

腹膜透析患者における残存腎機能・腹膜機能低下に対する L-cysteine の予防効果

辻 明*1 石関香織*1 熊谷裕生*2 小原功裕*3

*1 防衛医科大学校病院血液浄化療法部 *2 防衛医科大学校病院腎臓内科 *3 さくら記念病院腎臓内科

key words : L-cysteine, 腹膜透析患者, 酸化ストレスマーカー, 残存腎機能

要 旨

末期慢性腎不全患者においては、炎症と酸化ストレスは心血管系リスク要因である。そこで、残存腎機能（尿量 ≥ 400 ml/day）を有する腹膜透析患者を対象として、thiol基を有する抗酸化薬であるL-cysteine投与によるランダム化前向き比較対照研究を実施した。腹膜透析患者15名（男性9名、女性6名；平均年齢 56.1 ± 9.6 歳）をL-cysteine群（960 mg/day, n=7）とplacebo群（乳糖, n=8）に割付けして6カ月間内服投与し、その前後に血清酸化ストレスマーカーと抗酸化物質であるglutathioneの還元/酸化（GSH/GSSG）比を測定した。さらに、腹膜平衡試験、血清および腹膜透析排液中 β_2 -microglobulinとcystatin Cを測定して、残存腎機能と腹膜機能を評価した。L-cysteine群はplacebo群と比較して内服投与後にGSH/GSSG比が有意に（ $p < 0.05$ ）上昇し、血清malondialdehyde modified lowdensity lipoprotein（MDA-LDL）は減少した（ $p < 0.05$ ）。また、placebo群で糸球体濾過率の指標である血清 β_2 -microglobulin（ $p < 0.01$ ）と血清cystatin C（ $p < 0.05$ ）が上昇したのに対して、L-cysteine群では変化を認めなかった。L-cysteine内服投与は、腹膜透析患者に対してthioredoxin動態の改善と血清MDA-LDLの上昇抑制効果を示すとともに、残存腎機能の保護作用が示唆された。

1 緒 言

末期慢性腎不全に対する透析療法には高血圧や貧血など各種のリスク要因がある。これらと密接に関係する酸化ストレスの上昇は、心血管疾患（CVD）の発症頻度と高い関連があるために重要な要因である。海外では、高用量のtocopherolやN-acetyl-L-cysteineなどの抗酸化物質を血液透析患者に投与して、CVD発症頻度を抑制する報告^{1,2)}がある。しかし、本邦ではN-acetyl-L-cysteineの代わりにL-cysteineが抗酸化薬として、湿疹や肝機能改善などに広く利用されている。そこで我々は、腎不全モデルラットにおける腹膜透析液による腹膜および残存腎組織障害に対するL-cysteineの抑制効果を明らかにした³⁾。

今回は、腹膜透析患者に対するL-cysteineの抗酸化効果を検証したので報告する。

2 対象・方法

防衛医科大学校病院、さくら記念病院、上福岡総合病院の3施設で、尿量が1日400 ml以上の残存腎機能を有する腹膜透析患者を対象として、ブロックランダム化前向き比較対照研究を実施した。15名のPD患者（男性9名、女性6名；平均年齢 56.1 ± 9.6 歳）をL-cysteine群（960 mg/day, n=7）とplacebo群（乳糖, n=8）に割付けして6カ月間の内服投与を行

Protective effects of L-cysteine treatment on residual renal and peritoneal function in peritoneal dialysis patients

Department of Blood Purification, National Defense Medical College Hospital

Akira Tsuji

Kaori Ishizeki

Department of Nephrology, National Defense Medical College Hospital

Hiroo Kumagai

表 1 L-cysteine 群と placebo 群の患者背景

	L-cysteine group (n=7)	Placebo group (n=8)	P value
Age (years)	58 ± 10	55 ± 10	0.61
Male gender (%)	71	50	0.09
Time of PD (months)	33 ± 26	29 ± 27	0.57
CAPD/CCPD	3/4	4/4	0.92
Urine vol. (ml/day)	1,127 ± 613	997 ± 810	0.95
Total weekly-Kt/V	2.2 ± 0.2	2.3 ± 0.5	0.48
Total CCR	74.0 ± 24.1	77.6 ± 24.1	0.76

数値はすべて平均 ± 標準偏差とした。

CCPD (continuous cycler-assisted peritoneal dialysis); CAPD (continuous ambulatory peritoneal dialysis); CCR (creatinine clearance).

