ビタミン E 固定化ダイアライザー CL-EE が血液透析患者の血液粘性と酸化ストレスに及ぼす影響

小池 勤^{*1} 供田 文宏^{*1} 絹野 裕之^{*1} 杉森 弘子^{*1}
 鍵谷 聡志^{*1} 井上 博^{*1} 林 省一郎^{*2} 中村 國雄^{*3}
 林 健志^{*4} 平田 仁^{*5} 松本 三千夫^{*6}
 富山大学医学部第2内科^{*1} 元町内科医院^{*2} 中村記念病院^{*3}
 済生会高岡病院^{*4} 城南内科クリニック^{*5} 済生会富山病院^{*6}

key words: ビタミン E 固定化ダイアライザー, 血液粘性, 酸化ストレス, 血液透析患者

〈要旨〉

血液透析患者において、ビタミン E 固定化ダイアライザー (CL-EE) が血液粘性に及ぼす影響を酸化ストレスの面から検討した。14 例で CL-EE による血液透析を 1 年間行い、その前後で血液粘性、血漿粘性、ヘマトクリット、血漿フィブリノーゲンおよび酸化ストレスの指標として血中酸化 LDL を測定した。CL-EE 使用前、血液粘性は透析後に上昇した。1 年間の CL-EE による透析後、血液粘性は透析前では CL-EE 使用前と差はなく透析後に上昇した。しかし透析後の上昇は有意に抑制された (使用前, $3.1 \pm 0.3 \rightarrow 3.8 \pm 0.9$ mPa·s; 使用後, $3.1 \pm 0.3 \rightarrow 3.4 \pm 0.5$ mPa·s; 交互作用, $p < 0.05$)。酸化 LDL は、CL-EE 使用前では透析後に上昇し、CL-EE 使用後では CL-EE 使用前にくらべ透析前値と透析後の上昇は有意に抑制された (使用前, $3.3 \pm 1.0 \rightarrow 4.2 \pm 2.0$ ng/ μ g LDL protein; 使用後, $1.9 \pm 0.7 \rightarrow 2.1 \pm 0.60$ ng/ μ g LDL protein; 交互作用, $p < 0.05$)。CL-EE 使用前後において、透析後の血液粘性の変化は血漿粘性、ヘマトクリット、血漿フィブリノーゲンの変化とともに酸化 LDL の変化との間に正の相関 ($r^2 = 0.62, 0.60, 0.42, 0.17$) を認めた。以上より血液透析患者では、ビタミン E 固定化ダイアライザー CL-EE の長期使用により、酸化ストレスの軽減とともに透析後の血液粘性の上昇は抑制されることが示された。この CL-EE の臨床効果は、透析患者の動脈硬化および心血管系疾患の発症および進展の阻止に有用である可能性が期待される。

The effects of vitamin E-coated hemodialyzer on blood viscosity and oxidative stress in hemodialysis patients

Tsutomu Koike^{*1}, Fumihito Tomoda^{*1}, Hiroyuki Kinuno^{*1}, Hiroko Sugimori^{*1}, Satoshi Kagitani^{*1}, Hiroshi Inoue^{*1}, Shoichiro Hayashi^{*2}, Kunio Nakamura^{*3}, Takeshi Hayashi^{*4}, Hitoshi Hirata^{*5}, Michio Matsumoto^{*6}

Second Department of Internal Medicine, University of Toyama^{*1}; Motomachi Naika Hospital^{*2}; Nakamura Kinen Hospital^{*3}; Saiseikai Takaoka Hospital^{*4}; Jonan Naika Clinic^{*5}; Saiseikai Toyama Hospital^{*6}

In fourteen hemodialysis (HD) patients, blood viscosity and its determinants including oxidative stress were examined before and one year after the usage of vitamin E-coated cellulose membrane hemodialyzer (CL-EE). Before CL-EE, blood viscosity, hematocrit, plasma viscosity, plasma fibrinogen and oxidative LDL (a marker for oxidative stress) increased following HD. One year after HD with CL-EE, blood viscosity remained unchanged at the start of HD. However, the increment of blood viscosity following HD was significantly suppressed (3.1 ± 0.3 to 3.8 ± 0.9 mPa·s before CL-EE; 3.1 ± 0.3 to 3.4 ± 0.5 mPa·s after CL-EE; hemodialysis $\times$ dialyzer interaction, $p < 0.05$). In contrast, oxidative LDL decreased at the start of HD and HD-induced increase was attenuated after CL-EE (3.3 ± 1.0 to 4.2 ± 2.0 ng/ μ g LDL protein before CL-EE; 1.9 ± 0.7 to 2.1 ± 0.60 ng/ μ g LDL protein after CL-EE; hemodialysis $\times$ dialyzer interaction, $p < 0.05$). The HD-induced increase in blood

