

慢性腎臓病患者における
尿毒症物質インドキシル硫酸の血中濃度の評価と
スタチン系薬との相互作用に関する研究

令和元年度

北海道医療大学大学院薬学研究科

須賀 秀行

SUMMARY

Indoxyl sulfate (IS) is a well-known anionic uremic toxin (UT). The accumulation of IS in the body causes unfavorable effects such as chronic kidney disease (CKD) progression and cardiovascular events. IS is also considered to be involved in cognitive disorders like dementia. In addition, pharmacokinetic interactions of IS with clinically relevant drugs have been demonstrated *in vitro*. The principal objectives of this study were to assess correlations between serum IS levels and laboratory test values (Scr, eGFR, BUN) in the elderly with CKD, to investigate the relationship between serum IS levels and CK values as an index of rhabdomyolysis in the patients receiving statins, and to evaluate possible modulating effect of IS on the hepatic transport of pravastatin *via* organic anion transporting polypeptides (OATPs) and multidrug resistance-associated protein (MRP) 2.

Serum IS levels were determined in the elderly with CKD and in patients receiving pravastatin, rosuvastatin, atorvastatin, or pitavastatin. Laboratory test values were collected from medical records. In animal experiments, pravastatin was administered to rats alone or together with IS or ciclosporine (CyA). The concentrations of IS and pravastatin were determined reproducibly by HPLC.

There were weak but significant correlations between serum IS levels and Scr, eGFR or BUN in 37 elderly people with CKD. When they were divided in dementia and non-dementia groups, a much better correlation was obtained between serum IS levels and eGFR in the non-dementia group. However, no correlation was observed in the dementia group, implying that eGFR is not always a good marker to predict serum IS levels in CKD patients. In order to approach the reason, mean serum IS levels in both groups were compared in the CKD stage G3b and G4. The results indicated that mean serum IS level in the dementia group was greater than that in the non-dementia group, although not significant. When relationship between serum IS levels and CK values in patients receiving statins was evaluated, a significant correlation between them was observed in patients at CKD stage G4, suggesting that the risk of rhabdomyolysis increases in patients with severely impaired kidney function. Intravenously administered IS did not alter both plasma levels of pravastatin and its biliary excretion. On the other hand, intravenously administered CyA decreased biliary excretion of pravastatin significantly, but failed to modulate plasma levels of pravastatin.

In conclusion, eGFR becomes a marker to predict serum IS levels in the elderly without dementia. IS accumulation occur even at early stage of CKD in the elderly with dementia. Therefore, direct monitoring of serum IS levels in the elderly is very important. It is less likely that IS directly interfere with the transport activity of OATPs and MRP2, which locate on the sinusoidal and canalicular membrane of hepatocyte, respectively.

略語集

AUC : Area Under the Curve, 濃度-時間曲線下面積

BBB : blood brain barrier, 血液脳関門

BCRP : breast cancer resistance protein, 乳がん耐性タンパク質

BUN : blood urea nitrogen, 血中尿素窒素

CD : cognitive disorders, 認知障害

CK : creatine kinase, クレアチンキナーゼ

CKD : chronic kidney disease, 慢性腎臓病

Cr : creatinine, クレアチニン

CVD : cardiovascular disease, 心血管疾患

CVE : cardiovascular events, 心血管イベント

CyA : ciclosporin A, シクロスポリン A

CYP : cytochrome P450, シトクロム P450

eGFR : estimated glomerular filtration rate, 推算糸球体ろ過量

ESRD : end stage renal disease, 末期腎不全

HDL : high density lipoprotein, 高比重リポタンパク

HEK293 : human embryonic kidney cells 293, ヒト胚腎由来細胞株

HMG-CoA : 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A, 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリ
ル補酵素 A

IF : interview form, インタビューフォーム

IS : indoxyl sulfate, インドキシル硫酸

MPAG : mycophenolic acid glucuronide, ミコフェノール酸グルクロニド体

MRP : multidrug resistance-associated protein, 多剤耐性関連タンパク質

OAT : organic anion transporter, 有機アニオン輸送担体

OATP : organic anion transporting polypeptide, 有機アニオン輸送ポリペプチド

Scr : serum creatinine, 血清クレアチニン

SN-38 : 7-Ethyl-10-hydroxy-camptothecin, 7-エチル-10-ヒドロキシカンプトテシン

UTs : uremic toxins, 尿毒症物質

V_d : Volume of distribution, 分布容積

目次

序論.....	1
第1部 腎機能低下者における血清中インドキシル硫酸 (IS) 濃度の評価.....	4
第1章 腎機能低下者における血清中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性に 関する検討.....	4
第1節 緒言.....	4
第2節 実験方法.....	6
第1項 使用薬物および試薬.....	6
第2項 被験者からの血液試料の採取.....	6
第3項 血清中 IS 濃度の測定.....	6
第4項 臨床検査値の調査.....	7
第5項 統計処理.....	7
第3節 実験結果.....	8
第1項 被検者の背景.....	8
第2項 血清中 IS 濃度.....	8
第3項 血清中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性.....	8
第4項 CKD ステージ別の血清中 IS 濃度.....	10
第4節 考察.....	12
第2章 認知症を有する腎機能低下者における血清中 IS 濃度の評価.....	14
第1節 緒言.....	14
第2節 調査方法.....	15
第1項 被検者の選択.....	15
第2項 臨床検査値の調査.....	15
第3項 統計処理.....	15
第3節 実験結果.....	16
第1項 認知症の有無による血清中 IS 濃度の比較.....	16
第2項 認知症の有無による血清中 IS 濃度の CKD ステージ間での比較... ..	17
第3項 認知症群および非認知症群における血清中 IS 濃度と eGFR の 相関性.....	18
第4節 考察.....	19

