

CAPD 患者の高 homocysteine 血症に関する検討 —腹膜平衡試験での動態と 1 日除去量—

廣瀬 悟 河野里佳 御手洗哲也 磯田和雄
金 成洙* 下山博身

Hyperhomocysteinemia in CAPD patients : peritoneal transport of total homocysteine at peritoneal equilibration test and daily elimination of total homocysteine

Satoru HIROSE, Rika KONO, Tetsuya MITARAI,
Kazuo ISODA, Songsu KIM*, and Hiromi SHIMOYAMA

Fourth Department of Internal Medicine, Saitama Medical Center, *Yuai Clinic, Saitama, Japan

Peritoneal equilibration tests (PET) were performed in patients on continuous ambulatory and automated peritoneal dialysis (CAPD, APD) to evaluate the peritoneal transport capabilities for total homocysteine (tHcy) and other amino acids. Forty-five patients (24 males, 21 females, 50.6 ± 12.8 years old) maintained on PD for 43.4 ± 30.3 months participated in the study.

PET revealed a markedly lower dialysate to plasma (D/P) ratio of tHcy at 4 hours (0.148 ± 0.047) than those of other amino acids. A significant positive correlation between the D/P ratio of tHcy and the D/P ratio of creatinine was found, as well as between the D/P ratio of tHcy and the D/P ratio of albumin. The most significant positive correlation was found between dialysate and plasma levels of tHcy at 4 hours. There was no difference in the D/P ratio of tHcy between patients with D/P ratios of creatinine higher than the sample median of 0.68 and with D/P ratios of creatinine below 0.68, while the D/P ratios of other amino acids except threonine in the former patients tended to be higher than those of the latter patients. The D/P ratio of tHcy in patients with serum levels of albumin higher than 4.0 g/dl was significantly higher than that in patients with a ratio less than the sample median of 3.9 g/dl, whereas there were no significant differences in the D/P ratios of other amino acids. These observations suggest that the dialysate level of tHcy is primarily affected by the plasma level of tHcy, and that protein-bound Hcy mainly regulates the D/P ratio of tHcy.

Daily peritoneal elimination of tHcy in 20 PD patients was 40.6 ± 28.4 micromol. A significant positive correlation between the elimination of tHcy and plasma level of tHcy was also found. Daily elimination of tHcy in 7 patients with APD tended to be lower than that in 13 patients with CAPD. These findings indicate that the daily peritoneal elimination of tHcy does not compensate for the daily amount of tHcy metabolized in normal kidney, and that other therapies, such as folic acid administration, are required to improve hyperhomocysteinemia in patients on PD.

Jpn J Nephrol 1999 ; 41 : 778-786.

Key words : hyperhomocysteinemia, peritoneal equilibration test, CAPD

緒 言

methionine の代謝過程で産生される homocysteine (Hcy) は、古くから動脈硬化の危険因子として認識されている。

高 Hcy 血症と動脈硬化の関連は、1964 年に cystathionine- β -synthetase 欠損症と解明された¹⁾ homocystine 尿症の病理解学的研究に端を発する。cystathionine- β -synthetase ホモ欠損を代表とする homocystine 尿症患者は、若年で発症

する動脈硬化性疾患や静脈血栓症の合併がきわめて高いことが知られている²⁾。最近ではヘテロ欠損症で軽度の高 Hcy 血症を有する患者でも、高率に血管病変を発生することが疫学的に証明されている³⁾。

このような臨床的意義を有する Hcy は、透析患者や保存期腎不全患者においても血中濃度の上昇が指摘されている。Wilcken らは保存期慢性腎不全患者と HD 患者で cysteine homocysteine mixed disulfide(MDS)として血中 Hcy 濃度の上昇を最初に報告した⁴⁾。その後、様々な方法で血中 Hcy 濃度が測定され、透析患者や保存期慢性腎不全患者に高 Hcy 血症が存在することは異論のない事実となっている⁵⁾。

透析患者や保存期慢性腎不全患者における高 Hcy 血症の成因には、細胞内での生理的な Hcy 代謝障害と腎での Hcy 代謝障害が関与すると考えられる。細胞内では、Hcy は cystathionine に合成される経路と再メチル化されて methionine に戻る代謝経路を持ち、いずれかの障害で高 Hcy 血症が惹起されることになる。一方、腎は Hcy 代謝においても重要な役割を演じており、細胞から血中に放出された Hcy の 70%が腎で代謝され、この一部が尿中に排泄される。したがって、透析患者では腎での Hcy 代謝障害や排泄障害も高 Hcy 血症を助長している可能性がある。

透析患者の高 Hcy 血症を論ずるにあたり Hcy の透析性は重要な問題となる。しかし、HD や CAPD 患者における Hcy の透析性を検討した報告はきわめて少ない。そこで、CAPD 患者を対象に腹膜平衡試験時の Hcy の動態ならびに 1 日除去量を検討した。

対象と方法

1. 対象

埼玉医科大学総合医療センターの外来 CAPD 患者で、検査施行前 6 カ月間に腹膜炎を経験していない 45 名(50.6 ± 12.8 歳, 男性 24 名, 女性 21 名)を対象とした(Table 1)。腹膜透析継続期間は 43.4 ± 30.3 カ月で、慢性腎不全の原疾患は慢性糸球体腎炎 26 名, 糖尿病性腎症 5 名, 腎硬化症 3 名, その他 5 名, および不明 6 名である。対象の血漿総 Hcy 濃度は 35.9 ± 36.6(12.3~207.7) μmol/l であった。血清総蛋白濃度, 血清アルブミン濃度, 血中尿素窒素濃度, および血清クレアチニン濃度は Table 1 に示すごとくである。また, 11 名の患者が automated peritoneal dialysis(APD)を施行していた。

Table 1. Characteristics of 45 peritoneal dialysis patients

	Mean ± SD	Median
Age(year)	50.6 ± 12.8	50.3
Sex(male/female)	24/21	
Duration of peritoneal dialysis(months)	43.4 ± 30.3	41.7
Etiology of chronic renal failure		
Chronic glomerulonephritis	26	
Diabetic nephropathy	5	
Nephrosclerosis	3	
Others	5	
Unknown	6	
Plasma total homocysteine(μmol/l)	35.9 ± 36.6	24.0
Serum total protein(mg/dl)	6.5 ± 0.7	6.5
Serum albumin(mg/dl)	3.9 ± 0.4	3.9
Blood urea nitrogen(mg/dl)	59.2 ± 11.6	57.0
Serum creatinine(mg/dl)	11.2 ± 3.5	10.8

Data are expressed as mean ± SD.

