血液透析患者における高ホモシステイン血症と 葉酸濃度に関する検討

益田 眞理 南 忠 義 杉原 清 貴 東 拓 也
明山 達哉*¹ 森田 昇*¹ 本宮 善 恢
翠悠会王寺診療所 友誼会病院*¹

key words: 血液透析, 高ホモシステイン血症, 葉酸

〈要旨〉

維持血液透析患者 66 例について, 新たな動脈硬化性物質として注目されている homocysteine およびメチオニン代謝系基質である葉酸の血中濃度を測定した。血漿 homocysteine 濃度は $12.6 \sim 182.0 \mu\text{mol/l}$ (平均 $45.6 \pm 31.9 \mu\text{mol/l}$) と全例で高値を示すと同時に著しい個体差を認めた。一方, 血清葉酸濃度は $2.7 \sim 26.8 \text{ ng/ml}$ (平均 $7.5 \pm 4.1 \text{ ng/ml}$) とほとんどの症例で基準値の範囲内にあった。また, 血清葉酸濃度と血漿 homocysteine 濃度には負の相関 ($r = -0.245$; $P = 0.0445$) が認められた。さらに, 血清葉酸濃度 15 ng/ml 以上では $40 \mu\text{mol/l}$ 以上の高度の homocysteine 高値例は認められなかった。しかし, 通常の食生活で血清葉酸濃度が 15 ng/ml 以上に維持できている症例は 3 例 (4.5%) に過ぎず, 残りの 63 例 (95.5%) は血清葉酸濃度 15 ng/ml 以下であった。今回の結果から acquired hyperhomocysteinemia の状態にある維持血液透析患者においては通常の食生活のみでは血漿 homocysteine 濃度を正常に保つに十分な葉酸濃度を得ることはできず, 動脈硬化予防のためには積極的な葉酸投与の必要性が示唆された。

The relationship between hyperhomocysteinemia and folic acid in hemodialysis patients

Mari Masuda, Tadayoshi Minami, Kiyotaka Sugihara, Takuya Higashi, Tatsuya Akiyama*¹, Noboru Morita*¹, Yoshihiro Motomiya
Suiyuukai Ouji Clinic; Yuukoukai Hospital*¹

Recent studies have demonstrated that an elevated level of sulfur amino homocysteine (hcy) is a strong and independent risk factor for premature cardiovascular disease in renal failure. However, little is known about the contribution of folate concentrations to hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. Therefore, we measured plasma concentrations of hcy and serum concentrations of folate in 66 hemodialysis patients. Mean $\pm$ SD plasma hcy level was $45.6 \pm 31.9 \mu\text{mol/l}$ ($12.6 \sim 182.0 \mu\text{mol/l}$) and mean $\pm$ SD serum concentrations of folate was $7.5 \pm 4.1 \text{ ng/ml}$ ($2.7 \sim 26.8 \text{ ng/ml}$). Although serum folate levels were within the normal range ($2.4 \sim 9.8 \text{ ng/ml}$) in 57 (86%) patients, 11 (19%) of 57 had extraordinary high plasma homocysteine levels ($> 60 \mu\text{mol/l}$). These normal concentrations of folate were not sufficient to reduce hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. In contrast, there were no patients with folate concentrations of 15 ng/ml or higher showing homocysteine levels above $40 \mu\text{mol/l}$. Furthermore, plasma hcy levels were negatively correlated with serum concentrations of folate ($r = -0.245$; $P = 0.0445$). These data strongly suggest that serum concentrations of folate should be maintained at supraphysiologic levels in hemodialysis patients.

