

香川県立保健医療大学リポジトリ

Comprehensive assessment of oxidative stress degrees and anti-oxidant potential in dialysis patients

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2021-03-02 キーワード (Ja): キーワード (En): d-ROMs, BAP, Dialysis treatment, Oxidative stress, Anti-oxidant potential 作成者: Miyagawa, Akemi, Tateishi, Kinya メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.50850/00000331

博士論文要旨

所 属 保健医療学研究科博士後期課程
専 攻 (臨床検査学専攻 病因解析検査学領域)

学籍番号	217DS01	氏 名	宮川 朱美
(博士論文題目) Comprehensive assessment of oxidative stress degrees and anti-oxidant potential in dialysis patients			
(目的) 腎臓が障害されると、活性酸素種生成の増加および消去物質の減少により、酸化ストレスが亢進することが知られている。また、末期腎不全患者における透析療法そのものが酸化ストレスに関与することが報告されている。酸化ストレスの測定方法は、生体内で発生した活性酸素種を測定する方法、活性酸素種を生成する系を測定する方法、活性酸素種によって生成された物質を測定する方法、生体が活性酸素種に反応して誘導生成する抗酸化物質を測定する方法の4種類がある。それぞれいくつかの測定系があるが、いずれも一長一短がある。 現在、酸化ストレスを総合的に評価するための方法として、活性酸素種生成系の diacron reactive oxygen metabolites test (d-ROMs)、抗酸化物質測定系の biological anti-oxidant potential test (BAP) が報告されている。本研究は、d-ROMs および BAP を用い透析患者の透析治療前後の酸化ストレスを測定することにより、総合的に良い透析療法のあり方を提案することを目的とする。			
(方法) 本研究を実施する前に、当該施設(承認番号29-01)および香川県立保健医療大学倫理審査委員会の承認(承認番号252)を得た。その後、本研究への書面によるインフォームドコンセントを実施し、承諾が得られた当該施設の透析患者112名(男65名、女47名、平均年齢69.8(44~93)歳)を対象とした。対象者の原疾患は糖尿病性腎症42名、慢性糸球体腎炎34名、腎硬化症8名、IgA腎炎5名、多発性嚢胞腎4名、ネフローゼ症候群3名、その他7名、不明が9名であった。また、平均透析歴は10.8年(0~47年)、透析方法はオンライン血液濾過透析(OHDF)が79名、血液透析(HD)が33名であった。なお、OHDF79名の使用透析膜は、NIPRO CorporationのMaxiflux®(MFX)使用者が47名、Fineflux®(FIX)使用者が17名、Asahi Kasei Medical Co.,Ltd.のAsahi hollow fiber type hemodiafiltration filter ABH®-PA (ABH-PA)使用者が12名、Toray Industries,Inc.のTORAYSULFONE®NV TDF-MV(TDF-MV)使用者が3名で、HD33名の使用透析膜はAsahi Kasei Medical Co.,Ltd.のAsahi VitabranE® VPS®-HA series (VPS-HA)使用者が19名、HOLLOW FIBER DIALYZER KF-201 kf-m Series使用者が5名、Asahi hollow fiber type dialyzer APS®-EA (APS-EA)使用者が5名、Baxter LimitedのH12ヘモダイライザー使用者が3名、NIPRO			

Corporation のトリアセートホローファイバーダイアライザー FB-eco シリーズ(FB)使用者が1名であった。

検体には、採血後30分間室温放置したのち3,000rpmにて5分間遠心分離した残余血清を用い、測定するまで-25℃で保存した。なお、コントロール群は先行研究において腎機能および脂質関連生化学結果が基準範囲内で、ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法にてリボ蛋白電気泳動パターンがSymmetry型であった30名の結果を使用した。