第2部	スタチン系薬服用患者におけるクレアチンキナーゼ (CK) 値と腎機能との関連性の検討	21
第1章	スタチン系薬服用患者における CK 値と腎機能検査値との関連性に関する検討	21
第1節	緒言	21
第2節	調査方法	23
第1項	対象患者の選択	23
第2項	臨床検査値の調査	23
第3項	統計処理	23
第3節	結果	24
第1項	スタチン系薬服用患者における CK 値と腎機能検査値との関連性	24
第2項	水溶性スタチン系薬服用群と脂溶性スタチン系薬服用群における CK 値と腎機能検査値との関連性	25
第3項	各スタチン系薬服用患者における CK 値と腎機能検査値との関連性	27
第4節	考察	31
第2章	スタチン系薬服用患者における CK 値と血清中 IS 濃度の関連性に関する検討	32
第1節	緒言	32
第2節	実験方法	32
第1項	スタチン系薬服用患者からの血液試料の採取	32
第2項	血清中 IS 濃度の定量	33
第3項	臨床検査値の調査	33
第4項	統計処理	33
第3節	結果	34
第1項	スタチン系薬服用患者における腎機能検査値と血清中 IS 濃度の関連性	34
第2項	スタチン系薬服用患者における CK 値と血清中 IS 濃度との関連性	35

第3項	水溶性スタチン系薬服用群と脂溶性スタチン系薬服用群における CK 値と血清中 IS 濃度との相関性の比較.....	35
第4項	各スタチン系薬服用群における CK 値と血清中 IS 濃度との相関性の比較.....	36
第5項	各 CKD ステージにおける CK 値と血清中 IS 濃度の相関性.....	37
第4節	考察.....	39
第3部	ラットにおけるプラバスタチンの肝輸送に対する IS およびシクロスポリンの阻害効果の比較.....	40
第1節	緒言.....	40
第2節	実験方法.....	41
第1項	使用薬物および試薬.....	41
第2項	ラットへのプラバスタチンと IS の静脈内投与.....	41
第3項	血漿中 IS 濃度の測定.....	43
第4項	血漿中並びに胆汁中プラバスタチン濃度の測定.....	43
第5項	AUC および V_d の算出.....	43
第6項	統計処理.....	44
第3節	結果.....	45
第1項	IS 静脈内投与後の血中濃度推移.....	45
第2項	プラバスタチンの血漿中濃度推移に対する IS の影響.....	46
第3項	プラバスタチンの胆汁中排泄に対する IS の影響.....	48
第4項	プラバスタチンの血漿中濃度推移に対する CyA の影響.....	49
第5項	プラバスタチンの胆汁中排泄に対する CyA の影響.....	50
第4節	考察.....	51
結論	54
謝辞	55
引用文献	56

序 論

慢性腎臓病 (chronic kidney disease, CKD) は、腎障害等により腎機能の低下が持続する疾患である。日本腎臓学会による「エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2018」では、①尿異常、画像診断、血液、病理で腎障害の存在が明らか、特に 0.15 g/g Cr 以上の蛋白尿 (30 mg/g Cr 以上のアルブミン尿) の存在が重要。②GFR < 60 mL/分/1.73 m² のいずれか、または両方が 3 カ月以上持続することで診断する、とされている。¹⁾ CKD は脳卒中、心筋梗塞・心不全などの心血管疾患 (cardiovascular disease, CVD) による死亡リスクを上昇させることが国内外の多くの臨床研究により示されている。¹⁻³⁾ 2005 年の疫学調査によれば、日本人における CKD 患者数は約 1,330 万人 (成人約 8 人に 1 人) と推定され、今や国民病の一つと見なされている。¹⁾ 特に高齢者では CKD の有病率が高い。³⁾ また、CKD が進行すると末期腎不全 (end stage renal disease, ESRD) に至り、血液透析や腎移植が必要となる。わが国の慢性透析患者数は 2017 年末で約 33 万人に上り、糖尿病患者の増加と共に近年急増してきた。⁴⁾

CKD 患者では、腎機能の低下により本来であれば糸球体ろ過や尿細管分泌により体外に排泄される代謝産物 (老廃物) が体内に蓄積する。そのうち、生体に様々な悪影響を及ぼす物質が尿毒症物質 (uremic toxins, UTs) と定義され、その数は約 150 種類以上に及ぶ。⁵⁾ UTs は、分子量と透析効率から、一般に水溶性低分子 (尿素など)、中分子 (β_2 -ミクログロブリンなど) およびタンパク結合性低分子 (インドキシル硫酸、3-カルボキシ-4-メチル-5-プロピル-2-フランプロピオン酸など) の 3 種類に分類される。^{6,7)} UTs は、CKD 患者における CVD と CKD 進行の重要なリスク因子と見なされている。⁸⁾ 近年、UTs による心血管毒性や腎毒性の発現メカニズムが徐々に解明されており、CKD 患者ではステージの進行に伴って各種 UTs の体内蓄積が顕著となり、CVD や腎機能がさらに増悪されることも明らかになっている。⁹⁻¹¹⁾

UTs の中で、インドキシル硫酸 (indoxyl sulfate, IS) はこれまで最も多くの研究がなされてきた UTs の一つであり、CKD 患者の腎予後、生命予後に密接に関連することが知られている。Barreto ら¹²⁾ は、血清中 IS 濃度が高値 (>35.7 μM) の CKD 患者では、低値の患者に比べ全死亡率および CVD 関連死亡率が有意に高いことを報告している。また最近、血液透析患者では非血液透析患者と比較して認知機能が

