

# 透析患者における血中ホモシステイン濃度と葉酸、 ビタミン B<sub>12</sub>, ビタミン B<sub>6</sub> 濃度について

塩澤 勉\*1 羽生 登\*2 宮澤法幸\*1 中村啓章\*1 田村克彦\*3 本田孝行\*4  
大槻晋也\*5 日高宏哉\*5 長澤正樹\*3

\*1 JA 長野篠ノ井総合病院臨床工学科 \*2 同 臨床検査科 \*3 同 腎臓内科 \*4 信州大学医学部病態解析診断学  
\*5 同 保健学科検査技術科学

key words : ホモシステイン, 葉酸, ビタミン B<sub>12</sub>, ビタミン B<sub>6</sub>

## 要 旨

高ホモシステイン (Hcy) 血症は、古くから動脈硬化症の独立した危険因子として知られている。透析患者や保存期慢性腎不全患者において高 Hcy 血症を示すこと、また、葉酸 (FA), ビタミン B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> (VB<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>) の欠乏により高 Hcy 血症を来すことが知られている。今回、透析患者の血清 FA, VB<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> 濃度を測定し Hcy 濃度との関連を調べた。透析患者の血清 FA, VB<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> の平均値は基準範囲であった。ビタミン群と Hcy の間に相関は認められなかったが、ビタミン群が高値を示す症例では Hcy 濃度は低値を示した。Kt/V, nPCR, %CR と Hcy の間に相関は認められなかったが、%CR の増加とともに tHcy 濃度は増加した。Kt/V と FA, %CR と VB<sub>6</sub> に緩やかな相関が認められた。これらのことから、栄養療法を実施するに当たり、ビタミン群と Hcy 濃度の単項目の組み合わせを解析するだけでなく、他のパラメータを含めた患者ごとの解析の必要性が示唆された。

## 1 緒 言

ホモシステイン (Hcy) は、必須アミノ酸であるメチオニン (Met) の代謝経路から生成され、葉酸 (FA),

ビタミン B<sub>12</sub> (VB<sub>12</sub>) の作用により再び Met に合成される含硫アミノ酸である。さらに、Hcy はシスタチオンを経て、ビタミン B<sub>6</sub> (VB<sub>6</sub>) の作用によりシステイン (Cys) に代謝される<sup>1)</sup>。

高 Hcy 血症は、古くから動脈硬化症の独立した危険因子として注目されている<sup>2)</sup>。また、Alzheimer 病<sup>3)</sup>、高齢者における骨粗鬆症の危険因子<sup>4)</sup>となることが報告されている。重度の高 Hcy 血症は、先天性アミノ酸代謝異常の一つであるシスタチオン合成酵素欠損で起こることが解明された<sup>5)</sup>。一方、軽度の高 Hcy 血症の原因の一つとしてメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (methylene tetrahydroforate reductase; MTHFR) をコードする遺伝子の一塩基多型が報告されている<sup>6)</sup>。また、FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> の欠乏で高 Hcy 血症を来すことが知られている。透析患者や保存期慢性腎不全患者においても高 Hcy 血症を示す<sup>7)</sup>ことが報告されており、透析患者や保存期慢性腎不全患者に高 Hcy 血症が存在することは異論のない事実となっている<sup>8)</sup>。

我々は、透析患者における血清総 Hcy (tHcy) 濃度と透析療法の関係<sup>9)</sup>、tHcy 除去における on-line HDF の有用性<sup>10)</sup>について報告した。今回、透析患者の血清 FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> を測定し、tHcy 濃度と FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> 濃度、他の生化学検査項目との関連を比較し、透

The investigation of homocysteine, folic acid, vitamin B<sub>12</sub> and B<sub>6</sub> in blood level with hemodialysis patients

Department of Clinical Engineering, Shinonoi General Hospital, Nagano Prefecture Federation of Agricultural Cooperatives for Health and Welfare

Tsutomu Shiozawa

Clinical Laboratories, Shinonoi General Hospital, Nagano Prefecture Federation of Agricultural Cooperatives for Health and Welfare

