原著 1

血清尿酸値の一過性上昇に対するクレメジンの抑制作用

岡本 完 谷口 敦夫 山中 寿
鎌谷 直之

要 約

痛風発作は、高尿酸血性が持続した個体において、血清尿酸値が急激に変動した際におこりやすいことが知られている。血清尿酸値の急激な変動をもたらす原因の一つとしてプリン体摂取による食事性要因が挙げられる。そこで、本研究は、プリン体摂取による血清尿酸値の急激な増加を、クレメジン投与により抑制できるかどうかを検討することを目的として行った。試験管内の吸着実験で、イノシンを始め種々のプリン体、尿酸を吸着することが示された。また、オキシネート処理ラットを用いた、イノシン負荷試験の系においてクレメジン投与でラット血清尿酸値の上昇抑制を認めた。さらに、ボランティアによるビール1L飲酒後の尿酸値の一過性上昇をクレメジン同時投与によって抑制することを示した。これらの結果から、プリン体摂取と同時にクレメジンを投与することにより、血清尿酸値の急激な増加を抑制する可能性を示すとともに、血清尿酸値を低下させる新たな戦略としてのクレメジンの意義が示唆された。

緒 言

痛風は、高尿酸血症という代謝異常の状態を持ち、関節に析出した尿酸塩を原因として発症する急性関節炎(痛風発作)とともに尿路結石、腎機能障害などの病態を呈する症候群である。発症原因としては、遺伝的要因と環境的要因の関与が知られている。一次性痛風の遺伝的要因は未だ明らかではなく、従って、発症予防には

環境要因のコントロールが重要で、過食、過度の飲酒、肥満、高プリン体食、激しい運動などを避けることが必要である¹⁾。遺伝的要因は修復不能ではあるが、尿酸代謝に関与する分子群はすでに明らかになっており、それらをターゲットにした尿酸合成を抑制する薬物療法は確立されている。また、尿酸排泄に関与する機構も明らかになりつつあり、それをターゲットにした尿酸排泄促進剤による治療法も確立されている²⁾。しかし、副作用などの理由でそれらの薬物療法が十分に行えない症例も存在する。これらの、薬物療法が不十分な症例や、環境要因である食餌性のプリン体をどうしても制限できない症例、高プリン食や飲酒による一過性の血清尿酸値の増加を避けられない症例などには、今までに無い新しい血清尿酸値上昇を抑制する手段が有効かもしれない。

クレメジンは、多孔質炭素からなる球形微粒子の経口吸着炭で、消化管で分泌されたり、または腸管内で産生される尿毒症毒素(ウレミクトキシン)を吸着し便とともに排泄する。このことにより、尿毒症症状の改善や透析導入の遅延をもたらすと考えられている慢性腎不全の治療薬である。そこで、今回我々は、クレメジンが食餌性のプリン体を除去し、新たな高尿酸血症の治療法として利用できるかどうかを検証する目的で、1)試験管内吸着実験、2)動物を用いたイノシン負荷試験、3)ボランティアを用いたビール飲酒による一過性血清尿酸上昇のそれぞれの実験系を用いて検討した。

受付：2004年6月7日，受理：2005年2月1日
東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター

Hiroshi Okamoto, Atsuo Taniguchi,
Hisashi Yamanaka and Naoyuki Kamatani

方 法

1) In vitro 吸着実験.

試験管内において尿酸や核酸をクレメジンが吸着するかどうかを検討した. 試験管内にそれぞれの物質とクレメジン 1 g/dl を混ぜて, 37℃で3時間振とうさせ, 残存した物質の濃度から吸着除去率を求めた. 物質の濃度は島津製作所製 TOC-500型実験室用全有機炭素計を用いた. 測定法は, 日本薬局法 (第14改定), B. 一般試験法, 62有機体炭素試験法に記載されている試験方法を用いている. 本実験では, 尿毒症毒素と考えられているイオン性有機化合物に対する吸着性能及び分子量依存的吸着特性を評価するために, バッチ法で吸着試験を行った. 即ち, 105℃で4時間乾燥させた試料を, イオン性有機化合物に対する吸着性能試験の場合は所定量を, 対象化合物の各100 mg/L溶液50 mLを添加した. 37±1℃で3時間振り混ぜた後, 0.65 µm のニトロセルロースメンブランフィルターにより試料をろ別し, ろ液中の被吸着物質濃度をTOC (全有機炭素分析) 法により定量した. 独立した3回の実験を平均した結果を表1に示した.

