

---

# Cystatin-C を用いた透析器の除去性能評価の試み

## — $\beta_2$ -microglobulin との比較—

清水 康    田中和弘    岡本磨美    小松祐子  
森上辰哉    田中和馬    阪口剛至    大槻英展  
吉本秀之    申 曾洙

---

腎と透析65巻別冊 ハイパフォーマンスメンブレン'08 別刷

(2008年10月)

---

東京医学社

〒113-0033 東京都文京区本郷 3-35-4  
電話 03(3811)4119(代表)

---

## Cystatin-C を用いた透析器の除去性能評価の試み — $\beta_2$ -microglobulin との比較—

清水 康<sup>\*1</sup> 田中和弘 岡本磨美 小松祐子  
森上辰哉<sup>\*2</sup> 田中和馬 阪口剛至 大槻英展  
吉本秀之 申 曾洙<sup>\*3</sup>

### 目 的

Cystatin-C (Cys-C) は122個のアミノ酸からなる糖鎖のつかない分子量13 kD, 等電点9.2の塩基性低分子蛋白で, cysteine proteinase inhibitor の一つである<sup>1)</sup>。

Cys-C は, あらゆる有核細胞に発現している housekeeping gene にコードされているため生体内では一定の割合で産生され, 炎症などにも影響を受けず<sup>2,3)</sup>, さらに細胞外に分泌された Cys-C は他の蛋白などと複合体を形成することもない。

また, 他の低分子蛋白質と同じく, 糸球体で濾過された後, ほとんどが近位尿細管で再吸収されアミノ酸に代謝される。そして再び血中に戻ることはなく, さらに尿細管よりの分泌もない。そのため, 腎機能評価マーカーとして用いられている糸球体濾過量 (GFR) を推定するための24時間内因性クレアチンクリアランスや, 血清濃度だけで GFR を推定するマーカーとしての血清クレアチニン濃度よりも, 血中 Cys-C が有用であるとの報告も多い<sup>3,4)</sup>。

今回われわれは, 腎機能の評価ではなく, すでに腎機能の廃絶した慢性維持血液透析患者を対象に Cys-C を測定し, 透析前後の血中濃度および

透析排液中濃度より透析器の除去性能評価を試み, 分子量が11 kD と近似している透析アミロイドーシスに關与する  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ MG) と比較したので報告する。

### 対象および方法

対象は当院外来透析患者92名(男52名, 女40名), 年齢31~85歳, 平均年齢 $60.6 \pm 10.7$ 歳(男 $60.6 \pm 9.2$ 歳, 女 $60.7 \pm 12.4$ 歳), 透析歴0.3~38.9年, 平均透析歴 $17.1 \pm 12.0$ 年(男 $15.4 \pm 12.0$ 年, 女 $19.2 \pm 11.7$ 年), 年齢および透析歴に男女差は認めない。

対象者全員に対し透析前後で Cys-C,  $\beta_2$ MG, ヘマトクリット値 (Ht) を測定し, Cys-C と  $\beta_2$ MG の濃度分布と相関関係を調べた。また, 透析前後の値から Ht 補正による Cys-C と  $\beta_2$ MG の除去率を求め比較した。使用透析膜は AN69 膜, PS 膜, PES 膜, CTA 膜であった。

次に, AN69 膜透析器 H12-4000 (AN69) 7名, PS 膜透析器 APS-E (PS) 6名, PES 膜透析器 PES- $\alpha$  (PES) 6名, CTA 膜透析器 FB-U $\beta$  (CTA) 6名において, 血液透析使用時の透析前後血液, 透析排液を採取し Cys-C,  $\beta_2$ MG の除去率とクリアスペースを求め比較した。

Cys-C は, 金コロイド比色法であるネスコート GC シスタチン C (アルフレッサファーマ株式会社) を用い, 日立 7150 型生化学自動分析装置 (日立 7150) にて測定した。