2. 方法

Twardowski らが提唱した⁶⁾腹膜平衡試験を対象の 45 名に施行した。腹腔内に残存する透析液を完全に排液した後に、2.5%ブドウ糖加透析液 2l を正確に 4 時間腹腔内に貯留した。開始時と 4 時間貯留後における血漿と排液中の総 Hcy, アミノ酸, クレアチニン, およびアルブミン濃度を測定し、4 時間後の排液/血漿比(dialysate to plasma ratio : D/P 比)を算出した。さらに、対象患者 45 名中 20 名(54.9 ± 12.4 歳, 男性 11 名, 女性 9 名)における総 Hcy の 1 日除去量を測定した。総 Hcy の 1 日除去量は、すべての排液を液量測定後にタンクに集め、よく混和した一部を検体として測定した。

血漿と排液中の総 Hcy 濃度は山口らの方法⁷⁾を一部変更した DTE(dithioerythritol : 2,3-dihydroxybutane-1,4-dithiol)還元処理によるジスルフィド結合の切断と蛍光誘導体化を組み合わせた HPLC 法で測定し、その他のアミノ酸濃度は ninhydrin 法で測定した。

なお、患者には Hcy の臨床的意義を説明し、定期検査でのサンプル採取に了解を得た。

3. 統計学的処理

tryptophan と aspartic acid は排液中濃度がきわめて低く、測定不能例が多数認められた。これらの測定不能例は、排液中濃度の算出では 0 μmol/l として扱い、D/P 比の算出では除外した。本文中と図表中の数値は平均 ± 標準偏差で表した。直接回帰分析には最小自乗法を、2 群間の比較には unpaired t test を使用した。いずれも両側検定で 5%未満を有意水準とした。

Table 2. Dialysate to plasma ratio of total homocysteine, amino acids, creatinine and albumin at 4 hours in peritoneal equilibration test

	Mean ± SD	Median
homocysteine	0.148 ± 0.047	0.149
tryptophan	0.629 ± 0.493	0.438
aspartic acid	0.413 ± 0.169	0.439
threonine	0.641 ± 0.696	0.528
serine	0.526 ± 0.112	0.521
asparagine	0.585 ± 0.157	0.545
glutamic acid	0.222 ± 0.091	0.218
glutamine	0.588 ± 0.127	0.569
proline	0.562 ± 0.126	0.573
glycine	0.618 ± 0.125	0.619
alanine	0.571 ± 0.137	0.569
valine	0.516 ± 0.117	0.502
cysteine	0.750 ± 0.240	0.726
methionine	0.529 ± 0.136	0.540
isoleucine	0.504 ± 0.128	0.501
leucine	0.481 ± 0.116	0.488
tyrosine	0.521 ± 0.124	0.514
phenylalanine	0.481 ± 0.120	0.463
histidine	0.496 ± 0.124	0.477
arginine	0.569 ± 0.153	0.557
lysine	0.475 ± 0.122	0.460
creatinine	0.700 ± 0.155	0.677
albumin	0.008 ± 0.003	0.007

Data are expressed as mean ± SD.

▶ Fig. 2. Relationship between dialysate total homocysteine and plasma total homocysteine, D/P total homocysteine

D/P : dialysate to plasma ratio at 4 hours in peritoneal equilibration test, tHcy : total homocysteine

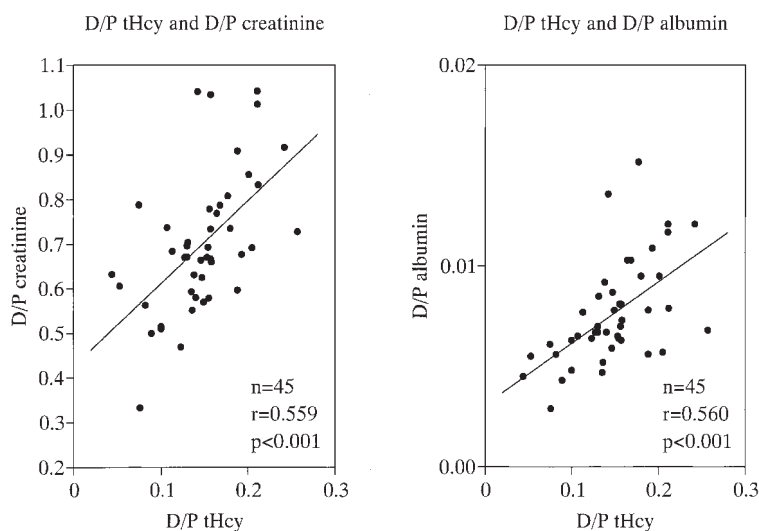
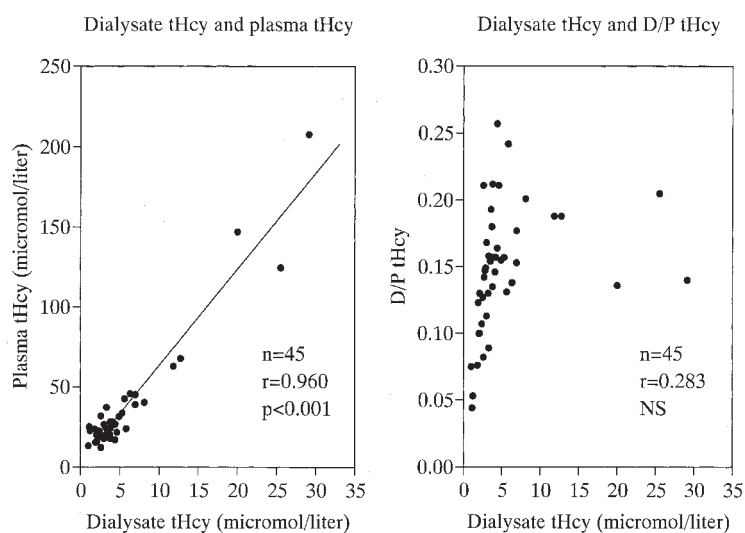


