慢性血液透析患者にみられる高ホモシステイン血症の治療法の検討

坂田 洋一 目黒 輝雄^{*1}

自治医科大学分子病態研究部 慶生会目黒医院^{*1}

key words: 慢性血液透析, 高ホモシステイン血症, 葉酸, ビタミン B12

〈要旨〉

血中ホモシステイン(Hcy)レベル高値は、血栓症や動脈硬化の危険因子の一つであることが最近明らかにされた。腎不全患者にみられる高 Hcy 血症の原因は、腎不全による排泄障害と代謝障害がその原因として考えられている。慢性血液透析(HD)患者の Hcy レベルを低下させるには、ビタミン B6、ビタミン B12 および葉酸の高用量、長期間投与が必要であるといわれている。本研究では、そのうち最も効果の著明な葉酸について、投与方法と、至適量の検討を行った。対象は HD 患者 180 名で、そのうち血中 Hcy レベルが 35 nmol/ml 以上の患者を、薬剤、投与方法の違いにより、無作為にいくつかの群に分けて検討した。葉酸 5 mg を連日投与 4 週間、透析日のみに投与 4 週間、および、透析日のみに 4 週間投与した後、週の最終透析日の後にのみ、さらに 24 週間投与した群に分けた。結果、連日投与群、および、各透析日後にのみ投与した群では、血中葉酸レベルは、それぞれ正常値上限の 60 倍および、7 倍に上昇したが、Hcy レベルの低下はいずれもほぼ等しく、約 57%であった。予め、透析日のみに投与し、その後、24 週間、週に 1 回のみ投与し、中止後、さらに 16 週間経過を観察した群の解析からは、血中葉酸レベルを正常値上限の 2 倍から 4 倍くらいに維持すれば、総 Hcy レベルを低値に維持することが可能であるが、2 倍以下になると再上昇することが示された。透析により Hcy の約 40%が除去されることを考慮すると、60 nmol/ml 以下の高 Hcy 血症の患者では、上記のような最小量の葉酸投与で、葉酸レベルを正常の 2 倍から 4 倍に維持すれば、総 Hcy レベルを正常値以内に保つことが可能であることが示唆された。

Treatment of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients

Yoichi Sakata, Teruo Meguro^{*1}

Division of Cell and Molecular Medicine, Jichi Medical School; Keiseikai Meguro Hospital^{*1}

Experimental and epidemiological studies have shown that hyperhomocysteinemia is a risk factor in thrombosis and arteriosclerosis. Although the exact mechanism for an increase in plasma homocysteine (Hcy) in patients with renal failure is unknown, supplementation with higher doses of folic acid (folate), vitamin B6 (VB6) and vitamin B12 (VB12) induces a significant reduction in Hcy levels. In this study, we have tried to assess the optimal giving way and dosage of folate in hemodialysis (HD) patients.

The subjects consisted of 180 HD patients (mean age: 57.2 ± 11.8 years and HD history: 9.4 ± 6.7 years). There was no significant correlation between Hcy level and HD history. In addition, the efficiency of HD for Hcy removal (about 40% reduction) did not depend on the kind of dialysis membrane or whether the patients had diabetes mellitus. The patients were, divided by Hcy level (> 35 nmol/ml) at random into several study groups as follows: 1. peroral administration of coenzyme-form VB6 (30 mg/day), coenzyme-form VB12 (0.5 mg/day), or folate (5 mg/day), (each group, $n=9$) every day for 4 weeks; 2. peroral administration of either folate (5 mg/once) or folate with VB12 (0.5 mg/once), (each group, $n=9$) on HD days ("Pulse Administration") for 4 weeks. 3. Pulse Administration after 4 weeks, peroral administration of folate (5 mg/once) once a week on the final HD day for 24 weeks (each $n=15$). The study was done stepwise from 1 to 3. We measured the level

坂田 洋一 自治医科大学分子病態研究部 〒329-0498 栃木県河内郡南河内町薬師寺 3311-1 (0285-58-7397)
Yoichi Sakata Fax 0285-44-7817

〔受付:平成12年9月6日, 受理:平成12年11月7日〕

of plasma folate, VB6, VB12, and total Hcy during and after administration. Our results suggest that in peroral administration, folate was most effective to reduce the total Hcy level (approx. 57% reduction). Furthermore, for hyperhomocysteinemic patients whose levels were below 60 nmol/ml, the maintenance of plasma folate level, from 2 to 4 times higher than normal was necessary to maintain plasma Hcy at a normal level.