透析前後のd-ROMs、BAPを測定し、原疾患、現病歴、年齢、性別、透析歴、透析方法、使用透析膜および生化学項目との関連を検索した。また、酸化ストレスを加味した抗酸化力の指標として両者の比を算出し、各項目との関連を検索した。加えて、透析前の測定値に対する透析後の測定値割合(透析後測定値/透析前測定値×100で算出(以下透析変化率))についても各項目との関連を検索した。生化学項目は日立7180形自動分析装置(Hitachi High-Technologies Corporation)を用いて測定した。透析による濃縮率を測定するため、多項目自動血球分析装置XT-4000i(Sysmex Corporation)を使用し専用試薬にて透析前後のヘマトクリット値(Ht)を測定した(18名のみ)。

有意差の検定にはMann-Whitney検定、Wilcoxon符号付順位和検定およびSpearman順位相関係数検定を用い、 $P<0.05$ を統計学的有意とした。

(結果)

d-ROMsの結果は、透析患者の透析前(以下BD)と比較して、透析患者の透析後(以下AD)に有意に上昇、BAP、BAP/d-ROMs比の結果は、BDと比較してADは有意に低下した(Fig. 1)。年齢との関係において、d-ROMsの透析変化率、透析前および後のBAPは有意な負の相関が、BAP/d-ROMs比の透析変化率は有意な正の相関が認められた。透析歴との関係において、BAPおよびBAP/d-ROMs比の透析変化率は有意な負の相関が認められた。

透析方法との関連結果は、OHDF、HD方法間でADのBAPおよびBAP/d-ROMs比の透析変化率は、OHDFが有意に低い結果となった。一方、透析膜との関連は、OHDFの透析膜であるABH-PAのBAP/d-ROMs比の透析変化率がMFXと比較して有意に高い結果となった(Fig. 2)。

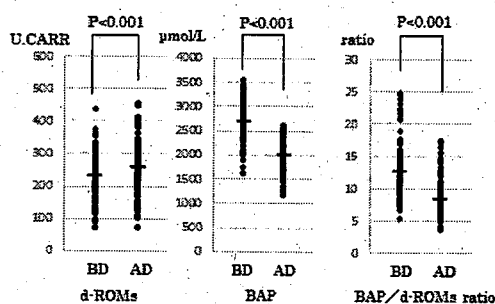


FIG.1. Relationship between BD and AD
Statistical processing: Wilcoxon signed rank sum test

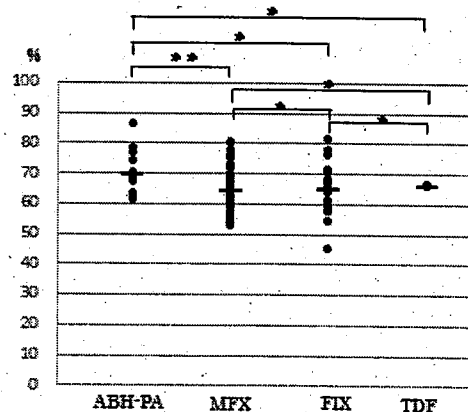


FIG.2. Comparison of OHDF dialysis membranes in BAP/d-ROMs ratio dialysis change rate
Number is ABH-PA 12, MFX 47, FIX 17, TDF 3.
*N.S and ** $P<0.05$ in BAP/d-ROMs ratio dialysis change rate Statistical processing: Mann-Whitney test

d-ROMs、BAPおよびBAP/d-ROMs比のBD、ADおよび透析変化率と各生化学項目において有用な相関関係があった結果は以下のとおりである。d-ROMsとの関連においては、透析変化率で総蛋白(TP)、アルブミン(ALB)、総コレステロール(TC)、HDLコレステロール(HDL-C)、LDLコレステロール(LDL-C)と有意な強い正の相関がみられた(Fig. 3)。BAPとの関連において、無機リン(IP)は透析前で有意な強い正の相関がみられ、透析後では有意な正の相関がみられた(Fig. 4)。

一方、透析前後の Ht から計算した 18 名の平均濃縮率は 108.36%であった。Ht から計算した濃縮率と d-ROMs の透析変化率の関係は、 $r=0.82(P<0.001)$ と有意な強い正の相関がみられた (Fig. 5)。なお、d-ROMs の透析変化率と有意な強い正の相関がみられた TP、ALB、TC、HDL-C、LDL-C の 5 項目の透析変化率を、Ht から計算した濃縮率により補正した変化率との関連を検索すると、どの項目とも有意な相関はみられなかった。