\*1 五仁会元町 HD クリニック臨床検査部  
〔〒650-0012 神戸市中央区北長狭通3-6-3〕

\*2 同 臨床工学部

\*3 同 内科

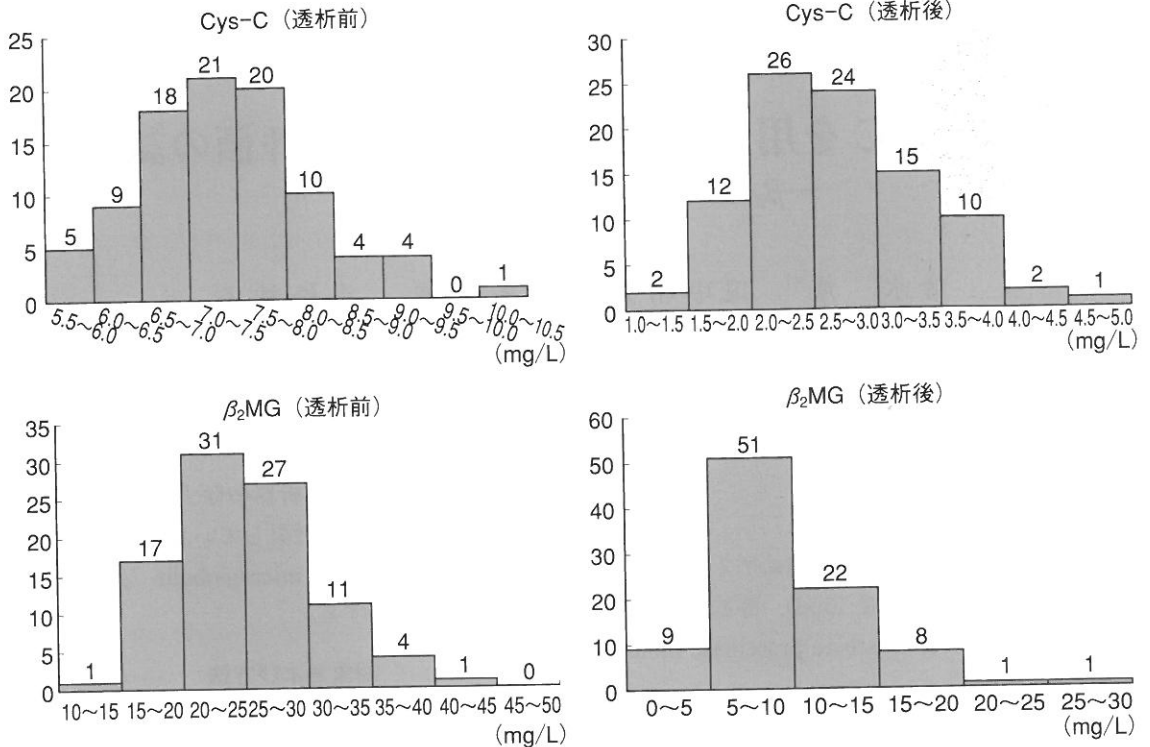


図1 Cys-Cとβ<sub>2</sub>MGの透析前後値

β<sub>2</sub>MGは、ラテックス凝集法のBMG-ラテックスX1「生研」(デンカ生研株式会社)を用い、日立7150にて測定した。

Htは、シスメックス社製血球分析装置XT-2000iを用いて測定した。

### 結果

Cys-Cは透析前で5.64~10.40 mg/Lの範囲に分布し、平均で7.38±0.90 mg/L (mean±SD)であった。透析後は1.46~4.53 mg/Lの範囲に分布し、平均で2.70±0.68 mg/Lであった。β<sub>2</sub>MGは透析前で15.0~41.4 mg/Lの範囲に分布し、平均で24.8±5.4 mg/Lであった。透析後は3.1~27.9 mg/Lの範囲に分布し、平均で9.3±4.2 mg/Lであった(図1)。

Cys-Cの正常値は0.56~0.95 mg/Lであり、透析前値は著しく高値を呈し、血液透析により低下していたが、依然正常値には復していない。こ

れはβ<sub>2</sub>MGも同様である。

Cys-Cとβ<sub>2</sub>MGの透析前後の変化を図に示す(図2)。Cys-Cの方が透析後の値は収束していた。

Cys-Cとβ<sub>2</sub>MGの相関関係は、透析前ではr=0.40 (p<0.001)、透析後ではr=0.69 (p<0.001)と透析前後とも正の相関を認め、透析後においてより強い相関を示した(図3)。