はじめに

動脈硬化性疾患の発症が cholesterol や smoking などの一般的な危険因子のみでは説明できないことが指摘され¹⁾、最近、Lipoprotein(a) に次いで homocysteine (hcy) が注目されている²⁻¹¹⁾。Boushey ら¹¹⁾は心血管病変による死亡の約10%は hyperhomocysteinemia によるものであると報告しており、さらに10年に及ぶ prospective study でも hyperhomocysteinemia に高い心血管病変発症の危険率 (odds) が報告されている。この hcy の主な代謝臓器が腎であることから腎不全もしくは血液透析患者では、ほぼ普遍的に hyperhomocysteinemia を伴うことが報告されており¹²⁻¹⁴⁾、従って hcy は血液透析患者での心疾患発症に深く関与していると考えられる。本来、hcy は生体蛋白の構成アミノ酸ではなく methionine 代謝の副産物である¹⁵⁾。生体の重要な含硫アミノ酸である methionine の代謝は cystathionine β -synthase, methionine synthase および methylenetetrahydrofolate reductase (MTHF) による remethylation と trans-sulfuration により規制され、これらの酵素反応には vitamin (Vit.) B₆, Vit. B₁₂ および葉酸が重要な役割を担っている¹⁵⁾。従って、これらの物質の欠乏は腎不全に伴う hyperhomocysteinemia の一層の増悪を招き、心血管病変に重大な結果をもたらすと考えられる。これまで血液透析患者においては栄養障害の面から Vit. B₆ および Vit. B₁₂ に関する報告はみられるが、葉酸に関する文献は海外からのものは散見されるが¹⁵⁻¹⁸⁾、独特の食文化を有する本邦での報告は少ない。

そこで、我々は66例の安定した血液透析患者を対象に血漿 hcy 濃度および血清葉酸濃度を測定し、血液透析患者での葉酸濃度設定の見直しの必要性を示唆する結果を得たので報告する。

I. 対象および方法

1. 対象

症例は年齢70歳未満、透析歴3年以上で臨床的に安定した維持透析を行っている患者66例を対象にした。いずれの患者も葉酸や Vit. B₁₂ の投与は受けておらず、1例にのみ Vit. B₆ の投与がなされていた。性別は男性32例、女性34例で、年齢は21~69歳(平均55±9.8歳)、透析歴は36か月~230か月(平均113±51.5か月)であった。心血管病変については脳血管障害のある症例や中等度以上の閉塞性動脈硬化症の症例はな

表 1 Laboratory data

	Mean±SD	Range
BUN (mg/dl)	82.2±17.4	42.2~110.3
creatinine (mg/dl)	13.3±2.5	6.8~19.4
total protein (g/dl)	6.1±0.4	5.3~6.9
albumin (g/dl)	3.8±0.3	3.2~4.5
hematocrit (%)	27.1±3.3	22.4~38.1
β_2 -microglobulin (mg/l)	29.8±4.9	12.3~41.7
homocysteine	46.4±32.4	12.6~182.0
folate	7.5±4.2	2.7~26.8

く、陳旧性心筋梗塞例1例、狭心症の症例は7例であった。安静時の心電図上虚血性変化のみられた症例は29例(異常Q波3例、ST-T変化26例)であった。ただし、血清アルブミン3.0 g/dl 以下、ヘマトクリット22%以下、CRP 陽性、活動性の肝障害のある症例は今回の検討からは除外した。

2. 血漿 hcy 濃度と葉酸濃度測定

今回採血はメチオニン含有量の多い食物(魚、肉など)を制限した食事のもとで可能な限り空腹時の週初めの透析前に行った。血漿 hcy 濃度は前報¹⁹⁾に詳述したように橋口ら²⁰⁾の enzyme conversion immunoassay 法を用いて測定した。血清葉酸濃度はアクリジニウムエステルを用いた化学発光免疫測定法によった²¹⁾。