低下しやすいことが報告され、¹³⁾CKD 患者における認知機能障害の進展にも IS が密接に関わるという理解が広がっている。¹⁴⁾

IS は必須アミノ酸の一つである L-トリプトファンに由来する UTs である。L-トリプトファンは食物中のタンパク質が消化管内で酵素分解されて生成する。L-トリプトファンは小腸でアミノ酸トランスポーターを介して吸収されるが、吸収されずに大腸に移行した L-トリプトファンは、一部が腸内細菌により産生されるトリプトファンナーゼにより、以下に示す反応式でインドールに変換され、大腸から吸収される。



その後、肝細胞内で酸化、硫酸抱合を受けて IS が生成される。¹⁵⁾ 肝で生成された IS は主に腎から排泄されるが、血漿タンパク結合率が高い IS では糸球体ろ過の寄与は小さいとされ、大部分は尿細管分泌によって尿中排泄を受ける。ヒトでの尿細管分泌において IS は、腎尿細管上皮細胞の側底膜に存在する有機アニオン輸送担体 (organic anion transporter, OAT) 1 および OAT3 を介して腎近位尿細管上皮細胞内に取り込まれる。^{16,17)} その後上皮細胞内から尿細管腔に排出されるが、¹⁸⁻²⁰⁾ この過程には乳がん耐性タンパク質 (breast cancer resistance protein, BCRP) が関与することがごく最近明らかにされた。²¹⁾

CKD 患者は、高血圧症、糖尿病、脂質異常症など様々な合併症を有することが多く、多種多様な医薬品を数多く服用している。²²⁾ IS の高い血漿タンパク結合率や OAT1, OAT3, BCRP を介した尿細管分泌という体内動態特性は、ポリファーマシーの CKD 患者において薬物動態学的相互作用を引き起こすリスクを常に孕んでいる。また IS は、薬物の腎外クリアランス (肝代謝、胆汁中排泄) にも影響を及ぼす可能性があることが、最近の *in vitro* の研究より示唆されている。^{23,24)} さらに、スタチン系薬の重篤な副作用である横紋筋融解症は、腎機能低下者において発現しやすいとされる。^{25,26)} この機序の詳細は不明であるが、腎機能低下に伴って血液中に増加した IS などの UTs がこの副作用の発現に関わっている可能性は十分考えられる。

CKD 患者に適切な薬物療法を施すためには、薬物の体内動態に対する IS の影響を明らかにすることに加えて、患者血中の IS 濃度を適切に把握することも重要である。これまで、日本人血液透析患者の血中 IS 濃度に関してはいくつかの報告が

なされているが、²⁷⁻³¹⁾CKD ステージと血中 IS 濃度の関係を日本人において評価した研究はほとんど行われていない。

そこで第 1 部では、腎機能検査値を用いて腎機能低下者の血中 IS 濃度を予測することが可能であるかを検討するために、医療法人社団いずみ会の老人保健施設である北星館の入所者から血液の提供を受けて血清中 IS 濃度を HPLC 法にて測定し、腎機能検査値との相関性を評価した。次に、認知機能障害の有無と血清中 IS 濃度との関連性を評価した。さらに第 2 部では、スタチン系薬による副作用と IS の関係について基礎的知見を得ることを目的として、医療法人社団いずみ会北星病院に入院中の患者から血液の提供を受け、横紋筋融解症発症の指標であるクレアチンキナーゼ (creatine kinase, CK) 値と腎機能検査値および血清中 IS 濃度との相関性を検討した。さらに第 3 部では、薬物の肝輸送における IS の影響を明らかにするために、プラバスタチンを IS またはシクロスポリン (ciclosporin A, CyA) とともにラットに単回静脈内投与し、プラバスタチンの血漿中濃度推移並びに胆汁中排泄挙動を比較した。

第1部 腎機能低下者における血清中インドキシル硫酸 (IS) 濃度の評価

第1章 腎機能低下者における血清中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性に関する検討

第1節 緒言

腎は、体内で生じた代謝産物（老廃物）を糸球体ろ過や尿細管分泌により尿中へ排泄し、生体の恒常性を維持する重要な役割を担っている。しかし、腎機能が低下すると、体内に蓄積する UTs によって様々な生体機能の異常が引き起こされる。

代表的 UTs である IS は、腎障害を進行させる。³²⁾ それに加え、細胞内フリーラジカルの産生を促進して細胞毒性を誘導し、骨芽細胞の減少による骨粗鬆症の発症、^{8,33)} 低酸素誘導因子依存性エリスロポエチン産生抑制による腎性貧血の発症³⁴⁾ などに関与することが報告されている。また IS は、薬物や異物などの代謝を担う肝細胞の血管側膜に存在する有機アニオン輸送ポリペプチド (organic anion transporting polypeptide, OATP) 1B1 や OATP1B3 を介した輸送を阻害するとの報告があることから、³⁵⁾ IS が薬物の肝代謝や胆汁中排泄に影響を与える可能性がある。これらの特性に基づいて、IS は CKD 患者における薬物動態学的相互作用の発生に深く関係していることが考えられる。

CKD 患者における IS の生体機能への影響あるいは薬物動態への影響を考えると、最も重要なのは血中 IS 濃度である。しかしながら、血中 IS 濃度の測定には HPLC や液体クロマトグラフィー質量分析法などの高額な測定機器が必要であり、規模の小さい医療機関においてリアルタイムに血中 IS 濃度を知ることは困難な場合が多い。したがって、代替的な指標を用いて血中 IS 濃度を間接的に予測する方法の構築が必要とされてきた。