緒 言

慢性透析患者は血管障害を高頻度に合併する。心血管障害や脳血管障害の発症は生命予後を大きく左右する。血液透析 (HD) 患者にみられる動脈硬化や血栓症の原因の詳細は不明であるが、最近、ホモシステインが独立した危険因子であることが明らかにされた¹⁾。腎不全患者にみられる高ホモシステイン血症は、腎不全による排泄障害と代謝障害がその原因として考えられている。ホモシステインの体内代謝に関与するビタミン B6 (VB6)、ビタミン B12 (VB12) および葉酸の投与が HD 患者の血中ホモシステインレベルの低下に有効であり、なかでも葉酸の投与が最も効果的で、例えば 10 mg/日以上の高用量の投与が必要であると報告されている²⁾。しかし、葉酸の高用量、長期投与は、胃腸障害を起こしたり、VB12 の低下を招き、末梢神経障害を惹起する可能性がある。現在までに、果たしてどのレベルの葉酸投与が高ホモシステイン血症の治療に必要十分であるかの検討や、投与法の詳細な解析はない。本研究では、慢性 HD 患者を対象に、この点に焦点を絞り検討した。

I. 対象および方法

1. 対象患者

外来管理中の HD 患者 180 名を対象にした。男性 114 例、女性 66 例、平均年齢は 57.2 ± 11.8 歳、平均 HD 歴は 9.4 ± 6.7 年であった。薬剤の服用方法毎に連日投与群 (各 $n=9$)、毎回透析日投与 (パルス投与) 群 (各 $n=9$) に分け、さらに、パルス投与後、引き続き週 1 回 HD 日投与群を、週 3 回 HD ($n=15$, 男性 11 例、女性 4 例、 51.6 ± 12.0 歳、 9.5 ± 5.7 年) 群、および、週 2 回 HD 患者 ($n=15$, 男性 12 例、女性 3 例、 58.9 ± 11.3 歳、 3.6 ± 2.9 年) 群に分けた。各群の患者は、投与前レベルが 35 nmol/ml 以上の症例を無作為に抽出した。薬剤の投与と検査に関しては、主旨を説明し、患者の同意を得た上で、施行した。

2. 投与方法

補酵素型 VB6 (ピリドキサル；30 mg/1 回)、補酵素型 VB12 (メチコパラミン；0.5 mg/1 回)、葉酸

(フォリアミン；5 mg、1 回) をそれぞれ単独、あるいは VB12 と葉酸の併用で経口投与した。薬剤の服用方法は、連日投与群は夕食後、パルス投与群は毎回の HD 後、パルス投与後、引き続き週 1 回投与した群は週 3 回 HD、および、週 2 回 HD 患者とも、週の最終 HD 後とした。連日投与、およびパルス投与群は 4 週間投与とした。パルス投与後、週 1 回投与群は、その後、24 週間継続投与した。

3. 採血と測定

測定のための検体は、HD 前採血は、薬剤投与後の次の HD 前に、HD 後採血は、HD 終了後、薬剤投与前に採取した。血中葉酸値 (正常値：2.4~9.8 ng/ml)、VB6 値 (正常値：3.6~18.0 ng/ml)、VB12 値 (正常値：233~914 pg/ml)、およびホモシステインレベル (基準範囲：3.0~14 nmol/ml) 測定検体は、それぞれの測定の採血注意事項に従い採取し、速やかに血漿分離後、冷凍保存した。ホモシステインは、7-Fluoro-4-sulfamoyl-2, 1, 3-benzoxadiazole (ABD-F) (同仁化学) を用いた HPLC で tHcy 測定を行った。測定はテイジン・エスアールエルラボに依頼して施行した。

