・糖尿病有無・eGFR による層別無作為化法
群分け，目標登録数	標準治療群，重曹群，ウラリット群の3群，各群 50 名，計 150 名
サンプル準備	投与前(0 週),6 週,12 週,24 週の4点、早朝尿と血漿
サンプル採取，保管	採取直後に連結可能匿名化、二重に鍵付きの-80℃冷凍庫で保管

患者に説明後同意の得られた匿名化サンプル(早朝尿と血漿，-80℃で保存)についてメタボローム解析を施行。ヒトの匿名化サンプルを二次利用として解析に使用するため、新たに『慢性腎臓病における経口アルカリ性化剤による腎保護効果の検証に関する付随研究 尿中メタボローム解析・血中メタボローム解析』を研究計画した。早朝尿と血漿についてメタボローム解析 [Semin Nephrol. (2014)34;180-190]を施行し、経口アルカリ性化剤の介入後に尿中排泄が増加し、血漿蓄積が減少(薬物的血液浄化)する尿毒症物質や未知の体内代謝物を定量的に同定した。



4. 研究成果

(1) アルカリ性化剤介入前後における血漿および尿の LC-MS/MS による尿毒症物質の定量的メタボローム解析の結果、クエン酸 Na・K 投与群でインドキシル硫酸・パラクレジル硫酸・アルギニノコハク酸の尿中排泄が増加し、インドキシル硫酸の血中濃度が低下した。(2) クエン酸投与によって酸性尿の改善が認められたが、特に早朝尿に比べ随時尿の pH 改善が大きいほど腎機能は良い傾向が認められた。クエン酸は重曹とは異なりアルカリ性化以外の腎保護効果が期待できる可能性が示唆された。今後の慢性腎臓病の新規治療戦略の骨幹となる可能性が考えられた。これらの結果について論文作成中。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 19 件)

英文 (* Corresponding author)

1. Akaishi T, Kiyomoto H, Abe M*, Okuda H, Ishizawa K, Endo T, Miyata M, Nakayama K, Ito S, Tominaga T, Ishii T. A 29-year-old Woman with Recurrent Pregnancy-induced Hypertension Based on Vascular Compression of the Medulla Oblongata. Intern Med. 58; 2257-2261 (2019). doi: 10.2169/internalmedicine.2382-18. 査読あり

