エンドトキシンフリー透析液は血液透析患者の CRP 値を低下させ、貧血、血中 β_2 -MG 値、血清アルブミン値を改善する

野村 和史^{*1} 有 蘭 健 二^{*1} 松下 芳 雄^{*1} 松 岡 潔^{*1}
竹下 久子^{*2} 森 寛 貴^{*3} 宮津 利加子^{*3} 福井 博 義^{*1}
熊本中央病院腎臓科^{*1} 同検査科^{*2} 牛深市民病院透析室^{*3}

key words: 透析液清浄化, エンドトキシン, 高感度 CRP, 慢性炎症

〈要旨〉

血液透析患者において、C-反応性蛋白質 (CRP) の上昇が心血管疾患の発生率および死亡率、および粗死亡率と関係することが報告されている。

2002 年 3 月、牛深市民病院の新築移転に伴い透析室の透析液清浄化システムを再構築した。透析液エンドトキシン濃度は移転前平均 76.9 EU/L より、移転後は測定感度以下である 1.0 EU/L 以下に低下した。このことが、透析患者の慢性炎症状態にどのような影響を与えるかについて高感度 CRP を通して検討した。対象は牛深市民病院にて維持血液透析を施行している 23 名で、施設移転前後の高感度 CRP 値、ヘモグロビン値、 β_2 -MG 値、血清アルブミン値を検討した。高感度 CRP 値は各患者の 6 か月毎の中央値の平均を採用し、その推移を検討した。移転前 6 か月間の 0.162 ± 0.046 mg/dL から移転後 7~12 か月には 0.073 ± 0.015 mg/dL と有意に低下した ($p < 0.05$)。ヘモグロビン値は移転直後には 10.01 ± 0.23 g/dL であったが、その 1 年後にはエリスロポエチン使用量を増加させることなく 10.95 ± 0.35 g/dL と有意に上昇した ($p < 0.01$)。血清 β_2 -MG は、 33.2 ± 2.1 mg/L から 28.4 ± 1.4 mg/L と有意に減少した ($p < 0.001$)。血清アルブミン値は 3.67 ± 0.08 g/dL から 3.89 ± 0.07 g/dL と有意に上昇した ($p < 0.01$)。これらの結果より、透析液エンドトキシン濃度が 70 EU/L 程度であっても高感度 CRP に代表される慢性炎症状態を惹起しており、貧血、 β_2 -MG 値の増加、低アルブミン血症を引き起こすことが示された。

結論として、透析液エンドトキシン濃度は 1.0 EU/L 以下を目標にすべきであると考えられる。

Endotoxin-free dialysate reduces serum levels of CRP and β_2 -MG, and increases both hemoglobin and serum albumin in chronic hemodialysis patients

Kazufumi Nomura^{*1}, Kenji Arizono^{*1}, Yoshio Matsushita^{*1}, Kiyoshi Matsuoka^{*1}, Hisako Take-shita^{*2}, Hirotaka Mori^{*3}, Rikako Miyatsu^{*3}, Hiroyoshi Fukui^{*1}

Kumamoto-Chuo Hospital, Department of Nephrology^{*1}, Laboratory Division^{*2}; Ushibuka City Hospital, Dialysis Center^{*3}

In hemodialysis patients, several studies have shown that elevated serum C-reactive protein (CRP) levels have associated with high cardiovascular morbidity and mortality.

In March 2002, Ushibuka City Hospital was reconstructed and the dialysis solution supply system was improved. The mean level of dialysate endotoxin (ET) at the end of the dialysate supplying line decreased from 76.9 to less than 1.0 EU/L (ultrapure dialysate). We evaluated the relationship between dialysate ET levels and chronic inflammation determined by CRP.

The study subjects consisted of 23 patients receiving chronic hemodialysis at Ushibuka City Hospital. We prospectively measured high sensitivity CRP (h-CRP), hemoglobin, β_2 -MG and serum albumin before the use of ultrapure dialysate and 1 year after its use was started.