Fig. 1. Relationship between D/P total homocysteine and D/P creatinine, D/P albumin

D/P : dialysate to plasma ratio at 4 hours in peritoneal equilibration test, tHcy : total homocysteine



結 果

1. 腹膜平衡試験

1) 総 Hcy D/P 比, アミノ酸 D/P 比, クレアチニン D/P 比, およびアルブミン D/P 比

総 Hcy, アミノ酸, クレアチニン, およびアルブミンの 4 時間目 D/P を Table 2 に示す。大半のアミノ酸 D/P 比が 0.5 前後であったのに対し, 総 Hcy D/P 比は 0.148 ± 0.047 と著しく低下していた。クレアチニン D/P 比は 0.700 ± 0.155 で, アルブミン D/P 比は 0.008 ± 0.003 であった。

2) 総 Hcy D/P 比とクレアチニン D/P 比, アルブミン

D/P 比の関係

総 Hcy D/P 比とクレアチニン D/P 比, アルブミン D/P 比の直線回帰分析を Fig. 1 に示す。総 Hcy D/P 比はクレアチニン D/P 比 ($r=0.559$, $p<0.001$) とアルブミン D/P 比 ($r=0.560$, $p<0.001$) との間で有意な正相関を示した。

3) 排液中総 Hcy 濃度と血漿総 Hcy 濃度, 総 Hcy D/P 比
4 時間目の排液中総 Hcy 濃度と血漿総 Hcy 濃度, 総 Hcy D/P 比を Fig. 2 に示す。排液中総 Hcy 濃度と血漿総 Hcy 濃度には $r=0.960$ ときわめて良好な正相関を認めた ($p<0.001$)。しかし, 排液中総 Hcy 濃度と総 Hcy D/P 比には相関関係を認めなかった。

Table 3. Comparison of dialysate total homocysteine, amino acids, creatinine, albumin between group high D/P creatinine and group low D/P creatinine

	Group high D/P Cr D/P Cr ≥ 0.68 n = 22	Group low D/P Cr D/P Cr < 0.68 n = 23	p value
homocysteine (μmol/l)	5.4 ± 5.1	5.4 ± 6.6	NS
tryptophan	8.5 ± 12.2	7.3 ± 10.7	NS
aspartic acid	0.6 ± 1.4	0.4 ± 1.1	NS
threonine	87.8 ± 30.7	101.5 ± 152.1	NS
serine	73.0 ± 21.9	58.1 ± 20.4	0.023
asparagine	47.9 ± 14.8	43.0 ± 11.0	NS
glutamic acid	13.0 ± 7.1	11.8 ± 5.7	NS
glutamine	424.7 ± 83.2	357.9 ± 88.2	0.012
proline	183.2 ± 55.2	150.4 ± 66.2	NS
glycine	255.3 ± 122.0	215.7 ± 74.3	NS
alanine	321.1 ± 80.0	239.9 ± 63.6	0.001
valine	98.5 ± 27.9	84.4 ± 23.8	NS
cysteine	45.4 ± 16.1	43.7 ± 14.9	NS
methionine	15.3 ± 4.3	12.4 ± 3.3	0.018
isoleucine	35.8 ± 9.8	28.9 ± 8.8	0.017
leucine	52.0 ± 15.3	43.0 ± 11.3	0.031
tyrosine	29.9 ± 10.4	23.7 ± 8.3	0.036
phenylalanine	38.5 ± 8.1	31.0 ± 9.0	0.006
histidine	49.3 ± 13.9	42.4 ± 9.9	NS
arginine	73.4 ± 19.4	54.1 ± 16.4	0.001
lysine	100.6 ± 30.3	83.6 ± 19.5	0.032
creatinine (mg/dl)	7.7 ± 2.2	7.5 ± 2.5	NS
albumin (mg/l)	334.5 ± 93.9	255.8 ± 63.5	0.002

D/P : dialysate to plasma ratio at 4 hours in peritoneal equilibration test, Cr : creatinine. Data are expressed as mean ± SD.