2. Akaishi T, Abe M*, Okuda H, Ishizawa K, Abe T, Ishii T, Ito S. High glucose level and angiotensin II type 1 receptor stimulation synergistically amplify oxidative stress in renal mesangial cells. *Scientific Reports*. 9:5214; 1-7. (2019) doi: 10.1038/s41598-019-41536-z. 査読あり
3. Terminology and Diagnostic Criteria Committee, Japan Society of Ultrasonics in Medicine [Chairperson; Matsuo H, Vice Chairperson; Abe M, Members; Iwashima Y, Odashiro K, Sato H, Takase K, Hirai T, Matsumura M, Miki T]. Standard method for ultrasound evaluation of renal arterial lesions. *J Med Ultrason*(2001). 43:145-162 (2016). doi: 10.1007/s10396-015-0651-3. 査読あり
4. Abe M*, Soga T, Obana N, Seiji K, Tabata M, Saito N, Arita R, Numata T, Tanaka J, Kuroda H, Takayama S, Kagaya Y, Ishii T. Recommendation of Repeated Ammonia Tests for Intrahepatic Portal-Systemic Shunt Without Cirrhosis in Elderly Patients With Psychiatric Symptoms. *J Jpn Clin Med*. 8: 1-4, 2017. Doi: 10.1177/1179066017693597. 査読あり
5. Mishima E, Umezawa S, Suzuki T, Fujimura M, Abe M, Hashimoto J, Abe T, Ito S. Low frequency of cervicocranial artery involvement in Japanese with renal artery fibromuscular dysplasia compared with that of Caucasians. *Clin Exp Nephrol*. 22:1294-1299, (2018). doi: 10.1007/s10157-018-1575-1. 査読あり
6. Akaishi T, Onishi E, Abe M, Toyama H, Ishizawa K, Kumagai M, Kubo R, Nakashima I, Aoki M, Yamauchi M, Ishii T. The human central nervous system discharges carbon dioxide and lactic acid into the cerebrospinal fluid. *Fluids Barriers CNS*. 2019;16. doi: 10.1186/s12987-019-0128-7. 査読あり
7. Abe M*, Araya K, Akaishi T, Miki T, Miki M, Sugawara A, Abe T, Ishii T, Ito S. Long-term assessment of intrarenal blood flow with Doppler ultrasonography for hypertensive patients after percutaneous transluminal renal angioplasty. *Hypertens Res*. 2019 May 31. doi: 10.1038/s41440-019-0272-0. 査読あり
8. Akaishi T, Kobayashi J, Abe M, Ishizawa K, Nakashima I, Aoki M, Ishii T. Sensitivity and specificity of meningeal signs in patients with meningitis. *Journal of General and Family Medicine*. 2019. DOI: 10.1002/jgf2.268 査読あり
9. Ishizawa K, Yamanaka M, Saiki Y, Miyauchi E, Fukushige S, Akaishi T, Asao A, Mimori T, Saito R, Tojo Y, Yamashita R, Abe M, Sakurada A, Pham N, Li M, Okada Y, Ishii T, Ishii N, Kobayashi S, Nagasaki M, Ichinose M, Tsao MS, Horii A. CD45/CD326 Doubly-Positive Cells Exist in Non-Small Cell Lung Cancer: A Possible Predicting Factor for Patient Prognosis. *Clinical Cancer Research* 2019. 査読あり
10. Akaishi T, Takahashi T, Abe M, Aoki M, Ishii T. Consideration of gravity as a possible etiological factor in amyotrophic lateral sclerosis. *Medical Hypotheses* doi: 10.1016/j.mehy.2019.109369. (2019) 査読あり
11. Akaishi T, Abe M*, Miki T, Miki M, Funamizu Y, Ito S, Abe T and Ishii T. Ratio of Diastolic to Systolic Blood Pressure Represents Renal Resistive Index J Human Hypertension. (accepted, 2019) 査読あり
12. Abe M*, Akaishi T, Miki T, Miki M, Funamizu Y, Araya K, Ishizawa K, Takayama S, Takase K, Abe T, Ishii T, Ito S. Influence of Renal Function and Demographic Data on Intra-Renal Doppler Ultrasonography. *PLoS ONE* 14(8): e0221244. doi: 10.1371/journal.pone.0221244 (2019) 査読あり
13. Abe M, Akaishi T, Ishii T. Late Increases in Dialysis initiation After a Massive Disaster. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2021 doi: 10.1111/1744-9987.13498+A18
14. Abe M, Akaishi T, Shoji M, Yamaguchi T, Miki T, Satoh F, Takayama S, Yamasaki S, Kawaguchi K, Sato H, Ishii T, Ito S and CKOALA study group. Reno-protective effects of oral alkalizing agents in chronic kidney disease with aciduria: protocol for a randomized cohort study. *BMC Nephrology* 2020 doi: 10.1186/s12882-020-01807-8.

和文

15. 阿部倫明 腎動脈狭窄「腎と透析」86巻1号p107-113(2019年1月号)。
16. 阿部倫明 全身性疾患 脱水「臨床検査」Vol.62;p541-543(2018年4月)
17. 阿部倫明 全身性疾患 発熱「臨床検査」Vol.62;p544-546(2018年4月)
18. 富野康日己, 原茂子, 丸中良典, 阿部倫明, 鶴岡秀一 酸塩基平衡と生活習慣「腎・高血圧の最新治療」vol.5(4);p193-203(2016年10月)
19. 松尾汎, 阿部倫明, 岩嶋義雄, 小田代敬太, 佐藤洋, 高瀬圭, 平井都始子, 松村誠, 三木俊. 超音波による腎動脈病変の標準的評価法 [日本超音波医学会編]. *超音波医学* 41;389-404, 2014. 査読あり
20. 阿部倫明, 野崎裕之, 中川高, 八木橋真央, 田中淳一, 沼田健裕, 大澤稔, 小野寺浩, 石沢興太, 赤石哲也, 菊地章子, 高山真, 奈良正之, 富田博秋, 石井正. 大学病院総合診療外来の初診患者における構造化面接法によるうつ状態の心理検査の有用性. *日本病院総合診療医学*