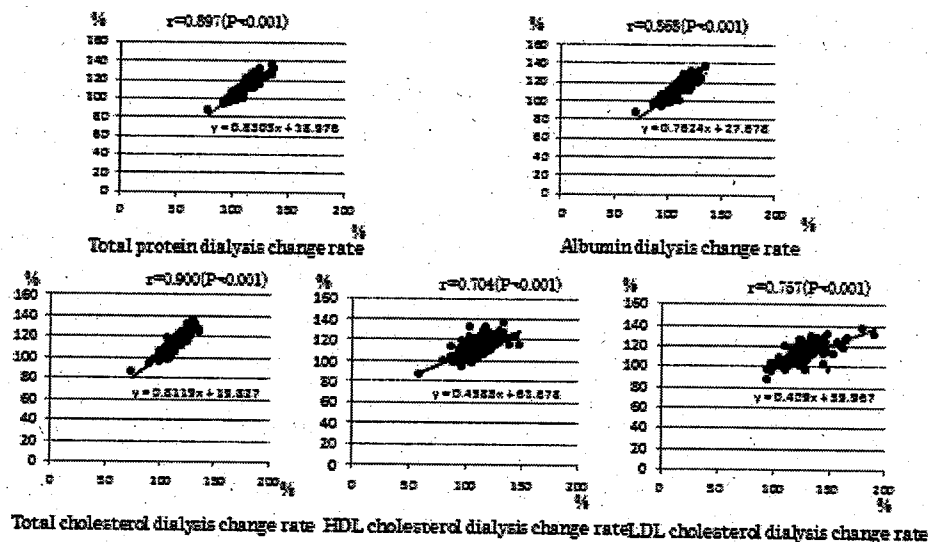


FIG. 3. Correlation of d-ROMs and Total protein, Albumin, Total cholesterol, HDL cholesterol and LDL cholesterol in dialysis change rate
The vertical axis is the dialysis change rate of the d-ROMs.
Statistical processing: Spearman's rank correlation coefficient test

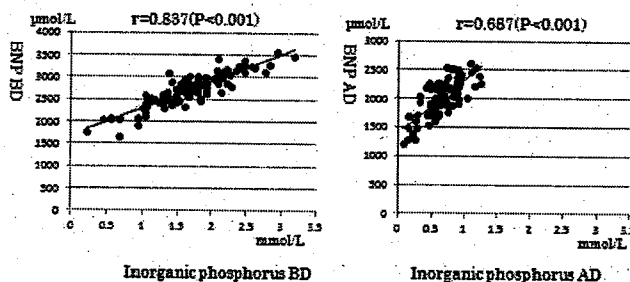


FIG. 4. Relationship between inorganic phosphorus BD and BAP BD and between inorganic phosphorus AD and BAP AD
Statistical processing: Spearman's rank correlation coefficient test

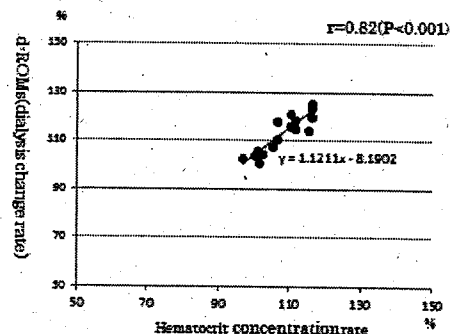


FIG. 5. Relationship between Hematocrit concentration rate and d-ROMs dialysis change rate
Statistical processing: Spearman's rank correlation coefficient test

(考察)