4) クレアチニン D/P 比と排液中総 Hcy 濃度, 排液中アミノ酸濃度, 排液中クレアチニン濃度および排液中アルブミン濃度

対象患者をクレアチニン D/P 比が中央値である 0.68 以上の高クレアチニン D/P 比群(group high D/P Cr)と 0.68 未満の低クレアチニン D/P 比群(group low D/P Cr)に分けて検討した。高クレアチニン D/P 比群の年齢は 54.8 ± 11.7 歳, 腹膜透析継続期間は 44.9 ± 34.6 カ月, 血漿総 Hcy 濃度は 31.0 ± 24.4 μmol/l, 血中尿素窒素濃度は 56.7 ± 10.9 mg/dl, 血清クレアチニン濃度は 9.5 ± 2.9 mg/dl, 血清アルブミン濃度は 3.8 ± 0.4 g/dl, 低クレアチニン D/P 比群は各々 46.6 ± 12.9 歳, 41.9 ± 26.2 カ月, 40.6 ± 31.04 μmol/l, 61.6 ± 12.0 mg/dl, 12.7 ± 3.4 mg/dl, 4.0 ± 0.4 g/dl で, 年齢, 血清クレアチニン濃度, および血清アルブミン濃度に有意差を認められた。Table 3 に高クレアチニン D/P 群と低

クレアチニン D/P 群の排液中総 Hcy 濃度, 排液中アミノ酸濃度, 排液中クレアチニン濃度, および排液中アルブミン濃度の比較を示す。threonine を除くすべての排液中アミノ酸濃度, クレアチニン濃度, およびアルブミン濃度は, 高クレアチニン D/P 群が有意に高いもしくは高い傾向を示した。これに対して, 両群の排液中総 Hcy 濃度は同様の値を示した。

5) 血清アルブミン濃度と総 Hcy D/P 比, アミノ酸 D/P 比

Hcy は蛋白結合率が高い含硫アミノ酸であることから, 血清アルブミン濃度が総 Hcy D/P 比やアミノ酸 D/P 比に影響するか検討した。対象患者を血清アルブミン濃度が中央値である 3.9 g/dl 以下の低アルブミン群(group low sAlb)と 4.0 g/dl 以上の高アルブミン群(group high sAlb)に分けて, 各 D/P 比を比較した。低アルブミン群の年齢は 54.0 ± 12.7 歳, 腹膜透析継続期間は 43.9 ± 34.5 カ月, 血漿総 Hcy 濃度は 30.3 ± 25.1 μmol/l, 血中尿素窒素濃度は 59.4 ± 14.0 mg/dl, 血清クレアチニン濃度は 10.0 ± 3.3 mg/dl, 血清アルブミン濃度は 3.6 ± 0.3 g/dl, 高アルブミン群は各々 47.1 ± 12.3 歳, 42.9 ± 26.0 カ月, 41.8 ± 45.5 μmol/l, 59.0 ± 8.8 mg/dl, 12.4 ± 3.4 mg/dl, 4.3 ± 0.2 g/dl で, 血清クレアチニン濃度と血清アルブミン濃度に有意差を認められた。Table 4 に示すように総 Hcy D/P 比のみが低アルブミン群で有意に高かった。その他のアミノ酸 D/P 比は両群に有意差を認めなかった。

2. 総 Hcy 1 日除去量

1) 総 Hcy 1 日除去量

患者 20 名の総 Hcy 1 日除去量を Table 5 に示す。全患者の血漿総 Hcy 濃度は 33.8 ± 21.1 μmol/l で, 排液中総 Hcy 濃度は 4.9 ± 3.1 μmol/l であった。1 日総排液量は 8,486 ± 2,548 ml で, 算出した 1 日総 Hcy 除去量は 40.6 ± 28.4 μmol/day であった。腹膜平衡試験の成績と同様に, Fig. 3 に示すように総 Hcy の 1 日除去量は血漿総 Hcy 濃度ときわめて良好な正相関を示した (r = 0.733, p < 0.001)。しかし, 腹膜平衡試験で得られた総 Hcy の 4 時間目 D/P 比とは相関を認めなかった。

2) CAPD 患者と APD 患者の比較

透析方法による総 Hcy 1 日除去量を検討するため, 対象患者を CAPD 患者と APD 患者に分けて検討した。CAPD 患者の年齢は 53.3 ± 14.1 歳, 腹膜透析継続期間は 67.0 ± 37.4 カ月, 血漿総 Hcy 濃度は 31.7 ± 13.8 μmol/l, 血清クレアチニン濃度は 10.4 ± 3.5 mg/dl, 血清アルブミン濃度は 3.6 ± 0.4 g/dl, APD 患者は各々 58.1 ± 8.4 歳, 45.3 ± 9.3 カ月, 37.8 ± 31.7 μmol/l, 14.0 ± 4.3 mg/dl, 3.7 ± 0.4 g/

Table 4. Comparison of D/P total homocysteine and D/P amino acids between group low sAlb and group high sAlb

	Group low sAlb sAlb ≤ 3.9 n=23	Group high sAlb sAlb > 4.0 n=22	p value
homocysteine	0.163 ± 0.045	0.132 ± 0.045	0.028
tryptophan	0.677 ± 0.611	0.640 ± 0.471	NS
aspartic acid	0.342 ± 0.183	0.499 ± 0.161	NS
threonine	0.764 ± 0.962	0.513 ± 0.103	NS
serine	0.549 ± 0.501	0.501 ± 0.088	NS
asparagine	0.606 ± 0.177	0.563 ± 0.134	NS
glutamic acid	0.215 ± 0.080	0.228 ± 0.104	NS
glutamine	0.615 ± 0.138	0.559 ± 0.111	NS
proline	0.584 ± 0.135	0.539 ± 0.114	NS
glycine	0.639 ± 0.137	0.597 ± 0.111	NS
alanine	0.603 ± 0.151	0.535 ± 0.115	NS
valine	0.534 ± 0.130	0.498 ± 0.102	NS
cysteine	0.761 ± 0.276	0.739 ± 0.202	NS
methionine	0.552 ± 0.139	0.505 ± 0.131	NS
isoleucine	0.522 ± 0.142	0.485 ± 0.112	NS
leucine	0.496 ± 0.122	0.466 ± 0.110	NS
tyrosine	0.535 ± 0.137	0.506 ± 0.109	NS
phenylalanine	0.496 ± 0.129	0.464 ± 0.111	NS
histidine	0.523 ± 0.140	0.469 ± 0.101	NS
arginine	0.570 ± 0.149	0.568 ± 0.159	NS
lysine	0.505 ± 0.137	0.444 ± 0.096	NS