野村 和史 熊本中央病院腎臓科 〒862-0965 熊本市田井島 1-5-1

Kazufumi Nomura Tel: 096-370-3111 Fax: 096-370-4004

[受付: 平成 15 年 9 月 22 日, 受理: 平成 16 年 1 月 6 日]

The data showed a significant decrease in the median value of h-CRP from 0.162 to 0.073 mg/dL ($p < 0.05$). The value of β_2 -MG was decreased from 33.2 ± 2.1 to 28.4 ± 1.4 mg/L ($p < 0.001$), hemoglobin level was increased from 10.01 ± 0.23 to 10.95 ± 0.23 g/dL ($p < 0.01$) despite the increasing erythropoietin level, and the albumin level was increased from 3.67 ± 0.08 to 3.89 ± 0.07 g/dL ($p < 0.01$).

These results indicate that even a dialysate containing about 70 EU/L of ET may induce chronic inflammation, anemia, increasing levels of β_2 -MG and hypoalbuminemia. Based on these results, the target ET level at the end of dialysate supply line should be 1.0 EU/L or less.

はじめに

血液透析患者において、炎症状態の代表的なマーカーである C-reactive protein (CRP) が上昇し、その値が心血管疾患の発生率および死亡率、粗死亡率と関連することが多数の報告で示唆されている。そして、透析患者が慢性炎症状態となっている理由として、①透析液エンドトキシンと血液の透析膜を介した接触、②生体適合性の悪い透析膜の使用、③尿毒症の病態そのものなどがあげられる。

2001 年、透析医学会より透析液の清浄化の達成目標としてエンドトキシン濃度 10 EU/L が提唱されているが、どの程度まで透析液を清浄化すれば慢性炎症状態を防ぐことができるかは明らかになっていない。

今回、われわれは透析液エンドトキシン濃度を平均 76.9 EU/L から検出感度以下 (< 1 EU/L) まで清浄化することで、慢性炎症状態に対してどの程度の改善が認められるかについて高感度 CRP を用いて検討するとともにヘモグロビン値、血清 β_2 -MG 値、血清アルブミン値の変化についても検討した。

I. 対象および方法

対象は牛深市民病院にて維持血液透析を施行している 23 名の患者である。内訳は男性 15 名、女性 8 名。年齢は 24~81 歳(平均 $\pm$ 標準偏差 61.7 ± 13.5 歳)、透析歴は研究開始時 1 か月~21 年 9 か月(平均 $\pm$ 標準偏差 4.3 ± 6.0 年)であった。原疾患は慢性糸球体腎炎が 14 名、糖尿病性腎症が 5 名、多発性嚢胞腎 3 名、その他(腹部大動脈瘤手術後) 1 名であった。全例週 3 回の割合で透析を行い、1 回当たりの透析時間は 4.0~5.0 時間(平均 $\pm$ 標準偏差 4.35 ± 0.37 時間)であった。使用した透析膜はすべて high-flux type でポリスルフォン 12 名、セルローストリアセテート 8 名、改質セルロース 3 名であった。この研究を行った期間中、透析条件・ダイアライザーの変更は行わなかった。

牛深市民病院では 2002 年 3 月に新築移転を行った

際に、透析液清浄化の対策として①配管の盲端をなくし極力短縮化し、②透析液供給装置の後にエンドトキシンカットフィルター(モルセップ FF-03)を設置し、③各コンソールの前にエンドトキシンカットフィルター(カットール EF-01)を設置した。

新築移転の前後である 2001 年 10 月~2003 年 3 月の 1 年 6 か月間、CRP・ヘモグロビン・ β_2 -MG・アルブミンの値を経時的に測定しデータの推移を観察した。採血は週初めの透析前に行った。

透析液エンドトキシンレベルは回路末端コンソールの透析液供給側より採取され、安定化剤入り容器に採取し冷蔵保存した後、FALCO 社にてエンドスピーシー法で測定した。