3. 統計解析法

相関係数は Spearman の順位相関係数を用いて算出し、群間比較は Mann-Whitney の *U* 検定を用いて行った。

II. 結 果

1. 一般臨床検査

結果を表1に示す。

2. 血漿 hcy 濃度

血液透析患者の血漿 hcy 濃度は $45.6 \pm 31.9 \mu\text{mol/l}$ と、石田らの前報¹⁹⁾の健常者 $4.4 \pm 16.0 \mu\text{mol/l}$ に比して有意に高値を示し、 $100 \mu\text{mol/l}$ 以上の異常高値例は6例(9%)あった。男性では $54.8 \pm 39.2 \mu\text{mol/l}$ 、女性 $36.9 \pm 19.9 \mu\text{mol/l}$ であり、女性に比して男性が有意に高値であった(図1)。透析歴と homocysteine の濃度には相関は認められなかった。

3. 血清葉酸濃度

血清葉酸濃度は $7.5 \pm 4.1 \text{ ng/ml}$ とほとんどの症例で健常者の基準値 ($2.4 \sim 9.8 \text{ ng/ml}$) の範囲内にあった。男性では $6.7 \pm 2.4 \text{ ng/ml}$ 、女性では少し高値の $8.3 \pm 5.2 \text{ ng/ml}$ であったが、有意差は認められなかつ

図1 Plasma homocysteine between males and females. Homocysteine concentrations were significantly higher in men than those in women ($P < 0.005$).

図3 Relationship between plasma homocysteine and serum folate. An inverse correlation between plasma homocysteine and serum folate was observed ($r = -0.245$; $P = 0.0445$).

図2 Serum folate concentrations in hemodialysis patients. There was no statistical difference in folate concentrations with regard to gender.

表2 Homocysteine values in patients with renal failure or end-stage renal disease

Investigators	No. of patients	Homocysteine ($\mu\text{mol/l}$)	Reference No.
Bostom AG, et al.	24	22.7 (11.5~38.5)*	12
Dennis VW, et al.	176	26.5 (18~40)	14
Guttormsen AB, et al.	10	27.4 (14.7~50.2)	24
Hultberg B, et al.	29	27.9 (8.0~41.9)	25

* Mean (Range)

た(図2)。葉酸値と透析歴との間には相関は認められなかった。

4. 血漿 hcy 濃度と血清葉酸濃度の関係

両者には有意な負の相関がみられた($r = -0.245$; $P = 0.0445$)。また、血清葉酸濃度 10 ng/ml 以上では血漿 hcy 濃度が $100 \mu\text{mol/l}$ 以上の重度の高ホモシステイン血症例は認められず、血清葉酸濃度 15 ng/ml 以上では血漿 hcy 濃度が $40 \mu\text{mol/l}$ 以上の高値を示す症例は認められなかった(図3)。

III. 考 察

Hyperhomocysteinemia は空腹時の血漿 hcy 濃度 $16 \sim 30 \mu\text{mol/l}$ を moderate, $31 \sim 100 \mu\text{mol/l}$ を

intermediate, $101 \mu\text{mol/l}$ 以上を severe と分類される²²⁾。心血管病変発症 risk については血漿 hcy 濃度 $9.0 \sim 14.9 \mu\text{mol/l}$ で 1.9 倍, $15.0 \sim 19.9 \mu\text{mol/l}$ で 2.8 倍, $20.0 \mu\text{mol/l}$ 以上で 4.5 倍⁴⁾、また、 $5 \mu\text{mol/l}$ 毎の上昇が 1.6~1.8 倍の心血管病変発症の増加をもたらすことなどが報告されている¹¹⁾。一方、腎不全例では血漿 hcy 濃度がクレアチニン・クリアランス (Ccr) 値に反比例して上昇し、Chauveau ら²³⁾は Ccr 値 $20 \sim 40 \text{ ml/min}$ で、文献上報告されている hcy 濃度の心血管病変発症の危険水準を越える $16.5 \pm 5.1 \mu\text{mol/l}$ に達することを報告している。これまでの腎不全末期もしくは血液透析例での血漿 hcy 濃度は報告者^{12,14,24,25)}により変動はあるが、平均 $22.7 \sim 27.9 \mu\text{mol/l}$ となっている。また、いずれの報告もかなりの濃度幅がみられる。

