

末期腎不全患者における血液透析導入時の
血清中インドキシル硫酸濃度変動に
影響する因子の探索

2017 年度

京都薬科大学 課程博士学位論文

吉田 拓弥

本論文は以下の報告の内容を総括したものである。なお、論文の転載については出版社より許可を得ている。

1. Takuya Yoshida, Masayuki Tsujimoto, Haruno Fujioka, Yuko Irie, Sachiyo Kawakami, Saki Nakatani, Ayako Iso, Ayaka Sugiyama, Mizuho Miyake, Kazumi Sumino, Rie Tanaka, Tomoko Oda, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Tetsuya Minegaki, and Kohshi Nishiguchi: AST-120 discontinuation and differences in serum albumin fluctuate indoxyl sulfate level in ESKD patients at a start of hemodialysis. *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* “in press” [第1章, 第2章, 第3章]

目次

序論.....	1
第1章 血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度に影響する因子の抽出.....	6
第1節 緒言.....	6
第2節 方法.....	8
1. 対象患者と研究デザイン.....	8
2. 患者背景因子の抽出.....	8
3. 血清中インドキシル硫酸濃度の測定.....	9
4. 血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動への関連因子の調査.....	9
5. 倫理的配慮.....	10
6. 統計解析.....	10
第3節 結果.....	11
1. 血清中インドキシル硫酸濃度の定量系確立.....	11
2. 対象患者背景.....	13
3. 血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度分布と変動率.....	14
4. インドキシル硫酸変動率により三群化した患者群における背景因子比較.....	16
第4節 考察.....	17
第5節 小括.....	19
第2章 血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度の変動に及ぼすクレメジン®服用中止の影響.....	20
第1節 緒言.....	20
第2節 方法.....	22

1. 血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動に及ぼすクレメジン®服用履歴の影響	22
2. 統計解析	22
第3節 結果	23
1. クレメジン®服用の有無と血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の関係	23
2. クレメジン®服用の有無とインドキシル硫酸変動率の関係	24
3. クレメジン®服用の有無と背景因子の関係	25
第4節 考察	26
第5節 小括	29
第3章 血液透析導入による血清中インドキシル硫酸濃度変動と血清中アルブミン濃度との関係	30
第1節 緒言	30
第2節 方法	32
1. 対象患者の血清中アルブミン濃度の分布	32
2. インドキシル硫酸変動率と血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸血清中タンパク結合率の関係	32
3. 統計解析	32
第3節 結果	33
1. 対象患者の血清中アルブミン濃度の分布	33
2. クレメジン®非服用患者群におけるインドキシル硫酸変動率と血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率の関係	34
3. 血清中アルブミン濃度とインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率との相関性	36
4. インドキシル硫酸変動率に関連する因子についての多変量解析	36
第4節 考察	37

第5節 小括.....	39
総括.....	40
謝辞.....	42
引用文献.....	43

略語集

BMI	body mass index
BUN	血中尿素窒素
CKD	慢性腎臓病
CYP	シトクロム P450
ESKD	末期腎不全
GFR	糸球体ろ過速度
OAT	有機アニオン輸送担体

序論

慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD) は、慢性的に数年から数十年かけて腎機能が徐々に低下する不可逆的かつ進行性の病態である。CKD は、腎障害を示唆する所見 (検尿異常、画像異常、血液異常、病理所見など) の存在があるか、糸球体ろ過速度 (GFR) が $60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 未満のいずれか、もしくは両方が3ヶ月以上持続する状態と定義されている¹⁾。日本におけるCKD患者の総数は、2011年に1300万人を超えたことが報告されており²⁾、その後も毎年増加し続けている。CKDの発症リスクは、高齢者、慢性糸球体腎炎、並びに高血圧や脂質代謝異常、高尿酸血症、糖尿病などの生活習慣病罹患患者において高まる。高齢化に伴う糸球体虚血^{3,4)}や尿タンパク増加⁵⁾はCKDを進行させる。また、食習慣の欧米化に伴う糖尿病⁶⁾、高血圧⁷⁾、脂質代謝異常⁸⁾などの合併は、それぞれ糖尿病性腎症、腎硬化症、尿タンパク増加によりCKDを進行させる。CKDが進行し末期腎不全 (end-stage kidney disease; ESKD) になると、維持透析治療の導入もしくは腎移植のような腎代替療法が必要となる。特に本邦では、海外と比較して腎移植の頻度が少ないため、透析導入される患者が多い。これらの背景から、CKD進行抑制によって慢性透析導入を遅延させることはCKD治療における最重要項目である。

日本透析医学会の統計調査によると、2014年末には、本邦の慢性透析患者数が32万人を超え⁹⁾、もはやCKDは新たな国民病であるとまで言われるようになった。慢性透析患者の死亡者数は、年間3万人を超えており、その死亡原因の5割は心不全及び感染症が占めている。一般的な日本人の死亡原因として不動の1位である悪性腫瘍による死亡 (死亡総数のうち約30%) は、透析患者に限れば第3位 (約11%) に位置しており⁹⁾、透析患者における死亡原因は一般人口と大きく異なっていることが分かる。したがって、慢性透析患者における心不全、感染症などの合併症による死亡を減少させることもまた、CKD治療の主要項目となる。

CKD患者の生命予後に大きな悪影響を及ぼす代表的な因子に、尿毒症物質が挙げられる。尿毒症物質は、腎機能障害の進行により体内に蓄積し、かつCKD患者に生じる様々な尿毒症症状に悪影響を及ぼす化合物と定義されている¹⁰⁾。EUROPEAN UREAMIC TOXIN WORK GROUP (EUTox) は、2003年に90種類の尿毒症物質が存在していることを明らかにしている¹⁰⁾。尿毒症物質は、主に、分子量500 kDa未満の小分子、500 kDa以上の中分子、および血漿タンパク質との結合性が高い分子に大別される¹¹⁾。尿酸、クレアチニン、および尿素が小分子の尿毒症物質の代表例として、インターロイキン6、 β_2 -ミクログロブリン、およびシスタチンCが中分子の尿毒症物質の代表例として、インドキシル硫酸、p-クレジル硫酸、および3-カルボキシ-4-メチル-5-プロピル-2-フランプロパン酸がタンパク結合性の高い尿毒症物質の代表例として挙げられる。一般的に、血漿タンパク質に結合しない小分子

は血液透析により容易に除去できるが、分子量が大きい物質または血漿タンパク質との結合性が高い物質は通常の血液透析によって除去することは難しい。また近年の透析技術の進歩により、中分子性の尿毒症物質の除去にも優れたハイフラックスの透析膜や、限外濾過量を増加させることで尿毒症物質の透析除去効率を向上させるオンライン血液濾過透析も普及している。しかしながら、タンパク結合性の高い尿毒症物質は、そのようなハイパフォーマンスの血液透析でも効果的に除去できない¹²⁾。すなわち、タンパク結合性の高い尿毒症物質は、最新の医療技術を用いても、効率的な除去が困難であるため、透析治療導入後も引き続き蓄積し続けると考えられる。それにも関わらず、実臨床において、タンパク結合性の高い尿毒症物質の血中濃度を測定する意義や有用性については検討されておらず、さらにその蓄積軽減を目的とした治療法も選択されていないのが現状である。

インドキシル硫酸は、90%を超える血清中タンパク結合率を有する、もっとも代表的なタンパク結合性の高い尿毒症物質の一つである¹³⁾。インドキシル硫酸は、腸内細菌叢の大腸菌などにより食事由来のトリプトファンから生成されるインドールが消化管吸収され、肝臓で水酸化、次いで硫酸抱合を受けることにより生成する¹⁴⁾ (Figure 1-1)。

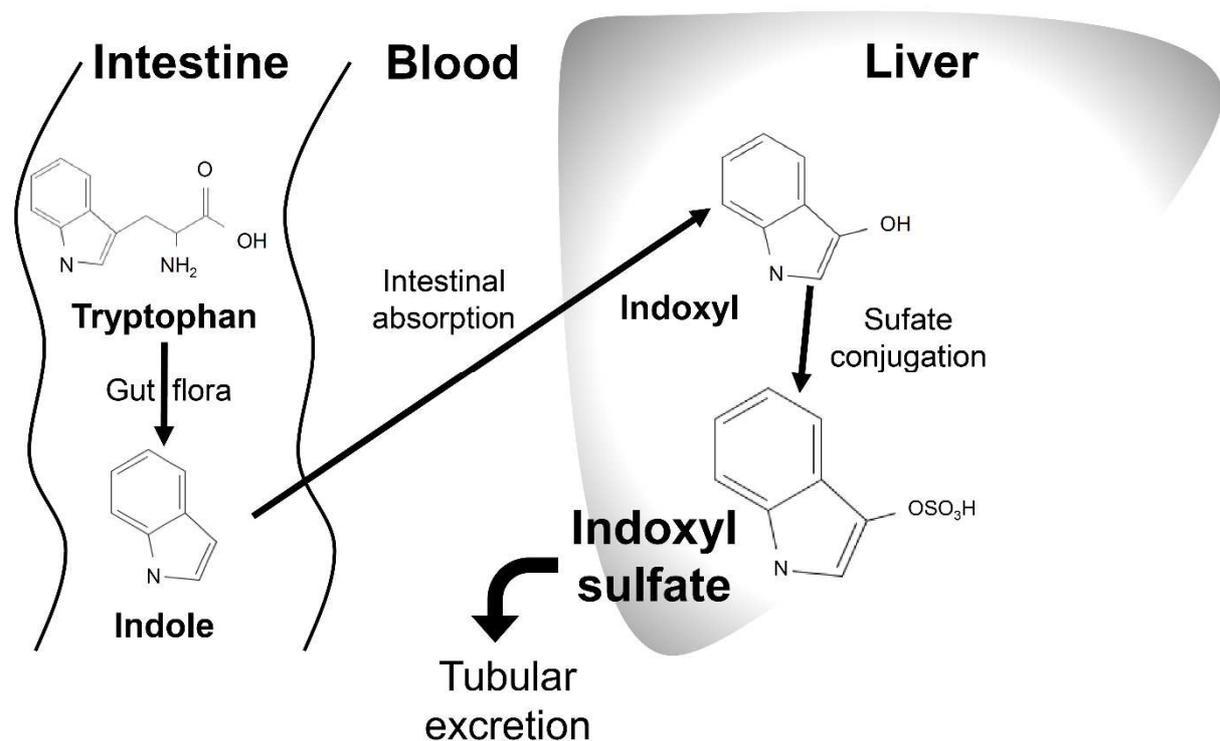


Figure 1-1. Production and excretion pathway of indoxyl sulfate

インドキシル硫酸は、アニオン性物質であり、尿細管上皮細胞の血管側膜に発現する輸送担体である

有機アニオントランスポーター (OAT) 1 および 3 で輸送されることで血漿中から尿細管上皮細胞内に取り込まれたのち、そのほとんどが尿中排泄される¹⁵⁻¹⁷⁾。腎機能障害の進行は、GFR の低下を引き起こすだけでなく、OAT1 及び 3 の発現低下を介してインドキシル硫酸の尿細管分泌を低下させることがラットを用いた *in vivo* 実験において報告されている¹⁶⁾。そのため、CKD の進行は、インドキシル硫酸の尿細管分泌を低下させることにより体外への消失を遅延させ、インドキシル硫酸の蓄積を促進する。実際、Barreto ら¹⁸⁾は、CKD ステージ別に血清中インドキシル硫酸濃度を評価した結果、CKD の進行に伴って血清中インドキシル硫酸濃度が上昇することを報告している。

インドキシル硫酸は、下記に示すような様々な有害反応の原因となることが知られている。

1. インドキシル硫酸による CKD 進行

インドキシル硫酸の蓄積は、独立した CKD の進行因子であることが知られている。Wu ら¹⁹⁾は、透析未導入の CKD 患者における 50%以上の推定 GFR の低下もしくは透析導入を CKD 進行のアウトカムとして定義した臨床研究において、元々の腎機能を含む他の要因から独立して、血清中インドキシル硫酸濃度が高い患者群で CKD 進行が有意に早いことを報告している。これまでに、インドキシル硫酸による CKD 進行の機序に関しては様々な報告がなされている。Miyazaki ら²⁰⁾は、5/6 腎摘出 CKD モデルラットを用いた *in vivo* 実験において、インドキシル硫酸の蓄積によって腎皮質における形質転換成長因子 (TGF) - β 1、メタロプロテアーゼ阻害因子 (TIMP)-1、プロ- α 1 コラーゲンが発現増加し、それが糸球体硬化作用を引き起こすことがインドキシル硫酸による CKD 進行の機序の一つであることを明らかにしている。また Kawakami ら²¹⁾は、尿細管モデル HK-2 細胞を用いた *in vitro* 実験において、インドキシル硫酸が小胞体ストレスにより誘導されるインターロイキン 6 の発現増加、細胞周期調節因子である p21 の発現増加を介して尿細管細胞の増殖抑制作用を示すことを報告している。加えて Bolati ら²²⁾は、インドキシル硫酸による核因子赤血球由来関連因子 2 の発現低下が、ヘム酸化酵素-1 および NADPH キノン酸化還元酵素 1 などの抗酸化関連タンパクの発現低下作用による酸化ストレスの誘導を引き起こすことも、インドキシル硫酸による CKD 進行の機序の一つであると報告している。したがって、CKD の進行に伴うインドキシル硫酸の蓄積が、CKD 進行をさらに加速させていると考えられるため、インドキシル硫酸の蓄積を食い止める治療法の開発は非常に重要である。