CRP は熊本中央病院にて、デンカ生研社 CRP-ラテックス(II)「生研」X2 を用いて高感度 CRP としてラテックス凝集法で測定した。高感度 CRP は 2003 年 4 月の時点で DADE VEHRING 社の N-ラテックス CRP のみが FDA に認定されている。そのため、この 2 つの試薬を使用して相関関係を確認したところ、 $Y = 1.004X + 0.003$, $r = 0.998$ と極めて良好な相関関係が確認された(図 1)。

β_2 -MG 値の測定は FALCO 社にて測定した。ヘモグロビン値、血清アルブミン値は院内の検査室で測定した。

CRP 値は感染を主とする急性炎症状態において一過性の急激な上昇を認めるため、そのような病態では慢性炎症の指標としての CRP 値の評価を著しく歪める。この影響を除外するために高感度 CRP 値を移転前の 6 か月、移転直後の 6 か月、その後の 6 か月の 3 群に分け、各群の中央値を各患者の高感度 CRP 値として採用し、その平均値 $\pm$ 標準誤差で表示した。ヘモグロビン値、 β_2 -MG、血清アルブミン値については各々平均値 $\pm$ 標準誤差で表示した。有意差の検定については paired-t test を用い、 $p < 0.05$ を統計学的有意差とした。

図 1 N-ラテックス CRP と CRP-ラテックス (II)「生研」X2 の相関関係

図 4 ヘモグロビン値と EPO 使用量の推移

図 2 回路末端における透析液エンドトキシンの値

図 5 血中 β_2 -MG 値の推移

図 3 高感度 CRP 値の推移

II. 結 果

牛深市民病院における回路末端での透析液エンドトキシン濃度の推移をグラフに示す (図 2). 施設移転前のエンドトキシン濃度平均は 76.9 EU/L であったが, 移転後の測定ではエンドトキシン濃度は 1 EU/L 未満と検出感度以下となった.

移転前 6 か月と移転後 1~6 か月まで, 移転後 7~12 か月の高感度 CRP 値の推移をグラフに示す (図 3). 移

転前 6 か月の各患者の高感度 CRP 値中央値の平均は 0.162 ± 0.046 mg/dL であったが, 移転後 1~6 か月の平均は 0.078 ± 0.019 mg/dL, 7~12 か月の平均は 0.073 ± 0.015 mg/dL へと有意な減少を認めた (移転後は移転前と比べていずれも $p < 0.05$).

ヘモグロビン値は移転直後の 2002 年 4 月では 10.01 ± 0.23 g/dL であったが, 徐々に上昇し移転 1 年後である 2003 年 3 月には 10.95 ± 0.35 g/dL と約 0.9 g/dL 有意に上昇した ($p < 0.01$). さらに, この間使用したエリスロポエチン量は増加しなかった (図 4).

血中 β_2 -MG 値の経過をグラフに示す (図 5). 移転直後の 33.2 ± 2.1 mg/L より移転後 6 か月では 28.4 ± 1.7 mg/L, 12 か月後では 30.1 ± 1.7 mg/L, 1 年後では 28.4 ± 1.3 mg/L といずれも移転直前と比べて有意な低下を示した ($p < 0.001$).

施設移転後の血清アルブミン値の経過をグラフに示す (図 6). 移転直後の 2002 年 4 月では 3.67 ± 0.08 g/dL であったが, 徐々に上昇し, 移転 1 年後の 2003 年 3 月には 3.89 ± 0.07 g/dL と約 0.2 g/dL の有意な上昇を認めた ($p < 0.01$).

図 6 移転後の血清アルブミン値の推移

III. 考 察

透析患者での動脈硬化促進因子として高血圧、高脂血症、糖尿病、喫煙、酸化 LDL 高値、free radical、高ホモシスチン血症、血行動態負荷、代謝性アシドーシスに加えて、透析それ自体に起因する生体適合性の低い透析膜の使用、透析液エンドトキシンへの血液の暴露などが知られている。これらの因子が血管内皮細胞の障害、前炎症性サイトカインの放出を介して全身性慢性炎症反応を惹起し、この過程で CRP 値の上昇を認める。さらに、慢性炎症が動脈硬化を促進し心血管疾患に至ると推測される^{1,2)}。また CRP が LDL や VLDL との結合、補体活性化、単球の組織因子産生を刺激することで直接動脈硬化に関与するという報告もある³⁾。