ったが、患者背景に両群間で有意な差はなかった (表 1)。

本研究の primary endpoint は L-cysteine の抗酸化効果で、酸化ストレスマーカーである MDA-LDL (ELISA 法), pentosidine (EIA 法), homocysteine (HPLC 法) および細胞内の主な抗酸化物質である glutathione の GSH/GSSG 比 (Quantification Kit, Dojindo Mol. Tech., Japan) を内服投与前後で測定することで評価した。次に secondary endpoint は腹膜透析療法からの離脱や CVD の発生抑制効果で、24 時間尿量, weekly renal creatinine clearance (CCR), residual renal Kt/V, 血清および排液中の β_2 -microglobulin と cystatin C で残存腎機能を, weekly peritoneal CCR と peritoneal Kt/V で腹膜機能を評価した。なお、腹膜平衡試験は 6 カ月間の内服投与前後, および 12, 18, 24

カ月後にそれぞれ施行し、24 時間畜尿による CCR と Kt/V は PD ADEQUEST 2.0J (Baxter, Japan) を用いた。血清の MDA-LDL, pentosidine, homocysteine および排液中の β_2 -microglobulin と cystatin C の測定はエスアールエル (SRL Tokyo, Japan) に依頼した。

すべてのデータは平均値 ± 標準偏差で表した。統計学的処理は、グループ内の経時的な差は対応のある student's t test, グループ間の分散分析は repeated measure ANOVA を使用し、解析は JMP (Version 9.0, SAS Institute Japan) で行い、危険率 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

3 結果

L-cysteine 群の GSH/GSSG 比は、内服後に明らかな thioredoxin 動態の改善を認め (pre treatment: 1.63 ± 0.87 , post treatment: 4.80 ± 2.33 , $p < 0.05$), placebo 群 (1.61 ± 1.40 , 1.96 ± 0.94) と比較して有意に ($p < 0.05$ by repeated ANOVA) 高値となった (図 1)。L-cysteine 群 (126.2 ± 43.2 , 119.2 ± 38.5) の血清 MDA-LDL は内服前後で変化がなかったのに対して, placebo 群 (113.5 ± 50.4 , 134.8 ± 69.5 , $p < 0.05$ by student's t test, $p < 0.05$ by repeated ANOVA) で有意に上昇していた (図 1)。同様に CVD の指標となる homocysteine も, L-cysteine 群 (53.3 ± 47.9 , 24.2 ± 18.3 , $p < 0.05$) は内服後に著明な低下を認めたが, placebo 群 (46.7 ± 47.5 , 41.7 ± 32.1) では変化がなかった (図 2)。ま