Noboru Hanyu

Department of Nephrology, Shinonoi General Hospital, Nagano Prefecture Federation of Agricultural Cooperatives for Health and Welfare

Masaki Nagasawa

析療法および栄養療法の有用性を探った。

## 2 対象と方法

### 2-1 対象

無作為抽出した、当院維持透析患者 24 名 (男 18 名, 女 6 名) の血清を用い, tHcy 濃度, FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> 濃度を測定した。今回の検討に当たり, 当院倫理委員会, 信州大学医学部保健学科倫理委員会の承認を得た。

### 2-2 方法

#### ① tHcy 濃度の測定

tHcy 濃度は, Araki らの方法<sup>11)</sup>を一部改変して測定した。血清に内部標準物質を添加した後, 蛍光色素 SDB-F で標識し, 高速液体クロマトグラフィ (HPLC) で測定した。

#### ② 血中 FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> 濃度の測定

血中 FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> は SRL に依頼した。FA, VB<sub>12</sub> は化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) にて, VB<sub>6</sub> は HPLC 法にて測定した。

#### ③ 生化学検査項目の測定

生化学検査項目は, 生化学自動分析装置ラボスペクト 008 (日立製作所) を用いて日常業務の検査法にて測定した。

#### ④ 標準化透析量, 標準化蛋白異化率, %クレアチニン産生速度の算出

標準化透析量 (Kt/V), 標準化蛋白異化率 (normalized protein catabolic rate; nPCR), %クレアチニン産生速度 (%CR) は Shinzato の式<sup>12)</sup>を用いて算出した。

## 3 結果

### 3-1 tHcy 濃度および血清 FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> 濃度

tHcy 濃度の平均値 ± 標準偏差は 33.3 ± 31.9 μmol/L

(n=24) で, 男性が 35.5 ± 36.3 μmol/L (n=18), 女性が 26.6 ± 12.4 μmol/L (n=6) であった。FA は 2 名が測定範囲以上となり, その平均値 ± 標準偏差は 4.43 ± 1.3 ng/ml (n=22) で, 男性が 4.20 ± 1.2 ng/ml (n=16), 女性が 4.78 ± 1.7 ng/ml (n=6) であった。また, 基準値は 3.1 < であり, 基準値未満は 1 名であった。VB<sub>12</sub> は 5 名が測定範囲以上となり, その平均値 ± 標準偏差は 486.9 ± 183 pg/ml (n=19) で, 男性が 468.3 ± 193 pg/ml (n=16), 女性が 526.7 ± 65.5 pg/ml (n=3) であった。VB<sub>6</sub> はピリドキサミン (PM), ピリドキサル (PL), ピリドキシン (PN) の 3 分画が測定された。PM は女性 1 名のみが 0.3 ng/ml で, 他の症例はすべて 0.2 ng/ml 未満であった。PL は男性 2 名で検出不可であり, その平均値 ± 標準偏差は 6.78 ± 3.6 ng/ml (n=22) で, 男性が 7.07 ± 3.5 ng/ml (n=16), 女性が 6.97 ± 4.2 ng/ml (n=8) であった。PN は男性 1 名, 女性 2 名が検出不可であり他の症例はすべて 3.0 ng/ml 未満であった。

tHcy, FA, VB<sub>12</sub>, PL において男女に有意差は認めなかった。血清総蛋白 (TP), アルブミン (ALB), 尿素窒素 (BUN), クレアチニン (CRE) の平均値 ± 標準偏差とともに表 1 に示した。

### 3-2 tHcy 濃度と FA, VB<sub>12</sub>, PL 濃度の相関

tHcy と FA, VB<sub>12</sub>, PL の相関係数はそれぞれ r = 0.231, r = 0.324, r = 0.053 であった。いずれも有意な相関を認めなかった (図 1)。