われわれの検討では、high flux 膜を使用した 23 名の透析患者において、透析液エンドトキシン濃度を 77 EU/L より感度以下に低下させることにより CRP 値が 0.162 mg/dL より半年間で 0.078 mg/dL へ有意に低下し、1 年後もその値を継続した。

透析液を清浄化することで CRP が低下するか否かに関しては、これまでいくつかの報告がある。Schiffl ら³⁾は、透析液を清浄化することで、24 名の透析患者にて CRP 値が 1.1 ± 0.2 mg/dL より 0.6 ± 0.2 mg/dL まで低下したことを報告している。また、穴戸ら⁴⁾は透析液エンドトキシン濃度を 40 EU/L より感度以下まで清浄化することにより、high flux 膜使用群では 0.19 ± 0.17 mg/dL より 0.15 ± 0.13 mg/dL と有意な低下を示し、low flux 膜群では変化がないと述べている。Terringen ら⁵⁾は透析液を濾過しても血清 CRP 値は低下しないと述べている。しかし、この研究では濾過した透析液では透析液の CFU (colony forming unit) 値は低下しているものの、エンドトキシン濃度は

濾過前後とも 51 EU/L と変化がなく、エンドトキシンフリーという観点からは問題がある。われわれの結果とこれまでの文献より考えて、76 EU/L のエンドトキシンでも慢性炎症に影響を与えており、透析患者の CRP を低下させるためにはエンドトキシン濃度を感度以下 (<1 EU/L) まで低下させる必要があると考えられる。

健常人における CRP 値の中央値は 0.15 mg/dL 程度⁶⁻⁸⁾であり、透析患者では 0.15~0.74 mg/dL と報告されている^{4,9-11)}。透析患者では健常人と変わらないかまたは上昇傾向である。CRP 値は健常中高年男性 22,000 人において調査された Physician's Health study⁶⁾において、CRP 0.055 mg/dL 以下の群と比べて、0.056~0.114 mg/dL の群では将来の心筋梗塞の相対危険度が 1.7 倍となり、0.115 mg/dL 以上の群では 2.6 倍となるという結果が示されている。さらに、26,000 人の女性においても同様の結果が示されている⁷⁾。

透析患者における CRP 値に関しては、Iseki ら⁹⁾は CRP 0.1 mg/dL 以下の群が粗死亡率が最も少ないと報告している。Yeun ら¹⁰⁾、Zimmermann ら¹²⁾も CRP が最も低い群が、最も良好な粗死亡率と心血管疾患死亡率を示すことを報告している。すなわち、CRP 値が低ければ低いほど心血管系および全体の予後が良好である。今回の透析液清浄化の結果である CRP 値が 0.162 mg/dL より 0.073 mg/dL まで低下することで、心筋梗塞罹患の減少、心血管疾患および粗死亡率を減少させる可能性が示唆される。

上記の通り CRP 値と予後の関係を議論するためには、従来では正常値といわれていた CRP 値間での差を検出しなければならない。この際に高感度 CRP 測定法は CRP 0.1 mg/dL を誤差 3%以内で測定できる測定法であり、非常に有用な方法であると思われる。

透析液清浄化直後のアルブミン値は 3.67 ± 0.08 g/dL であったが、徐々に上昇し、移転 1 年後の 2003 年 3 月には 3.89 ± 0.07 g/dL と約 0.2 g/dL の上昇を認めた。同様の報告は穴戸ら⁴⁾、政金¹³⁾も行っている。

アルブミン値が上昇する原因としては、透析液を清浄化することで慢性炎症状態が改善し、前炎症性サイトカインである TNF- α がレプチンを介して引き起こす食欲低下を防ぐこと¹⁰⁾と、TNF- α やインターロイキンによる肝臓で急性相蛋白の産生を抑制する結果、アルブミンの分解が防がれる¹⁴⁾ことなどが考えられる。