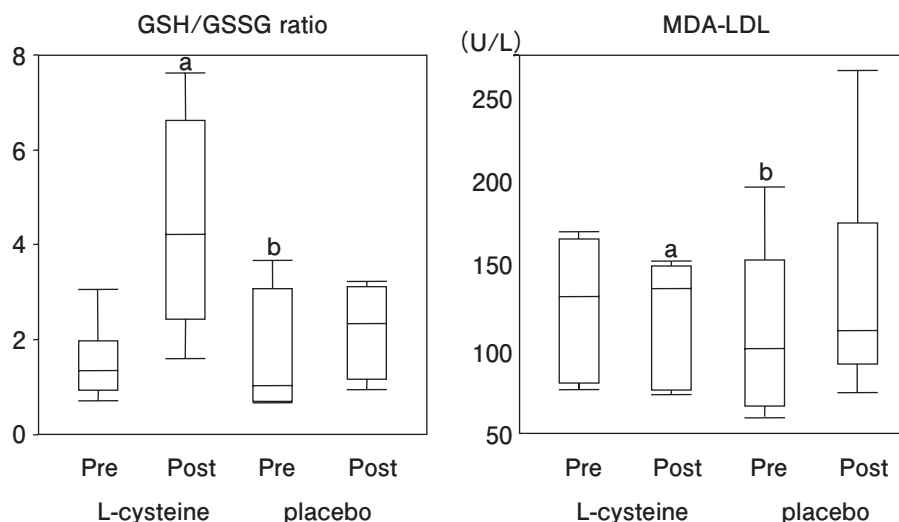


図 1 L-cysteine および placebo 投薬前後の血中 GSH/GSSG 比 (左図) と血漿 MDA-LDL 値 (右図)

a : $p < 0.05$ against pre treatment. b : $p < 0.05$ L-cysteine vs. placebo by repeated measure ANOVA.

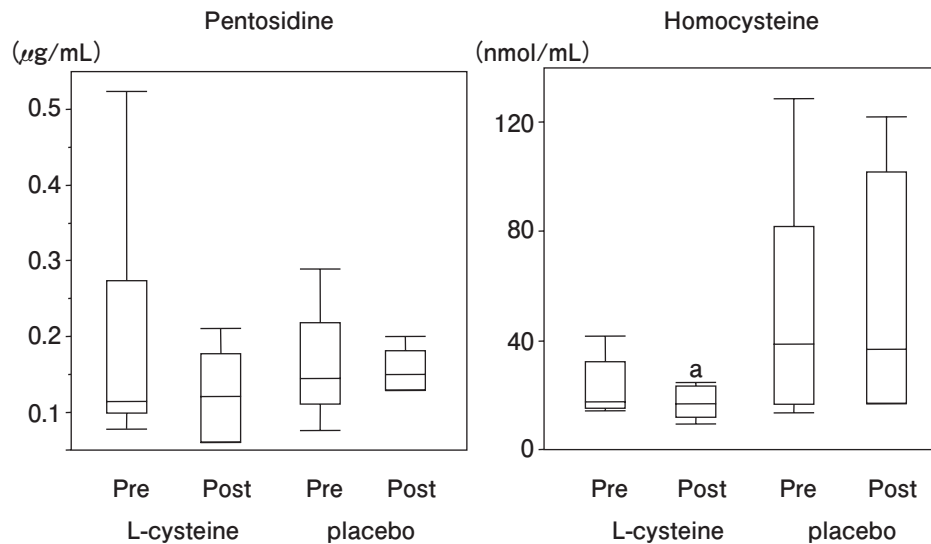


図2 L-cysteine および placebo 投薬前後の血漿 pentosidine 値 (左図) と血漿 homocysteine 値 (右図)

a : $p < 0.05$ against pre treatment.

表2 L-cysteine または placebo 投薬前後での各パラメーターの変化

		L-cysteine group		Placebo group	
		Pre treatment	Post treatment	Pre treatment	Post treatment
Cys C (mg/L)	Plasma	5.8 ± 0.9	5.9 ± 1.4	5.4 ± 2.6	6.4 ± 2.1 [†]
	Dialysate	0.53 ± 0.15	0.57 ± 0.20	0.44 ± 0.31	0.53 ± 0.21
β_2 MG (mg/L)	Plasma	22.4 ± 7.6	22.7 ± 7.3	21.2 ± 3.0	25.9 ± 3.3 [†]
	Dialysate	2.64 ± 0.74	2.96 ± 1.38	2.65 ± 2.51	2.70 ± 1.92
Urine Vol (ml/day)		1,127 ± 613	1,164 ± 578	997 ± 810	1,050 ± 927
nPCR (g/kg/day)		0.90 ± 0.15	1.00 ± 0.34	0.87 ± 0.14	0.78 ± 0.13
W-Kt/V (L/week)	RR	0.75 ± 0.42	0.73 ± 0.33	0.57 ± 0.30	0.47 ± 0.25
	Peritoneal	1.37 ± 0.42	1.16 ± 0.24	1.75 ± 0.19	1.55 ± 0.21
W-CCR	RR	31.3 ± 17.2	30.4 ± 13.9	30.0 ± 14.1	24.0 ± 12.7
	Peritoneal	33.5 ± 13.2	33.7 ± 14.7	45.3 ± 6.0	35.5 ± 9.4