当研究室では過去に札幌東徳洲会病院との共同研究で血液透析施行外来患者 20 名の血漿中 IS 濃度を測定し、その平均値が血液透析直前で $157.9 \pm 19.9 \mu\text{M}$ (最大値 $358.4 \mu\text{M}$, 最小値 $8.9 \mu\text{M}$)、血液透析直後で $103.8 \pm 13.3 \mu\text{M}$ (最大値 $240.9 \mu\text{M}$, 最小値 $6.8 \mu\text{M}$) であったことを報告した。³⁶⁾ また同時に、健常被験者 5 名の血漿中 IS 濃度を測定したところ、4 名からは IS が検出されず、残る 1 名でも $3.8 \mu\text{M}$ と低値であったことから、血液透析施行患者における血漿中 IS 濃度は健常被験者と

比較して極めて高い値を示すことが確認された。さらに、血液透析施行患者の血漿中 IS 濃度を腎機能検査値から予測できるか否かを検討するために、血漿中 IS 濃度と血清クレアチニン (serum creatinine, Scr), 血中尿素窒素 (blood urea nitrogen, BUN) および推算糸球体ろ過速度 (estimated glomerular filtration rate, eGFR) との相関性を評価したところ IS と Scr および eGFR との間に有意な相関が認められた。²⁷⁾

これまで、血液透析療法導入前の患者における血清中 IS 濃度に関する検討もいくつかなされている。Barreto ら¹²⁾ は、CKD ステージ G2 からステージ G5 までの患者において血清中 IS 濃度と eGFR が相関し、CKD ステージごとに血清中 IS 濃度を評価した結果、CKD ステージ G4 ではステージ G2 およびステージ G3 に比べて、一方 CKD ステージ G5 ではステージ G2, ステージ G3, ステージ G4 に比べて有意に高値を示すことを報告している。また Lin ら³⁷⁾ は、CKD ステージ G3 からステージ G5 患者群において、血清中 IS 濃度と Scr との間に有意な相関が認められることを報告している。さらに Shimazu ら³⁸⁾ は、日本人を対象とした調査において、CKD の進行に伴って血清中 IS 濃度が増加し、CKD ステージ G3 は CKD ステージ G1, G2 との間に有意差が認められたことを報告している。一方、これらの報告と異なり Eloot ら³⁹⁾ は、CKD 患者において血清中 IS 濃度と eGFR の相関性は低いと報告している。

このように、IS の血清中濃度に関していくつかの報告があるものの、日本人を対象として血液透析療法導入前の血清中 IS 濃度や、血清中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性に関する報告は限られている。また、序論で言及したように、IS は L-トリプトファンに由来する UTs であることから、患者の食事内容の違いは血清中 IS 濃度の個体間変動の大きな要因になることが考えられる。このことを反映するかのよう、血液透析患者における当研究室の先の研究でも、血清中 IS 濃度の最大値と最小値の間には大きな差が見られた。³⁶⁾ したがって、類似の食事を摂取する CKD 患者における血清中 IS 濃度の変動や臨床検査値との相関性を把握することは重要であるが、これまでそれに関する報告はなされていない。

そこで第 1 章では、著者が勤務するいずみ会北星病院の関連施設である介護老人保健施設北星館の入所者を対象に、血液透析療法を導入していない腎機能低下者における血清中 IS 濃度を測定し、腎機能の指標である Scr, eGFR, BUN との相関性を評価した。

第2節 実験方法

第1項 使用薬物および試薬

本実験に用いたインドキシル硫酸カリウム塩は Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA) より購入した。IS の構造式を Fig. 1 に示す。その他の試薬および溶媒は、すべて市販の特級規格品を用いた。

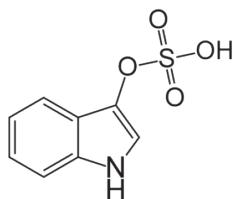


Fig. 1. Chemical Structure of Indoxyl Sulfate

第2項 被験者からの血液試料の採取

介護老人保健施設北星館に入所している血液透析を行っていない腎機能低下者 (eGFR < 45 mL/min/1.73 m²) に対して、所定の様式に従った文書を用いて研究の主旨と個人情報の保護について説明を行い、同意の得られた入所者 37 名を対象とした。定期血液検査の採血時に血液 (約 5 mL) を真空密封型採血管 (インセパック® II-D, 積水メディカル, 東京) に採取し、室温にて遠心分離 (1,600 g, 5 分) して血清画分を得た。試料は定量時まで -30°C にて保存した。なお、本研究は医療法人社団いずみ会北星病院倫理委員会の承認 (承認番号 54) を得て、北星病院臨床検査室スタッフおよび札幌臨床センター株式会社の協力の下に実施した。

第3項 血清中 IS 濃度の測定

IS の定量は、Ichimura ら²⁷⁾ が先に報告した方法に準拠し、HPLC-UV 法にて行った。室温で融解した血清 50 μL に生理食塩液 50 μL とメタノール 200 μL を加えて十分に攪拌した後、氷冷下で 10 分放置した。その後、5°C 条件下で遠心分離 (5,400 g, 10 分) し、得られた上清をフィルター (マイレクス-HV フィルター, 0.45 μm, PVDF 4 mm, 非滅菌, メルク, 東京) にてろ過したものを HPLC の試料とした。IS の分析条件を Table 1 に示した。なお、本定量法における変動係数は 5% 以下であった。

Table 1. HPLC Conditions for IS Assay

Apparatus	Shimadzu LC-10AT _{VP} (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Detector	Shimadzu SPD-10A _{VP} (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Injection volume	20 μ L
Column	Cosmosil 5C ₁₈ AR- II (5 μ m, 4.6 mm i.d. \times 150 mm, Nacalai tesque Inc., Kyoto, Japan)
Column temperature	50°C
Wave length	282 nm
Mobile phase	0.05 M KH ₂ PO ₄ : CH ₃ OH = 95 : 5
Flow rate	1.0 mL/min
Retention time	11 min

