血漿 XO/XOR 比は腎機能低下と相関して上昇する： LC-TQMS 法を用いた検討

The relationship between XO/XOR ratio and renal dysfunction: Examination with LC-TQMS method

寺脇 博之^{1,5)} 村瀬 貴代³⁾ 中島 彩¹⁾
青柳 佳子¹⁾ 福島直太郎¹⁾ 谷 良宏²⁾
中村 敬志⁴⁾ 風間順一郎²⁾

背 景

キサンチンオキシドレダクターゼ (xanthine oxidoreductase, XOR) はハウスキーピング酵素として広範囲の生物種が持っている酵素である。この XOR は哺乳類以外の生物ではキサンチンデヒドロゲナーゼ (XDH) としての活性しか有しないが、唯一哺乳類においては可逆的あるいは不可逆的な翻訳後修飾に伴いキサンチンオキシダーゼ (XO) に酵素活性が変換する¹⁾。XDH と XO との違いは、反応進行の際に XDH は NAD^+ を電子受容体とするが、XO は酸素分子を電子受容体としスーパーオキシド (O_2^-) や過酸化水素といった活性酸素を発生する。XO による O_2^- 産生は、乳汁分泌を中心とした哺乳類特有の生命活動において重要な役割を担う一方、XO 活性の不適切な亢進に伴う活性酸素の過剰産生は酸化ストレスを惹起する可能性が憂慮される。

これまで XOR そして XO の正確な測定は不可能であったことより、慢性腎臓病 (CKD) における XOR の状況、具体的には腎機能と XOR 活性との関係、腎機能と XO 比率の関係、について、知見はほとんど存在しない。本検討の目的は、CKD 患者における腎機能と XOR・XO 活性、それに XO/

XOR 活性比との関連を明らかにすることである。

対象と方法

福島県立医科大学の外来通院中である保存期 CKD 患者 13 名を対象に、LC-TQMS 法²⁾を用いて血漿の XO 活性、XOR (XO + XDH) 活性を測定した。試料を Sephadex G25 カラムで精製した後、 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ xanthine (16 μM , 基質), NAD^+ (16 μM), $^{13}\text{C}_3, ^{15}\text{N}_3$ 尿酸 (1 μM , 内部標準物質) を添加し、 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ 尿酸の生成量より XOR 活性を算出した。また上記で述べた反応系において NAD^+ を添加しなかった際の $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ 尿酸の生成量より XO 活性を算出した。さらに XO 活性と XOR 活性との比率 (XO/XOR) を求め、XO 活性・XOR 活性および XO/XOR と、腎機能 (eGFR: CKD-EPI 式に基づき算出) との関連につき検討した。

結 果

図1に腎機能と XOR 活性および XO 活性の関連を示す。XOR・XO のいずれの活性も腎機能が低くなるほど低値となった。一方、図2に示すように、XOR における XO の比率 — すなわち活性酸素を産生するタイプのアイソフォームの比率は、腎機能が低いほど高値となった。

1) 福島県立医科大学 人工透析センター

2) 同 腎臓高血圧内科

3) 株式会社 三和化学研究所 薬物代謝/分析センター

4) 同 薬効評価グループ

5) 帝京大学ちば総合医療センター 腎臓内科

HiroYuki Terawaki, Aya Nakajima,

Keiko Aoyagi, Naotaro Fukushima

Yoshihiro Tani, Junichiro Kazama

Takayo Murase

Takashi Nakamura

HiroYuki Terawaki

図1 eGFRと血漿XOR活性(A)およびXO活性(B)の関連

図2 eGFRとXO/XOR比との関連

考 察

慢性心不全コホートを対象にした先行研究³⁾において、XOR低値群ではXOR正常群と比較してeGFRが有意に低値である状況が報告されており、本研究で得られた結果と矛盾しない。

過去の検討よりXORは肝細胞内のような還元状況では大部分(約85%)がXDHとして存在すると報告されている⁴⁾が、今回の検討から血漿では逆にXOの方が多く、しかも腎障害が進行するほどその比率が高くなる状況が確認された。このような腎機能低下例におけるXO/XOR比の上昇は、CKD患者における腎機能低下と関連した

酸化ストレスの充進⁵⁾、それに先行研究における「CKD患者を対象にしたXOR阻害薬投与による、尿酸値降下とは独立した予後改善」⁶⁾の理論的根拠となり得ると考えられる。また細胞内と異なり血漿ではXORのうちXOの比率が多いという状況は、XO阻害薬による血漿での酵素活性阻害効果や尿蛋白抑制効果が薬剤種間で異なるという現象^{7,8)}の原因であるのかもしれない。

結 語

腎機能低下と相関して、血漿XOR活性・XO活性はともに低下し、XO/XOR比は上昇する⁹⁾。

参考文献

- 1) Nishino T. The conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase and the role of the enzyme in reperfusion injury. *J Biochem* 116: 1-6, 1994.
- 2) Murase T, Nampei M, Oka M, et al. A highly sensitive assay of human plasma xanthine oxidoreductase activity using stable isotope-labeled xanthine and LC/TQMS. *J Chromatograph B* 1039: 51-58, 2016.
- 3) Otaki Y, Watanabe T, Kinoshita D, et al. Association of plasma xanthine oxidoreductase activity with severity and clinical outcome in

- patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol* 228: 151-157, 2017.
- 4) Sakuma S, Fujita J, Nakanishi M, et al. Disulfide s-monoxides convert xanthine dehydrogenase into oxidase in rat liver cytosol more potently than their respective disulfides. *Biol Pharm Bull* 31: 1013-1016, 2008.
 - 5) Terawaki H, Yoshimura K, Hasegawa T, et al. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin. *Kidney Int* 66: 1888-1893, 2004.
 - 6) Terawaki H, Nakayama M, Miyazawa E, et al. Effect of allopurinol on cardiovascular incidence among hypertensive nephropathy patients: the Gonryo study. *Clin Exp Nephrol* 17: 549-553, 2013.
 - 7) Nakamura T, Murase T, Nampei M, et al. Effects of topiroxostat and febuxostat on urinary albumin excretion and plasma xanthine oxidoreductase activity in db/db mice. *Eur J Pharmacol* 780: 224-231, 2016.
 - 8) Terawaki H, Hoshi H, Kazama JJ. Effect of switching xanthine oxidoreductase inhibitor from febuxostat to topiroxostat on urinary protein excretion. *Clin Exp Nephrol* (in press).
 - 9) Terawaki H, Murase T, Nakajima A, et al. The relationship between xanthine oxidoreductase and xanthine oxidase activities in plasma and kidney dysfunction. *J Clin Exp Nephrol* (in press).