D/P : dialysate to plasma ratio at 4 hours in peritoneal equilibration test. Data are expressed as mean ± SD.

d/l で、いずれも有意差を認めなかった。また、腹膜平衡試験における総 Hcy D/P 比も CAPD 患者が 0.159 ± 0.052、APD 患者が 0.133 ± 0.061 で、有意差を認めなかった。Fig. 4 に示すように、CAPD 患者の総 Hcy 1 日除去量は 44.2 ± 30.0 μmol、APD 患者は 33.9 ± 26.0 μmol で、統計学的有意差には至らなかったが CAPD 患者は APD 患者より多い傾向にあった。一方、総 Hcy の 1 日平均 D/P 比は CAPD 患者が 0.176 ± 0.056 で、APD 患者の 0.096 ± 0.031 と比較して著しく高かった。

考 案

1. 腹膜平衡試験における総 Hcy D/P 比

腹膜平衡試験において Hcy D/P 比と他のアミノ酸 D/P 比を比較した報告はなく、今回の検討で 4 時間目の総 Hcy D/P 比は 0.148 ± 0.047 と、他のアミノ酸と比較して著しく低いことが明らかとなった。生体内の Hcy は、Hcy が 2

Table 5. Daily peritoneal elimination of total homocysteine

	Mean ± SD	Median
plasma total homocysteine level (μmol/l)	33.8 ± 21.1	28.9
serum albumin level (g/dl)	3.7 ± 0.4	3.6
serum creatinine level (mg/dl)	11.6 ± 4.1	11.3
dialysate total homocysteine level (μmol/l)	4.9 ± 3.1	3.9
dialysate albumin level (mg/l)	466.4 ± 315.4	345.0
dialysate creatinine level (mg/dl)	7.1 ± 2.4	6.8
dialy effluent volume (ml/day)	8,486 ± 2,548	8,540
dialy elimination of total homocysteine (μmol/day)	40.6 ± 28.4	27.5
dialy elimination of albumin (mg/day)	3,411 ± 1262	3,253
dialy elimination of creatinine (mg/day)	610 ± 280	568

Data are expressed as mean ± SD.

分子重合した homocysteine や Hcy と cysteine が縮合した cysteine-homocysteine mixed disulfide として、一部が Hcy として存在する。Hcy の分子量は 135.21 であるが、homocysteine は 268.40、MDS は 254.37 に達する。これらの分子量は一般的なアミノ酸の約 2 倍であり、総 Hcy D/P 比が低い基本的な要因と考えられる。また、Hcy は蛋白結合率の高いアミノ酸であることが知られている⁸⁾。Vychytil ら⁹⁾は総 Hcy を遊離型と蛋白結合同型に分けて D/P 比を測定し、遊離型は約 0.50、蛋白結合同型は約 0.15 であることを示している。Vychytil らは他のアミノ酸を測定しておらず、D/P 比の絶対値を単純に比較することはできないが、今回の研究で得られた総 Hcy D/P 比は蛋白結合同型 D/P 比に近似しており、Hcy の一部は蛋白結合同型として腹膜を通過すると思われる。したがって、総 Hcy D/P 比の著しい低下は Hcy の蛋白結合性も一因と考えられる。

低アルブミン群と高アルブミン群の比較で、総 Hcy D/P 比のみが低アルブミン群で有意に高く、その他のアミノ酸 D/P 比では両群に有意差を認めなかった。Vychytil らも 25 名の CAPD 患者を対象とした報告で、同様の成績を得ている。血清アルブミン濃度が低下した患者群は、低下していない患者群と比べ、血漿総 Hcy 濃度と蛋白結合 Hcy 濃度が有意に低く、結果として遊離/蛋白結合 Hcy 比が有意に上昇すると報告されている。血清アルブミン濃度の低下は遊離 Hcy を相対的に増加させ、遊離 Hcy は腹膜を比較的容易に通過するため、低アルブミン群では総 Hcy D/P 比が上昇すると思われる。このように、Hcy は血清アルブミン濃度に D/P 比が影響を受ける特異的なアミノ酸であると考えられる。

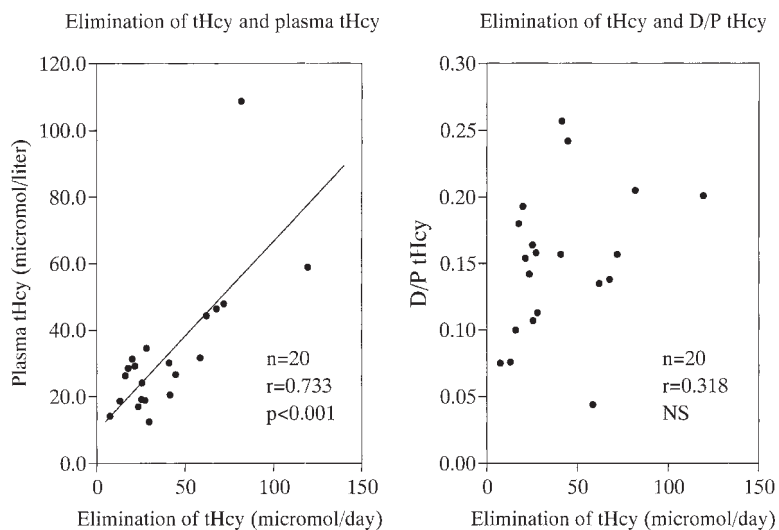


Fig. 3. Relationship between daily elimination of total homocysteine and plasma total homocysteine, D/P total homocysteine

D/P : dialysate to plasma ratio at 4 hours in peritoneal equilibration test, tHcy : total homocysteine