II. 結 果

1. 透析とホモシステインレベル

図 1 に今回対象とした全患者の tHcy 値の透析歴別分布を示す。tHcy レベルと透析歴の長さには相関はみられなかった。また 180 例中 4 例は正常レベルであったがいずれも肝硬変など蛋白質合成障害を有する患者であった。tHcy レベルが 110 nmol/ml 以上を示す患者も 180 例中 7 例存在した。まず、透析による除去率を、透析前後の tHcy レベルにより検討した (図 2)。約 40% のホモシステインが透析で除去された (図 2 A)。透析前 tHcy レベルの異なる患者を選んで検討すると、透析により除去されても、次回透析までには、ほぼ元の各患者のレベルまで tHcy レベルが上昇することが確認された (図 2 B)。糖尿病の有無により結果に差はみられなかった。また透析膜の違いは結果に有意な影響を与えなかった。これらの結果を基に薬剤投与の患者は、透析歴、糖尿病の有無、透析膜の差の因子を特に考慮せず、無作為に抽出した。

図 1 血液透析患者の透析歴と総ホモシステインレベル (n=180)

図 2

2. 薬剤投与

1) 連日投与

40 nmol/ml 以上の異常値を示す患者を抽出し、葉酸 (5 mg/日)、VB12 (0.5 mg/日)、VB6 (30 mg/日) のそれぞれを単独で、連日 4 週間投与した。投与前と、投与終了日の次の HD 前に tHcy レベルを測定した結果を図 3 に示す。経口薬剤 (市販) の最小単位量投与では、VB6 レベルは 26.8 ± 16.8 ng/ml、VB12 レベルは 1079 ± 536.3 pg/ml、葉酸は 386.7 ± 76.4 ng/ml ま

図 3 連日投与による総ホモシステインレベルの変動

で上昇した。tHcy レベルは葉酸投与群のみ、投与前 76.6 ± 35.5 nmol/ml から、4 週間後 29.6 ± 9.5 nmol/ml へと約 57% 低下した。

2) パルス投与

35 nmol/ml 以上の患者を抽出し、葉酸単独、あるいは葉酸と VB12 を 4 週間、透析後のみに投与した。1 回投与量は連日投与群と同じ量を用いた。投与終了後、次の HD 前の葉酸レベルは 53.7 ± 16.2 ng/ml まで上昇し、tHcy レベルは投与前 64.0 ± 19.8 nmol/ml が 25.7 ± 3.5 nmol/ml まで低下した。低下率は連日投与群とほぼ同じで約 57% であった (図 4 A)。VB12 (0.5 mg/1 回) の併用は結果に影響を与えなかった (図 4 B)。

3) 維持療法

葉酸のパルス投与終了後、約 6 週間後には再度、tHcy レベルの再上昇傾向が観察された (data not shown)。そこで、tHcy レベルを維持するための葉酸の最小維持量の検討を行った。4 週間パルス投与後、引き続き、週の最終透析日のみに透析後、5 mg/1 回の葉

A：葉酸 (5 mg/1 回) 投与
B：葉酸 (5 mg/1 回) + VB12 (0.5 mg/1 回) 投与
図 4 葉酸および葉酸 VB12 の血液透析日投与による総ホモシステインレベルの変動