### 3-3 tHcy 濃度と FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> 濃度の関係

FA, VB<sub>12</sub>, PL 濃度をそれぞれ昇降順, 4 群に分類し tHcy 濃度の平均値の比較を行った。

FA 4.0 ng/ml 未満 (n=4), VB<sub>12</sub> 400 pg/ml 未満 (n

表 1 血清 tHcy, FA, VB<sub>12</sub>, PL および TP, ALB, UN, CRE 濃度

項目	全体	男性	女性
tHcy (μmol/L)	33.3 ± 31.9 (n=24)	35.5 ± 36.3 (n=18)	26.6 ± 12.4 (n=6)
FA (ng/mL)	4.43 ± 1.3 (n=22)	4.20 ± 1.2 (n=16)	4.78 ± 1.7 (n=6)
VB <sub>12</sub> (pg/mL)	486.9 ± 183 (n=19)	468.3 ± 193 (n=16)	526.7 ± 65.5 (n=3)
PL (ng/mL)	6.78 ± 3.6 (n=22)	7.07 ± 3.5 (n=16)	6.97 ± 4.2 (n=8)
TP (g/dL)	6.36 ± 0.5 (n=24)	6.37 ± 0.5 (n=18)	6.32 ± 0.4 (n=6)
ALB (g/dL)	3.57 ± 0.3 (n=24)	3.54 ± 0.3 (n=18)	3.67 ± 0.3 (n=6)
UN (mg/dL)	57.25 ± 11.4 (n=24)	56.56 ± 12.3 (n=18)	59.33 ± 8.6 (n=6)
CRE (mg/dL)	12.45 ± 2.69 (n=24)	12.90 ± 2.79 (n=18)	11.12 ± 1.97 (n=6)

tHcy: 総ホモシステイン, FA: 葉酸, VB<sub>12</sub>: ビタミン B<sub>12</sub>, PL: ピリドキサル, 全体, 男女別の平均値 ± 標準偏差を示す。