2. インドキシル硫酸による心血管系疾患リスク増加

インドキシル硫酸の蓄積が、CKD の進行を加速させるだけでなく、心血管系疾患の原因となることが示されている。Cao ら²³⁾は、6 ヶ月間以上維持透析を実施している ESKD 患者を対象として、血

清中インドキシル硫酸濃度の中央値で患者を二群化し初発の心不全イベント（経静脈圧上昇、肺底部湿性ラ音、肺高血圧、肺水腫、左室駆出分画 40%以下）を追跡した結果、年齢や過去の既往歴、血液学的検査などの他の患者背景因子から独立して、血清中インドキシル硫酸濃度が高い ESKD 患者で初発の心不全イベントのリスクが高いことを報告している。したがって、インドキシル硫酸の蓄積が、透析患者の主な死亡原因の一つである心不全を助長していると考えられる。また、透析患者におけるインドキシル硫酸の蓄積は、心不全以外にも、微小血管障害、透析グラフト血栓症など様々な血管系合併症のリスク因子となることが明らかにされている^{24,25}。インドキシル硫酸は血管内皮細胞の増殖阻害作用を示すため²⁶、インドキシル硫酸による血管細胞障害性が心血管系合併症のリスク増加に関連していると考えられる。したがって、インドキシル硫酸の蓄積を軽減することは、腎機能が廃絶した ESKD 患者においても、心血管系疾患などによる予後不良を改善するためにも有用な方法論であることが示唆される。

3. インドキシル硫酸による薬物体内動態変動

CKD 患者においては、腎排泄型薬物の血中濃度が上昇するため腎機能に基づいた投与設計が必要であることはよく知られている。その一方で、一部の肝消失型薬物の腎外クリアランスが CKD 患者において変動していることも明らかにされている。まず、インドキシル硫酸は血漿中において、アルブミンのサイト 2 に特異的かつ強力に結合するため²⁷、ベンゾジアゼピン系薬物や非ステロイド性抗炎症薬などのサイト 2 に結合しやすい薬物のタンパク結合を阻害することが知られている²⁸。また興味深いことに、インドキシル硫酸がいくつかの薬物代謝酵素の機能を変動させることが報告されており、インドキシル硫酸の蓄積が薬物の腎外クリアランスの変動に一部関与すると考えられる。例えば、シトクロム P450 (CYP) 2C9 によって媒介されるロサルタンから活性代謝物 EXP-3174 への代謝が ESKD 患者において抑制されていることが報告されており²⁹、インドキシル硫酸は、同じくタンパク結合性の高い尿毒症物質の一つである p-クレゾールと共同して CYP2C9 機能を阻害することが明らかにされている³⁰。また Liu ら³¹は、ヒトヘパトサイトにおいて、インドキシル硫酸が濃度依存的に CYP1A2 mRNA を発現誘導することを明らかにしている。さらにインドキシル硫酸は、肝消失型の脂質代謝異常症治療薬であるプラバスタチンおよびシンバスタチンによる筋細胞障害性を増強させることも報告されている^{32,33}。したがって、ESKD 患者においてインドキシル硫酸の蓄積を予測することができる臨床的因子を探索することは、ESKD 患者における心血管疾患の予後を改善することのみならず、ESKD 患者における薬物の腎外クリアランスや薬物毒性の変動を考慮した適切な薬物療法を考案する上でも、非常に重要であると考えられる。

本論文では、ESKD 患者におけるインドキシル硫酸蓄積を軽減するための臨床的アプローチとして、ESKD 患者の血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度を測定し、さらに血液学的検査や併用薬剤などの患者背景因子との関連性について検討した。その結果、ESKD 患者における血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度の変動に影響する因子についての知見を得る事ができたため、以下三章に渡り論述する。

第1章 血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度に影響する因子の抽出

第1節 緒言

尿毒症物質は、腎機能正常者においてそのほとんどが尿中排泄されるが、尿量の極めて少ない腎機能が廃絶した ESKD 患者においては、その尿中排泄が著しく低下する。また、一般的な血液透析は、インドキシル硫酸のように血中でそのほとんどがアルブミンと結合している尿毒症物質を効果的に除去することができないことから、血液透析導入後もインドキシル硫酸は高濃度が維持される³⁴⁾。加えて、維持透析患者の血清中インドキシル硫酸濃度は非常に個人差が大きく、腎機能正常患者と同程度の濃度を示す場合もあれば、40倍以上高い濃度を示す場合も存在することが示されている¹⁸⁾。したがって、血液透析導入後の ESKD 患者においては、インドキシル硫酸がさらに蓄積することのみならず、その蓄積の個人差も大きくなっていることが考えられる。

血液透析は、腎移植の件数が海外よりも少ない日本において、ESKD 患者に最も多く選択される腎代替療法である。血液透析の実施は、透析膜を介した血液と透析液との間で生じる拡散を利用して老廃物の除去、カリウム、リンなどの電解質の是正、血液中 pH の調整を行うと同時に、限外濾過によって過剰となった水分を除去する効果も得ることができる。一般的な血液透析は、1回4時間、週3回のスケジュールで行われるが、その後の維持透析方法については、個々の血液透析患者の状態に応じて設定される。血液透析による除水は、尿量が顕著に少ないために体液貯留に陥りやすい ESKD 患者における浮腫やうっ血性心不全の予防のために、治療上最も重要な作業である。この除水は、小分子性物質のより効率的な透析除去を起こすだけでなく、体水分量の減少を引き起こすため、タンパク結合率の高いインドキシル硫酸に関しても、血清中濃度の変動が生じるかも知れない。

血液透析導入時には、食事内容の変化や尿毒症症状の一つである食欲不振の改善により、タンパク質の摂取が増加することでインドキシル硫酸の前駆体であるインドールの生成が増えることが予測される。さらに、血液透析導入による血圧低下、血清尿酸値の低下、体液貯留の改善など様々な病態の変動に伴い、多くの薬剤の処方内容が血液透析導入時に変更される。このように血液透析導入時に生じる様々な要因によっても、血清中インドキシル硫酸濃度の変動が考えられる。しかしながら、血液透析によるインドキシル硫酸の除去性を検討する目的で血液透析実施直前および実施直後の尿毒症物質の濃度を評価した報告は散見されるものの³⁵⁾、特に血液透析導入前および導入後における ESKD 患者の血清中インドキシル硫酸濃度の変動を評価した研究は未だない。

そこで第1章では、血液透析導入時における血清中インドキシル硫酸濃度の変動に影響する因子を

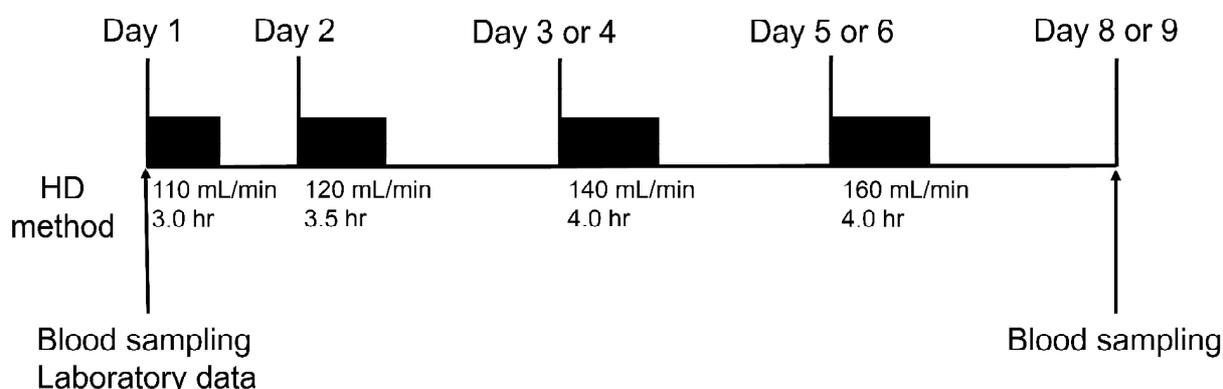
抽出することを目的として、血液透析の導入が決定した ESKD 患者を対象とし、血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度を測定し、血清中インドキシル硫酸濃度変動の程度を調査し、さらにその変動への関連因子の探索を行った結果について論述する。

第2節 方法

1. 対象患者と研究デザイン

本研究は、血液透析導入が決定した ESKD 患者を対象とした単施設前向き観察研究である。利尿薬や降圧薬、高尿酸血症治療薬および血糖降下薬など、CKD 患者に対する標準的な薬物治療を受けており、かつ、CKD の進行にて血液透析導入を目的に 2015 年 2 月から 2016 年 5 月の間に仁真会白鷺病院に入院した ESKD 患者のうち、文書にて同意を得られた 37 例を対象とした。悪性腫瘍および重篤な感染症の罹患、急性腎障害の治療のための緊急の血液透析導入患者、CKD の進行による血液透析導入以外の目的を含む不安定な状況下での入院患者は除外した。

対象患者は、血液透析導入前と導入 1 週間後の血清中インドキシル硫酸濃度測定のための採血の間に、重炭酸透析液 (Na^+ , 140 mEq/L; K^+ , 2.0 mEq/L; Ca^{2+} , 2.75 mEq/L; Mg^{2+} , 1.0 mEq/L; Cl^- , 113.0 mEq/L; HCO_3^- , 25.0 mEq/L) およびポリスルホンポリビニルピロリドン製の透析膜 (膜面積 1.2 m^2) を用いた血液透析を、計 4 度施行された。条件設定としては、1 回目 (導入 1 日目) は血流量 110 mL/min で 3 時間、2 回目 (導入 2 日目) は血流量 120 mL/min で 3.5 時間、3 回目 (導入 3 もしくは 4 日目) は血流量 140 mL/min で 4 時間、4 回目 (導入 5 もしくは 6 日目) は血流量 160 mL/min で 4 時間の設定であり、透析による除水量は、患者個々に設定された (Scheme 1)。



Scheme 1. Study protocol

HD : hemodialysis

2. 患者背景因子の抽出

性別、血液透析導入時の年齢、Body mass index (BMI)、血液透析導入前後の体重、腎不全原疾患、合併症、血清中アルブミン濃度、血中尿素窒素 (BUN)、血清中クレアチニン濃度などの血液学的検査及び AST-120 (クレメジン®) のような併用薬の情報は、電子カルテから抽出した。推算クレアチニン

クリアランス値は Cockcroft-Gault の式を用いて算出した³⁶⁾。

3. 血清中インドキシル硫酸濃度の測定

血液サンプルは、対象患者の血液透析導入日および導入 8 もしくは 9 日目の透析日の透析開始直前に、透析回路脱血側より採取した。血液サンプルは、速やかに遠心分離 (1,500×g, 5 min) し、上清である血清とし、-70°Cで冷凍保存した。血清中インドキシル硫酸濃度は、除タンパク法および HPLC-蛍光光度法により測定した。インドキシル硫酸 (ナカライテスク株式会社, Kyoto, Japan) を健常者血清 (Millipore Co., Billerica, MA, USA) に溶解して作成した検量線サンプルおよび末期腎不全患者血清サンプル (30 μL) に、メタノール 150 μL を加え 15 秒間攪拌後、10 分間振とう (300 strokes/min) を行い、1,630×g で 30 分間遠心分離した。得られた上清を窒素気流下 50°C で蒸発乾固し、移動相 (10 mM テトラブチルアンモニウムヨージド含有 20 mM リン酸緩衝液 (pH=4.0) : アセトニトリル=78 : 22) を加え攪拌し、得られた溶液中のインドキシル硫酸濃度を測定した。なお、血清中の遊離型インドキシル硫酸濃度の測定時は、限外濾過ユニット (Centrifree[®] with Urtracel[®] regenerated cellulose membrane, 30kDa, Millipore Co.) を用いて 1,630×g で 3 分間遠心分離し得られた濾液を用いた。分析条件は、Ryu ら²⁴⁾の報告を一部参考にし、新たに構築した。