A：週 2 回透析, B：週 3 回透析
図 5 葉酸投与によるホモシステインレベルの変動

酸を投与し、経過を観察した。葉酸と tHcy レベルはその次の透析前(葉酸最高値)、および、最終日の透析後(葉酸最低値)に採血し、検討した。透析効果の影響を考慮して、週 2 回および週 3 回透析患者を対象に選んだ(図 5 A, B)。週 2 回透析群は比較的透析歴の短いものが多かった。週 3 回群の、葉酸レベルは次の透析前で 42.5 ± 20.2 ng/ml, 最終日の透析後で 24.6 ± 12.9 ng/ml を示した。週 2 回群のレベル (data not shown) と、3 回群との間に有意差は認められなかった。tHcy レベルにはパルス後の値から殆ど変動はみられず、投与前の約 40% 前後の値に維持された。また、葉酸投与中止後の解析からは、葉酸レベルが 15.6 ± 8.5 ng/ml 以下になると、tHcy レベルが再上昇することが示された。

経過を通じ、葉酸投与によると思われる胃腸障害を訴える患者は 1 例も認められなかった。また 28 週間の葉酸投与後の患者血中 VB12 レベルは 655.9 ± 333.3 pg/ml で、投与前 731.0 ± 317.0 pg/ml に比べ殆ど低下はみられなかった。

III. 考察ならびに結論

高ホモシステイン血症が血栓症や動脈硬化の独立した危険因子であることはおおかたの認めるところである。その機序については多くの説が提唱されている。例えば、Harlan ら³⁾による活性化酸素および H_2O_2 の

産生を介する血管内皮細胞の酸化障害、トロンボモジュリンの発現低下による活性化プロテイン C 産生の低下⁴⁾、さらには単球細胞上の組織因子発現の誘導⁵⁾ など、内皮障害から血栓形成に関与する因子までへのホモシステインの影響が検討されている。HD 患者における高ホモシステイン血症もまた同様の血管障害の危険因子であることが報告されている¹⁾。しかし、HD 患者に高ホモシステイン血症が高頻度に見られるメカニズムは必ずしも明らかではない。血漿からのクリアランスの著しい低下がその原因であると示唆する報告はあるが⁶⁾、ホモシステインの尿中排泄量はその産生量の 0.1% にすぎないことから⁷⁾腎不全による排泄障害のみでは説明できない。一方、メチオニンから合成されるホモシステインの代謝は、セリンと縮合してシスタチオニンへと変化する経路と、再メチル化されてメチオニンに戻る経路を持つ。HD 患者に、再メチル化に関与する酵素の補酵素としての VB12 や補基質としての葉酸、さらにはシスタチオニン合成酵素の補酵素である VB6 などの高用量を投与すると、高ホモシステイン血症が改善することから、これらの経路に障害が存在する可能性が示唆されている⁸⁾。しかしながら、110 nmol/ml 以上の重症高ホモシステイン血症のみられる我々の症例でも、これらのビタミンの血中レベルは、正常範囲内にあった (data not shown)。また、効果発現には高用量のビタミン投与が必要であることが報告されている。従って、おそらくは慢性腎不

全ではこれらの補酵素、補基質の作用を競合阻害する病態が生じているものと思われる。この両経路のうち再メチル化に関与する酵素の K_m はシスタチオン合成酵素の K_m より小さい。このことは、再メチル化反応が細胞内ホモシステイン濃度により強い影響を持つことを示唆する。おそらく、VB6 投与より VB12 や、葉酸の投与のほうが高ホモシステイン血症の改善に有効なのはこのことも関与していると思われる。