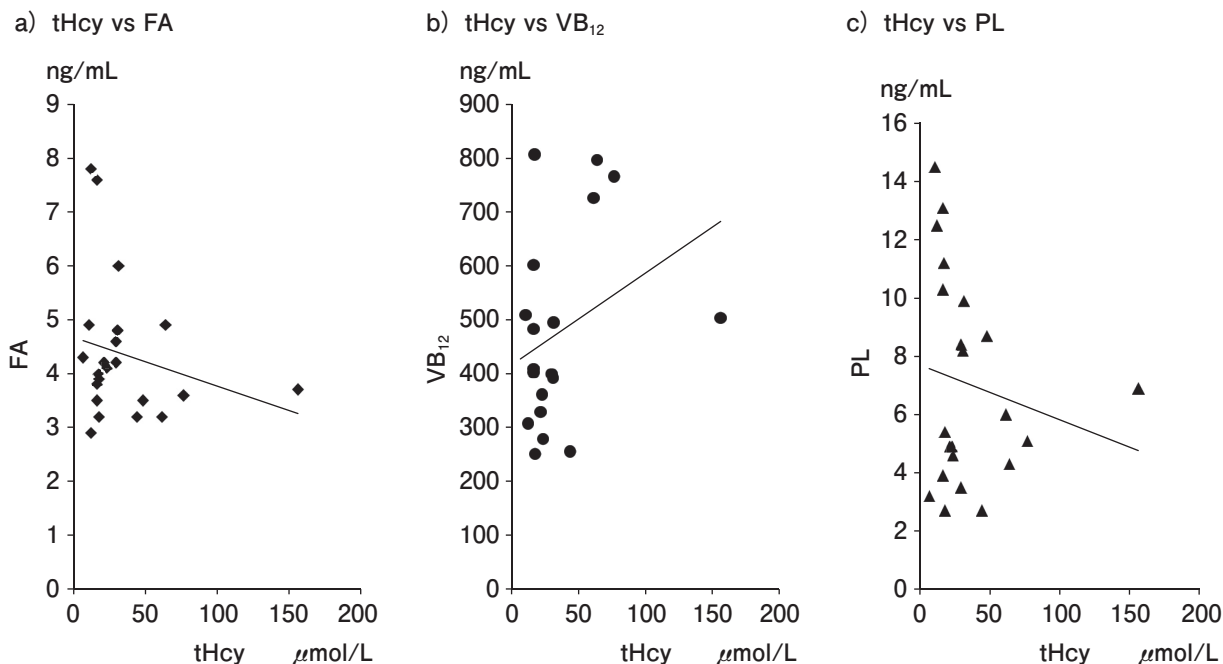


図1 tHcy と FA, VB<sub>12</sub>, PL との相関

a) tHcy と FA の回帰式は  $y = -0.009x + 4.67$ , 相関係数は  $r = 0.231$ , b) tHcy と VB<sub>12</sub> の回帰式は  $y = 1.71x + 416$ , 相関係数は  $r = 0.324$ , c) tHcy と PL の回帰式は  $y = 0.007x + 6.67$ , 相関係数は  $r = 0.053$  であった.

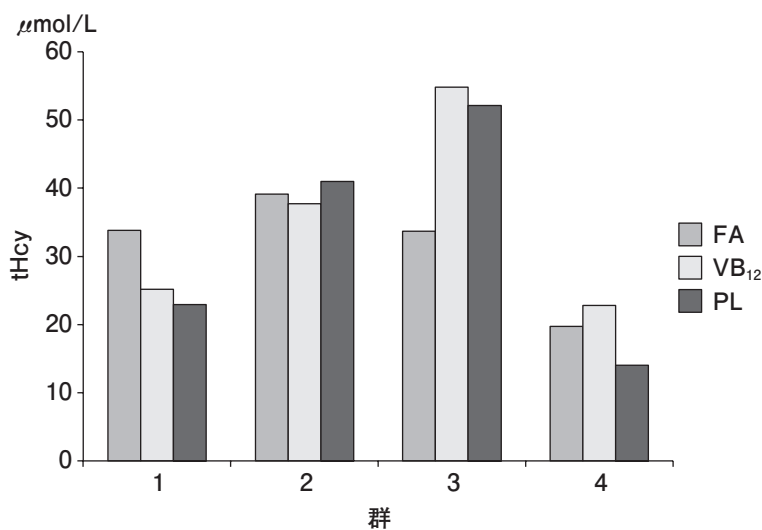


図2 tHcy と FA, VB<sub>12</sub>, PL の関係

第1群: FA 4.0 ng/mL 未満 (n=4), VB<sub>12</sub> 400 pg/mL 未満 (n=8), PL 4.0 ng/mL 未満 (n=5). 第2群: FA 4.1~4.9 ng/mL (n=11), VB<sub>12</sub> 401~699 pg/mL (n=7), PL 4.1~6.9 ng/mL (n=7). 第3群: FA 5.1~5.9 ng/mL (n=4), VB<sub>12</sub> 700~799 pg/mL (n=4), PL 7.0~10.9 ng/mL (n=6). 第4群: FA 6.0 ng/mL 以上 (n=5), VB<sub>12</sub> 800 pg/mL 以上 (n=5), PL 11.0 ng/mL 以上 (n=6). 第1群を除き, FAが増加すると tHcy は減少傾向を認めた. また第4群では tHcy 濃度が他の群よりも低値であった.

=8), PL 4.0 ng/ml 未満 (n=5) を第1群, FA 4.1~4.9 ng/ml (n=11), VB<sub>12</sub> 401~699 pg/ml (n=7), PL 4.1~6.9 ng/ml (n=7) を第2群, FA 5.1~5.9 ng/ml (n=4), VB<sub>12</sub> 700~799 pg/ml (n=4), PL 7.0~10.9 ng/ml (n=6) を第3群, FA 6.0 ng/ml 以上 (n

=5), VB<sub>12</sub> 800 pg/ml 以上 (n=5), PL 11.0 ng/ml 以上 (n=6) を第4群とした.