4. 血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動への関連因子の調査

血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の変動率を、次の式 (1) によって算出した。すなわち、血液透析導入後の血清中総インドキシル硫酸濃度から導入前の濃度を差し引いたものを、導入前の濃度で除した百分率をインドキシル硫酸変動率とした。

$$IS \text{ 変動率 (\%)} = \frac{[HD \text{ 導入後の血清中総 } IS \text{ 濃度 } (\mu\text{M})] - [HD \text{ 導入前の血清中総 } IS \text{ 濃度 } (\mu\text{M})]}{HD \text{ 導入前の血清中総 } IS \text{ 濃度 } (\mu\text{M})} \times 100$$

. (1)

IS : インドキシル硫酸、HD : 血液透析

対象患者 37 名を、インドキシル硫酸変動率に応じて、血液透析導入後に濃度がもっとも低下した Tertile 1 群 (n=12)、血液透析導入後に濃度が比較的変動しなかった Tertile 2 群 (n=13) および血液透析導入後に濃度がもっとも上昇した Tertile 3 群 (n=12) に分類し、患者背景因子を比較した。

インドキシル硫酸タンパク結合率は、各患者におけるインドキシル硫酸の血清中総濃度及び遊離型

濃度を測定し、次の式 (2) により算出した。

$$IS \text{ タンパク結合率 (\%)} = \frac{\text{血清中遊離型 } IS \text{ 濃度 } (\mu\text{M})}{\text{血清中総 } IS \text{ 濃度 } (\mu\text{M})} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

IS : インドキシル硫酸

5. 倫理的配慮

本研究は、仁真会白鷺病院 (承認番号 27-1) および京都薬科大学 (承認番号 15-01) の倫理審査委員会の承認を得て行った。対象患者には、本研究において発生する採血行為および患者背景因子の抽出に関して、文書により十分な説明を行い、同意を取得した。

6. 統計解析

正規分布を示すデータ (年齢、BMI、血清中アルブミン濃度、BUN、血清中クレアチニン濃度、血清中ヘモグロビン濃度、血清中カリウム濃度、血清中カルシウム濃度、血清中リン濃度) は平均±標準偏差で示し、正規分布を示さないデータ (血清中インドキシル硫酸濃度、インドキシル硫酸変動率、透析導入前後の体重変化) は中央値 (最小-最大) で示し、血清中総インドキシル硫酸濃度及びインドキシル硫酸変動率 (Figure 1-5) については中央値 (25%-75% 四分位範囲: IQR) で示した。血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の比較には Wilcoxon の符号付順位検定を用いた。インドキシル硫酸変動率に基づいた三群間の患者背景比較には、Jonckheere-Terpstra のトレンド検定を用いた。有意確率として $p < 0.05$ で有意差ありとした。統計学的解析には、Statview version 5.0 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。

第3節 結果

1. 血清中インドキシル硫酸濃度の定量系確立

HPLC-蛍光光度法を用いた血清サンプル内のインドキシル硫酸濃度定量法の分析条件を Table 1-1 に示す。検量線作成時におけるインドキシル硫酸のクロマトグラムは、濃度依存的なピークエリアの増加を認めた (Figure 1-2)。またインドキシル硫酸の検量線は、総血清中濃度および遊離型濃度を想定した範囲内において、いずれも原点を通過する良好な直線性が得られた ($R^2 < 0.999$, Figure 1-3)。インドキシル硫酸の定量限界は $0.3 \mu\text{M}$ であった。

Table 1-1. HPLC analysis condition of quantitation of indoxyl sulfate

Column	Inertsil ODS C8 (25 cm, 4.6 mm)
Flow rate	1.5 mL/min
Column temperature	35°C
Wave length	280 nm (excitation), 330 nm (emission)
Sensitivity	0.001 a.u.f.s.

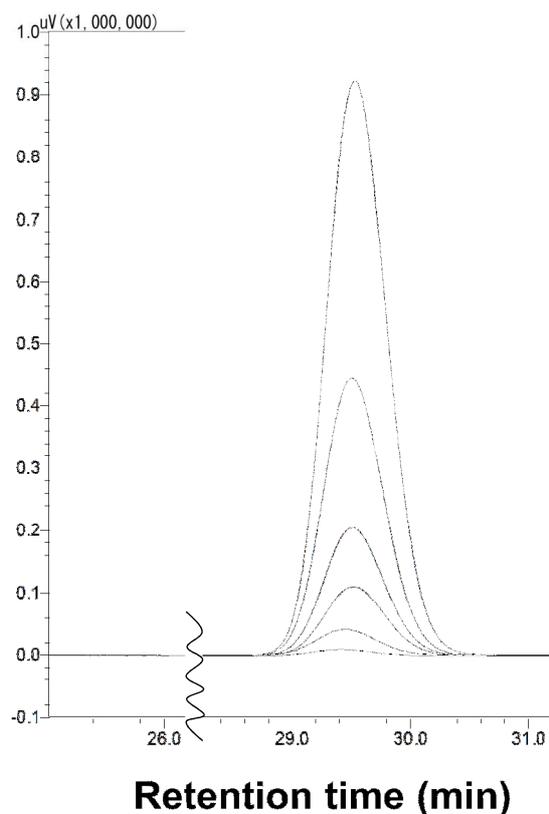


Figure 1-2. HPLC chromatogram of standard curve indoxyl sulfate
Indoxyl sulfate concentration: 10, 20, 50, 100, 200, 400 μM

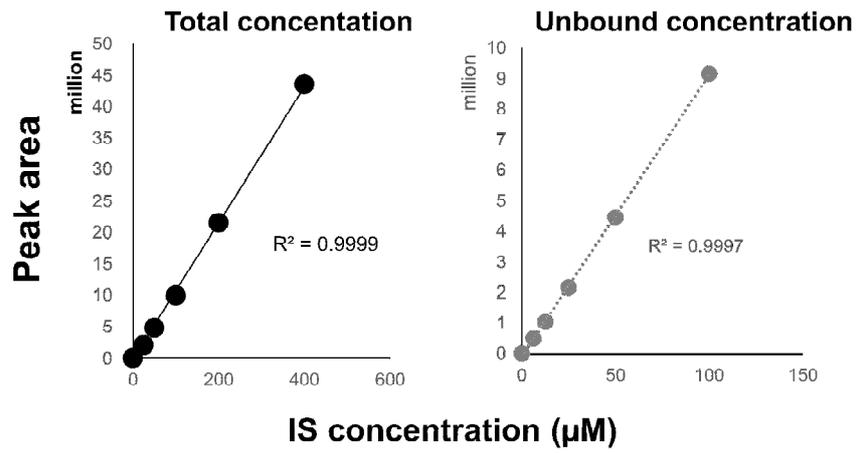


Figure 1-3. Standard curve of indoxyl sulfate

IS: indoxyl sulfate

2. 対象患者背景

対象患者 37 例の患者背景を Table 1-2 に示す。生化学検査の正常範囲については、白鷺病院における血液学的検査の基準に準拠し、男女で基準が異なる場合は男性 (女性) と表示した。男性は 37 例中 28 例 (76%) であり、年齢 69 ± 12 歳、血清中クレアチニン濃度 8.62 ± 1.47 mg/dL、推算クレアチニンクリアランス値 7.03 ± 2.83 mL/min であった。37 例中 23 例 (62%) が糖尿病合併例であり、血液透析導入直前までにクレメジン[®]が処方されていたのは 37 例中 22 例 (60%) であった。なお、クレメジン[®]は血液透析導入患者に対しては保険適応外となることから、クレメジン[®]服用患者全 22 例で、血液透析導入に伴いクレメジン[®]が中止された。

Table 1-2. Baseline clinical characteristics of the patients with ESKD

Sex (M/F)	28/9	
Age (y)	69 ± 12	
BMI (kg/m ²)	23.4 ± 4.7	
Cause of ESKD (DM/CGN/NS/unknown)	19/4/4/10	
Complication		
DM	23 (62 %)	
Hypertention	27 (73 %)	
Hyperlipidemia	10 (27 %)	
Laboratory data		Normal range (if female)
Creatinine (mg/dL)	8.62 ± 1.47	0.61 – 1.04 (0.47 – 0.79)
CL _{cr} (mL/min)	7.03 ± 2.83	(-)
Albumin (g/dL)	2.9 ± 0.5	3.8 – 5.2
BUN (mg/dL)	89.6 ± 25.5	8.0 – 22.0
Hemoglobin (g/dL)	9.5 ± 1.4	13.5 – 17.6 (11.3 – 15.2)
Potassium (mEq/L)	4.4 ± 0.8	3.6 – 5.0
Calcium (mg/dL)	7.6 ± 0.9	8.5 – 10.2
Phosphorus (mg/dL)	5.9 ± 1.1	2.4 – 4.3
Drug		
AST-120	22 (60 %)	
RAAS inhibitor	22 (60 %)	
Activated vitamin D	15 (41 %)	
Diuretics	20 (54 %)	
Serum IS concentration (μM)		
Total	62 (11 – 181)	
Unbound	3.4 (0.6 – 18.3)	

Data given as total number, total number (percentage), median (range), or mean \pm standard deviation.

ESKD: end-stage kidney disease; BMI: body mass index; DM: diabetes mellitus; CGN: chronic glomerulonephritis; NS: nephrosclerosis; CL_{cr}: creatinine clearance, calculated using the Cockcroft-Gault formula; BUN: blood urea nitrogen; AST-120: クレメジン[®]; RAAS: renin-angiotensin-aldosterone system; IS: indoxyl sulfate.

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* “in press”

3. 血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度分布と変動率

対象患者 37 例の血液透析導入前および導入後の血清中総インドキシル硫酸濃度は、それぞれ 62 (IQR: 45 ~ 99) μM および 71 (IQR: 39 ~ 99) μM であり、両者間に有意差は認められなかった (Figure 1-4)。

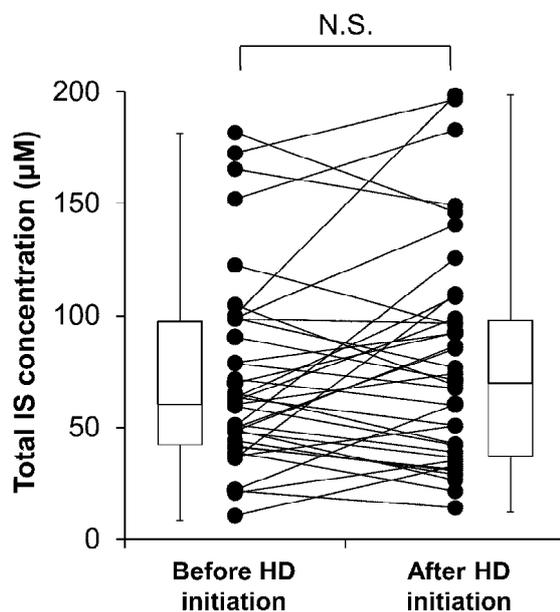


Figure 1-4. Patient-specific change in total serum IS concentration after HD initiation in ESKD patients

IS : indoxyl sulfate, HD : hemodialysis, ESKD : end-stage kidney disease, N.S. : not significant

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* “in press”

血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度から算出したインドキシル硫酸変動率は-9.9 (IQR: -24 ~ +59) %とわずかに低下傾向を示したものの、その変動率には大きな個人差が認められた (Figure 1-5)。

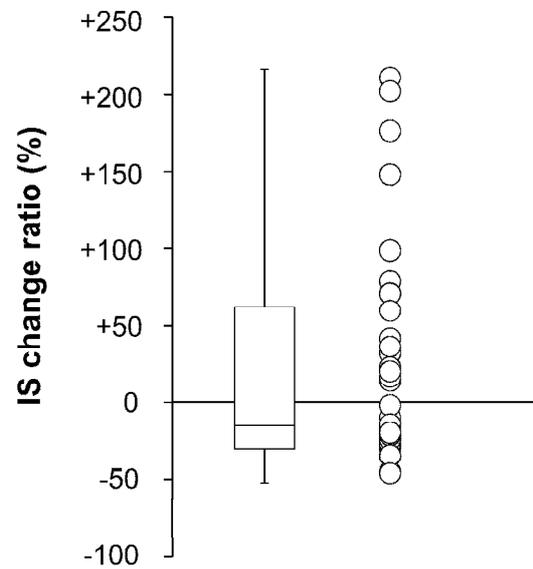


Figure 1-5. Patient-specific IS change ratio after HD initiation in ESKD patients
IS: indoxyl sulfate, HD: hemodialysis, ESKD: end-stage kidney disease

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther*: “in press”