Cys-Cとβ<sub>2</sub>MGの除去率は、r=0.79 (p<0.001)と強い正の相関関係を認めた。平均除去率はCys-Cが68.1±9.0% (mean±SD)、β<sub>2</sub>MGが67.4±13.5%と、両者間に有意差を認めなかった。しかしこの相関の分布図上、乖離しているグループが存在しており(図4)、そのグループを調べたところ、AN69を用いた集団であり、その除去率は明らかにβ<sub>2</sub>MGに比べCys-Cが高かった。そこで、このAN69を除外して相関をみるとr=0.92 (p<0.001)、回帰式はy=0.901x+4.93と、

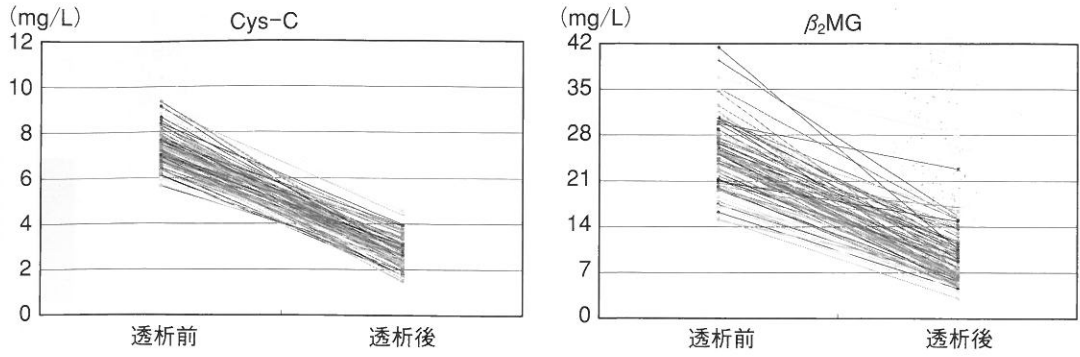


図 2 Cys-C と  $\beta_2$ MG の透析前後値の変化

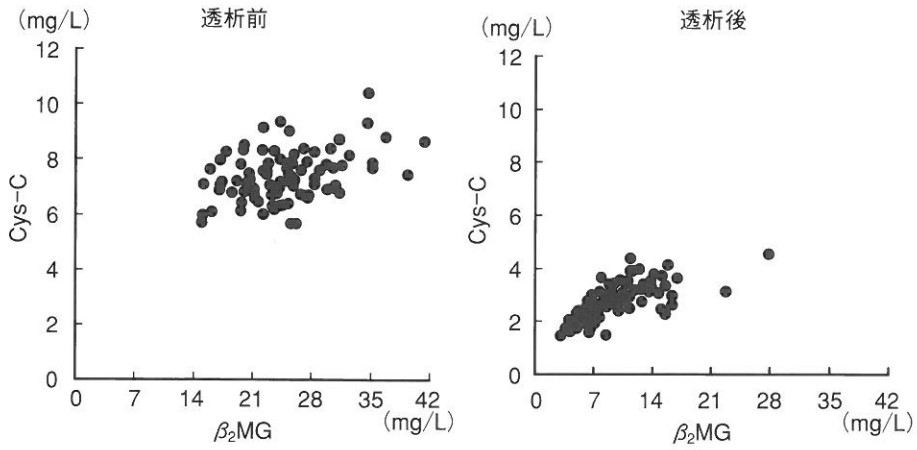


図 3 Cys-C と  $\beta_2$ MG の相関関係

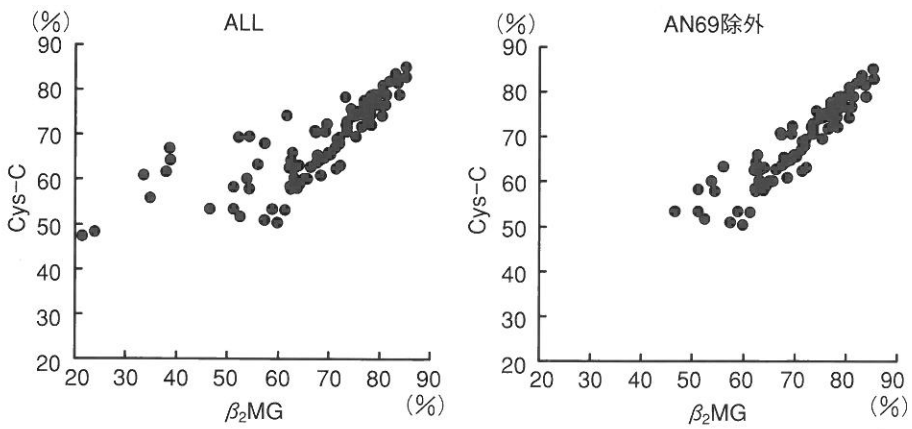


図 4 Cys-C と  $\beta_2$ MG の除去率の相関関係

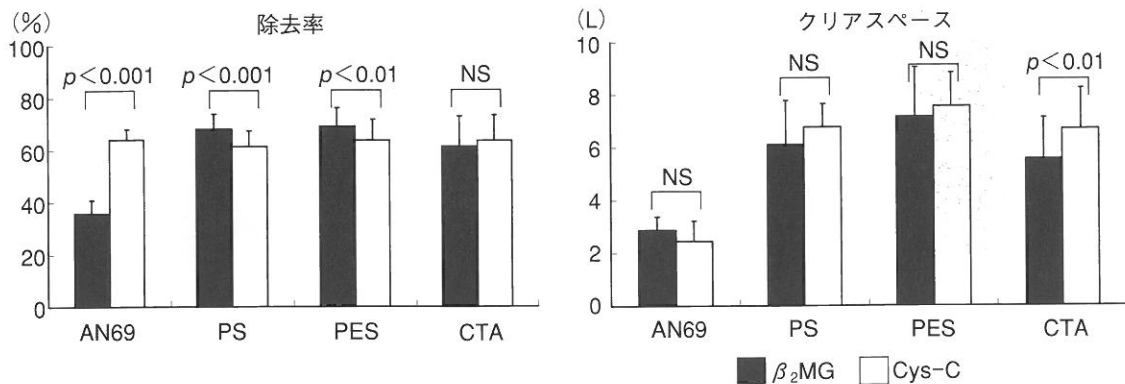


図 5 各種透析膜における血液透析時の除去率とクリアスペース

さらに良好な相関関係となった (図 4)。

このことより、各種透析膜を血液透析で使用したときの Cys-C と  $\beta_2$ MG の除去率、クリアスペースを求め比較したところ (図 5)、除去率においては AN69 では  $\beta_2$ MG が  $35.8 \pm 5.1\%$  に対し、Cys-C は  $64.0 \pm 3.9\%$  と有意に Cys-C の方が高く、PS では  $\beta_2$ MG が  $68.0 \pm 5.8\%$  