小池 勤 富山大学医学部第2内科 〒930-0194 富山県富山市杉谷 2630

Tsutomu Koike Tel: 076-434-7297 Fax: 076-434-5026

〔受付日: 2007 年 2 月 27 日, 受理日: 2007 年 3 月 20 日〕

viscosity was positively correlated with that in oxidative LDL ($r^2=0.17$), plasma viscosity ($r^2=0.62$), hematocrit ($r^2=0.60$) and plasma fibrinogen ($r^2=0.42$). In conclusion, the long-term use of CL-EE could suppress the increase in blood viscosity induced by HD, at least in part, via decrease in oxidative stress.

緒 言

血液粘性は、末梢循環において血管抵抗と血管壁へのずり応力を規定し、その亢進は動脈硬化性血管障害の発症および進展に寄与する¹⁾。この血液粘性は、(1)血球(特に赤血球)の凝集能と変形能²⁾、(2)血液濃縮²⁾、(3)血漿フィブリノーゲンと血漿粘性²⁾、(4)血中脂質³⁾とともに(5)酸化ストレス⁴⁾などにより影響を受ける。

血液透析患者では、血液粘性は腎性貧血による血液の希釈のため健常者に比べ低値となるが、血漿を除いた状態での赤血球自体の粘性は高く⁵⁾、また透析後には血液濃縮に伴い増加する⁶⁾。従って、透析患者では血液粘性の異常があり、その異常は血管障害を惹起して⁷⁾、透析患者で多発する心血管系疾患の発症に寄与する可能性がある。

ビタミン E 固定化ダイアライザーは、血液透析患者で酸化ストレスを軽減する⁸⁻¹⁰⁾。最近 Kobayashi ら⁵⁾は、ビタミン E 固定化ダイアライザーの使用後、血液透析患者で血液粘性が低下することを初めて報告した。しかし、この血液粘性低下に関する機序は不明であり、特に血液粘性と酸化ストレスの関連については検討がなされていない。そこで血液透析患者でビタミン E 固定化ダイアライザー(CL-EE)を1年間使用し、その前後で血液粘性と酸化ストレスを調べ、CL-EEの血液粘性に及ぼす影響を酸化ストレスの面から検討した。

I. 対 象

6施設で週3回の血液透析を受けている末期腎不全患者14例(男性8例、女性6例、平均年齢 57 ± 12 歳、平均透析歴 70 ± 59 か月)を対象とした。腎不全の原疾患は、慢性糸球体腎炎6例、糖尿病性腎症6例、腎硬化症2例であった。本試験施行前に使用していたダイアライザーは、ニプロ社製セルローストリアセート膜FB-G(5例)、旭化成社製再生セルロース膜AM-BCF(3例)、ニプロ社製ポリエーテルスルホン膜PES-D(2例)、旭化成社製ポリスルホン膜APS-S(3例)、東レメディカル社製ポリスルホン膜BS-L(1例)であった。

II. 方 法

試験施行前のダイアライザーと同一もしくは同程度の膜面積を有するテルモ社製ビタミン E 固定化セルロース膜 CL-EE を1年間使用し、その使用前後で、血液粘性と血漿粘性、小分子量物質の尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cr)、尿酸(UA)、無機リン(iP)、低分子量蛋白の β_2 -microglobulin(β_2 -MG)を測定した。また、血液粘性を規定する要因であるヘマトクリット、血漿フィブリノーゲン、脂質、CRPおよび酸化ストレスの指標としての酸化LDLを測定した。

血液粘性および血漿粘性の測定は、マイクロ・ビスコメーター(AMV-200, パーフィジカ社)を用いて、落下法により傾斜角70度での粘性を温度20°Cで測定した。酸化LDLはELISA法(協和メディックス社)を用いて測定した。

透析による物質の除去率は、(透析前-透析後濃度)/透析前濃度により算出した。なお、 β_2 -MGおよび酸化LDLの透析後の値は、透析による血液濃縮の影響を除くため、ヘマトクリット値で補正した。統計学的解析にはt検定、分散分析およびPearsonの相関係数を用い、危険率5%未満を有意水準とした。