FA, VB<sub>12</sub>, PL が低値であった第1群は, tHcy 濃度も低値であった. FA は, 2~4 群にかけて増加するに従い tHcy 濃度は低値を示した. また, FA, VB<sub>12</sub>, PL

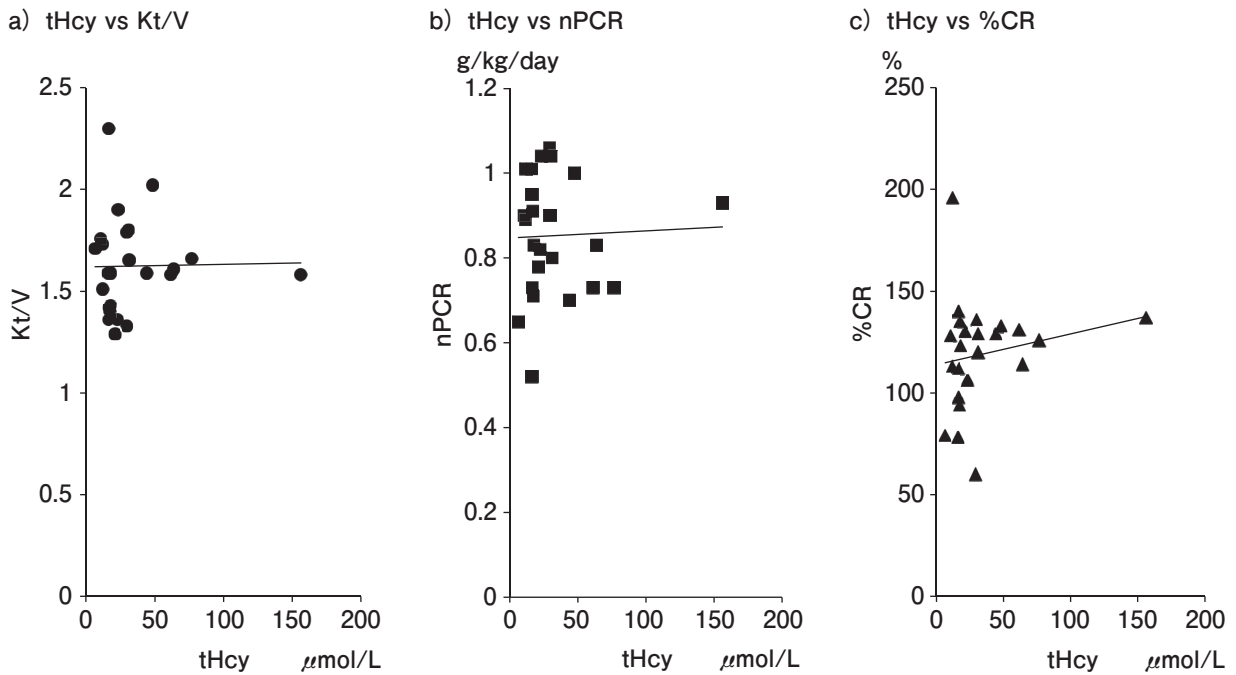


図3 tHcyとKt/V, nPCR, %CRの相関

a) tHcyとKt/Vの回帰式は $y=0.0001x+1.62$ , 相関係数は $r=0.017$ , b) tHcyとnPCRの回帰式は $y=0.0002x+0.84$ , 相関係数は $r=0.038$ , c) tHcyと%CRの回帰式は $y=0.152x+114$ , 相関係数は $r=0.181$ であった。