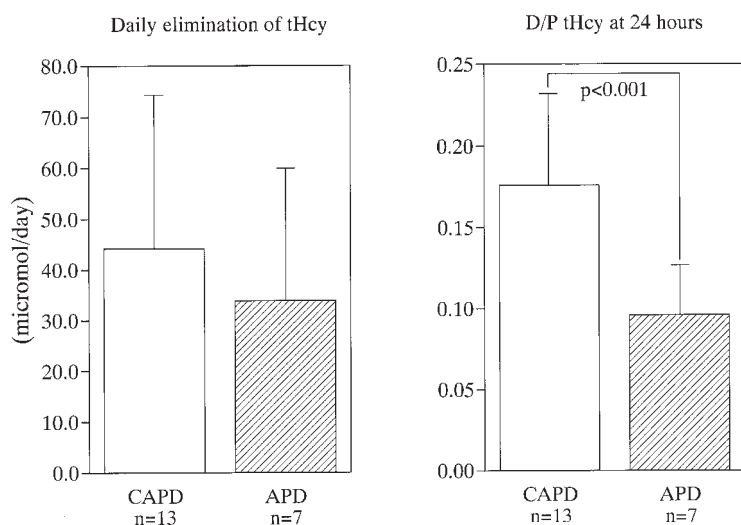


Fig. 4. Daily peritoneal elimination of total homocysteine and dialysate to plasma ratio of total homocysteine at 24 hours in patients with continuous ambulatory peritoneal dialysis and automated peritoneal dialysis

D/P : dialysate to plasma ratio at 24 hours, CAPD : continuous ambulatory peritoneal dialysis, APD : automated peritoneal dialysis

2. 腹膜平衡試験における排液中総 Hcy 濃度

排液中総 Hcy 濃度と血漿総 Hcy 濃度には、きわめて良好な正相関が認められた。Hultberg ら¹⁰⁾や Vychytil らも、排液中総 Hcy 濃度と血漿総 Hcy 濃度の正相関を認めている。これらの成績から排液中総 Hcy 濃度は血漿総 Hcy 濃度により一義的に規定され、血管内皮細胞や腹膜中皮細胞は Hcy に選択的な能動輸送系を持たないと考えられる。

また、排液中総 Hcy 濃度と総 Hcy D/P 比には相関を認めず、低クレアチニン D/P 比群と高クレアチニン D/P 比群の比較においても排液中総 Hcy 濃度に差はなかった。通常物質は D/P 比が上昇すれば排液中濃度が上昇するが、Hcy は理論に反する動態を示すことになる。クレアチニン D/P 比で表現される腹膜透過性の亢進は、排液中へのアルブミン喪失を増加させ、結果として血清アルブミン濃度を低下させる。実際に血清アルブミン濃度は、高クレ

アチニン D/P 比群が低クレアチニン D/P 比群より有意に低かった。さらに、血清アルブミン濃度の低下は蛋白結合 Hcy の低下をきたし、これを反映して血漿総 Hcy 濃度が低下する。統計学的有意差には至らなかったが、血漿総 Hcy 濃度は高クレアチニン D/P 比群が $31.0 \pm 24.2 \mu\text{mol/l}$ で、低クレアチニン D/P 比群の $40.6 \pm 45.5 \mu\text{mol/l}$ より低い傾向にあった。Vychytil らの報告でもクレアチニン D/P 比の高い患者群では血漿総 Hcy 濃度が低い傾向にあった。腹膜を通過する Hcy の一部は蛋白結合型と考えられることから、血漿の蛋白結合 Hcy 濃度の低下は排液中総 Hcy 濃度の低下を招くことになる。したがって、腹膜透過性の亢進に伴って Hcy D/P 比が上昇しても、血漿蛋白結合 Hcy 濃度の低下が D/P 比の上昇を相殺するため、排液中総 Hcy 濃度が変化しなかったものと推察される。もっとも、この現象は腹膜平衡試験における 4 時間目の 1

点でのみ成立するものであり、実際には透析液の腹腔内貯留時間に伴って総 Hcy D/P 比は上昇し、排液中総 Hcy 濃度も上昇すると考えられる。

3. 総 Hcy の 1 日除去量

全排液中の総 Hcy 濃度は $4.9 \pm 3.1 \mu\text{mol/l}$ で、総 Hcy の 1 日除去量は $40.6 \pm 28.4 \mu\text{mol/l}$ であった。また、総 Hcy の 1 日除去量は 4 時間目 D/P 比とは相関せず血漿濃度に正相関したことから、血漿濃度が一義的に 1 日除去量を決定すると考えられた。この関係は腹膜平衡試験での関係と一致しており、腹膜平衡試験における総 Hcy の 4 時間目 D/P 比から 1 日除去量を推定することは困難と考えられた。Vychytil らの排液中総 Hcy 濃度は $7.59 \pm 3.94 \mu\text{mol/l}$ で、今回の結果より若干高い成績となっている。HD 時の Hcy の除去に関しては、1 回の HD により血漿濃度は 22.9% 低下し、24 時間後には前値に戻る¹¹⁾と報告されている。