血清アルブミン値は栄養状態の代表的なマーカーと知られており、低アルブミン血症はそれだけで重要な

予後悪化因子となることが知られている¹⁵⁾。Stenvinkel ら¹⁶⁾は、CRP 高値で示される慢性炎症状態と低アルブミン血症で代表される低栄養状態の相乗効果によって、透析患者では急速に動脈硬化が進行することを提唱している。今回のわれわれの結果では、エンドトキシン濃度が約 70 EU/L の透析液を 1 EU/L 未満へ清浄化することで CRP 値低下とアルブミン値上昇の両方を同時に認めており、透析液清浄化が動脈硬化の進行を遅らせることが示唆される。

貧血に関しては、エンドトキシンフリー透析液に変更した直後ヘモグロビン値が 10.01 g/dL より 1 年後には 10.95 g/dL と約 10% の上昇を認めた。この間エリスロポエチン使用量は減少傾向となっている。

2001 年 12 月 31 日現在、全国の慢性透析患者の平均ヘマトクリット値は 30.6% で、エリスロポエチン使用量は週当たり 4,962 単位である¹⁵⁾。また、ヘモグロビン値は透析歴、主要な原疾患、年齢と相関関係が少ない。牛深市民病院において、透析液清浄化後の 2002 年 3 月には平均のヘモグロビン値が 10.95 g/dL であり、このときのヘマトクリットでは平均 32.5% であった。このときのエリスロポエチン使用量は週当たり平均 3,340 単位であった。透析液清浄化により少なくとも週当たり 1,500 単位以上のエリスロポエチン節減効果があることが示された。

透析液清浄化と貧血の改善に関しては、Schiff ら³⁾は ultrapure dialysate を用いることで Hb 10 g/dL を保持するのに必要なエリスロポエチンの量が 87 U/kg/week より 61 U/kg/week に減少したことを報告している。政金¹³⁾はエンドトキシンフリー透析液を用いると high performance membrane 使用群において有意なヘマトクリットの上昇を示すことを報告している。その機序として武本ら¹⁷⁾は、網状赤血球で表される造血能の亢進と、赤血球の寿命の延長をもたらすことを明らかにしている。また、慢性炎症状態自体が造血を初期の段階で抑制している可能性もある。

われわれの結果では、血中 β_2 -MG 値は移転直後の 33.2 ± 2.1 mg/L より移転後 4 か月では 28.4 ± 1.7 mg/L、8 か月後では 30.1 ± 1.7 mg/L、1 年後では 28.4 ± 1.3 mg/L といずれも移転直前と比べて有意な低下を示した。今回の報告以外にも、政金¹³⁾、松岡ら¹⁸⁾は透析液をエンドトキシンフリー透析液にすることで約 10% の β_2 -MG の低下を報告している。

岡ら¹⁹⁾は、透析液エンドトキシン濃度を感度以下にすることにより、酸化ストレスの指標となる MDA-LDL, Ox-LDL および単球活性化の指標となる sCD-14 の有意な低下を報告している。このことは、透析液

図 7 透析液清浄化の効果

エンドトキシンが酸化ストレスにもなりうることを示している。

Baz ら²⁰⁾は透析液を清浄化することで手根管症候群の発生頻度が減少することを示している。その機序として、 β_2 -MG を低下させ、かつ酸化ストレスを介したカルボニルストレスを減少させたことが考えられる。

透析液を清浄化しエンドトキシンフリーとすることで、単球の活性化を抑え、慢性炎症状態の指標となる CRP を低下させ、また酸化ストレスを抑制する。その結果、動脈硬化進行の遅延、エリスロポエチン抵抗性貧血の改善、低アルブミン血症により示される低栄養状態の改善、 β_2 -MG 値低下および酸化ストレス減少による透析アミロイドの発症率の低下の可能性が示唆される（図 7）。