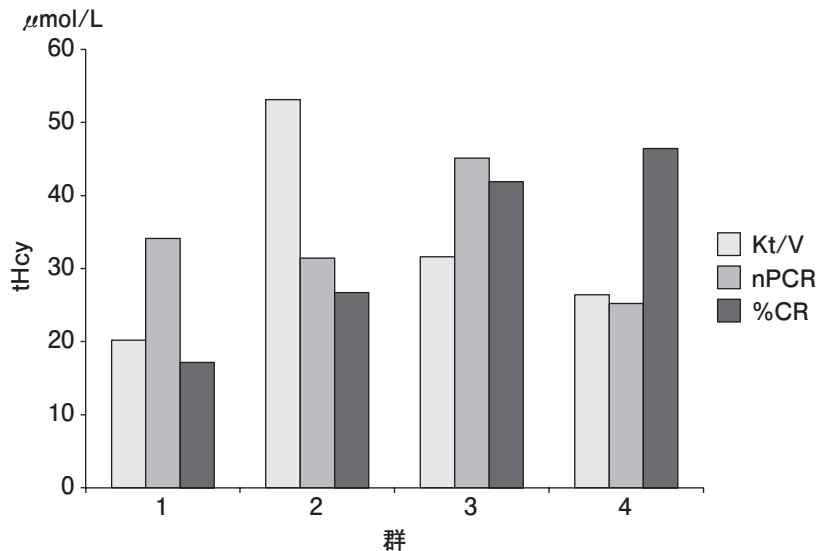


図4 tHcyとKt/V, nPCR, %CRの関係

第1群: Kt/V 1.50未満 (n=7), nPCR 0.75 g/kg/day 未満 (n=7), %CR 100未満 (n=5). 第2群: Kt/V 1.50~1.69 (n=7), nPCR 0.75~0.79 g/kg/day (n=5), %CR 100~124 (n=7). 第3群: Kt/V 1.70~1.79 (n=4), nPCR 0.80~0.99 g/kg/day (n=5), %CR 125~134 (n=7). 第4群: Kt/V 1.80以上 (n=6), nPCR 1.00 g/kg/day以上 (n=7), %CR 135以上 (n=5). %CRが増大するに従って, tHcy濃度が増加した。

すべてが高値を示す4群ではtHcy濃度は低値を示した(図2)。

の相関係数は $r=0.038$ , tHcyと%CRの相関係数は $r=0.181$ で, いずれも有意な相関を認めなかった(図3)。

3-4 tHcy濃度とKt/V, nPCR, %CRの相関

tHcyとKt/Vの相関係数は $r=0.017$ , tHcyとnPCR

3-5 tHcy濃度とKt/V, nPCR, %CRの関係

Kt/V, nPCR, %CRをそれぞれ昇降順, 4群に分類

表2 ビタミン群と Kt/V, nPCR, %CR の回帰式, 相関係数

	Kt/V	nPCR	%CR
FA	y=0.091x+1.24 r=0.492	y=0.017x+0.80 r=0.168	y=-5.07x+143 r=0.252
VB <sub>12</sub>	y=0.0003x+1.57 r=0.021	y=-0.00009x+0.89 r=0.121	y=-0.038x+142 r=0.286
PL	y=0.006x+1.55 r=0.181	y=0.006x+1.55 r=0.181	y=-1.4x+136 r=0.371

し tHcy 濃度の平均値の比較を行った。

Kt/V 1.50 未満 (n=7), nPCR 0.75 g/kg/day 未満 (n=7), %CR 100 未満 (n=5) を第1群, Kt/V 1.50~1.69 (n=7), nPCR 0.75~0.79 g/kg/day (n=5), %CR 100~124 (n=7) を第2群, Kt/V 1.70~1.79 (n=4), nPCR 0.80~0.99 g/kg/day (n=5), %CR 125~134 (n=7) を第3群, Kt/V 1.80 以上 (n=6), nPCR 1.00 g/kg/day 以上 (n=7), %CR 135 以上 (n=5) を第4群とした。

Kt/V, nPCR では tHcy の変化は認められなかったが, %CR では上昇とともに, tHcy は増加した (図4)。

### 3-6 Kt/V, nPCR, %CR と FA, VB<sub>12</sub>, PL の相関

Kt/V と FA, VB<sub>12</sub>, PL の相関係数はそれぞれ, r=0.492, r=0.168, r=0.252, nPCR と FA, VB<sub>12</sub>, PL の相関係数はそれぞれ, r=0.021, r=0.121, r=0.286, %CR と FA, VB<sub>12</sub>, PL の相関係数はそれぞれ, r=0.181, r=0.301, r=0.371 であった (表2)。緩やかではあるが, Kt/V と FA の間に正の相関, %CR と PL の間に負の相関が認められた。