数値はすべて平均 ± 標準偏差とした。

Cys C (cystatin C); β_2 MG (β_2 -microglobulin); Vol (Volume); PCR (protein catabolic rate); RR (residual renal); W (weekly); CCR (creatinine clearance).

[†] $p < 0.05$ against pre treatment.

た、pentosidine は代表的な最終糖化産物 (AGEs) であるが、L-cysteine 群 (0.202 ± 0.184 , 0.136 ± 0.062) と placebo 群 (0.165 ± 0.089 , 0.161 ± 0.030) で有意な差はなかった (図2)。

本研究の primary endpoint である腹膜透析患者に対する抗酸化能に関しては、L-cysteine 経口投与で明らかに thioredoxin 動態の改善を示したことから、その有用性が示唆された。また、placebo 群で糸球体濾過率の指標である血清 β_2 -microglobulin (21.1 ± 3.0 , 25.9 ± 3.3 , $p < 0.01$) と血清 cystatin C (5.4 ± 2.6 , 6.4 ± 2.1 , $p < 0.05$) が内服後に上昇したが、L-cysteine 群 (β_2 -microglobulin: 22.4 ± 7.6 , 22.6 ± 7.9 , cystatin

C: 5.8 ± 0.9 , 5.9 ± 1.4) では変化を認めなかった (表2)。ただし、排液中の β_2 -microglobulin と cystatin C では2群間に差はなかった (表2)。また、secondary endpoint のパラメーターである weekly CCR, Kt/V, nPCR などの残存腎機能および腹膜機能においても、2群間での有意な差を認めなかった (表2)。

なお、L-cysteine の6カ月間の内服投与による副作用症状の発症はなく、血液検査でも異常所見を認めなかった。

4 考察

腹膜透析は残存腎機能保持や社会復帰における

QOL 向上など多くの長所があるが、腹膜炎や腹膜透析液による酸化ストレスで腹膜劣化を生じ、除水不全や溶質除去不全から腹膜透析を中断・離脱する機会が多い。さらに、透析患者は酸化ストレスで CVD 発症頻度が健常人の 10 倍高くなり、残存腎機能の低下とともにリスクは上昇する⁴⁾。よって、腹膜透析患者の抗酸化能を増強して、腹膜障害や残存腎機能の低下を抑制することが腹膜透析療法の重要な課題の一つである。

海外では、血液透析患者に N-acetyl-L-cysteine (600 mg BID) を 3 カ月間内服投与し、CVD 発症頻度を抑制した報告²⁾がある。また、腹膜透析患者に N-acetyl-L-cysteine (600 mg BID) を 2 カ月間内服投与で、血中 IL-6 が減少し抗炎症効果を認めた報告⁵⁾もある。しかし、海外で使用する N-acetyl-L-cysteine 製剤は固形剤であるが、本邦で使用可能な剤型は液剤のみであり、相当量を長期間服用するのははなはだ困難である。本邦で thiol 基を有する抗酸化薬は L-cysteine 散および錠剤 (商品名: ハイチオール) で、薬疹や中毒疹に対する治療薬である。同様に、L-cysteine を主成分とする多くの国産サプリメントが市販され、湿疹や肝機能改善などに広く利用されている。