Vit. B₆, Vit. B₁₂ および葉酸と hcy の血中濃度は健康者でも腎不全例でも負の相関を示すことが報告されており^{17,18)}、特に葉酸との相関は強く、心血管病変発症の危険水準の血漿 hcy 濃度 $14 \mu\text{mol/l}$ に相当する血

清葉酸値は Sauberlich²⁶⁾の報告では 2.7 ng/ml とされている。

わが国の血清葉酸濃度の基準値は 2.4~9.8 ng/ml と設定されている²¹⁾。今回の検討ではほとんどの症例 (57 例, 86%) がこの基準値内であったが、この 57 例中 11 例 (19%) が血漿 hcy 濃度 60 μ mol/l 以上の異常高値を示した (図 3)。葉酸濃度 15 ng/ml では hcy 濃度 40 μ mol/l 以上の症例はみられなかった。この結果より、腎不全末期にいたり、すでに hyperhomocysteinemic な状態 (acquired hyperhomocysteinemia) となっている血液透析患者では、文献上報告されている血漿 hcy 濃度の心血管病変発症危険水準 14 μ mol/l 以下に血漿 hcy 濃度を維持するためには図 3 から予測すると 24 ng/ml 以上の葉酸値が必要となり、従来の基準値上限に相当する濃度の約 2.5 倍に相当する濃度が必要であることが示唆された。

今回の検討では hcy 濃度が女性に比して男性が有意に高値であった (図 1)。このような性差は以前の報告^{12,18)}には認められていない。性差がみられた理由は明らかではないが、血清葉酸値が有意な差ではないが、女性で男性より高値を示したことが (図 2) 要因の 1 つになっているのかもしれない。

メチオニン代謝酵素 MTHR には 677 C の T への遺伝的変異型の存在が知られている。血液透析患者において、ホモ接合型で $36.4 \pm 13.4 \mu$ mol/l、ヘテロ型で $28.7 \pm 10.8 \mu$ mol/l、また、変異のない症例でも $25.4 \pm 8.5 \mu$ mol/l の血漿 hcy 濃度の上昇が報告されている²⁷⁾。一方、健常者においてはホモ接合型で $12.2 \pm 4.5 \mu$ mol/l、ヘテロ型で $9.9 \pm 2.7 \mu$ mol/l、変異のない例でも $9.7 \pm 2.8 \mu$ mol/l とほぼ正常の血漿 hcy 濃度が得られ、血漿 hcy 濃度の上昇には遺伝子多型による影響より、腎での代謝障害による影響のほうが強く働くものと考えられる²⁷⁾。今回、我々の症例中 6 例 (9.0%) に認められた 100 μ mol/l を越える異常高値例の報告は稀にしかみられないが、これらの症例での血清葉酸濃度はいずれも 7 ng/ml 以下、平均で 5.2 ± 0.9 ng/ml と低値であった。従ってこの異常高値の原因として MTHR の遺伝子多型に加えて葉酸濃度あるいは今回は測定できていないが Vit. B₆、Vit. B₁₂濃度の影響が考えられる。MTHR の遺伝子多型に関しては、血液透析患者のホモ型の頻度は 12.8%、ヘテロ型は 43.8% と高頻度に報告されており²⁷⁾、Vit. B₆、Vit. B₁₂あるいは葉酸欠乏の影響はヘテロ型をも含めた保因者でより強く表現される可能性が考えられる。したがって、血液透析患者においてはヘテロ型を含めた保因者では、より厳密なメチオニン代謝系基質の補充に留意する必