第4項 臨床検査値の調査

本研究対象者の年齢，Scr および BUN は入所者カルテより確認した．eGFR (mL/min/1.73 m²) は以下の式より算出した．

$$\begin{aligned} \text{男性 } e\text{GFR} &= 194 \times \text{Scr}^{-1.094} \times \text{Age}^{-0.287} \\ \text{女性 } e\text{GFR} &= 194 \times \text{Scr}^{-1.094} \times \text{Age}^{-0.287} \times 0.739 \end{aligned}$$

第5項 統計処理

集団間の平均値の検定は，Student's *t*-test またはDunnett 検定にて行い，被験者の血清中 IS 濃度と Scr，eGFR および BUN との相関性の検討は，Pearson 検定により行なった．解析は，エクセル統計 2012（株式会社 社会情報サービス）を用いて行い， $p < 0.05$ をもって有意な相関ありとした．

第3節 実験結果

第1項 被検者の背景

各被験者のカルテより確認した被検者の背景を Table 2 に示した。被験者の内訳は男性7名，女性30名で，平均年齢は89.9歳であった。また Scr, eGFR, BUN の平均値はそれぞれ 1.56 mg/dL, 30.3 mL/min/1.73 m², 28.9 mg/dL であった。

Table 2. Main Demographic and Clinical Characteristics of the Study Population

Number	37
Age (years)	89.9 ± 1.1 (76-104)
Male/Female	7 / 30
Scr (mg/dL)	1.56 ± 0.12 (0.89-4.55)
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	30.3 ± 1.7 (7.5-44.5)
BUN (mg/dL)	28.9 ± 2.0 (11.4-69.0)

Data represents the mean ± S.E. with range in parentheses.

第2項 血清中 IS 濃度

被験者37名における血清中 IS 濃度の最大値および最小値は，それぞれ 65.5 μM, 2.6 μM であり，平均血清中濃度は 17.1 ± 2.2 μM であった。

第3項 血清中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性

各被験者の血清中 IS 濃度の対数値と Scr, eGFR, BUN との相関性をそれぞれ Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4 に示した。相関係数 r を算出したところ，IS vs. Scr で 0.454 ($p = 0.005$)，IS vs. eGFR で -0.513 ($p = 0.001$)，IS vs. BUN で 0.417 ($p = 0.010$) であり，血清中 IS 濃度と Scr および BUN との間には有意な正の相関が，血清中 IS 濃度と eGFR との間には有意な負の相関が見られた。最も良好な相関関係が得られたのは eGFR においてであった。

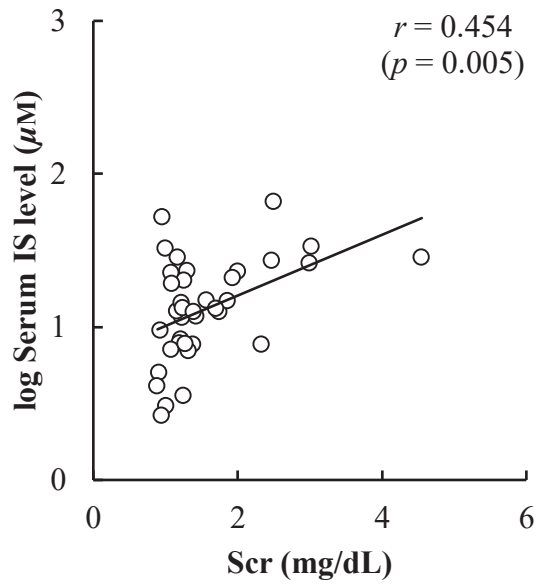


Fig. 2. Correlation between Serum IS Levels and Scr
 Each point represents the individual data of 37 subjects.

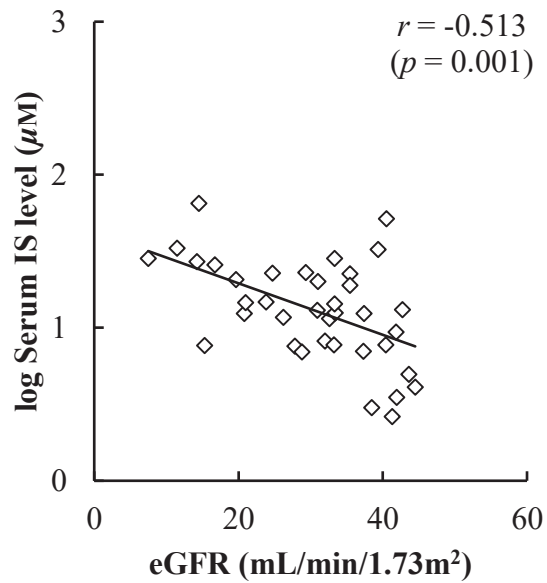


Fig. 3. Correlation between Serum IS Levels and eGFR
 Each point represents the individual data of 37 subjects.

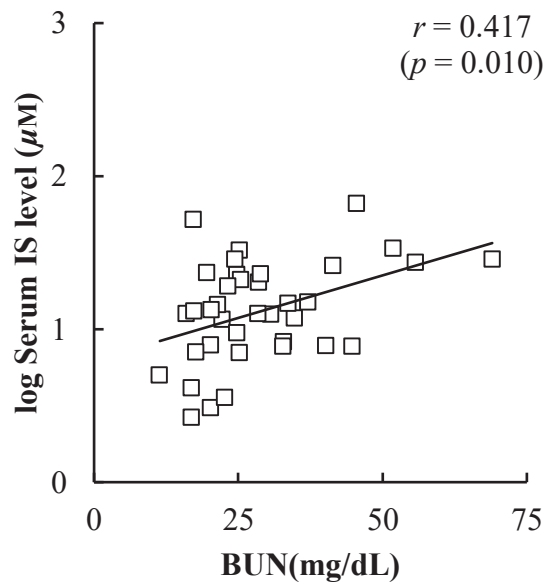


Fig. 4. Correlation between Serum IS Levels and BUN
Each point represents the individual data of 37 subjects.