4. インドキシル硫酸変動率により三群化した患者群における背景因子比較

インドキシル硫酸変動率に基づき対象患者 37 例を三分割した各群の患者背景を比較した結果を Table 1-3 に示す。Tertile 1 群 (n=12) のインドキシル硫酸変動率は $-46 < \text{インドキシル硫酸変動率} \leq -22\%$ 、Tertile 2 群 (n=13) の変動率は $-22 < \text{インドキシル硫酸変動率} \leq 32\%$ 、Tertile 3 群の変動率 (n=12) は $36 < \text{インドキシル硫酸変動率} \leq 211\%$ であった。各群における血液透析導入直前までのクレメジン®の服用率はそれぞれ 33% (12 例中 4 例), 69% (13 例中 9 例) および 75% (12 例中 9 例) であり、インドキシル硫酸変動率の上昇に応じてクレメジン®の服用率が高かった ($p=0.040$ for the trend test)。また、年齢 ($p=0.049$)、血清中アルブミン濃度 ($p=0.014$)、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率 ($p=0.014$) についても、有意にインドキシル硫酸変動率が高い患者ほど高くなる傾向を示した (for the trend test)。血液透析導入前後の体重変動、血液透析導入前の血清中総インドキシル硫酸濃度、並びには遊離型インドキシル硫酸濃度については、インドキシル硫酸変動率との傾向解析において有意な関連を示さなかった。

Table 1-3. Baseline characteristics associated with IS change ratio in patients with ESKD

	Tertile 1 (n=12)	Tertile 2 (n=13)	Tertile 3 (n=12)	P value
IS change ratio (%)	-32 (-46 - -22)	-10 (-22 - +32)	+74 (+36 - +211)	
M/F	11/1	10/3	7/5	0.060
Age (y)	65 ± 12	68 ± 12	75 ± 11	0.049*
BMI (kg/m ²)	25.0 ± 5.5	23.6 ± 4.9	21.7 ± 3.3	0.079
BW change (kg)	-3.6 (-9.5 - +1.7)	-1.4 (-7.3 - +0.3)	-1.7 (-3.8 - +1.2)	0.163
Albumin (g/dL)	2.5 ± 0.6	3.2 ± 0.3	3.1 ± 0.4	0.014*
BUN (mg/dL)	85.6 ± 25.0	97.4 ± 25.0	85.1 ± 26.5	0.802
Creatinine (mg/dL)	8.52 ± 1.65	9.23 ± 1.58	8.05 ± 0.93	0.486
Total IS (μM)	48 (22 - 105)	91 (60 - 182)	49 (11 - 100)	0.802
Unbound IS (μM)	3.1 (1.2 - 16.3)	5.4 (2.7 - 18.3)	1.9 (0.6 - 6.1)	0.119
PBR of IS (%)	92 ± 4	94 ± 2	95 ± 3	0.014*
AST-120/non-AST-120	4/8	9/4	9/3	0.040*

Data given as total number, total number (percentage), median (range), or mean ± standard deviation. Statistical significance was calculated using the Jonckheere-Terpstra trend test. *Significant positive correlation with IS change ratio.

ESKD: end-stage kidney disease; IS: indoxyl sulfate; BMI: body mass index; BW: body weight; BUN: blood urea nitrogen; PBR: protein binding ratio, AST-120: クレメジン®.

Yoshida T., et al., *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* “in press”

第4節 考察

本研究の対象患者 37 例はいずれも CKD 進行に伴い血液透析導入が決定した ESKD 患者であり、推算クレアチンクリアランス値の平均は 7.03 mL/min であった (Table 1-2)。すなわち、本研究の対象患者は、ある程度腎機能が一致した症例である。それにもかかわらず、そのほとんどが腎排泄される尿毒症物質であるインドキシル硫酸の血液透析導入前の血清中総濃度には 10 倍以上の個人差が認められた (Figure 1-4)。この結果は、Barreto ら¹⁸⁾の報告と類似している。このように、ESKD 患者におけるインドキシル硫酸の蓄積には大きな個人差が存在すると思われる。この個人差の一因として、Viaene ら³⁷⁾は、腹膜透析患者において残腎機能が少ない患者ほど血清中インドキシル硫酸濃度が高いことを示している。すなわち、たとえ腎機能がほぼ廃絶した ESKD 患者であっても、患者のわずかな残腎機能の違いが血清中インドキシル硫酸濃度の個人差に影響していることが考えられる。しかしながら、ESKD 患者のわずかな残腎機能の個人差が、10 倍以上の血清中インドキシル硫酸濃度の個人差を生み出す主たる要因とは考え難い。インドキシル硫酸はアミノ酸の一種であるトリプトファン由来の尿毒症物質であることから、個々の患者の食事量や質の影響も受けると想定される。実際、対象患者 37 例の BUN の平均は 89.6 mg/dL であったが、その範囲は 50.4 mg/dL から 151.4 mg/dL と大きな個人差を認めた (Table 1-2)。BUN は一般的には腎機能障害の指標であるが、腎機能が廃絶した ESKD 患者においてはタンパク質摂取量も反映する。以上のことから、ESKD 患者の血清中インドキシル硫酸濃度には大きな個人差が存在しており、その個人差には様々な因子が影響していると考えられる。

血液透析導入前後における血清中総インドキシル硫酸濃度の変動には、各患者間で大きな違いが認められ (Figure 1-4, 1-5)、その変動要因として、年齢、血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率および透析導入直前までのクレメジン[®]服用の有無が抽出された (Table 1-3)。すなわち、これらの因子が血液透析導入後のインドキシル硫酸の蓄積を制御している可能性が考えられる。血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が大きく低下した Tertile 1 群において血清中アルブミン濃度およびインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率が相対的に低かったことは、血液透析で除去されやすい血清中の遊離型インドキシル硫酸の存在比率が相対的に大きかったことにより、血液透析による除去が大きかったことが関連している可能性が想定される。一方で、血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が大きく上昇した Tertile 3 群においてクレメジン[®]服用患者の割合が多かったことから、血液透析導入に伴うクレメジン[®]服用中止が血清中インドキシル硫酸濃度の上昇に関連している可能性が想定される。年齢については、血清中アルブミン濃度との正の相関が確認されており、血清中アルブミン濃度が交絡因子となっていると考えられる。これらの関連因子については、より詳

細なグループ解析が必要と思われ、第2章、第3章においてさらに追跡調査することとした。

本研究では、血液透析実施時に使用した透析膜や透析時間などの透析条件は各患者間において統一したが、血液透析実施時の除水量は患者の体液貯留の状態に応じて設定されていることから、この体重変動には、除水量の違いが関連している可能性が考えられる。血液透析による除水は、血管内血液量を一時的に減少させるため、インドキシル硫酸の血清中濃度は血液透析終了時に一時的に上昇する可能性が考えられる。しかしながら、一般的に、血液透析終了後すぐに膠質浸透圧に基づいて間質液から血漿へ水分が補充されるため、採血タイミングである血液透析導入前後における血管内血液量の違いはほとんど認められないと考えられている。加えて、タンパク結合性の高いインドキシル硫酸は、体液貯留時に増加する間質液への分布が小さいと考えられる。極度の体液貯留により一時的に血管内血液が希釈されている場合は、血清中インドキシル硫酸濃度が低下する可能性も否定出来ないが、本研究では、各患者の体液貯留（導入時の除水目標体重）は、導入前の血清中総インドキシル硫酸濃度と関連しなかった（データ示さず）。したがって、体液貯留は血清中インドキシル硫酸濃度に影響しないと考えられた。また一方で、小分子の血液透析による除去量は除水量に応じて増加するため、除水量の増加に応じて遊離型インドキシル硫酸の除去は増加し、血清中インドキシル硫酸濃度が低下することも想定すべきかもしれない。しかしながら、本研究では、血液透析による除水量を反映していると想定される血液透析導入前後の体重変動は、インドキシル硫酸変動率と関連していなかった（Table 1-3）。すなわち、本研究におけるインドキシル硫酸変動率の個人差は、除水量の影響によるものではないと想定される。

第5節 小活

本章では、ESKD 患者の血液透析導入時における血清中総インドキシル硫酸濃度変動への関連因子について検討し、次の知見を得た。

1. 血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度には、総濃度および遊離型濃度ともに 10 倍以上の大きな個人差が認められた。
2. 血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の変動率には非常に大きな個人差を認め、導入後にインドキシル硫酸濃度が上昇した患者、並びに低下した患者が混在していた。
3. 血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度の変動率に、血液透析導入直前までのクレメジン[®]服用頻度、年齢、血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率が正相関する可能性が示された。

第2章 血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度の変動に及ぼすクレメジン®服用中止の影響

第1節 緒言

経口球形吸着炭製剤であるクレメジン®は、消化管でインドキシル硫酸の前駆物質であるインドールを吸着して糞中に排泄することにより血清中インドキシル硫酸濃度を低下させ、CKD 患者における「尿毒症症状の改善及び透析導入の遅延」を目的に、1991年10月から承認販売が開始された薬剤である³⁸⁻⁴⁰。近年では、Evaluating Prevention of Progression in Chronic Kidney Disease (EPPIC) study の post hoc サブグループ解析において、クレメジン® 9 g/日の服用群ではプラセボ服用群と比較してCKD 患者における透析導入や腎移植、血清クレアチニン値の倍加時間を指標とした1次評価項目が有意に改善するなど海外においても有用性が示されている⁴¹。また、中等度から重度のCKD 患者を対象とした多施設ランダム化二重盲検試験において、12週間のクレメジン®投与はプラセボと比較して、投与量依存的に血清中インドキシル硫酸濃度を低下させ、尿毒症症状のうち倦怠感を投与量依存的に改善させることも報告されている⁴⁰。すなわち、クレメジン®はCKD 患者におけるCKD 進行や尿毒症症状に対して複数の有益性を有する医薬品である。しかしながら、クレメジン®は、服用のしづらさや便秘の副作用などの影響によりコンプライアンスを確保しづらい薬剤であるため、すべてのCKD 患者に処方されているわけではない。すなわち、クレメジン®の適用は、患者が服用を継続することが可能かという点に主眼をおいて検討される。

クレメジン®は、添付文書における保険適応によって、維持透析治療導入後の患者は適応外となるため、透析治療導入後に服用を中止される。しかしながら、インドキシル硫酸は、血清中タンパク結合率が90%を超えるタンパク結合性の高い尿毒症物質であるため、通常の血液透析では効果的に除去できず透析導入後も高濃度が維持される⁴²。すなわち、透析治療導入時のクレメジン®の服用中止は、インドールの吸収が増大することにより、血清中インドキシル硫酸濃度を更に上昇させる可能性が危惧される。腎機能が廃絶した透析患者においても、インドキシル硫酸の蓄積は心不全やグラフト血栓症などの様々な心血管疾患の原因となることが示されている^{23,25}。したがって、血液透析導入後もクレメジン®を継続服用することは、血清中インドキシル硫酸濃度を低下させ、心血管疾患の予後不良改善のために有用であると考えられる。

第1章において著者は、ESKD 患者における血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の変動と血液透析導入直前までのクレメジン®の服用頻度との間に有意な正の相関関係があることを示した。すなわち、血液透析導入後に血清中総インドキシル硫酸濃度が上昇している患者群において、

高頻度で血液透析導入直前までクレメジン[®]が投与されていたことを示している。そこで本章では、血液透析導入時のクレメジン[®]服用中止が、血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度変動に及ぼす影響について論述する。

第2節 方法

1. 血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動に及ぼすクレメジン®服用履歴の影響

第1章において、対象患者37例のうち22例がクレメジン®を服用していたことを示した (Table 1-2)。本章では、血液透析導入直前までのクレメジン®服用の有無に応じて対象患者 37 例をクレメジン®服用患者 22 例、非服用患者 15 例の二群に分割し、それぞれの血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度、および患者背景因子を比較した。

クレメジン®服用群および非服用群におけるインドキシル硫酸変動率 (式 (1) により算出) を比較した。

2. 統計解析

血清中総インドキシル硫酸濃度 (Figure 2-1) 及びインドキシル硫酸変動率 (Figure 2-2) については中央値 (25%-75% 四分位範囲: IQR) で示した。正規分布を示すデータ (年齢、BMI、血清中アルブミン濃度、BUN、血清中クレアチニン濃度 (Table 2-1)) は平均±標準偏差で示し、正規分布を示さないデータ (血清中インドキシル硫酸濃度 (Table 2-1)、透析導入前後の体重変化) は中央値 (最小-最大) で示した。血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の比較には Wilcoxon の符号付順位検定を用いた。クレメジン®服用群および非服用群の血清中総インドキシル硫酸濃度の比較、インドキシル硫酸変動率の比較、および患者背景の比較には Mann-Whitney's U 検定および χ^2 独立性の検定を用いた。有意確率として $p < 0.05$ で有意差ありとした。統計学的解析には、Statview version 5.0 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。

第3節 結果

1. クレメジン®服用の有無と血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の関係

クレメジン®服用群および非服用群における血液透析導入前の血清中総インドキシル硫酸濃度は、それぞれ 61 (IQR: 48 ~ 88) μM および 63 (IQR: 43 ~ 102) μM であり、両群間に有意な差は認められなかった (Figure 2-1)。