- 会雑誌 2018, 14; 556 563 査読あり
21. 熊谷直恵、中山真紀子、内田奈生、工藤宏紀、木越隆晶、松木琢磨、新妻創、高橋俊成、阿部倫明．東北大学病院小児科における Alport 症候群の診断契機と治療効果の検討．日本腎臓学会誌 2018 60(4): 561-566. 査読あり

〔学会発表〕(計4件)

・ Michiaki Abe. Consideration of differences between early morning Urine pH and spot Urine pH on renal function;a first report of “CKOALA” study. International Symposium for Aldosterone and Related Substances in Hypertension (第92回日本内分泌学会総会分科会) 5/11/2019@仙台

・ Michiaki Abe, Daisuke Saigusa, Seizo Koshiba, Osamu Tanabe, Fumitoshi Satoh, Hiroshi Sato, Tadashi Ishii, Sadayoshi Ito and CKOALA study group. Oral alkali supplementation to reduce uremic toxin in early stage CKD patients. ISN Frontiers meetings 23rd Feb. 2018.

・ Tomokazu Souma, Michiaki Abe, Daisuke Saigusa, Hiroshi Sato, Sadayoshi Ito and CKOALA study group. "Oral alkali supplementation to reduce uremic toxin in early stage CKD patients", ASN 2017@New Orleans, 4th Nov.2017.

・ 阿部倫明，三枝大輔，小柴生造，鈴木洋一，田邊修，安田純，佐藤文俊，工藤正孝，佐藤博，森本玲，中道崇，小川晋，清元秀泰，三木俊，高山真，宮崎真理子，石井正，伊藤貞嘉，CKOALA 研究グループ .経口アルカリ性化剤により薬物的血液浄化される尿毒症物質の検討.第60回日本腎臓学会学術総会(2017年5月)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計4件)

特許出願

名称：アルカリ性化剤による血液浄化

発明者：阿部倫明，小柴生造，西岡浩一郎，川口和彦，山崎里美，

権利者：東北大学，日本ケミファ株式会社

種類：

番号：PCT/JP2018/9679

出願年：2018年

国内外の別：国外

名称：尿細管機能維持又は改善剤

発明者：伊藤貞嘉，阿部倫明，小柴生造，西岡浩一郎，川口和彦，山崎里美，寺中康行

権利者：東北大学，日本ケミファ株式会社

種類：

番号：2018-195568

出願年：2018年

国内外の別：国内

名称：腎機能維持又は改善剤

発明者：阿部倫明，小柴生造，西岡浩一郎，川口和彦，山崎里美，寺中康行

権利者：東北大学，日本ケミファ株式会社

種類：

番号：2019-32126

出願年：2019年

国内外の別：国内

名称：アルカリ性化剤を含む新規医薬組成物
発明者：阿部倫明，小柴生造，西岡浩一郎，川口和彦，山崎里美，寺中康行
権利者：東北大学，日本ケミファ株式会社
種類：
番号：2019-119297
出願年：2019年
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等；無し

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：小柴生造
ローマ字氏名：Seizo Koshiba
所属研究機関名：東北大学
部局名：東北メディカル・メガバンク機構
職名：教授
研究者番号（8桁）：70332301

研究分担者氏名：三枝大輔
ローマ字氏名：Daisuke Saigusa
所属研究機関名：東北大学
部局名：東北メディカル・メガバンク機構
職名：講師
研究者番号（8桁）：90545237

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：庄子睦美
ローマ字氏名：Mutsumi Shoji

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。