冒頭で簡単に触れたように、透析患者や保存期慢性腎不全患者における高 Hcy 血症の成因には、細胞内での生理的な Hcy 代謝障害と腎での Hcy 代謝障害が関与すると考えられている。Hcy は cystathionine- β -synthetase により serine と縮合して cystathionine に合成される経路と、homocysteine methyltransferase により再メチル化されて methionine に戻る代謝経路を持ち¹²⁾、いずれかもしくは両者の障害により高 Hcy 血症が生じる。われわれは透析患者を対象とした血漿含硫アミノ酸濃度と methionine 負荷試験の解析から、透析患者は再メチル化反応の障害が存在すると推察している¹³⁾。近年では、透析患者や保存期慢性腎不全患者における methylenetetrahydroforate reductase の遺伝子多型(677 番目の塩基が C から T に変異)を解析した報告が認められる^{14,15)}。しかし、この変異はこれらの患者に特有なものでなく、変異のない患者にも高 Hcy 血症が存在することから、高 Hcy 血症の成因ではなく増悪因子として認識すべきである。一方、正常腎は循環血漿中より glycine と citrulline を取り込み serine と arginine を放出するなど、肝とならびアミノ酸代謝の重要な拠点となっている。Hcy 代謝においても腎は重要な役割を演じており、透析患者や保存期慢性腎不全患者では、腎機能の廃絶そのものが高 Hcy 血症を惹起している可能性がある。腎での Hcy 代謝には腎実質での代謝と糸球体からの排泄がある。Bostom ら¹⁶⁾はラットを用いた実験で、腎における分時 Hcy 代謝量は $8.07 \pm 5.31 \text{ nmol/min}$ で、分時尿中 Hcy 排泄量は $0.19 \pm 0.10 \text{ nmol/min}$ にすぎないことを報告している。この実験結果より、ヒト正常腎は 1 日に約 1 mmol

の Hcy を代謝すると計算される。ヒトにおける Hcy の 1 日産生量は $15 \sim 20 \text{ mmol}$ であり、この 90% が組織の細胞内で代謝され、血漿中に放出される量は 1.5 mmol にすぎない¹⁷⁾。したがって、血漿中に放出された Hcy の約 70% が腎で代謝され、その数% が糸球体から濾過されることになる。男性の尿中 Hcy 排泄濃度は $21.5 \pm 7.4 \mu\text{mol/l}$ 、女性は $16.4 \pm 4.8 \mu\text{mol/l}$ と報告されており¹⁸⁾、1 日に換算すると約 $20 \sim 30 \mu\text{mol}$ の Hcy が尿中に排泄されている。すなわち、CAPD 患者における総 Hcy の 1 日除去量は、健康者の尿中 1 日排泄量と同等もしくはそれ以上と考えられる。この成績から、少なくとも尿中 Hcy 排泄量の減少が CAPD 患者における高 Hcy 血症の成因ではないと考えられる。

また、Vychytil らは Hcy 除去における CAPD 患者と APD 患者の差を明らかにしていないが、今回の研究で総 Hcy 1 日除去量は CAPD 患者が APD 患者より多い傾向があり、CAPD 患者の 1 日平均 D/P 比は APD 患者より有意に高かった。この結果は腹膜平衡試験で示した Hcy の腹膜透過性から説明できる。Hcy は分子量が比較的大きいことや蛋白結合率が高いことから腹膜平衡試験での D/P 比が著しく低く、血漿濃度と透析液濃度が平衡状態に達するには長時間を要する。すなわち、総 Hcy 除去量は透析液の総排液量でなく腹腔内貯留時間に規定されることになる。透析液の腹腔内貯留時間は CAPD 患者で正味 4~8 時間、APD 患者で正味 1~3 時間と大きく異なり、この貯留時間の差が総 Hcy 1 日除去量の差をもたらすと考えられる。したがって、Hcy 除去の面では、APD は CAPD より不利な治療方法となる。

一方、全排液中の平均総 Hcy 濃度が $4.9 \pm 3.1 \mu\text{mol/l}$ であったことから、1 日総排液量を 10 l に増加させても 1 日総 Hcy 除去量は $50 \mu\text{mol}$ にしかならない。総 Hcy の 1 日除去量を $50 \mu\text{mol}$ 、腎における 1 日代謝量を $1,000 \mu\text{mol}$ とすると、CAPD での除去量は産生量の 5% と計算される。すなわち、いかに透析効率を上げても CAPD 単独では正常腎の Hcy 代謝量を満足することはできず、高 Hcy 血症の是正には透析以外の治療法が必要となる。透析患者や保存期慢性腎不全患者の高 Hcy 血症の治療として、葉酸の有用性が数多く報告されている。Wilcken ら¹⁹⁾は保存期慢性腎不全患者 21 名を対象に、Arnadottir ら²⁰⁾は HD 患者 12 名と CAPD 患者 6 名を対象に、 5 mg/日 の葉酸投与が血中 Hcy 濃度を低下させると報告している。最近では、Bostom ら²¹⁾が HD 患者 20 名と CAPD 患者 7 名を対象に、葉酸 15 mg/日 、ビタミン B₆ 100 mg/日 、およびビ

タミン B₁₂ 1 mg/日の併用が高 Hcy 血症を改善すると報告している。葉酸の投与量に関して、Bostom らはビタミンの透析液への喪失などから大量投与の必要性を唱えているが、われわれは CAPD 患者の高 Hcy 血症を是正する葉酸投与量は 5 mg/日で必要かつ十分であることを報告している²²⁾。葉酸投与量の決定にあたっては、排液中葉酸濃度の測定も今後の課題と考えられる。

透析患者における死因の大部分を動脈硬化性疾患が占めており、動脈硬化の予防は透析患者の予後を改善する最も有効な手段である。透析患者には動脈硬化の危険因子が多数存在するが、Hcy も独立した危険因子として認知されつつある²³⁾。Hcy による動脈硬化の成因には内皮細胞障害、LDL 酸化促進、血小板凝集、thrombomodulin の細胞表出と protein C 活性化の抑制、Lp(a) と fibrin の結合促進、および平滑筋細胞増殖の促進など多くの機序が提唱されている。しかし、これらの機序を特異的に抑制する治療法は確立されていない。したがって、高 Hcy 血症そのものを是正する治療が要求されるが、今回の研究から腹膜透析のみで高 Hcy 血症を改善することは困難と考えられた。近年、透析患者の高 Hcy 血症に対する葉酸やビタミン B 群投与の研究が蓄積され、高 Hcy 血症の治療として確立されつつある。透析患者における動脈硬化の発症進展には多因子が関与し、高 Hcy 血症の是正のみで動脈硬化を克服することはできないが、このような要因を一つずつ解決していくことも重要と考えられる。