III. 結 果

1. 尿毒症性物質の除去率

BUN, Cr, UA, iPなどの小分子量物質の除去率は、CL-EE使用前後で差はなかった(BUN, $71 \pm 7\% \rightarrow 70 \pm 8\%$, ns; Cr, $64 \pm 5\% \rightarrow 65 \pm 7\%$, ns; UA, $76 \pm 6\% \rightarrow 75 \pm 5\%$, ns; iP, $57 \pm 11\% \rightarrow 57 \pm 10\%$, ns)。一方、低分子量蛋白 β_2 -MGの除去率は、CL-EE使用後に低下した($44 \pm 29\% \rightarrow 19 \pm 12\%$, $p < 0.05$)。

2. 血液粘性、血漿粘性に対する影響

CL-EE使用前、血液粘性は透析後に上昇した。CL-EE使用後、血液粘性は透析前ではCL-EE使用前と差はなく、透析後に上昇したが、上昇の度合は有意に抑制された(透析とダイアライザーの交互作用, $p < 0.05$, 図1)。血漿粘性はCL-EE使用前では透析後に上昇し、使用後では透析前値はCL-EE使用前と差はなく、透析後の変化は有意に抑制された(透析とダイアライザーの交互作用, $p < 0.05$, 図2)。その結果、血

図 1 透析前後での血液粘性の変化：CL-EE 使用前と使用 1 年後の比較。CL-EE 使用前，血液粘性は透析後に上昇した。CL-EE 使用後，血液粘性は透析前値では CL-EE 使用前と差はなかった。透析後の上昇の程度は有意に抑制された（透析とダイアライザーの交互作用， $p < 0.05$ ）。平均値±標準偏差，* $p < 0.05$ 対使用前

図 2 透析前後での血漿粘性の変化：CL-EE 使用前と使用 1 年後の比較。CL-EE 使用前，血漿粘性は透析後に上昇した。CL-EE 使用後，透析前値は CL-EE 使用前と差はなく，透析後の変化は有意に抑制された（透析とダイアライザーの交互作用， $p < 0.05$ ）。平均値±標準偏差，* $p < 0.05$ 対使用前，NS=not significant

液粘性および血漿粘性の透析後の変化率は，いずれも CL-EE 使用後には有意に低下した（血液粘性， $24 \pm 27 \rightarrow 11 \pm 14\%$ ， $p < 0.05$ ；血漿粘性， $12 \pm 11\% \rightarrow 1 \pm 13\%$ ， $p < 0.05$ ）。

3. 血液粘性を規定する各因子に及ぼす影響

ヘマトクリットは CL-EE 使用前では透析後に上昇し，CL-EE 使用後では透析前の値と透析後の変化は使用前と差はなかった（透析とダイアライザーの交互作用，ns，図 3）。血漿フィブリノーゲンは CL-EE 使用前では透析後に上昇し，CL-EE 使用後には使用前に比べ透析前値は低下したが，透析後の変化は使用前と差はなかった（透析とダイアライザーの交互作用，

ns，図 3）。酸化 LDL は CL-EE 使用前では透析後に上昇し，使用後では使用前に比べ透析前値と透析後の上昇の程度は有意に抑制された（透析とダイアライザーの交互作用， $p < 0.05$ ，図 4）。脂質および CRP は CL-EE 使用後，変化はなかった（表）。

4. 透析後の血液粘性の変化と血漿粘性，ヘマトクリット，血漿フィブリノーゲン，酸化 LDL の変化との関係

CL-EE 使用前後において，透析後の血液粘性の変化とその規定要因との単相関を調べた結果，透析後の血液粘性の変化は血漿粘性（ $r^2 = 0.62$ ），ヘマトクリット（ $r^2 = 0.60$ ），血漿フィブリノーゲンの変化（ $r^2 =$

図3 透析前後でのヘマトクリットと血漿フィブリノーゲンの変化：CL-EE 使用前と使用1年後の比較。

ヘマトクリットは、CL-EE 使用前では透析後に上昇し、使用後の透析前値と透析後の変化は使用前と差はなかった（透析とダイアライザーの交互作用、ns）。血漿フィブリノーゲンは、CL-EE 使用前では透析後に上昇し、使用後には使用前にくらべ透析前後とも低下したが、上昇の程度に差はなかった（透析とダイアライザーの交互作用、ns）。平均値±標準偏差、*p<0.05 対使用前

図4 透析前後での酸化LDLの変化：CL-EE 使用前と使用1年後の比較。
酸化LDLは、CL-EE 使用前では透析後に上昇し、使用後では使用前にくらべ透析前値と透析後の変化は有意に抑制された（透析とダイアライザーの交互作用、p<0.05）。平均値±標準偏差、*p<0.05 対使用前、NS=not significant