すなわち透析液をエンドトキシンフリーのレベルまで清浄化することにより、透析患者の予後の改善にとどまらず、QOL の改善の可能性も期待できる。

結 語

透析液中エンドトキシンを 70 EU/L より 1 EU/L 未満まで低下させることにより、

- 1) 血清 CRP 値が有意に低下し、それと同時に 2) エリスロポエチンを増量することなく貧血が改善し、
- 3) 血清 β_2 -MG 値が有意に低下し、4) 血清アルブミンが有意に上昇した。

なお、本研究の要旨は第 48 回日本透析医学会学術集会（大阪、2003 年 6 月）において発表した。

文献

- 1) Arici M, Walls J : End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality : Is CRP is

- missing link? *Kidney Int* 59 : 407-414, 2001
- 2) Ross R : Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N Engl J Med* 340 : 115-126, 1999
 - 3) Schiffl H, Lang SM, Bergner A : Ultrapure dialysate reduces dose of recombinant human erythropoietin. *Nephron* 83 : 278-279, 1999
 - 4) 穴戸寛治, 長澤建一郎, 亀井信貴, 武田 勝, 井上大介, 佐藤 健, 鶴澤一行, 西原正博 : 透析液清浄化の長期効果. 腎と透析 2002 年別冊ハイパフォーマンスメンブレン, 16-20, 東京医学社, 東京, 2002
 - 5) Tellingan A, Groothman M, Bartels P, Schoorl M, Proeg T, Wee PM, Nube M : Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patient. *Kidney Int* 62 : 632-638, 2002
 - 6) Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH : Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy man. *N Engl J Med* 336 : 973-979, 1997
 - 7) Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR : Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 347 : 1557-1565, 2002
 - 8) Earl SF, Wayne HG, Gary LM, David MM : Population distribution of high-sensitivity C-reactive Protein among US Men : finding from National Health and Nutrition Examination survey 1999-2000. *Clin Chem* 49 : 686-690, 2003
 - 9) Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, Fukiyama K : Serum C-reactive protein (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 14 : 1956-1960, 1999
 - 10) Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA : C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 35 : 469-476, 2000
 - 11) 湯浅健司, 杉山弘明, 香西哲夫, 松下和宏, 大田和道, 増田秀作, 澤村博井, 宮本信昭, 寺尾尚民 : 維持血液透析患者における血清CRP上昇の意義. 透析会誌 35 : 1435-1440, 2002
 - 12) Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C : Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 55 : 648-658, 1999
 - 13) 政金生人 : ET フリー化を目指した透析液での臨床効果. 血液透析とエンドトキシン(竹澤真吾編), 49-61, 東京医学社, 東京, 2002
 - 14) Bergstrom J, Lindholm B : Malnutrition, cardiac disease, and mortality : An integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 32 : 834-841, 1998
 - 15) 日本透析医学会統計調査委員会 : 我が国の慢性透析療法の実況 (2001 年 12 月 31 日現在), 東京, 2002
 - 16) Stenvinkel P, Heimburger O, Paultre F, Diczfalussy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T : Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 55 : 1899-1911, 1999
 - 17) 武本佳昭, 土田健司, 仲谷達也, 山本啓介 : 透析液清浄化による赤血球寿命の変化, 腎と透析別冊ハイパフォーマンスメンブレン '00, 170-172, 東京医学社, 東京, 2000
 - 18) 松岡 潔, 野村和史, 有菌健二, 福井博義, 久木山厚子, 桑原邦治, 田嶋敏彦 : エンドトキシンフリー透析液で血清 β 2MG はどこまで低下したか. 腎と透析別冊 HDF 療法 '00, 50-55, 東京医学会, 東京, 2000
 - 19) 岡 良成, 宮崎雅史, 高津成子, 国友桂一, 国米欣明 : 透析液超清浄化によるMDA-LDL, Ox-LDL および sCD-14 の低減効果. 透析会誌 35 : 269-273, 2002
 - 20) Baz M, Durand C, Ragon A, Jaber K, Andrieu D, Merzouk T, Purgus R, Olemer M, Reynier JP, Berland Y : Using ultrapure water in hemodialysis delays carpal tunnel syndrome. *Int J Artif Organs* 14 : 681-685, 1991