第4項 CKD ステージ別の血清中 IS 濃度

被験者 37 名を「エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2018」に記載された腎機能区分に基づいて CKD ステージ毎に分類し Table 3 に示した。CKD ステージ G3b, G4, G5 の被験者数はそれぞれ 22 名, 11 名, 4 名であった。また, Fig. 5 には CKD ステージ毎の血清中 IS 濃度の分布と各平均値を示した。

各 CKD ステージにおける血清中 IS 濃度の最大値および最小値は, G3b 群で 51.7 μM , 2.6 μM , G4 群で 25.9 μM , 7.0 μM , G5 群で 65.5 μM , 27.1 μM であった。また, 平均血清中 IS 濃度は, G3b 群で $14.1 \pm 2.5 \mu\text{M}$, G4 群で $15.3 \pm 2.1 \mu\text{M}$, G5 群で $38.6 \pm 9.1 \mu\text{M}$ と算出された。各平均血清中 IS 濃度を比較したところ, G3b 群と G4 群との間に有意差は認められなかったが, G3b 群と G5 群並びに G4 群と G5 群の間に有意差が認められた (Fig. 5)。

Table 3. Number of Subjects in Each CKD Stage

	Total	CKD Stages		
		G3b eGFR (30~44)	G4 eGFR (15~29)	G5 eGFR (<15)
Number (n)	37	22	11	4
Age (years)	89.9 ± 1.1	88.9 ± 1.3	90.0 ± 2.3	95.0 ± 3.5
Male/female	7/30	5/17	2/9	0/4

Data represents the mean ± S.E.

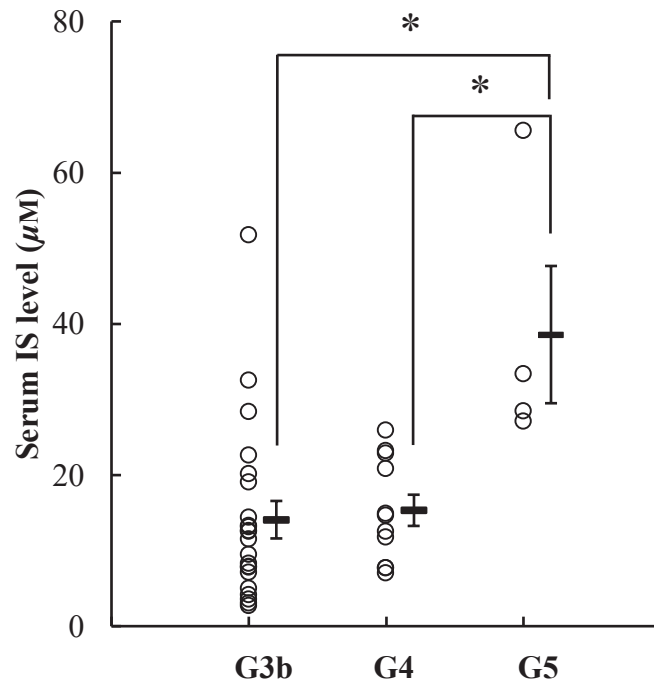


Fig. 5. Serum IS Levels in Subjects at G3b, G4 and G5

Open circles represent the individual data of 37 subjects.

Bars represent the mean ± S.E..

* $p < 0.05$, significantly different from G5.

第4節 考察

腎機能低下者における血中 IS 濃度が eGFR と有意に相関することについて、これまでいくつかの報告がなされている。^{12,37)} 当研究室でも先に、外来血液透析患者 20 名の血漿中 IS 濃度を測定し腎機能検査値との相関性を評価した結果、血漿中 IS 濃度と eGFR の間に有意な負の相関が得られることを報告した。^{27,36)} しかしながら、透析患者間の血漿中 IS 濃度と eGFR の相関性は低かった ($r = -0.645$)。その要因として、IS が L-トリプトファン由来であることから外来透析患者の日常の食事内容の違いが影響していると考えられた。しかしながら、同様の食事を摂取した場合の血漿中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性を評価した報告はこれまでなされていない。そこで本章では、介護老人保険施設に入所している腎機能低下者を対象に血清中 IS 濃度と腎機能との相関性を検討した。その結果、従来の報告と一致して、血清中 IS 濃度と Scr, eGFR および BUN との間に有意な相関が認められた (Figs. 2, 3 & 4)。これらの結果のうち、血清中 IS 濃度との間の相関性を検討したこれらの指標の中で、最も良好な相関が得られたのは、eGFR であった。したがって、eGFR は Scr, 年齢, 性別より推定される糸球体ろ過の指標であり、この結果は IS の血中からの消失遅延が糸球体ろ過低下と平行に起こっていることを示すと考えられた。

各被験者の血清中 IS 濃度を CKD ステージ間で比較したところ、CKD ステージ G3b と G4 の平均値には有意差が認められなかったが、CKD ステージ G5 における平均値は G3b および G4 に比べ有意に高いことが示された。ESRD になると血清中 IS 濃度が大きく上昇するというこの知見は、CKD ステージ G5 における尿細管分泌能の顕著な低下を反映すると推測された (Fig. 5)。