0.42) とともに酸化LDLの変化 ($r^2=0.17$) との間に正の相関を認めた (図5)。

IV. 考 察

本研究の結果、血液粘性はCL-EE 使用後では使用前にくらべ透析前値に変化はなかったが、透析後の上昇が有意に抑制された。酸化LDLはCL-EE 使用後では透析前値の低下に加えて、透析後の変化も抑制された。さらに、血液粘性に影響する因子である血漿粘性、

血漿フィブリノーゲン、ヘマトクリットの変化とともに酸化LDLの変化が透析後の血液粘性の変化に関連することが示された。

血液透析患者では、腎性貧血による血液の希釈のため血液粘性が低下するという報告が多い^{6,10)}。Kobayashiら⁵⁾は血液透析患者で血液粘性を調べ、同時にビタミンE固定化ダイアライザーCL-EEの血液レオロジーに及ぼす影響を調べた。その結果、透析患者では赤血球の形態異常とともに赤血球自体の粘度が上昇し、貧血による血液の希釈の影響を除くと血液粘性は

高値であることが示された。さらにCL-EE 使用後は、赤血球の形態異常の改善とともに血液粘性が改善することを報告した。今回のわれわれの成績では、血液透析患者での血液粘性はCL-EE 使用前後で透析前値に変化はなく、Kobayashi ら⁹⁾の成績とは異なっていた。しかし、透析後の血液粘性の上昇はCL-EE 使用後では有意に抑制され、この抑制には、透析後の血漿粘性、血漿フィブリノーゲン、ヘマトクリットの変化とともに酸化ストレスの変化の軽減が関係していることが示唆された。

血液透析患者では酸化ストレスが亢進し、その要因として透析での透析膜と血液の接触による活性酸素の

産生などが考えられている¹¹⁾。この透析時の酸化ストレスの亢進は、使用するダイアライザーにより違いがあり、ビタミンE固定化ダイアライザーCL-EEを使用すると酸化ストレスが軽減する^{8~10)}。実際、われわれの成績でも酸化ストレスの指標である酸化LDLが低下した。また、酸化ストレスの亢進が血液レオロジーに及ぼす影響は以前より知られており、Uyesaka ら¹²⁾はスーパーオキシド・アニオンが赤血球膜蛋白を破片化し赤血球の変形能の低下をきたすことを報告している。一方、ビタミンEなどの抗酸化物質の投与により赤血球の変形能が改善する¹³⁾。従って、本研究でのビタミンE固定化ダイアライザーCL-EEの血液粘性に及ぼす影響を酸化ストレスの面から考察すると、CL-EEの使用により透析中の酸化ストレスが軽減した結果、赤血球の変形能が改善し血液粘性が低下したものと考えられた。

また、本研究では血漿フィブリノーゲンの低下がみられたが、CL-EEの血漿フィブリノーゲンへの影響についてはこれまで報告がない。佐藤ら¹⁴⁾は、透析後の透析膜付着蛋白の一次元電気泳動による蛋白分析を行い、従来のセルロース膜で認めたフィブリノーゲン β 鎖のバンドがCL-EEでは認められないことを示した。すなわちCL-EEでは透析時の凝固因子の活性化が従来のセルロース膜よりも軽減する。われわれの成績での血漿フィブリノーゲン濃度の低下は、CL-EE

表 CL-EE 使用前後での血液生化学所見

	CL-EE 使用前	CL-EE 使用後
尿素窒素 (mg/dL)	63 $\pm$ 16	63 $\pm$ 21
クレアチニン (mg/dL)	10.8 $\pm$ 2.6	11.0 $\pm$ 2.6
ナトリウム (mEq/L)	139 $\pm$ 3	139 $\pm$ 3
カリウム (mEq/L)	5.2 $\pm$ 0.9	5.1 $\pm$ 0.8
尿酸 (mg/dL)	8.5 $\pm$ 1.7	8.1 $\pm$ 1.9
カルシウム (mg/dL)	8.9 $\pm$ 1.0	8.9 $\pm$ 0.9
無機リン (mg/dL)	5.5 $\pm$ 1.4	5.7 $\pm$ 1.6
総コレステロール (mg/dL)	160 $\pm$ 36	150 $\pm$ 30
中性脂肪 (mg/dL)	143 $\pm$ 146	121 $\pm$ 75
HDL コレステロール (mg/dL)	42 $\pm$ 15	44 $\pm$ 14
CRP (mg/dL)	0.19 $\pm$ 0.16	0.51 $\pm$ 1.30