2) ラット消化管におけるクレメジンの残留実験.

7週齢の雄Sprague-Dawleyラットにクレメジン (4g/kg) 投与後, 時間を追ってラットの消化管におけるクレメジンの分布を検討した.

3) ラットにおけるイノシン負荷試験^{3, 4)}.

使用動物) 種, 系統: 雄性, Sprague-Dawleyラット, 7週齢, 体重220~240g
イノシンの投与方法)

- ① 60mg/Kg.BWで4日前より投与した. 投与は, 休日を除き, 一日分を朝1/2と夕方1/2に分けて流動食と共に毎日投与した.
- ② Oxonic Acid (O.A.) (Product No. O 9736, シグマ アルドリッチ ジャパン) 投与日には一日投与量の半分を流動食と共に投与した.

クレメジンの投与方法)

- ① クレメジン (4 g/Kg.BW) は, イノシン投与直前に流動食と共に投与した. 投与は, 一日分

を朝1/2と夕方1/2に分けて毎日投与した.

- ② O.A.投与日には一日投与量の半分を流動食と共に投与した.
- ③ ①及び②の設定群とは別に, O.A.投与日に一日投与量を流動食と共に投与した.

O.A.の投与方法)

O.A. (250mg/kgBW) は, 初回投与としてイノシン及びクレメジン投与の2時間前に投与し, 以降初回投与から3時間毎に検討終了まで投与した. 投与は, 背部皮下に時計回りで投与部位を変え投与した.

群構成)

コントロール群 (C群): イノシンのみ投与群 (3匹)
クレメジン1群 (K1群): イノシンとクレメジン
を連日投与群 (5匹)
クレメジン2群 (K2群): イノシンとクレメジン
を単回投与群 (5匹)

血清尿酸値の測定)

HPLC法にて血清OA値とともに測定した.

4) ビールによる血清尿酸値の上昇に対するクレメジンの効果.

ボランティア6人 (全員男性, 平均年齢32歳) の負荷前の血清尿酸値を測定した. その後3人ずつ, ビール1Lまたは, ビール1Lと同時にクレメジン2gを投与する2群に分け, 10分以内にビールを摂取し1時間後の血清尿酸値を測定し, 負荷前後の血清尿酸値の変化を検討した. 負荷試験は空腹時に施行した.

結 果

1) 試験管内吸着実験

試験管内において, クレメジンはイノシンを98.59%除去することが明らかになった. 尿酸や各種核酸を含めて, アラントイン以外は概ね90%以上の効率で, クレメジンが除去できることが試験管内で示された (図1, 表1).

2) ラットにクレメジンを経口投与した際の消化管内動態.

7週齢の雄Sprague-Dawleyラットにクレメジン (4 g/kg) 投与後, 時間を追ってラットの消化管

におけるクレメジンの分布を検討した結果、クレメジンは1時間以上ラットの消化管に留まることが明らかになった(図2)。1時間以上留まるため、食物中のプリン体とクレメジンは十分に混ざりあう時間があると考えられる。

尿酸

	尿酸原液	残存濃度	吸着除去率
	mg/dl	mg/dl	%
1	10.0	0.54	94.56
2	10.0	0.54	94.62
3	10.0	0.56	94.41
平均	10.0	0.55±0.01	94.53

イノシン

	イノシン原液	残存濃度	吸着除去率
	mg/dl	mg/dl	%
1	10.0	0.13	98.70
2	10.0	0.13	98.69
3	10.0	0.16	98.87
平均	10.0	0.14±0.02	98.59