腎機能が正常の時、クレアチニン (creatinine, Cr) は主に糸球体ろ過により尿中に排泄されるが、その一方で Cr は有機カチオントランスポーター2 を介して尿細管分泌を受けることが知られている。⁴⁰⁾ これに対し IS は主に OAT を介した尿細管分泌により尿中に排泄される。¹⁶⁻²⁰⁾ 他の研究グループの報告においても、血清中 IS 濃度と eGFR が相関性を示す要因は明らかにされていないが、IS も Cr も尿細管分泌を受けるといふ、この排泄経路の類似性が一部寄与している可能性が考えらる。

有意性は見られたものの、血清中 IS 濃度と BUN の相関は Scr や eGFR の場合よりも弱かった。これについては、BUN は糸球体ろ過率が 30%前後まで低下して初めて上昇することが関係していると考えられる。⁴¹⁾

特別な場合を除き、老人保健施設に入所している高齢者はほぼ同様の食事を毎日摂取していると思える。したがって、いずみ会北星館に入所している高齢者を対象とした本検討では、血清中 IS 濃度と eGFR の相関性は、先に当研究室で報告した外来透析患者での結果^{27, 36)}よりも良好になる、すなわち相関係数 r は高値を示すと予測された。しかしながら Fig.3 に示すように、得られた相関係数は有意な差はあったものの、先行研究²⁷⁾で得られた値を上回る値ではなかった。よって、血液透析患者において血清中 IS 濃度の最大値と最小値の間の大きな差が認められた原因は、食事の影響だけでは説明が付かないと考えられた。本検討に参加した被験者 37 名中 18 名は認知症を有することが確認されたことから、次章では認知症の有無が血清中 IS 濃度と eGFR の相関性に及ぼす影響について検討することにした。

第2章 認知症を有する腎機能低下者における血清中 IS 濃度の評価

第1節 緒言

重度の腎機能障害患者では心血管イベント (cardiovascular events, CVE) が高頻度で起こり, それによる死亡率も上昇する.²⁾ また, これらの患者群では認知症やせん妄を含む認知機能障害 (cognitive disorders, CD) が発症するリスクが高いことが知られている.⁴²⁻⁴⁴⁾ 腎機能低下に伴う CVE や CD の発症および進展には腎機能低下時に体内に蓄積する種々の UTs が密接に関与すると見なされている.¹⁴⁾ 第1部第1章においても論述したが, UTs の一つである IS の血中濃度は末期 CKD 患者において著しく上昇することから, 近年, IS の血中濃度上昇と CD との関連性に注目が集まっている.

尿毒症患者において脳脊髄液中に IS が蓄積することはかなり以前から知られている.⁴⁵⁾ またごく最近 Sankowski ら⁴⁶⁾ は, パーキンソン病患者の脳脊髄液中に IS が過剰に蓄積することを見出している. IS が血液脳関門 (blood brain barrier, BBB) を通過するメカニズムは現在のところまだ解明されていないが, 血中 IS 濃度の上昇と IS の脳内蓄積が密接に関連していると考えるのが妥当である.

日本では今後超高齢社会が到来するが, それに伴い認知症患者が急激に増加することが懸念されている. 腎機能は加齢とともに徐々に低下することから,¹⁾ 後期高齢者では特定の腎疾患がなくても徐々に IS などの UTs が体内に蓄積していく可能性がある. これに関連して, CD は CKD の初期段階で発現することも報告されている.⁴⁷⁾ もし IS が腎機能低下者における CD の発現や進展に密接に係わっているなら, CKD と CD を合併する高齢者における血中 IS 濃度に関する情報の収集は極めて重要である. しかしながら, この点について高齢日本人を対象とした報告は見当たらない.

前章での検討に参加した被験者 37 名の平均年齢は高く (Table 2), 内 18 名は認知症と診断されていた. そこで本章では, 被験者を認知症群と非認知症群に分け, 両群における血中 IS 濃度の異同性について検討を加えた.

第2節 調査方法

第1項 被検者の選択

介護老人保健施設いずみ会北星館に入所している血液透析を行っていない腎機能低下者 (eGFR < 45 mL/min/1.73 m²) に対して、所定の様式に従った文書を用いて研究の主旨と個人情報の保護について本人または本人が理解できないときは家族に説明を行い、同意の得られた入所者 37 名を対象とした。同意の得られた被験者 37 名の認知症の有無は各カルテより確認した。被験者 37 名のうち 18 名が認知症と診断されていた。全認知症および全非認知症被検者、CKD ステージごとの認知症および非認知症被験者の分布を、Table 4 に示す。なお、各項目について認知症群と非認知症群間に有意差は認められなかった。

Table 4. Clinical Characteristics of Study Populations in Dementia and Non-dementia Groups

	CKD Stage							
	G3b to 5 eGFR (<45)		G3b eGFR (30~44)		G4 eGFR (15~29)		G5 eGFR (<15)	
	D	Non-D	D	Non-D	D	Non-D	D	Non-D
Number (n)	18	19	14	8	4	7		4
Age (years)	90.1 ± 1.4	89.7 ± 1.7	88.9 ± 1.6	89.0 ± 2.3	94.3 ± 2.1	87.6 ± 6.1		95.0 ± 3.5
Male/Female	2/16	5/14	2/12	3/5	0/4	2/5		0/4
Scr (mg/dL)	1.23 ± 0.08	1.87 ± 0.21	1.10 ± 0.04	1.23 ± 0.08	1.69 ± 0.24	1.87 ± 0.21		3.14 ± 0.49
eGFR (mL/min/ 1.73 m ²)	34.6 ± 1.8	26.2 ± 2.4	37.8 ± 1.2	36.2 ± 1.5	23.3 ± 3.2	23.0 ± 1.6		11.9 ± 1.6
BUN (mg/dL)	24.2 ± 1.9	33.4 ± 3.2	22.0 ± 1.8	23.2 ± 1.9	32.0 ± 5.1	32.4 ± 2.3		55.5 ± 5.0
BW (kg)	45.7 ± 1.8	50.4 ± 2.8	44.1 ± 1.5	51.3 ± 5.0	51.0 ± 6.1	54.6 ± 4.0		41.3 ± 2.0

D : dementia group, Non-D : non-dementia group.
Data represents the mean ± S.E..