クレメジン®非服用群における血液透析導入後の血清中総インドキシル硫酸濃度は、69 (IQR: 35 ~ 102) μM であり、導入前と比較して有意な変動は認められなかった (Figure 2-1)。一方で、クレメジン®服用群の血液透析導入後の血清中総インドキシル硫酸濃度は 73 (IQR: 44 ~ 98) μM であり、導入前と比較して有意な上昇が認められた (Figure 2-1)。血液透析導入後に血清中総インドキシル硫酸濃度が上昇した患者の割合は、クレメジン®非服用群で 33% (15 例中 5 例) に対し服用群で 55% (22 例中 12 例) であった。

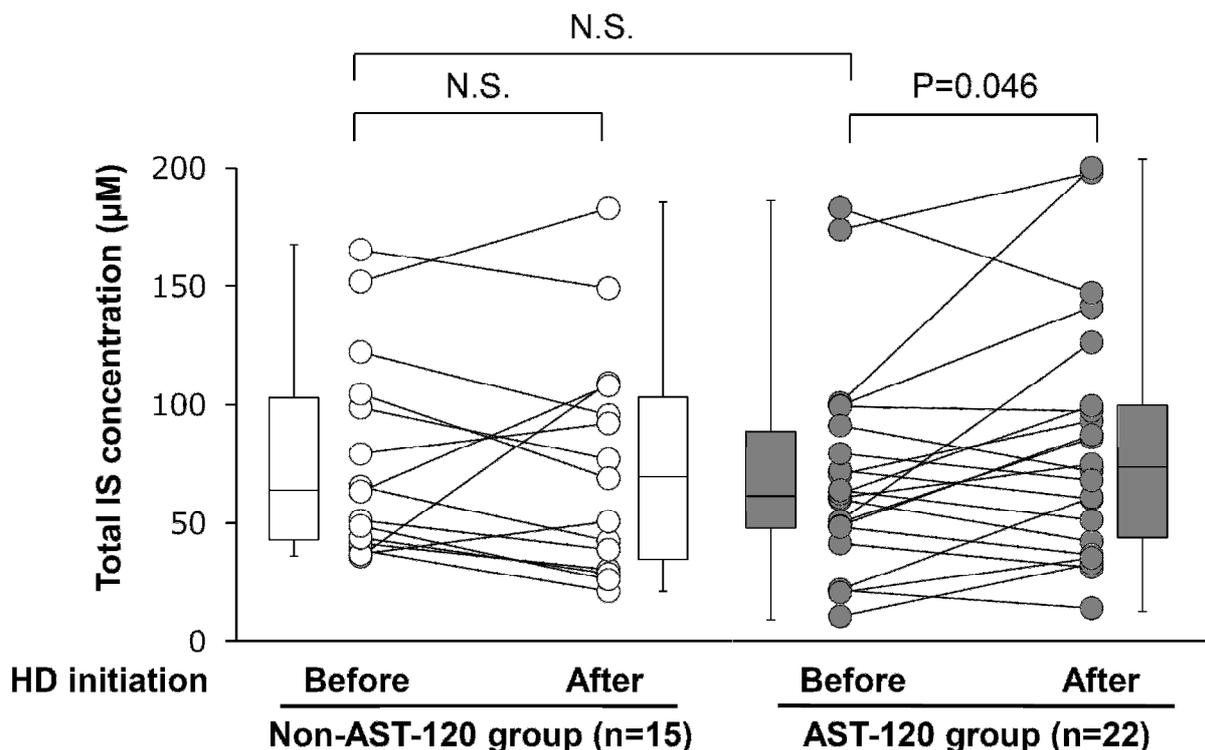


Figure 2-1. Total serum IS concentration before and after HD initiation stratified according to previous administration of AST-120

Data given as box-and-whisker plot and individual value of patients. Within-group comparisons (before vs. after) were performed using Wilcoxon signed rank test. Between-group comparisons (non-AST-120 (n=15) vs. AST-120 (n=22)) were performed using Mann-Whitney U test.

HD: hemodialysis; IS: indoxyl sulfate; N.S.: not significant; AST-120: クレメジン®.

Yoshida T., et al., *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* “in press”

2. クレメジン®服用の有無とインドキシル硫酸変動率の関係

インドキシル硫酸変動率は、クレメジン®非服用群では-22 (IQR: -34 ~ +18) %であったのに対して、クレメジン®服用群では+18 (-20 ~ +71) %と有意に大きかった (p=0.030, Figure 2-2)。

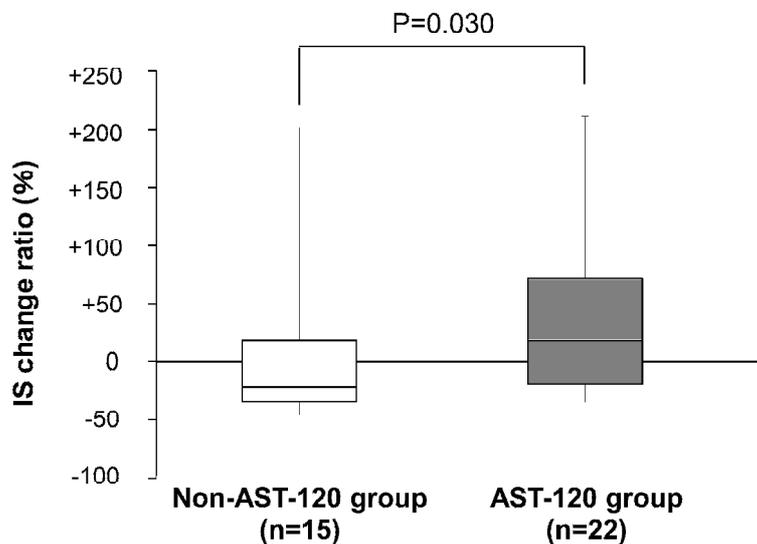


Figure 2-2. IS change ratio stratified according to previous administration of AST-120

Data given as box-and-whisker plot. Between-group comparisons (non-AST-120 vs. AST-120) were performed using Mann-Whitney U test.

IS : indoxyl sulfate; AST-120 : クレメジン®.

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* "in press"

3. クレメジン[®]服用の有無と背景因子の関係

クレメジン[®]の有無に基づき対象患者 37 例を二分割した各群の患者背景を比較した結果を Table 2-1 に示す。クレメジン[®]非服用患者および服用患者において、患者背景に統計学的な差は認めなかった。

Table 2-1. Baseline characteristics associated with AST-120 administration in patients with ESKD

	Non-AST-120 group (n=15)	AST-120 group (n=22)	P value
M/F	12/3	16/6	0.711
Age (y)	67 ± 10	71 ± 13	0.164
BMI (kg/m ²)	24.4 ± 5.2	22.8 ± 4.4	0.386
BW change (kg)	-3.1 (-8.5 – +1.7)	-1.3 (-9.5 – +1.2)	0.216
Albumin (g/dL)	2.8 ± 0.6	3.1 ± 0.4	0.228
BUN (mg/dL)	86.2 ± 31.6	91.9 ± 20.8	0.293
Creatinine (mg/dL)	8.6 ± 1.6	8.6 ± 1.4	0.829
Total IS (μM)	63 (36 – 165)	61 (11 – 182)	0.711
Unbound IS (μM)	3.6 (1.0 – 16.3)	3.2 (0.6 – 18.3)	0.240
PBR of IS (%)	93 ± 3	95 ± 3	0.246

Data given as total number, total number (percentage), median (range), or mean ± standard deviation. Between-group comparisons (non-AST-120 vs. AST-120) were performed using Mann-Whitney U test or χ^2 squared test.

AST-120: クレメジン[®]; ESKD: end-stage kidney disease; IS: indoxyl sulfate; BMI: body mass index; BW: body weight; BUN: blood urea nitrogen; PBR: protein binding ratio.

第4節 考察

クレメジン[®]は、血清中インドキシル硫酸濃度を低下させることにより、血液透析導入の遅延や尿毒症症状の改善などの効果を発揮する薬剤である。しかしながら、本研究の対象患者 37 例で認められた血液透析導入前の血清中総インドキシル硫酸濃度の個人差は、クレメジン[®]の服用の有無に関わらなかった (Figure 2-1)。Cha ら⁴³⁾は、CKD stage 3-4 の患者を対象としクレメジン[®]服用の臨床効果を追跡した前向き研究において、クレメジン[®]服用患者群の 36 ヶ月までの血清中インドキシル硫酸濃度の変動率がクレメジン[®]非服用患者群における変動率と差がなかったことを示している。この結果においても、確かにクレメジン[®]は血清中インドキシル硫酸濃度を低下させる作用を有する傾向は示しているものの、ESKD 患者における血清中インドキシル硫酸濃度の大きな個人差を制御するほどの影響を示さない可能性が考えられた。

血液透析導入直前までのクレメジン[®]服用の有無で患者を二群化したグループ解析によって、著者はクレメジン[®]服用患者において、血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が上昇するリスクが高い可能性を見出した (Figure 2-1, 2-2)。この現象は、血液透析導入時のクレメジン[®]服用中止により、それまで抑制されていたインドキシル硫酸の前駆物質であるインドールの消化管吸収が増加することにより起きている可能性が考えられる。言い換えれば、クレメジン[®]の服用は、血清中インドキシル硫酸濃度の個人差の主要因ではなかったものの、個々の患者では、クレメジン[®]服用が明らかに血清中インドキシル硫酸濃度を低下させることを意味している。この結果は、血液透析患者において、2 週間のクレメジン[®]服用により低下した血清中インドキシル硫酸濃度が服用終了 2 週間後には再上昇する報告⁴⁴⁾と一致している。ここで、例えばクレメジン[®]服用時の大量の飲水などの影響により、クレメジン[®]服用患者にのみ血液透析導入前に体液貯留が存在し、血液透析導入による除水量が多かったことで、血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が上昇した可能性も想定される。しかしながら、第 1 章でも述べたように、体液貯留の存在は、タンパク結合性が高く間質液へ分布しにくいインドキシル硫酸の血清中濃度を変動させる要因とはならないと考えられる。また、クレメジン[®]服用患者および非服用患者における体液貯留の程度を反映する導入前後の体重変動に有意な差はなく、また血清中アルブミン濃度などその他の患者背景因子についても差はなかった (Table 2-1)。したがって、ESKD 患者において、血液透析導入に伴うクレメジン[®]の服用中止により血清中インドキシル硫酸濃度が上昇する可能性が高いことが考えられた。

本邦におけるクレメジン[®]の添付文書上の適応はあくまでも「進行性の慢性腎不全患者の尿毒症症状の改善および透析導入の遅延」とされている³⁹⁾。しかしながら近年では、維持透析患者に対するクレ

メジン[®]の有用性について報告されている。例えば、Ryu ら²⁴⁾は、クレメジン[®]6 g/日を3ヶ月間服用した維持透析患者において、クレメジン[®]非服用患者と比較して血清中インドキシル硫酸濃度が有意に低下し、微小血管障害が改善することを明らかにしている。また Yamamoto ら⁴⁴⁾は、クレメジン[®]6 g/日を2週間服用した維持透析患者では、インドキシル硫酸や p-クレジル硫酸の血清中濃度が低下し、8-イソプロスタンや酸化アルブミンなどの酸化ストレスマーカーが低下することを報告している。したがって、本研究結果は、血液透析導入後もクレメジン[®]を継続することで、血液透析による除去が困難なインドキシル硫酸の血清中濃度を継続的に低下させる可能性を示すものであり、クレメジン[®]の継続が心血管系疾患の予後不良の改善に有益であることが示唆される。

クレメジン[®]はインドールを吸着することで血清中インドキシル硫酸濃度を低下させる薬剤であるが、実際にはインドキシル硫酸以外にも p-クレジル硫酸や馬尿酸など幅広い尿毒症物質の蓄積を低下させることが *in vivo* において明らかにされている⁴⁵⁾。また、他の薬剤を吸着することによる効果減弱を避けることを目的に食間投与が推奨されていることから、クレメジン[®]が消化管において吸着する物質のスペクトルが広いことが考えられる。実際、Yamamoto ら⁴⁴⁾の報告においても、クレメジン服用による酸化ストレスの抑制には、インドキシル硫酸だけでなく p-クレジル硫酸濃度の低下も関連することが示されている。したがって、インドキシル硫酸の蓄積軽減による腎機能障害の進行抑制がクレメジン[®]の保険適応上の服用目的であるものの、実際には、インドキシル硫酸以外の尿毒症物質の蓄積を軽減することも、クレメジン[®]服用の有用性の一つであることが考えられる。