ところで、高ホモシステイン血症の治療を考える上で、まずそれぞれの薬剤の特性を検討すると、いくつかの問題点が存在する。VB12 は経口投与では、吸収効率が悪い。筋注では注射部位に硬結、静注では時にアナフィラキシーショックがみられる。VB6 は大量長期投与では末梢神経障害がみられる。葉酸は静注不可である。また、長期間投与で VB12 レベルが低下し、末梢神経障害が出現することがある。そこで、患者に負担が少なく、副作用を可能な限り抑えることを意図して、まずそれぞれの市販薬単位の最小量の経口投与を4週間試みた。結果、葉酸投与のみに効果が確認できたので(図3)、葉酸投与を治療の中心とすることとし、さらに投与方法と量を検討した。量に関しては、投与方法を変えることで血中葉酸レベルを変化させ、どのレベルに維持することで、有効なホモシステイン低下効果が得られるかにより検討した。葉酸5mgを毎回透析後に服用させるパルス療法4週間では、葉酸レベルは正常上限の7~8倍にしか上昇しなかったが、連日投与とほぼ同じホモシステインレベル低下効果がみられた。ところが、葉酸投与を中止すると、4~6週間後には再度血中ホモシステインレベルは上昇傾向を示した(data not shown)。葉酸は新鮮な青野菜やメロン、バナナなどの果物に大量に含まれる。しかし、加熱によって破壊されるために血液透析患者が大量に経口摂取することは不可能である。しかも、保存量に対して一日の必要量が多いためにパルス療法数週間後には葉酸レベルが低下して、再上昇してきたものと思われる。そこでパルス療法後に、葉酸5mgを週1回のみ、透析後に服用することで、ホモシステインレベルを維持できないかを検討した。図5からは、この投与により、1週間の間、葉酸レベルは正常上限の約2倍から4倍の間値で経過することが、推測される。tHcyレベルの上昇がみられないことから、このレベルの葉酸値の上昇でtHcyレベルを低値に維持することが可能であると思われる。さらに、投与中止後の結果からは、正常値上限の2倍以下に葉酸値が低下すると、再上昇することが示された。約6か月間の投与中、胃腸障害を訴えた患者は1例もなく、VB12レベルも低下せず、末梢神

経障害を示唆する症状を訴えた患者もいなかったことから、この投与方法は長期間投与が可能な治療法であると考えられる。ホモシステインレベルが透析前の40%近傍に低下し、さらに透析によりその約40%は除去されることから透析前に60nmol/ml以上の高値を示すような患者を除いて、本治療法で、長期にホモシステインレベルを基準値内に維持することは可能であると思われる。また、図3および図4から葉酸の高用量投与は不要であること、および、その効果には上限があることが示唆された。ところで、葉酸とVB12は再メチル化経路に関与するが、葉酸は補基質として、またVB12はメチオニンシンターゼの補酵素として作用する。従って、両者を併用すると、相加的な効果により、さらにtHcyレベルを低下しうる可能性がある。しかしながら、本研究の連日投与例でも明らかにように、経口投与では、それほどVB12の血中レベルの上昇は望めない。そこで、100nmol/ml以上を示す重症高ホモシステイン血症の患者には、現在、VB12の0.5mg/1回静注投与と葉酸の併用療法を試みている。長期投与による影響を含め、今後、さらに本併用療法の得失についての解析を進めていく予定である。また、ホモシステインレベルを低値に維持することにより、果たして透析患者の血管障害の頻度が低下するかという問題は、臨床的には最も重要であり、興味深いことでもある。結果の解釈にはなお、今後数年にわたる長期間の検討が必要であると思われる。

文献

- 1) Bachmann J, Tepel M, Radit 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) Chateau P, Caudeaux B, Coude M, Aupetit J, Kamoun P, Jungers P: Long term folic acid supplementation lowers elevated plasma homocysteine level in chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 22: 106-109, 1996
- 3) Starkebaum G, Harlan JM: Endothelial injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 77: 1370-1376, 1986
- 4) Hayashi T, Honda G, Suzuki K: An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin expression in human umbilical vein cells. *Blood* 79: 2930-2936, 1992
- 5) Khajuria A, Houston DS: Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. *Blood* 96: 966-972,

- 2000
- 6) Guttormsen AB, Ureland PM, Svarstad E, Refsum H : Kinetic basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 52 : 495-502, 1997
- 7) Ureland PM, Refsum H : Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease : Plasma levels in health, disease and drug therapy. *J Lab Clin Med* 114 : 473-450, 1989
- 8) Robinson K, Gupta A, Dennis V, Arheart K, Caaudhary D, Green R, Vigo P, Mayer EL, Selhub J, Kutner M, Jacobsen DW : Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation* 74 : 2743-2748, 1996