結 論

1) 腹膜平衡試験における総 homocysteine の 4 時間目の D/P 比は 0.148 ± 0.047 で、他のアミノ酸の D/P 比より著しく低下していた。

2) 総 homocysteine の 4 時間目 D/P 比は、クレアチニン D/P 比とアルブミン D/P 比と正相関した。

3) 4 時間目の排液中総 homocysteine 濃度は血漿総 homocysteine 濃度と正相関した。

4) クレアチニン D/P 比が 0.68 以上の群と未満の群で比較すると、threonine を除くすべてのアミノ酸 D/P 比は前者で高かったが、homocysteine D/P 比には差を認めなかった。

5) 血清アルブミン濃度が 3.9 g/dl 以下の群と 4.0 g/dl 以上の群で比較すると、総 Hcy D/P 比のみが前者で高く、その他のアミノ酸 D/P 比には差を認めなかった。

6) 総 Hcy の 1 日除去量は $40.6 \pm 28.4 \mu\text{mol/day}$ であった。

7) 総 Hcy の 1 日除去量は血漿総 Hcy 濃度と正相関した。

8) APD 患者における総 Hcy の 1 日除去量は CAPD 患者より低い傾向を示した。

9) APD 患者における総 Hcy の 1 日平均 D/P 比は CAPD 患者より著しく低かった。

本論文の要旨は、第 42 回日本腎臓学会学術総会(横浜)で発表した。

文 献

- Mudd SH, Finkelstein JD, Irreverre F, Laster L. Homocystinuria, an enzymatic defect. *Science* 1964; 143: 1443-5.
- Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver C, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) *The metabolic basis of inherited disease*. 6th ed. Vol. 1. New York: McGraw-Hill, 1989; 693-734.
- Clarke R, Dary L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-55.
- Wilcken DEL, Gupta VJ. Sulphur containing amino acids in chronic renal failure with particular reference to homocysteine and cysteine-homocysteine mixed disulphide. *Eur J Clin Invest* 1979; 9: 301-7.
- 廣瀬 悟, 金 成洙, 御手洗哲也, 磯田和雄: 透析患者における高 homocysteine 血症の検討—特に動物硬化との関連について—. *透析会誌* 1996; 29: 195-204.
- Twardowski ZJ, Nolph KD, Kanna R, Prowant B, Ryan L, Moore H, Nielsen M. Peritoneal equilibration test. *Perit Dial Bull* 1987; 7: 138-47.
- 山口昭弘, 福士 勝, 水嶋好清, 佐藤 稔, 清水良夫, 菊池由生子, 高杉信男, 大杉和彦, 長尾雅悦. 高速液体クロマトグラフィーによる血中総 homocysteine および総 cystein 測定の開発. *臨床小児科学* 1989; 37: 109-13.
- Suliman ME, Anderstam B, Lindholm B, Bergstrom J. Total, free, and protein-bound sulphur amino acids in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2332-8.
- Vychytil A, Fodinger M, Papagiannopoulos M, Wolf G, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Peritoneal elimination of homocysteine moieties in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 2054-61.
- Hultberg B, Andersson A, Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40: 230-5.
- Kang SS, Wong PW, Bidani A, Milanez S. Plasma protein-bound homocyst(e)ine in patients requiring chronic haemodialysis. *Clin Sci* 1983; 65: 335-6.
- Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the cocodinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 131-8.

13. 廣瀬 悟, 金 成洙, 松田昭彦, 板倉行宏, 御手洗哲也, 磯田和雄. 透析患者における高 homocysteine 血症の検討—methionine 負荷試験—. 透析会誌 1997 ; 30 : 967-73.
14. Fodinger M, Mannhalter C, Wolf G, Pabinger I, Muller E, Schmid R, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Mutation (677 C to T) in the methylenetetrahydrofolate reductase gene aggravates hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997 ; 52 : 517-23.
15. Vychytil A, Fodinger M, Wolf G, Enzenberger B, Auinger M, Prischl F, Buxbaum M, Wiesholzer M, Mannhalter C, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Major determinants of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1998 ; 53 : 1775-82.
16. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease : Prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997 ; 52 : 10-20.
17. Mudd SH, Poole JR. Labile methyl balances for normal humans on various dietary regimens. *Metabolism* 1975 ; 24 : 721-35.
18. Kaniowska E, Chwatko G, Glowacki R, Kubalczyk P, Bald E. Urinary excretion measurement of cysteine and homocysteine in the form of their S-pyridinium derivatives by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr A* 1998 ; 798(1-2) : 27-35.
19. Wilcken DEL, Dudman NPB, Tyrrell PA, Robertson MR. Folic acid lowers elevated plasma homocysteine in chronic renal insufficiency : Possible implication for prevention of vascular disease. *Metabolism* 1988 ; 37 : 697-701.
20. Arnadottir M, Brattsröm L, Simonsen H, Thysell H, Hultberg B, Andersson A, Nilsson-Ehle P. The effect of high dose pyridoxine and folic acid supplementation on serum lipid and plasma homocysteine concentrations in dialysis patients. *Clin Nephrol* 1993 ; 40 : 236-40.
21. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Hume AL, Yoburn D, Nadeau MR, Bendich A, Selhub J, Rosenberg IH. High dose B-vitamin treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Kidney Int* 1996 ; 49 : 147-52.
22. 廣瀬 悟, 金 成洙, 松田昭彦, 板倉行宏, 松村 治, 田村展一, 長澤龍司, 御手洗哲也, 磯田和雄. CAPD 患者の高 homocysteine 血症に対する葉酸投与の検討—不飽和脂肪酸への効果—. 日腎会誌 1998 ; 40 : 8-16.
23. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999 ; 340(2) : 115-126.