本研究にはリミテーションがある。すなわち、各患者に処方されていたクレメジン[®]のコンプライアンスや服用継続期間を正確に確認できていないことである。クレメジン[®]は、服薬コンプライアンスを高めることが非常に難しい薬剤であるため、その服用の正確さは非常に重要と考える。実際、韓国で行われた K-STAR study (Kremezin study against renal disease progression in Korea)⁴⁶⁾では、クレメジン[®]の服薬コンプライアンスに基づいて CKD 患者を三群化した結果、コンプライアンスがもっとも良好である群は他の二群と比較して、血清クレアチニン濃度の倍加時間、50%以上の推算 GFR 低下時間および腎代替療法導入率を一次評価項目とした腎機能障害の予後が有意に良好であったことが示されている。本研究ではクレメジン[®]服用群において、非服用群と比較してインドキシル硫酸変動率が有意に高値であったことから、クレメジン[®]服用患者の中でも特に血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が上昇した患者については、血液透析導入直前までクレメジン[®]が正確に内服されていた可能性が考えられる。一方で、クレメジン[®]服用群において血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が低下した患者については、クレメジン[®]のコンプライアンスが遵守されていなかった可能性は否定できない。しかしながら、そのような中でも、クレメジン[®]服用群と非服用群との比較検討において有意なインドキ

シル硫酸変動率高値が示されたことから、血液透析導入直前までクレメジン[®]服用により低下していた血清中インドキシル硫酸濃度が、血液透析導入に伴うクレメジン[®]服用中止により再上昇する可能性は高いと思われる。

第5節 小活

本章では、ESKD 患者の血液透析導入前後における血清中インドキシル硫酸濃度変動と血液透析導入直前までのクレメジン[®]の服用履歴の関連について検討し、次の知見を得た。

1. 血液透析導入時のクレメジン[®]服用中止により、血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が上昇する可能性が示された。

第3章 血液透析導入による血清中インドキシル硫酸濃度変動と血清中アルブミン濃度との関係

第1節 緒言

アルブミンは、分子量 66,000 程度のタンパク質であり、食事により摂取したアミノ酸によって肝臓内で合成される。血管内において、アルブミンは血液中の浸透圧を制御し血管内の血液量を調節する役割を果たしている。また、脂肪酸や薬物など様々な化合物と結合し、標的部位まで運搬する役割も果たしている。血中においてアルブミンと結合した化合物は分子量が大きくなることから、一般的な血液透析に用いられる透析膜を通過することができず、効率的に除去することができない。この理論は、インドキシル硫酸などのタンパク結合性が高い尿毒症物質においても同様に適応される。

CKD 患者は様々な要因により低アルブミン血症を呈することが多い。まず、糖尿病を合併している CKD 患者においては、尿タンパクを減少させる目的から低タンパク食の摂取が推奨されるため、肝臓におけるアルブミン合成が低下することが考えられる。また、原疾患としてネフローゼ症候群を合併した場合、糸球体からのアルブミン漏出が増加することにより低アルブミン血症となりやすい。加えて、特に高齢の CKD 患者であれば、食事摂取不良⁴⁷⁾や代謝性アシドーシス⁴⁸⁾などの頻度も高まり、それもまた低アルブミン血症の要因となり得る。したがって、CKD 患者は低アルブミン血症を合併する複数の素因を有していることが考えられる。

インドキシル硫酸はその 90%以上が血清中でアルブミンと結合しており、その結合力は薬物のタンパク結合を競合的に阻害するほど強く、一般的に血液透析による除去が困難であると考えられている^{12,49,50)}。しかしながら、血清中の数%から 10%程度はアルブミンと結合していない遊離型インドキシル硫酸として存在するため、その割合によっては血液透析により部分的に除去することが可能である。加えて、特に、高度な低アルブミン血症を呈している ESKD 患者においては、血清中におけるインドキシル硫酸のタンパク結合率が低下し遊離型分率が極度に上昇していると想定される。すなわち、ESKD 患者の血清中アルブミン濃度が血清中におけるインドキシル硫酸のタンパク結合率を制御し、血液透析によるインドキシル硫酸の除去効率に大きな個人差を生み出している可能性が考えられる。

第1章において、ESKD 患者における血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の変動と血清中アルブミン濃度およびインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率との間に有意な正の相関関係があることを示した。すなわち、血液透析導入後に血清中総インドキシル硫酸濃度が低下している患者では、血清中アルブミン濃度が低かったことを示している。そこで第3章では、血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度変動に、血清中アルブミン濃度およびインドキシル硫酸の血清中タンパ

ク結合率がどのように影響を及ぼすかについて論述する。

第2節 方法

1. 対象患者の血清中アルブミン濃度の分布

第1章において、対象患者37例の血清中アルブミン濃度の平均が2.9 g/dLであることを示した (Table 1-2)。本章ではまず、対象患者37例における、血清中アルブミン濃度の分布について調査した。

2. インドキシル硫酸変動率と血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸血清中タンパク結合率の関係

第1章において、対象患者37例のインドキシル硫酸変動率が血清中アルブミン濃度およびインドキシル硫酸タンパク結合率と正相関することを示した (Table 1-3)。その関係性について詳細に調査することを目的とし、第2章において論じたクレメジン[®]服用中止によるインドキシル硫酸変動率への影響を除外するために、クレメジン[®]非服用患者15例のみを対象とした。クレメジン[®]非服用患者15例におけるインドキシル硫酸変動率 (式 (1) より算出) と血清中アルブミン濃度、もしくはインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率 (式 (2) より算出) との相関関係の有無について検討した。

また、全対象患者37例において、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率と血清中アルブミン濃度との相関関係についても検討した。

3. 統計解析

相関検定にはSpearmanの順位相関検定を用いた。多変量解析には、変数選択-重回帰分析を用いた。有意確率として $p < 0.05$ で有意差ありとした。

第3節 結果

1. 対象患者の血清中アルブミン濃度の分布

対象患者の血清中アルブミン濃度の範囲は1.6–3.7 g/dL であり、全例が低アルブミン血症であった (Figure 3-1)。

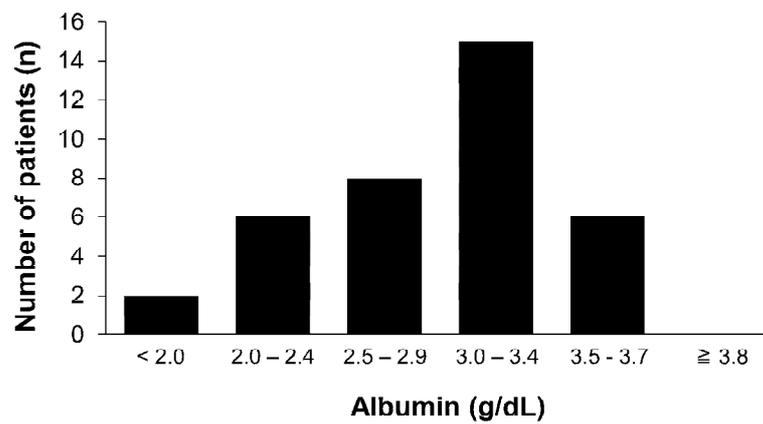


Figure 3-1. Distribution of serum albumin level in ESKD patients
ESKD : end-stage kidney disease.

2. クレメジン®非服用患者群におけるインドキシル硫酸変動率と血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率の関係

クレメジン®非服用患者 15 例において、インドキシル硫酸変動率と血清中アルブミン濃度もしくはインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率との間にはそれぞれ正の相関傾向が認められた ($r^2=0.312$, $p=0.059$ もしくは $r^2=0.215$, $p=0.082$, Figure 3-2, Figure 3-3)。特に、血清中アルブミン濃度に関して、37 例全例における血清中アルブミン濃度の平均値である 2.9 g/dL 未満の患者 7 例では、全例において血液透析導入後に血清中総インドキシル硫酸濃度が低下した (Figure 3-2)。

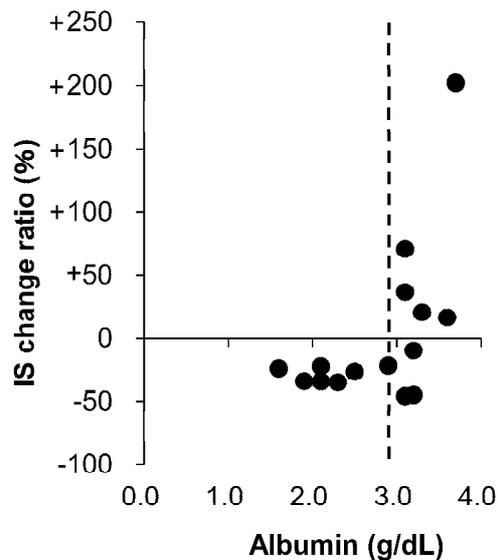


Figure 3-2. Relationships between serum albumin levels and the IS change ratio in patients who did not receive AST-120 therapy (n = 15).

Dotted line represents the average value of the serum albumin level in all 37 patients included in the study.

Spearman's rank correlation coefficient: $r^2=0.321$; $p=0.059$.

IS : indoxyl sulfate; AST-120 : クレメジン®.

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* "in press"

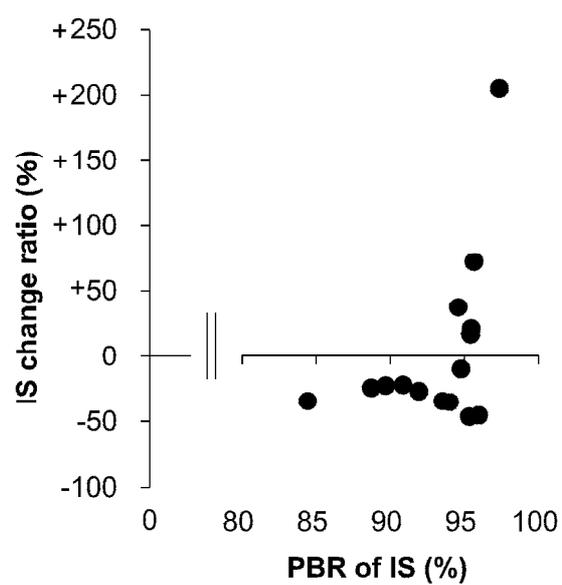


Figure 3-3. Relationships between protein-binding ratio and the IS change ratio in patients who did not receive AST-120 therapy (n = 15).

Spearman's rank correlation coefficient: $r^2=0.215$; $p=0.082$.

IS : indoxyl sulfate; PBR : protein-binding ratio; AST-120 : クレメジン®.

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* "in press"

3. 血清中アルブミン濃度とインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率との相関性

全対象患者 37 例における血清中アルブミン濃度とインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率との間に有意な正の相関関係が認められた ($r^2=0.534$, $p<0.001$, Figure 3-4)。

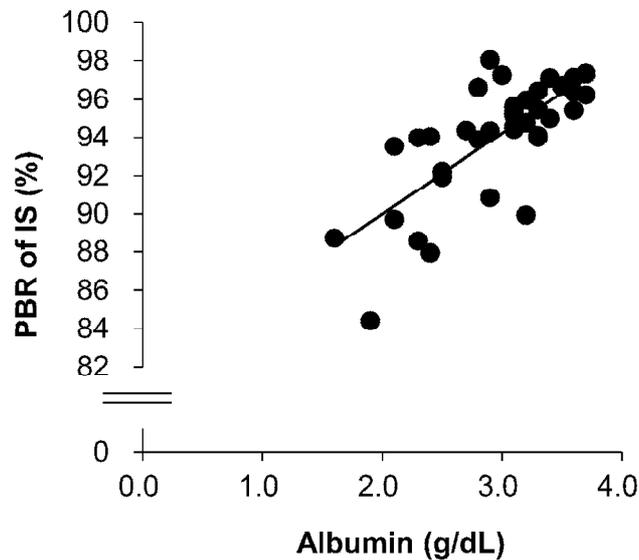


Figure 3-4. Relationship between serum albumin levels and ratio of protein-bound IS (n = 37).

Spearman's rank correlation coefficient: $r^2=0.534$; $p<0.001$.

IS: indoxyl sulfate; PBR: protein-binding ratio.