## 4 考察

tHcy 濃度は前回同様<sup>9)</sup> 34.2±31.9 μmol/L と高値であった。FA, VB<sub>12</sub> の基準値はそれぞれ 3.1< ng/ml, 180~914 pg/ml であり, PL は男性 6.0~40.0 ng/ml, 女性 4.0~19.0 ng/ml である。今回の検討では FA の1例が基準値未満, VB<sub>12</sub> の4例が測定範囲以上であったことを除き基準値を満たしていた。一方, VB<sub>12</sub> は大孔径膜を使用している血液透析患者で低値を示すこと<sup>13)</sup> が知られている。しかし, 今回の検討で VB<sub>12</sub> が低値を示す症例はなかったが, FA, VB<sub>12</sub> で測定範囲以上を示す症例があった。ビタミン類の投与, 栄養指導を実施するに当たり, 血中ビタミン類の測定およびサプリメントの使用等の詳しい問診の必要性が示唆さ

れた。

tHcy と FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> の間に有意な相関は認められなかった。健常者において tHcy と FA, VB<sub>12</sub> の間に負の相関があり, PL とは相関がないことが報告<sup>14)</sup> されている。一方, 篠崎ら<sup>15)</sup> は透析患者において, tHcy と FA の間に相関を認めなかったものの FA 濃度が正常範囲の2倍以内の患者での解析で, tHcy と FA の間に負の相関があることを報告している。我々の検討では, 透析患者全体でも FA の濃度の違いによる解析でも相関は認められなかった。また, tHcy と FA, VB<sub>12</sub>, VB<sub>6</sub> の濃度との関係 (図2) において有意差はなかったものの, FA 濃度の増加で tHcy が減少傾向を, また FA, VB<sub>12</sub>, PL すべてが高い4群では tHcy が低値を示した。これらのことから, FA, VB<sub>12</sub>, PL すべてが高値である場合は tHcy 濃度を低値に維持できることが示唆された。一方, 透析患者において FA, VB<sub>12</sub> は tHcy 濃度低下に抵抗性を示す<sup>15,16)</sup> ことが報告されおり, 患者個々で tHcy と FA, VB<sub>12</sub>, PL の血中濃度の関係に違いがあることが示唆された。今後, MTHFR などの酵素遺伝子の変異を含めた詳細な検討が必要である。また, 栄養指導を行うさいには患者ごとに指導を行う必要性が示唆された。

tHcy と Kt/V, nPCR, %CR の間に相関は認められなかったが, tHcy と Kt/V, nPCR, %CR の関係から, %CR 値の増大とともに tHcy の増加を認めた。

日本透析医学会統計調査委員会の %CR と生命予後の解析では, %CR を増大させる透析が望ましいことを示している<sup>17)</sup>。透析患者において, %CR は筋肉量と密接な関係があり, 透析処方, 食事療法, 運動療法など総合的に効果が現れたときに増大すると考えられている。一方, 蛋白不足により高 Hcy 血症を示すことが報告されている<sup>18)</sup>。我々の検討では, %CR が高値で tHcy も高値を示したことから, 筋肉量の増大が血清 tHcy の増加に関与することが示唆された。しか

し、患者個々の栄養状態など不明な点もあるため、今後の詳細な検討が必要である。

Kt/V, nPCR, %CRとFA, VB<sub>12</sub>, PLの間で、緩やかではあるが、Kt/VとFAの間に正の相関が、%CRとPLの間に負の相関が認められた。Kt/V, nPCR, %CRは透析患者の治療成績を総合的に判断する指標であることから、単項目との関係を解析するのではなく、他のパラメーターを含めた解析の必要性が示唆された。今回得られたデータを基に、今後詳細な検討を行い、個々の患者に合った透析療法の設定や栄養療法の実施に役立てていきたい。