本研究結果からまず特筆すべきことは、透析直後には酸化ストレスが増加し、抗酸化力が低下することである。酸化ストレスの増加は、除水による循環血液の濃縮を加味したものである可能性が示唆される。なぜならば、Ht から計算した濃縮率と d-ROMs の透析変化率が有意な強い正の相関があったからである。抗酸化力の低下は、透析実施時の老廃物の除去の際、様々な抗酸化物質も一緒に除去されたと考えられる。なぜならば、OHDF、HD 方法間の比較結果において、より多くの老廃物を除去できる OHDF の方が透析による抗酸化力の低下率が有意に大きい結果だったからである。OHDF は、小分子量物質と水分しか除去されない HD と比較して小～中分子量物質に加え低分子蛋白および水分を除去できる特長を有している。近年、OHDF は増加傾向にある。使用したサンプルサイズは、各標準偏差と 95%の信頼度を用いて算出した誤差が各平均値の 6%以下であることを確認している。

二番目に特筆すべきことは、ABH-PA が優れた透析膜であると示唆されたことである。なぜならば、使用透析膜の比較で、OHDF の透析膜である ABH-PA 使用者の酸化ストレスを加味した抗酸化力の透析治療による低下率が MFX 使用者と比較して低かったからである。両者のサンプルサイズは標準偏差と 95% の信頼度および誤差 5 から算出し、統計学上、適切なサイズであることを確認している。なお、ABH-PA 膜中空糸の材質はポリスルホン、ポリビニルピロリドンであった。また、MFX 膜中空糸の材質はポリプロピレンであった。どちらも特にビタミン E 固定の記載はない。年齢および透析歴との関係結果より、年齢が高くなるほど透析による酸化ストレスの増加率は少ない一方で、透析歴が長いほど透析による抗酸化力の低下率が大きくなった。ただし、OHDF の各透析膜使用者の年齢および透析歴に有意差はなかった。

三番目に特筆すべきことは、IP 測定が総合的な抗酸化力の指標の代替え項目として利用できる可能性が示唆されたことである。なぜならば、IP と BAP が透析前で有意な強い相関($r=0.837$)が、透析後で有意な相関($r=0.687$)がみられたからである。腎障害をおこすと、腎での IP の排泄が障害されることが知られているが、他の腎障害により排泄が障害される物質(Cre、BUN 等)は IP ほど強い正の相関関係ではない。細胞膜の構成成分であるリン脂質には IP が含まれているため、関連を検索したが BAP との関連は認められなかった。現在のところ、IP と BAP の有意な強い正の相関関係の理由については不明である。

TP、ALB、TC、HDL-C、LDL-C の透析変化率と d-ROMs の透析変化率が有意な強い正の相関が認められた理由は、除水による循環血液の濃縮を加味したものである可能性が示唆された。なぜならば、Ht 補正結果を用いた結果で、有意な相関がなかったからである。しかし、結果として d-ROMs の透析変化率と有意な強い正の相関がみられることから、透析前および透析後に TP、ALB、TC、HDL-C、LDL-C を測定することで透析による d-ROMs 増加率の指標となり得る可能性がある。特に、栄養評価指標の一つである ALB を透析前および透析後で測定することにより、透析による ALB の変化率に加えて、酸化ストレスの増加率の把握も可能であると考えられる。

本研究結果から、透析により酸化ストレスが増加し、抗酸化力が低下することが証明された。今回の研究結果では原疾患、現病歴と酸化ストレス、抗酸化力および酸化ストレス度との有意差はみられなかった。日本では、毎年、透析患者の約 3 万人が死亡しており、死因の第 1 位は心不全、第 2 位は感染症、第 3 位は悪性腫瘍と報告されている。死因のうち、心不全および悪性腫瘍は、酸化ストレスとの関連報告が散見されている。このことより、効率の良い透析を実施することはもちろんであるが、透析による酸化ストレス度の亢進を最小限に抑える必要がある。

(結論)

効率の良い透析を実施するとともに酸化ストレス度の亢進を最小限に抑えるためには、OHDF の透析膜である ABH-PA を使用することが最良である。加えて、より簡易に酸化ストレスおよび抗酸化力を把握するために、両者の代替え項目として透析前後の ALB と IP の測定を提案する。