要がある。

文献

- 1) Bachmann J, Tepel M, Raidt H, Riezler R, Graefe U, Langer K, Zidek W : Hyperhomocysteinemia and the risk for vascular disease in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 6 : 121-125, 1995
- 2) Kang SS, Wong PW, Cook HY, Norusis M, Messer JV : Protein-bound homocyst(e)ine. A possible risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 77 : 1482-1486, 1986
- 3) Israelsson B, Brattstrom LE, Hullberg BL : Homocysteine and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 71 : 227-233, 1988
- 4) Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE : Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 337 : 230-236, 1997
- 5) Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM : Homocysteine and ischemic heart disease : results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med* 158 : 862-867, 1998
- 6) Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, Tishler PV, Hennekens CH : A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 268 : 877-881, 1992
- 7) Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I : Hyperhomocysteinemia : An independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 324 : 1149-1155, 1991
- 8) McCully KS, Vezeridis MP : Homocysteine thiolactone in arteriosclerosis and cancer. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 59 : 107-119, 1998
- 9) Evans RW, Shaten BJ, Hemopel JD, Cutler JA, Kuller LH : Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17 : 1947-1953, 1997
- 10) Alfthan G, Aro A, Gey KF : Plasma homocysteine and cardiovascular disease mortality. *Lancet* 349 : 397, 1997
- 11) Boushey CJ, Bersford SA, Omenn GS, Motulsky AG : A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 274 : 1049-1057, 1995
- 12) Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Miller WJ, Sutherland P, Nadeau M, Seyoum E, Hartman W, Prior R, Wilson PWF, Selhub J : Hyperhomocysteinemia and traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease patients on

- dialysis : a case-control study. *Atherosclerosis* 114 : 93-103, 1995
- 13) Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Sutherland P, Nadeau MR, Wilson PW, Yoburn D, Baisseman L, Tofler G, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH : Hyperhomocysteinemia, hyperfibrinogenemia, and lipoprotein(a) excess in maintenance dialysis patients : a matched case-control study. *Atherosclerosis* 125 : 91-101, 1996
- 14) Dennis VW, Robinson K : Homocysteinemia and vascular disease in end-stage renal disease. *Kidney Int* 50 (Suppl 57) : S-11-S-17, 1996
- 15) Selhub J, Miller WJ : The pathogenesis of homocysteinemia : interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 55 : 131-138, 1992
- 16) Hong S-Y, Yang D-H, Chang S-K : Plasma homocysteine, vitamin B6, vitamin B12 and folic acid in end-stage renal disease during low-dose supplementation with folic acid. *Am J Nephrol* 18 : 367-372, 1998
- 17) Hankey GJ, Eikelboom JW : Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 354 : 407-413, 1999
- 18) Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH : Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 270 : 2693-2698, 1993
- 19) 石田悦弘, 河合和代, 嵯峨根智子, 益田真理, 山田 一, 杉原清貴, 本宮善恢 : 維持透析患者における血中ホモシステインと左室心筋重量. *奈良県医師会透析部会誌* 5 : 55-65, 2000
- 20) 橋口佳江, 鈴木 智, 大塚喜彦, 栗本文彦, 三浦雅一 : Enzyme conversion immunoassay 法による血中総ホモシステイン測定について. *医学と薬学* 40 : 903-907, 1998
- 21) 石渡幸久, 遠藤紀子, 池田律子, 安田和人 : 全自動化学発光免疫測定装置 ACS-180 を用いた化学発光による血清ビタミン B₁₂・葉酸の測定. *日本臨床検査自動化学会会誌* 20 : 29-37, 1995
- 22) Kang SS, Wong PW, Malinow MR : Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Ann Rev Nutr* 12 : 279-298, 1992
- 23) Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J, Kamoun P, Jungers P : Long-term folic acid (but not pyridoxine) supplementation lowers elevated plasma homocysteine level in chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 22 : 106-109, 1996
- 24) Guttormsen AB, Ueland PM, Svarstad E, Refsum H : Kinetic basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 52 : 495-502, 1997
- 25) Hultberg B, Andersson A, Sterner G : Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 40 : 230-234, 1993
- 26) Sauberlich HE : Folate Status of U. S. Population Groups. In "Folate in health and disease" ed Bailey LB, p 488, Marcel Dekker, New York, 1994
- 27) Föding M, Mannhalter C, Wolf G, Pabinger I, Müller 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* 52 : 517-523, 1997