図1. 試験管内吸着実験の方法：尿酸，イノシンを例に吸着実験の方法を示した。

表1. 試験管内吸着実験の結果

	吸着物質	分子量	吸着除去率 (%)
1	プリン (H-hk-cs(4,5-dgpyrimidine))	120.10	99.31
2	アデニン	135.13	96.50
3	アデノシン	267.24	98.31
4	アデニル酸	347.22	95.53
5	グアノシン	283.24	99.13
6	グアニル酸	363.20	95.39
7	キサンチン	152.11	96.52
8	キサントシン	284.20	96.83
9	キサンチル酸	364.20	94.12
10	ヒポキサンチン	136.11	96.73
11	イノシン	268.23	98.59
12	イノシン酸	348.21	94.94
13	6-チオグアニン	167.20	95.89
14	8-アザグアニン	152.10	99.11
15	アラントイン	158.10	79.48
16	尿酸	168.11	94.53

3) ラットを用いたイノシン負荷試験におけるクレメジンの効果。
ラットを以下の3群に分けて、血清中の尿酸

値の変化を検討した。コントロール群(C群)：イノシンのみ投与群(3匹)，クレメジン1群(K1群)：イノシンとクレメジンを連日投与群(5匹)，クレメジン2群(K2群)：イノシンとクレメジンを単回投与群(5匹)。ラットのイノシン負荷試験において、クレメジン投与群で明らかな血清尿酸値の変動低下を認めた(図3)。

図2. クレメジン投与したラットの消化管内におけるクレメジンの残留
30分，60分を経過しても、胃や腸内にクレメジンは残留していた。

図3. ラットにおけるイノシン負荷試験の実験方法と結果
A：イノシン負荷試験の実験スケジュール。
OA: oxonic acid, I: Inosine, K: Kremezin
B：イノシン負荷試験の結果。T-testによる有為差検定の結果：*p<0.05, **p<0.01。

4) ビールによる血清尿酸値の上昇に対するクレメジンの効果.

ビール1Lまたは、ビール1Lと同時にクレメジン2gを投与する2群に分け、10分以内にこれらを摂取し1時間後の血清尿酸値を測定し、負荷前後の血清尿酸値の変化を検討した結果、ビール飲酒による一過性血清尿酸値上昇の程度は、クレメジン同時投与群において明らかに低い傾向が示された(ビール単独投与群と、ビール・クレメジン同時投与群との負荷前後の尿酸値変動量の有意差は $p=0.046$)(図4). ビール単独投与群(平均値±標準偏差: $6.40 \pm 0.92 \rightarrow 7.47 \pm 0.59$), ビール・クレメジン同時投与群(平均値±標準偏差: $6.13 \pm 0.81 \rightarrow 6.63 \pm 0.74$).

図4. ビール1L飲酒による一過性尿酸値上昇に対するクレメジンの効果. ボランティア3人ずつに、ビール1L (○) または、ビール1Lと同時にクレメジン2g (●) を投与した1時間後の血清尿酸値の変化を検討した.

考 案

高尿酸血症の薬物療法は、尿酸合成を抑制する薬物または尿酸排泄を促進する薬物によりほぼ確立されているが、他の視点からのアプローチは皆無といってよい。しかし、高尿酸血症の環境要因である、過食、過度の飲酒、肥満、高プリン体食、激しい運動などを避けることは依然として必要であり、高尿酸血症が他の成人病を多く合併するという事実からより一層重要性が増しているように思われる。また、副作用などの理由から薬物療法が十分に行えない症例も