に対し、Cys-C は  $61.4 \pm 5.9\%$ 、PES では  $\beta_2$ MG が  $68.8 \pm 7.1\%$  に対し Cys-C は  $63.5 \pm 8.0\%$  と  $\beta_2$ MG の方が高く、CTA では  $\beta_2$ MG が  $61.2 \pm 11.4\%$  に対し、Cys-C は  $63.4 \pm 9.8\%$  と両者に有意差はなかった。

一方、クリアスペースにおいて AN69 では  $\beta_2$ MG が  $2.88 \pm 0.51$  L に対し、Cys-C は  $2.46 \pm 0.76$  L、PS では  $\beta_2$ MG が  $6.10 \pm 1.69$  L に対し、Cys-C は  $6.77 \pm 0.87$  L、PES では  $\beta_2$ MG が  $7.14 \pm 1.87$  L に対し、Cys-C は  $7.54 \pm 1.28$  L と両者に有意差はなく、CTA では  $\beta_2$ MG が  $5.53 \pm 1.57$  L に対し、Cys-C は  $6.69 \pm 1.52$  L と Cys-C が有意に高かった。

## 考 察

Cys-C はシスタチン・スーパーファミリーの第 2 ファミリーに属し、主に細胞外および細胞間液においてシステインプロテアーゼの制御の最終的な調整段階に関与しており、研究が進められている。一方、疾患との関連では、腫瘍の浸潤や転移、炎症疾患、神経疾患との関連や<sup>5)</sup>、その他一部の

脳血管へ沈着するアミロイドの主成分の一つとしても知られているが<sup>6)</sup>、現在では腎機能の評価としての意義が大きく、保険収載されている。しかし、Cys-C を腎機能の評価以外で測定することは、臨床の場ではほとんどない。