Yoshida T., *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol, Ther.* "in press"

4. インドキシル硫酸変動率に関連する因子についての多変量解析

全対象患者 37 例におけるインドキシル硫酸変動率に関連する因子についての多変量線形回帰分析の結果、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率は、年齢、BMI、BUN、クレメジン[®]服用歴、血液透析導入前後の体重変動などの交絡因子による調整後も、血液透析導入前後の血清中 IS 濃度変動率と有意に相関していた ($R^2=0.126$, $p=0.031$)。

第4節 考察

本研究における対象患者 37 例において、全例が血清中アルブミン濃度 3.8 g/dL 未満と低アルブミン血症を呈していた (Figure 3-1)。さらに、血清中アルブミン濃度は正規分布に近い分布を示したものの大きな個人差があり、もっとも低い血清中アルブミン濃度は 1.6 g/dL と極端な低アルブミン血症例も数例認められた。一般的に低アルブミン血症の原因となる合併症としては、肝炎、肝硬変などの肝臓疾患や、ネフローゼ症候群などのタンパク漏出性の腎臓疾患が挙げられるが、本研究の対象患者 37 例はいずれも、明らかな肝臓疾患の既往や、明らかなネフローゼ症候群の合併はなかった。しかしながら、本研究の対象患者のうち 62% (23 例) が糖尿病を合併しており、27% (10 例) が脂質代謝異常症を合併していたが (Table 1-2)、糖尿病や脂質代謝異常症を合併している CKD 患者は尿タンパク陽性の頻度が高いことが知られている¹⁾。したがって、対象患者背景を総合的に考えると、実際に本研究では患者の尿タンパクを測定できていないものの、タンパク尿を呈する要因をいくつか有しており、それが血清中アルブミン濃度の個人差の要因の一つとなっていたかもしれない。加えて、今回の対象患者 37 例はすべて ESKD 患者であるにも関わらず、BUN は 50.4 mg/dL から 151.4 mg/dL と大きな個人差があった (Table 1-2)。一般的に BUN は腎機能障害の指標となるが、すでに腎機能が廃絶した ESKD 患者では、タンパク質摂取量によっても変動する。すなわち今回の対象患者における BUN の個人差は、タンパク質摂取量に個人差があったことを反映していると思われる。以上のことから、タンパク尿の存在やタンパク質摂取量の個人差が血清中アルブミン濃度の個人差に影響した可能性も考えられる。

全対象患者におけるインドキシル硫酸変動率に基づいた三群間の比較において、血清中総インドキシル硫酸濃度がより低下していた群で血清中アルブミン濃度が低かった ($p=0.014$ for trend, Table 1-3)。さらに、血清中アルブミン濃度が低い患者で血液透析導入後に血清中総インドキシル硫酸濃度がより低下しやすい傾向が確認され、その傾向は、血清中アルブミン濃度 2.9 mg/dL 未満の患者において顕著であった ($p=0.059$, Figure 3-2)。腎機能正常患者において、インドキシル硫酸は血清中でその 90%以上がアルブミンに結合しており^{10,11)}、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率が血清中アルブミン濃度と明らかな正の相関を示した (Figure 3-4)。血清中アルブミン濃度が低い患者では、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率が低下することで、血液透析によりほとんど除去できないとされるインドキシル硫酸が血液透析によって部分的に除去されることが示唆される。一方で、血清中アルブミン濃度が比較的高い患者では、従前通りにインドキシル硫酸は透析除去がされにくく、血液透析導入後も体内に蓄積しやすい可能性が考えられた。ここで、第 1 章において認められたインドキシル硫酸変動率と年齢の相関関係については、年齢と血清中アルブミン濃度との間に正の相関関係が認められた

ことに関連していると思われる (データ示さず)。一般的に、食事量を反映すると思われる血清中アルブミン濃度は高齢となるほど低下すると想定されるが、本研究の対象患者ではその傾向は認めなかった。しかしながら、多変量解析において、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率との相関性によって年齢の関与は相殺されていることから、インドキシル硫酸変動率にもっとも関連する因子は、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率を制御する血清中アルブミン濃度であることが示唆される。したがって、血清中アルブミン濃度が血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動の規定因子となる可能性が示された。

第二章において、血液透析導入時のクレメジン[®]服用中止によって血清中インドキシル硫酸濃度が上昇する可能性について論述したが、その機序はインドキシル硫酸の前駆物質であるインドールの消化管吸収増大であると想定される。一方で、血清中アルブミン濃度によるインドキシル硫酸変動率への影響は、血液透析による遊離型インドキシル硫酸の除去の個人差がその要因であると想定され、それぞれ異なる機序で血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動を制御していると考えられる。したがって、特に、血液透析導入後に血清中インドキシル硫酸濃度が上昇しやすい血清中アルブミン濃度高値の血液透析患者では、血液透析導入後のクレメジン[®]継続服用がより有効である可能性が考えられた。

本研究にはいくつかのリミテーションがある。まず、今回の対象患者 37 例のうち無尿の患者は認められなかったが、対象患者の尿量、すなわち残腎機能を正確には評価できていない。37 例それぞれの患者における残腎機能は、わずかに異なっていたことが想定されるが、研究期間がわずか 1 週間であったため、その間に対象患者の残腎機能が大きく変動することはないと考えられ、血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度変動への影響はほとんど皆無であると思われる。加えて、第 2 章でも述べたように、インドキシル硫酸変動率と体液貯留の関係は否定的であると考えられる。したがって、残腎機能の変動や体液貯留の変動は本研究におけるインドキシル硫酸変動率の個人差には関与しないものと思われる。また、血液透析実施直後の血清中インドキシル硫酸濃度を測定していないことから、実際に血液透析によってどの程度のインドキシル硫酸が除去されたか評価できていない。加えて、血液透析導入後の血清中アルブミン濃度を測定していないことから、血液透析導入後のインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率と血清中アルブミン濃度との関係性は検討できていない。しかしながら、これらのリミテーションを考慮しても、血液透析導入 1 週間での血清中インドキシル硫酸濃度変動への血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率の関係は、インドキシル硫酸の蓄積を予測するための臨床的なツールの一つであると考えられる。

第5節 小活

本章では、ESKD 患者の血液透析導入前後における血清中インドキシル硫酸濃度変動への関連因子について検討し、次の知見を得た。

1. ESKD 患者の血清中アルブミン濃度がインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率を規定し、血液透析導入前後のインドキシル硫酸変動率を予測する因子となる可能性が示唆された。

総括

本論文では、ESKD 患者におけるインドキシル硫酸蓄積を軽減するための臨床的アプローチとして、ESKD 患者の血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度を測定し、さらに血液学的検査や併用薬剤などの患者背景因子との関連性について検討した。その結果、ESKD 患者における血液透析導入時の血清中総インドキシル硫酸濃度の変動に影響する因子について、以下に示す知見を得る事ができた。

第1章 血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度に影響する因子の抽出

血液透析導入前後の血清中インドキシル硫酸濃度には、大きな個人差が認められた。血液透析導入前後の血清中総インドキシル硫酸濃度の変動は、導入後にインドキシル硫酸濃度が上昇した患者、並びに低下した患者が混在し、こちらも個人差が非常に大きかった。

解析の結果、年齢、血清中アルブミン濃度、インドキシル硫酸の血清中タンパク結合率、および血液透析導入直前までのクレメジン[®]服用がインドキシル硫酸変動率との正の相関関係を有する因子として抽出された。

第2章 血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度の変動に及ぼすクレメジン[®]服用中止の影響

血液透析導入時のクレメジン[®]の服用中止が、血清中インドキシル硫酸濃度を上昇させる可能性が示された。

第3章 血液透析導入による血清中インドキシル硫酸濃度変動と血清中アルブミン濃度との関係

血液透析導入時の血清中アルブミン濃度がESKD 患者におけるインドキシル硫酸の血清中タンパク結合率を規定し、血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度の変動率を予測する因子となる可能性が示された。

本邦において、クレメジン[®]は透析未導入のCKD 患者に対してのみ適用されている。しかしながら、クレメジン[®]の服用が血清中インドキシル硫酸濃度を低下させる薬剤であることは血液透析患者においても同様である。インドキシル硫酸がタンパク結合性の高い尿毒症物質であり血液透析による除去が困難であること、そして血清中インドキシル硫酸濃度を低下させることが血液透析患者における心血管系疾患の予後不良改善のために非常に重要であることを考慮すると、血液透析導入後もクレメジン[®]服用を継続することによる臨床的有用性は大きいと思われる。さらに、極度の低アルブミン血症患

者においては、インドキシル硫酸が血液透析により部分的に除去される可能性が示されたため、血液透析によりインドキシル硫酸を除去できない血清中アルブミン濃度が比較的高い血液透析患者においては、クレメジン[®]の服用がより有効であると考えられた。

血液透析患者は併用薬剤が大変多いだけでなく、高齢者が多いことから服薬アドヒアランスも低く⁵¹⁾、加えて、リン吸着薬やカリウム吸着薬などの併用薬、食物繊維の接種制限など便秘を誘発する要因が潜在的に多いことやクレメジン[®]の服用時に必要となる水分摂取の制限があることなど、クレメジン[®]を継続服用する上で解決すべき問題点は決して少なくない。もちろん、クレメジンの服薬アドヒアランス改善には薬剤師による服薬指導が不可欠であるが、さらにクレメジン[®]のアドヒアランスを改善する製剤的なアプローチも、クレメジン[®]の服用が有用と考えられる血清中インドキシル硫酸濃度が高い患者を見極めることと並行して必要となってくるだろう。

以上、著者はESKD患者においてインドキシル硫酸蓄積を軽減するツールを探索することを目的とし、血液透析導入時の血清中インドキシル硫酸濃度変動に影響する因子を探索するために調査を行い、新たな知見を得た。本研究結果は、血液透析患者におけるインドキシル硫酸蓄積軽減のための新たな薬学的治療戦略のために有益な知見になると思われる。

謝辞

終わりに臨み、本論文提出の機会を与えて戴くとともに、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました京都薬科大学臨床薬分野 西口工司教授に衷心より御礼申し上げます。また、本研究に際して直接の御指導、御鞭撻を賜りました京都薬科大学臨床薬学分野 辻本雅之講師に衷心より御礼申し上げます。そして、本研究に際して多くの御協力、御助言を賜りました京都薬科大学臨床薬学分野 峯垣哲也助教に衷心より御礼申し上げます。併せて、血清中インドキシル硫酸濃度の測定において、多くの御協力を賜りました藤岡春乃学士、入江裕子学士、川上祥代学士、中谷沙紀学士、磯亜耶子氏、杉山絢香氏に深く御礼申し上げます。

また、本研究の実施において、多くの有益な御助言と御協力賜りました仁真会 山川智之理事長、仁真会白鷺病院医療技術部 和泉智部長、仁真会白鷺病院薬剤科 古久保拓薬剤科長に衷心より御礼申し上げます。そして、多くの御協力を賜りました仁真会白鷺病院薬剤科 三宅瑞穂先生、隅野和美先生、田中梨恵先生、小田智子先生に深く御礼申し上げます。

加えて、本研究の遂行に際し、数々の御助言を賜りました京都薬科大学臨床薬学分野 勝部友理恵修士、小出博義修士並びに京都薬科大学臨床薬学分野の諸氏に心から感謝申し上げます。

さらに、本論文の作成に際して多大な御助言を賜りました京都薬科大学臨床薬理学分野 中田徹男教授、薬物動態学分野 栄田敏之教授に衷心より御礼申し上げます。

最後に、ここに至るまで私を心身ともに支え、見守ってくれた妻 早苗と息子 陽登、そして両親に心から感謝の意を表します。

引用文献

1. 日本腎臓学会編. CKD 診療ガイド 2012. 東京医学社, 2012.
2. 今井圓裕, CKD の早期発見・予防・治療標準化・進展阻止に関する調査研究 平成 23 年度総括・分担研究報告書: 厚生労働科学研究費補助金腎疾患対策研究事業, 2012.
3. A. S. Dontas, Spyros Marketos, P. C. Papanayiotou. Mechanisms of renal tubular defects in old age. *Postgrad. Med. J.*, **1972**, 48, 295-303.
4. M. S. F. McLachlan, Janet C. Guthrie, C. K. Anderson, M. J. Fulker. Vascular and glomerular changes in the ageing kidney. *J. Pathol.*, **1977**, 121, 65-78.
5. Paul E. De Jong, Barry M. Brenner. From secondary to primary prevention of progressive renal disease: the case for screening for albuminuria. *Kidney Int.*, **2004**, 66, 2109-2118.
6. Kunitoshi Iseki, Saori Oshiro, Masahiko Tozawa, Yoshiharu Ikemiya, Koshiro Fukiyama, Shuihi Takishita. Prevalence and correlates of diabetes mellitus in a screened cohort in Okinawa, Japan. *Hypertens. Res.*, **2002**, 25, 185-190.
7. Piero Ruggenenti, Arrigo Schieppati, Giuseppe Remuzzi. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet*, **2001**, 357, 1601-1608.
8. Paul Muntner, Josef Coresh, J. Clinton Smith, John Eckfeldt, Michael J. Klag. Plasma lipids and risk of developing renal dysfunction: the atherosclerosis risk in communities study. *Kidney Int.*, **2000**, 58, 293-301.
9. 日本透析医学会, 2015 年末の慢性透析患者に関する基礎集計, 図説 わが国の慢性透析療法の現況 2016.
10. Raymond Vanholder, Rita De Smet, Griet Glorieux, Angel Argilés, Ulrich Baurmeister, Philippe Brunet, William Clark, Gerald Cohen, Peter Paul De Deyn, Reinhold Deppisch, Beatrice Descamps-Latscha, Thomas Henle, Achim Jörres, Horst Dieter Lemke, Ziad A. Massy, Jutta Passlick-Deetjen, Mariano Rodriguez, Bernd Stegmayr, Peter Stenvinkel, Ciro Tetta, Christoph Wanner, Walter Zidek W, European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int.*, **2003**, 63, 1934-1943.
11. Flore Duranton, Gerald Cohen, Rita De Smet, Mariano Rodriguez, Joachim Jankowski, Raymond Vanholder, Angel Argiles, European Uremic Toxin Work Group. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **2012**, 23, 1258-1270.
12. Gerrit Lesaffer, Rita De Smet, Norbert Lameire, Annemieke Dhondt, Phillippe Duym, Raymond Vanholder.