存在し、これらの症例や、薬物療法が不十分な症例や、環境要因である食餌性のプリン体をどうしても制限できない症例、高プリン食や飲酒による一過性の血清尿酸値の増加を避けられない症例などには、今までに無い新しい血清尿酸値上昇を抑制する手段が必要である。今回我々は、従来にはない視点から、腎不全の治療薬であるクレメジンが食餌性のプリン体を除去し、新たな高尿酸血症の治療法として利用できる可能性があることを、1) 試験管内吸着実験、2) 動物を用いたイノシン負荷試験、3) ボランティアを用いたビール飲酒による一過性血清尿酸値上昇のそれぞれの実験系を用いて検討した。その結果、クレメジンは尿酸をはじめとするプリン体を効率良く吸着すること、クレメジンはラット腸内で長時間貯留してOA処理ラットにイノシンを負荷して生ずる血清尿酸値上昇を有意に抑制すること、ヒトにおいてもクレメジンがビール飲用後の血清尿酸値上昇を有意に抑制することが示された。

これらの結果は、消化管に流入した外因性プリン体をクレメジンが消化管内で吸着し、吸収を抑制することによって血清尿酸値の上昇を抑制したことを示唆する。ビール飲用による血清尿酸値上昇は、エタノール分解に伴う尿酸産生量の増加、酢酸生成による尿酸排泄量の減少、ビールに含まれるプリン体などの複数の機序が想定されているが、クレメジンがエタノールを吸着することはないため、クレメジンがビール飲用による血清尿酸値上昇を抑制した機序としてはビールに含まれるプリン体を吸着したためと考えられる。

これらの結果から、プリン体摂取と同時にクレメジンを投与することにより、血清尿酸値の急激な増加を抑制しうる可能性が示唆された。また、他の薬剤が使用できない高尿酸血症の症例においても、尿酸低下の新たな戦略としてクレメジンが利用できる可能性についても検討の価値があると考えられた。

謝 辞

実験の補助をしていただきました，呉羽化学工業生物医学研究所および医薬品部の林英雄氏，大和英之氏，松木幹夫氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 山中寿：痛風患者と教育－患者の視点と医師の視点から－．プリン・ピリミジン代謝 22：167-174, 1998.
- 2) 山本 徹也：尿酸降下薬の作用と副作用．痛風と核酸代謝 27: 10, 2003.
- 3) 池田 齊，市田公美，細田龍男 他：尿酸代謝．腎と透析 29: 33-36, 1990.
- 4) Waisman J, Bluestone R, Klinenberg J R: A preliminary report of nephropathy in hyperuricemic rats. Lab. Invest 30 : 717-722, 1974.

Kremezin as an alternative strategy to reduce the temporal increase of serum uric acids

Hiroshi Okamoto   Atsuo Taniguchi
Hisashi Yamanaka   Naoyuki Kamatani

In patients with hyperuricemia, gouty attacks are induced by rapid changes in serum uric acid (UA) levels. One of the cause of the rapid increase in serum UA level is a hyperpurine diet such as alcohol intake. We present here an unique experimental data showing that Kremezin, which is widely used to reduce the serum creatinine level by absorbing creatinine in the intestine to prevent the development of renal failure, is useful to reduce the serum uric acid (UA) level. First, we studied the effect of Kremezin in an animal model. We used rats with oral inosine load test after injection of the anti-uricase compound oxonic acid (OA). Kremezin was given orally just before the loading with inosine-containing food. Kremezin reduced the elevation of serum uric acid. Kremezin could absorb not only inosine but also other purine bases *in vitro* (e.g.

inosine: 98.6%, purine: 99.3%, adenine: 96.5%, adenosine: 98.3%, guanosine: 99.1%, etc). Next, we studied the effect of Kremezin on the increase in serum UA concentration in healthy volunteers after drinking beer (1L in 10 min.). One hour after taking beer, blood samples were taken and UA concentrations were determined. Kremezin reduced the increase in serum UA levels compared with that in those who took beer without premedication (control).

Based on these findings, we suggest that Kremezin might be useful to stabilize the serum UA levels by absorbing purine bases in alcoholic beverage as well as in foods. Therefore Kremezin is an alternative strategy to reduce the increased risk of gout following alcohol intake.