そこで、我々は N-acetyl-L-cysteine の代わりに L-cysteine を用いて腹膜透析患者に長期間投与する検討を行った。その結果、L-cysteine 群の GSH/GSSG 比が placebo 群と比較して 6 カ月間内服後に明らかな上昇を認め、thioredoxin 動態が著明に改善していた。同様に、L-cysteine 群で冠動脈疾患の優れた指標⁶⁾である血清 MDA-LDL の上昇を抑制し、血漿 homocysteine を減少させたことは CVD 発症の抑制効果が大きい期待される。しかし、同じ酸化ストレスマーカーである pentosidine には効果がなかった。我々が以前行った血液透析患者を対象とするビタミン E 固定化ポリスルホン膜の抗酸化効果の研究⁷⁾においても、血清 thiol 濃度と MDA-LDL は著明な改善を認めたが、pentosidine に対する効果はみられなかった。このことから、抗酸化薬の臨床使用においては、AGEs への影響は少ない可能性もある。さらに投与方法や投与期間などの検討が必要と思われる。また、腹膜平衡試験等における CCR, Kt/V などの残存腎機能および腹膜機能においては、2 群間に明らかな有意性は認めなかった。しかし、L-cysteine 群が糸球体濾過率の指標である血

清 β_2 -microglobulin と cystatin C の上昇を抑制していたことから、L-cysteine による残存腎機能の保護効果が示唆された。

血液透析患者に高用量の N-acetyl-L-cysteine を連日静脈注射した報告⁸⁾では、8% の胃腸障害が発生している。これは、血清 cysteine がある閾値以上の濃度になると glutathione 合成よりも硫酸塩とタウリンに異化⁹⁾するためである。本研究では、L-cysteine を常用量範囲内 (500~1,000 mg/day) で 6 カ月間という長期での内服治療を行ったが、副作用や血液学的異常はなく、L-cysteine の長期臨床使用における安全性が示された。

5 結 論

腹膜透析患者において、6 カ月間の L-cysteine 内服後に thioredoxin 動態の改善と血清 MDA-LDL の上昇抑制効果が認められた。我々は、さらに内服終了後 6, 12, 18 カ月の各種酸化ストレスマーカー、残存腎機能および腹膜機能の追跡調査を行っている。長期での残存腎機能の保護作用が認められれば、予後の改善と共に腹膜透析療法の長期継続に繋がる可能性がある。

本研究は平成 22 年度日本透析医会公募研究助成によるものである。

文 献

- 1) Boaz M, Smetana S, Weinstein T, et al. : Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end stage renal disease (SPACE) : randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 356; 1213-1218, 2000.
- 2) Tepel M, Giet M, Statzet M, et al. : The antioxidant acetyl-cysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure : a controlled trial. *Circulation*, 107; 992-995, 2003.
- 3) Tsuji A, Ishizeki K, Suzuki Y, et al. : Effects of L-cysteine on peritoneal membranes exposed to peritoneal dialysis fluid in 5/6 nephrectomized rats. *J Natl Def Coll*, 34; 242-248, 2009.
- 4) Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI). *Am J Kidney Dis*, 43(Suppl. 1); S1-S290, 2004.
- 5) Nascimento MM, Suliman ME, Silva M, et al. : Effect of oral N-acetylcysteine treatment on plasma inflammatory and oxidative stress markers in peritoneal dialysis patients : A placebo-controlled study. *Perit Dial Int*. 30; 336-342, 2010.
- 6) Robinson K : Renal Disease, Homocysteine, and Cardiovascular Complications. *Circulation*, 109; 294-295, 2004.

- 7) Tsuji A, Ishizeki K, Suzuki Y, et al. : Anti-oxidant effect of Vitamin E-bonded polysulfone dialysis membrane in hemodialysis patients. *J Natl Def Coll*, 34; 110-114, 2009.
- 8) Scholze A, Rinder C, Beige J, et al. : Acetylcysteine reduces plasma homocysteine concentration and improves pulse pressure and endothelial function in patients with end-stage renal failure. *Circulation*, 109; 369-374, 2004.
- 9) Stipanuk MH, Coloso RM, Garcia RAG, et al. : Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate and taurine in rat hepatocytes. *J Nutr*, 122; 420-427, 1992.