- Intradialytic removal of protein-bound uraemic toxins: role of solute characteristics and of dialyser membrane. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **2000**, 215, 50-57.
13. Liesbeth Viaene, Pieter Annaert, Henriette de Loor, Ruben Poesen, Pieter Evenepoel. Albumin is the main plasma binding protein for indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate. *Biopharm. Drug Dispos.*, **2013**, 34, 165-175.
 14. Toshimitsu Niwa. Uremic toxicity of indoxyl sulfate. *Nagoya J. Med. Sci.*, **2010**, 72, 1-11.
 15. Tsuneo Deguchi, Hiroyuki Kusuhara, Akira Takadate, Hitoshi Endou, Masaki Otagiri, Yuichi Sugiyama. Characterization of uremic toxin transport by organic anion transporters in the kidney. *Kidney Int.*, **2004**, 65, 162-174.
 16. Masaru Motojima, Atsuko Hosokawa, Hideyuki Yamato, Takamura Muraki, Toshimasa Yoshioka. Uraemic toxins induce proximal tubular injury via organic anion transporter 1-mediated uptake. *Br. J. Pharmacol.* **2002**, 135, 555-563.
 17. Judith Naud, Josee Michaud, Stephanie Beauchemin, Marie-Josée Hébert, Michel Roger, Stéphane Lefrançois, François A. Leblond, Vincent Pichette. Effects of chronic renal failure on kidney drug transporters and cytochrome P450 in rats. *Drug Metab. Dispos.*, **2011**, 39, 1363-1369.
 18. Fellype C. Barreto, Daniela V. Barreto, Sophie Liabeuf, Natalie Meert, Griet Glorieux, Mohammed Temmar, Gabriel Choukroun, Raymond Vanholder, Ziad A. Massy, European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **2009**, 4, 1551-1558.
 19. I-Wen Wu, Kuang-Hung Hsu, Chin-Chan Lee, Chiao-Yin Sun, Heng-Jung Hsu, Chi-Jen Tsai, Chin-Yuan Tzen, Yen-Chih Wang, Ching-Yuang Lin, Mai-Szu Wu. p-Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **2011**, 26, 938-947.
 20. Takashi Miyazaki, Momoko Ise, Hisao Seo, Toshimitsu Niwa. Indoxyl sulfate increases the gene expressions of TGF-beta 1, TIMP-1 and pro-alpha 1(I) collagen in uremic rat kidneys. *Kidney Int. Suppl.*, **1997**, 62, S15-22.
 21. Takahisa Kawakami, Reiko Inagi, Takehiko Wada, Tetsuhiro Tanaka, Toshiro Fujita, Masaomi Nangaku. Indoxyl sulfate inhibits proliferation of human proximal tubular cells via endoplasmic reticulum stress. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **2010**, 299, F568-576.
 22. Dilinaer Bolati, Hidehisa Shimizu, Maimaiti Yisireyili, Fuyuhiko Nishijima, Toshimitsu Niwa. Indoxyl sulfate, a uremic toxin, downregulates renal expression of Nrf2 through activation of NF-κB. *BMC. Nephrol.* **2013**, doi: 10.1186/1471-2369-14-56.

23. Xue-Sen Cao, Jun Chen, Jian-Zhou Zou, Yi-Hong Zhong, Jie Teng, Jun Ji, Zhang-Wei Chen, Zhong-Hua Liu, Bo Shen, Yu-Xin Nie, Wen-Lv Lv, Fang-Fang Xiang, Xiao Tan, Xiao-Qiang Ding. Association of indoxyl sulfate with heart failure among patients on hemodialysis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **2015**, 10, 111-119.
24. Jung-Hwa Ryu, Mina Yu, Sihna Lee, Dong-Ryeol Ryu, Seung-Jung Kim, Duk-Hee Kang, Kyu Bok Choi. AST-120 Improves Microvascular Endothelial Dysfunction in End-Stage Renal Disease Patients Receiving Hemodialysis. *Yonsei Med. J.*, **2016**, 57, 942-949.
25. Chih-Cheng Wu, Mu-Yang Hsieh, Szu-Chun Hung, Ko-Lin Kuo, Tung-Hu Tsai, Chao-Lun Lai, Jaw-Wen Chen, Shing-Jong Lin, Po-Hsun Huang, Der-Cherng Tarn. Serum indoxyl sulfate associates with postangioplasty thrombosis of dialysis grafts. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **2016**, 27, 1254-1264.
26. Laetitia Dou, Emilie Bertrand, Claire Cerini, Valerie Faure, Jose Sampol, Raymond Vanholder, Yvon Berland, Philippe Brunet. The uremic solutes p-cresol and indoxyl sulfate inhibit endothelial proliferation and wound repair. *Kidney Int.*, **2004**, 65, 442-451.
27. Hiroshi Watanabe, Tsuyoshi Noguchi, Yohei Miyamoto, Daisuke Kadowaki, Shunsuke Kotani, Makoto Nakajima, Shigeyuki Miyamura, Yu Ishima, Masaki Otagiri and Toru Maruyama. Interaction between two sulfate-conjugated uremic toxins, p-cresyl sulfate and indoxyl sulfate, during binding with human serum albumin. *Drug Metab. Dispos.*, **2012**, 40, 1423-1428.
28. Jamie Ghumana. Patricia A. Zunszaina. Isabelle Petitpasa. Ananyo A. Bhattacharyaa. Masaki Otagiri. Stephen Curry. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin. *J. Mol. Biol.*, **2005**, 353, 38-52.
29. Domenic A. Sica, Charles E. Halstenson, Todd W. B. Gehr, William F. Keane. Pharmacokinetics and blood pressure response of losartan in end-stage renal disease. *Clin. Pharmacokinet.*, **2000**, 38, 519-526.
30. Masayuki Tsujimoto, Keishi Higuchi, Daisuke Shima, Hitoshi Yokota, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Masaki Otagiri, Sumio Hirata, Kohji Takara, Kohshi Nishiguchi. Inhibitory effects of uraemic toxins 3-indoxyl sulfate and p-cresol on losartan metabolism in vitro. *J. Pharm. Pharmacol.*, **2010**, 62, 133-138.
31. Hong Liu, Rangaraj Narayanan, Matthew Hoffmann, Sekhar Surapaneni. The uremic toxin indoxyl-3-sulfate induces CYP1A2 in primary human hepatocytes. *Drug Metab. Lett.*, **2016**, 10, 195-199.
32. Stephanie Schech, David Graham, Judy Staffa, Susan E. Andrade, Lois La Grenade, Margaret Burgess, David Blough, Andy Stergachis, K. Arnold Chan, Richard Platt, Deborah Shatin. Risk factors for statin-associated rhabdomyolysis. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.*, **2007**, 16, 352-358.

33. Hitoshi Uchiyama, Masayuki Tsujimoto, Tadakazu Shinmoto, Hitomi Ogino, Tomoko Oda, Takuya Yoshida, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Hidehisa Tachiki, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi. Uremic toxins enhance statin-induced cytotoxicity in differentiated human rhabdomyosarcoma cells. *Toxins (Basel)*, **2014**, 6, 2612-2625.
34. Olivier Deltombe, Wim Van Biesen, Griet Glorieux, Ziad Massy, Annemieke Dhondt, Sunny Eloot. Exploring protein binding of uremic toxins in patients with different stages of chronic kidney disease and during hemodialysis. *Toxins (Basel)*, **2015**, 7, 3933-3946.
35. 市村祐一, 高松宏行, 出内秀樹, 小田雅子, 武田清孝, 齊藤浩司. 血液透析患者におけるアニオン性尿毒症物質の血漿中濃度とプラバスタチンのタンパク結合に対する影響. *薬学雑誌* **2015**, 135, 821-828.
36. Donald W. Cockcroft, M. Henry Gault. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*, **1976**, 16, 31-41.
37. Liesbeth Viaene, Björn K.I. Meijers, Bert Bammens, Yves Vanrenterghem, Pieter Evenepoel. Serum concentrations of p-cresyl sulfate and indoxyl sulfate, but not inflammatory markers, increase in incident peritoneal dialysis patients in parallel with loss of residual renal function. *Perit. Dial. Int.*, **2014**, 34, 71-78.
38. Toshimitsu Niwa, Yutaka Emoto, Kenji Maeda, Yasuo Uehara, Naoya Yamada, Masao Shibata. Oral sorbent suppresses accumulation of albumin-bound indoxyl sulphate in serum of haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **1991**, 6, 105-109.
39. クレメジン[®]添付文書 (第10版), 株式会社クレハ, 2015.
40. Gerald Schulman, Rajiv Agarwal, Muralidhar Acharya, Tomas Berl, Samuel Blumenthal, Nelson Kopyt. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of AST-120 (Kremezin) in patients with moderate to severe CKD. *Am. J. Kidney Dis.*, **2006**, 47, 565-577.
41. Gerald Schulman, Tomas Berl, Gerald J. Beck, Giuseppe Remuzzi, Eberhard Ritz, Miho Shimizu, Yuko Shobu, Mami Kikuchi. The effects of AST-120 on chronic kidney disease progression in the United States of America: a *post hoc* subgroup analysis of randomized controlled trials. *BMC. Nephrol.*, **2016**, doi: 10.1186/s12882-016-0357-9.
42. Yoshiharu Itoh, Atsuko Ezawa, Kaori Kikuchi, Yoshinari Tsuruta, Toshimitsu Niwa. Protein-bound uremic toxins in hemodialysis patients measured by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and their effects on endothelial ROS production. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2012**, 403, 1841-1850.
43. Ran-hui Cha, Shin Wook Kang, Cheol Whee Park, Dae Ryong Cha, Ki Young Na, Sung Gyun Kim, Sun Ae

- Yoon, Sang Youb Han, Jae Hyun Chang, Sue K. Park, Chun Soo Lim, Yon Su Kim. A randomized, controlled trial of oral intestinal sorbent AST-120 on renal function deterioration in patients with advanced renal dysfunction. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **2016**, 11, 559-67.
44. Suguru Yamamoto, Junichiro J. Kazama, Kentaro Omori, Koji Matsuo, Yoshimitsu Takahashi, Kazuko Kawamura, Takayuki Matsuto, Hiroshi Watanabe, Toru Maruyama, Ichiei Narita. Continuous reduction of protein-bound uraemic toxins with improved oxidative stress by using the oral charcoal adsorbent AST-120 in haemodialysis patients. *Sci. Rep.*, **2015**, doi: 10.1038/srep14381.
45. Thomas J. Velenosi, Anzel Hennop, David A. Feere, Alvin Tieu, Andrew S. Kucey, Polydoros Kyriacou, Laura E. McCuaig, Stephanie E. Nevison, Michael A. Kerr, Bradley L. Urquhart. Untargeted plasma and tissue metabolomics in rats with chronic kidney disease given AST-120. *Sci. Rep.*, **2016**, doi: 10.1038/srep22526.
46. Ran-hui Cha, Shin Wook Kang, Cheol Whee Park, Dae Ryong Cha, Ki Young Na, Sung Gyun Kim, Sun Ae Yoon, Sejoong Kim, Sang Youb Han, Jung Hwan Park, Jae Hyun Chang, Chun Soo Lim, Yon Su Kim. Sustained uremic toxin control improves renal and cardiovascular outcomes in patients with advanced renal dysfunction: post-hoc analysis of the Kremezin Study against renal disease progression in Korea. *Kidney Res. Clin. Pract.*, **2017**, 36, 68-78.
47. T. Alp Ikizler, Jane H. Greene, Rebecca L. Wingard, Robert A. Parker, Raymond M. Hakim. Spontaneous dietary protein intake during progression of chronic renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **1995**, 6, 1386-1391.
48. Yi-Wen Chiu, Joel D. Kopple, Ranjnish Mehrotra. Correction of metabolic acidosis to ameliorate wasting in chronic kidney disease: goals and strategies. *Semin. Nephrol.*, **2009**, 29, 67-74.
49. Tsuyoshi Sakai, Toru Maruyama, Hiroko Imamura, Hajime Shimada, Masaki Otagiri. Mechanism of stereoselective serum binding of ketoprofen after hemodialysis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1996**, 278, 786-792.
50. Tsuyoshi Sakai, Akira Takadate, Masaki Otagiri. Characterization of binding site of uremic toxins on human serum albumin. *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, 18, 1755-1761.
51. Saurav Ghimire, Ronald L. Castelino, Nicole M. Lioufas, Gregory M. Peterson, and Syed Tabish R. Zaidi. Nonadherence to medication therapy in haemodialysis patients: a systematic review. *PLoS One.* **2015**, doi: 10.1371/journal.pone.0144119.