血液透析患者の血中 Cys-C 濃度は、 $\beta_2$ MG 同様高値であり、透析により低下したが、正常値範囲までは下がらず、依然異常値を呈していた。しかし、高値であることや蓄積による長期透析患者の生体への影響などは不明な部分が多く、今後の研究が待たれる。

Cys-C を透析器の除去性能評価として試みたところ、AN69 は  $\beta_2$ MG の除去率は低いが Cys-C については他の膜と同等の除去量を呈しており、一方クリアスペースは、 $\beta_2$ MG、Cys-C とともに少なかった。すなわち AN69 は Cys-C を除去しているが、排液中にはあまり出しておらず、Cys-C を吸着除去していると考えられ、他の膜とは明らかに異なった特性を示していた。これは AN69 の特徴である膜の強い陰性荷電により、塩基性蛋白 Cys-C の吸着除去が起こったと考えられた。

透析膜の除去性能評価を行ううえでは、膜の分子量分画特性を含め拡散・濾過による除去特性を用いることも多いが、除去には吸着特性も関係がある。今回、前述の除去特性を評価するうえで、Cys-C は AN69 に吸着除去されており、性能評価を困難にするが、PS・PES・CTA については評価

可能と思われた。また、総合的に除去性能評価を行うためには後述した吸着除去特性も非常に重要であり、その吸着機序によって除去される物質も異なると考えられる。Cys-Cは塩基性蛋白であるがゆえ、膜の陰性荷電が強ければ吸着され、塩基性蛋白の吸着除去のよい指標となると思われる。

Cys-Cは塩基性蛋白の代表的吸着除去メーカーとして、有用であると考えられるとともに、未知の中大分子量塩基性蛋白の吸着除去指標となる可能性もある。そして、塩基性蛋白除去がよい臨床効果と結びつくかもしれない。実際当院でもPSよりAN69に変更して舌炎、発疹・痒痒、喘息等が改善した症例もあり<sup>7)</sup>、今後AN69など塩基性蛋白を吸着除去する膜を使用したときの臨床効果の違いが明確になるかもしれない。

そのためには、透析合併症に関係するであろう塩基性蛋白の存在の証明、臨床的意義を検索検討していく必要があると考える。

### ま と め

血液透析患者の血中Cys-C濃度は、 $\beta_2$ MG同様高値を呈し、透析により低下していた。

Cys-C濃度は、透析前後とも $\beta_2$ MG濃度と正相関していた。

Cys-Cを用いて膜の除去性能評価を行うと、AN69はCys-Cを吸着除去しているため、 $\beta_2$ MGの除去率とは乖離していた。

AN69を除外したPS、PES、CTAでの除去率は、 $\beta_2$ MGと強い正の相関を示した。

Cys-Cは、塩基性蛋白であるため、強い陰性荷電をもつ透析膜では吸着除去される可能性がある。

陰性荷電膜は、Cys-C以外の中大分子量塩基性蛋白も吸着除去している可能性があり、このことがよい臨床効果と関係しているかもしれない。Cys-Cを含め塩基性蛋白除去による臨床評価も必要と考える。

### 文 献

- 1) Simonsen O, Grubb A, Thysell H : The blood serum concentration of cystatin C as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Invest* 45 : 97-101, 1985
- 2) Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, et al : Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1 : 287-294, 1990
- 3) Villa P, Jiménez M, Soriano MC, et al : Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care* 9(2) : 139-143, 2005
- 4) Coll E, Botey A, Alvarez L, et al : Serum Cystatin C as a New Marker for Noninvasive Estimation of Glomerular Filtration Rate and as a Marker for Early Renal Impairment. *Am J Kidney Dis* 36 : 29-34, 2000
- 5) Reed CJ : Diagnostic applications of cystatin C. *Br J Biomed Sci* 57 : 323-329, 2000
- 6) Olafsson I, Grubb A : Hereditary cystatin C amyloid angiopathy. *Amyloid* 7 : 70-79, 2000
- 7) 申 曾洙, 西岡正登, 新光聡子, 他 : PS膜透析器との関連が危惧される病態について. 腎と透析 63 別冊ハイパフォーマンスメンブレン '07 : 275-279, 2007