平均値 $\pm$ 標準偏差

図5 透析後の血液粘性の変化と血漿粘性、ヘマトクリット、血漿フィブリノーゲン、酸化LDLの変化との関係。

CL-EE 使用前後において、透析後の血液粘性の変化とその規定要因との単相関を調べた結果、透析後の血液粘性の変化は血漿粘性、ヘマトクリット、血漿フィブリノーゲンの変化とともに酸化LDLの変化との間に正の相関を認めた。

による透析時の凝固因子活性化の軽減が一部関与しているものと考えられた。

結 語

血液透析患者では、ビタミン E 固定化ダイアライザー CL-EE の長期使用により、酸化ストレスの軽減とともに透析後の血液粘性の上昇は抑制される。この CL-EE の臨床効果は、透析患者の動脈硬化および心血管系疾患の発症および進展の予防に有用であることが期待される。

なお、本研究の要旨は第 51 回日本透析医学会学術集会（横浜，2006 年 5 月）において発表した。

文献

- 1) Danesh J, Collins R, Peto R, Lowe GD : Haematocrit, viscosity, erythrocyte sedimentation rate : meta-analyses of prospective studies of coronary heart disease. *Eur Heart J* 21 : 515-520, 2000
- 2) Allen MT, Patterson SM : Hemoconcentration and stress : a review of physiological mechanisms and relevance for cardiovascular disease risk. *Biol Psychol* 41 : 1-27, 1995
- 3) Rosenson RS, Shott S, Tangney CC : Hypertriglyceridemia is associated with an elevated blood viscosity. *Atherosclerosis* 161 : 433-439, 2002
- 4) Liu X, Qin W, Yin D : Biochemical relevance between oxidative/carbonyl stress and elevated viscosity of erythrocyte suspensions. *Clin Hemorheol Microcirc* 31 : 149-156, 2004
- 5) Kobayashi S, Moriya H, Aso K, Ohtake T : Vitamin E-bonded hemodialyzer improves atherosclerosis associated with a rheological improvement of circulating red blood cells. *Kidney Int* 63 : 1881-1887, 2003
- 6) Martínez M, Vayá A, Alvarinho J, Barberá JL, Ramos D, López A, Aznar J : Hemorheological alterations in patients with chronic renal failure. Effect of hemodialysis. *Clin Hemorheol Microcirc* 21 : 1-6, 1999
- 7) Kobayashi S, Okamoto K, Maesato K, Moriya H, Ohtake T : Important role of blood rheology in atherosclerosis of patients with hemodialysis. *Hemodialysis Int* 9 : 268-274, 2005
- 8) Calo LA, Naso A, Pagnin E, Davis PA, Castoro M, Corradin R, Riegler P, Cascone C, Huber W, Piccoli A : Vitamin E-coated dialyzers reduce oxidative stress related proteins and markers in hemodialysis--a molecular biological approach. *Clin Nephrol* 62 : 355-361, 2004
- 9) Mydlík M, Derzsiová K, Rácz O, Šípulová A, Lovásová E, Petrovičová J : A modified dialyzer with vitamin E and antioxidant defense parameters. *Kidney Int* 59(Suppl 78 s) : S144-S147, 2001
- 10) Shand BI, Buttimore AL, Lynn KL, Bailey RR, Robson RA : Effect of hemodialysis and recombinant human erythropoietin on determinants of blood viscosity. *Renal Failure* 16 : 407-413, 1994
- 11) Tetta C, Biasioli S, Schiavon R, Inguaggiato P, David S, Panichi V, Wratten ML : An overview of hemodialysis and oxidant stress. *Blood Purif* 17 : 118-125, 1999
- 12) Uyesaka N, Hasegawa S, Ishioka N, Ishioka R, Shio H, Schechter AN : Effects of superoxide anions on red cell deformability and membrane proteins. *Biorheology* 29 : 217-229, 1992
- 13) Begum AN, Terao J : Protective effect of alpha-tocotrienol against free radical-induced impairment of erythrocyte deformability. *Biosci Biotechnol Biochem* 66 : 398-403, 2002
- 14) 佐藤宜伯, 斉藤美智代, 小宅育代, 雨宮 均, 奥山 寛, 小林 力, 星崎静子, 杉山幸枝, 新倉一彦, 衣笠えり子, 出浦照國 : ビタミン改質セルロース膜透析器 (CL-EE) の抗血栓性に関する臨床評価. *腎と透析* 49 (別冊 ハイパフォーマンスメンブレン '00) : 97-101, 2000