## 5 結 論

- ① tHcyは前回の検討同様、高値を示した。FA, VB<sub>12</sub>, PLはFAで1名が基準値以下であったのをぞき、FA, VB<sub>12</sub>, PLは基準値の範囲内であった。また、男女差は認められなかった。
- ② tHcyとFA, VB<sub>12</sub>, PLの間に相関は認められなかったが、FAの上昇に伴いtHcyは減少を示し、FA, VB<sub>12</sub>, PLがすべて高値であるとtHcyは低値を示した。
- ③ tHcyとKt/V, nPCR, %CRの間に相関は認められなかったが、%CRの増大とともにtHcyが増加した。
- ④ Kt/VとFAの間に緩やかな正の相関、%CRとPLの間に緩やかな負の相関が認められたが、他の項目間では相関が認められなかった。

この研究は平成22年度日本透析医会学術助成によるものである。

## 文 献

- 1) Finkelstein JD, Martin JJ : Methionine metabolism in mammals : adaptation to methionine excess, *J Biol Chem*, 261; 1582-1587, 1986.
- 2) McCully KS : Homocysteine and vascular disease, *Nat Med*, 2; 386-389, 1996.
- 3) Clark R, Smith AD, Jobst KA, et al. : Folate, vitamin B<sub>12</sub>, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 55; 1449-1455, 1998.

- 4) van Meurus JB, Dhonukshe-Rutten AM, Pluijm MF, et al. : Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med*, 350; 2033-2041, 2004.
- 5) Mudd SH, Finkelstein JD, Irreverre F, et al. : Homocystinuria, an enzymatic defect. *Science*, 143; 1443-1445, 1964.
- 6) Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. : A candidate genetic risk factor for vascular disease : a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*, 10; 111-113, 1995.
- 7) Wilcken DEL, Gupta VJ : Sulphur containing amino acids in chronic renal failure with particular reference to homocysteine and cysteine-homocysteine mixed disulphide, *Eur J Clin Invest*, 9; 301-307, 1979.
- 8) 廣瀬 悟, 金 成洙, 御手洗哲也, 他 : 透析患者における高homocysteine血症の検討—特に動脈硬化との関連について—. *透析会誌*, 29; 195-204, 1996.
- 9) 塩澤 勉, 中村啓章, 田村克彦, 他 : 透析患者におけるホモシステインと透析療法の検討. *腎と透析*, 69(別冊ハイパフォーマンスメンブレン'10); 164-169, 2010.
- 10) 塩澤 勉, 中村啓章, 田村克彦, 他 : 血中ホモシステイン除去におけるon-line HDFの有用性. *腎と透析*, 70(別冊HDF療法'11); 187-189, 2011.
- 11) Araki A, Sako Y : Determination of free and total homocysteine in human plasma by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr*, 422; 43-52, 1987.
- 12) Shinzato T, Nakai S, Fujita Y, et al. : Determination of Kt/V and protein catabolic rate using pre- and post-dialysis blood urea nitrogen. *Nephron*, 67; 280-290, 1994.
- 13) 内山幸信 : 日本臨牀増刊 広範囲血液, 尿化学検査, 免疫学的検査—その数値をどう読むか—: 第5版, 日本臨牀社, 大阪, pp. 139-143, 1999.
- 14) Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, et al. : Plasma total homocysteine in healthy subjects : sex-specific relation with biological traits 1-3. *Am J Clin Nutr*, 64; 587-593, 1996.
- 15) 篠崎倫哉, 平方秀樹 : 血液透析患者とホモシステイン. *臨牀透析*, 15; 209-215, 1999.
- 16) Vrentozos GE, Papadakis JA, Vardakis KE, et al. : Intravenous administration of vitamin B<sub>12</sub> in the treatment of hyperhomocysteinemia associated with end-stage renal disease. *J Nephrol*, 16; 535-539, 2002.
- 17) 日本透析医学会統計調査委員会 : わが国の慢性透析療法の現況 (2000年12月31日現在). *日本透析医学会*, pp. 566-567, 2001.
- 18) Ingenbleek Y, McCully KS : Vegetarianism produces sub-clinical malnutrition, hyperhomocysteinemia and atherogenesis. *Nutrition*, 28(2); 148-153, 2012.