第2項 臨床検査値の調査

臨床検査値の調査は第1部 第1章 第2節 第4項に準拠した。

第3項 統計処理

統計処理は第1部 第1章 第2節 第5項に準拠した。

第3節 実験結果

第1項 認知症の有無による血清中 IS 濃度の比較

37名の被験者を認知症群 (18名) と非認知症群 (19名) に分け、血清中 IS 濃度を比較した結果、平均血清中 IS 濃度は、認知症群で $15.8 \pm 2.8 \mu\text{M}$ 、非認知症群で $18.4 \pm 3.3 \mu\text{M}$ であり、認知症群と非認知症群で平均血清中 IS 濃度に有意差は認められなかった (Fig. 6).

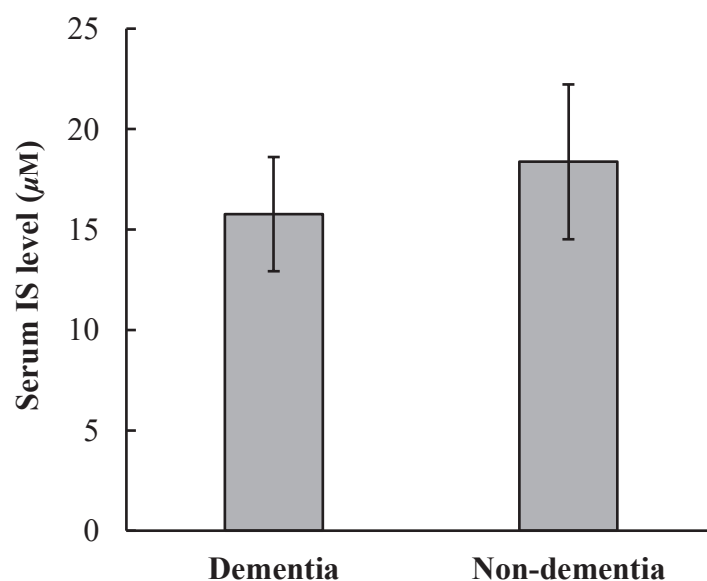


Fig. 6. Comparison of Mean Serum IS Levels between Dementia and Non-Dementia Groups

Each column represents the mean \pm S.E. obtained from 18 subjects with dementia and 19 subjects with non-dementia.

第2項 認知症の有無による血清中 IS 濃度の CKD ステージ間での比較

次に、認知症群および非認知症群の被験者をそれぞれ CKD ステージ G3b 群 (eGFR : 30~44 mL/min/1.73 m²) と G4 群 (eGFR : 15~29 mL/min/1.73 m²) に分け、平均血清中 IS 濃度を比較した。算出された平均血清中 IS 濃度は、G3b 群の場合、認知症群 16.6 ± 3.4 μM, 非認知症群 9.6 ± 2.2 μM, G4 群の場合、認知症群 12.7 ± 3.2 μM, 非認知症群 16.8 ± 2.3 μM であった。

G3b 群および G4 群において、認知症群と非認知症群における平均血清中 IS 濃度に有意差は認められなかったが、G3b 群において認知症群の平均血清中 IS 濃度が非認知症群よりも明らかに高くなる傾向が見られた (Fig. 7)。

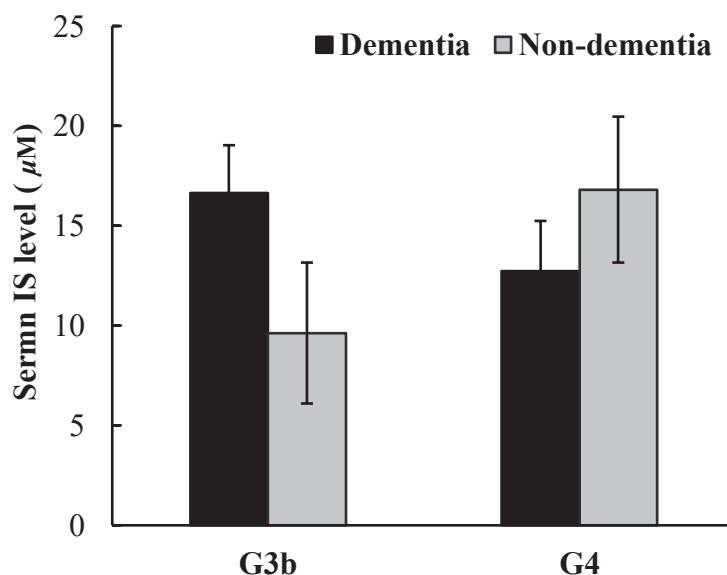


Fig. 7. Comparison of Mean Serum IS Levels between Subjects with Dementia or Non-dementia at CKD G3b and G4
Each column represents the mean ± S. E..

第3項 認知症群および非認知症群における血清中 IS 濃度と eGFR の相関性

さらに血清中 IS 濃度と eGFR との相関関係を認知症群と非認知症群で比較した。その結果、非認知症群では血清中 IS 濃度と eGFR の間に極めて良好な相関性 ($r = -0.820, p < 0.001$) が得られた (Fig. 8) のに対し、認知症群では相関性が認められなかった (Fig. 8)。また、eGFR が 35~44 mL/min/1.73 m² の血清中 IS 濃度を見ると、有意差は得られなかったが、認知症群で高値を示す被験者が多かった。

非認知症群における相関係数は、第1章 Fig. 3 に示した全例での相関係数よりも良好であった。

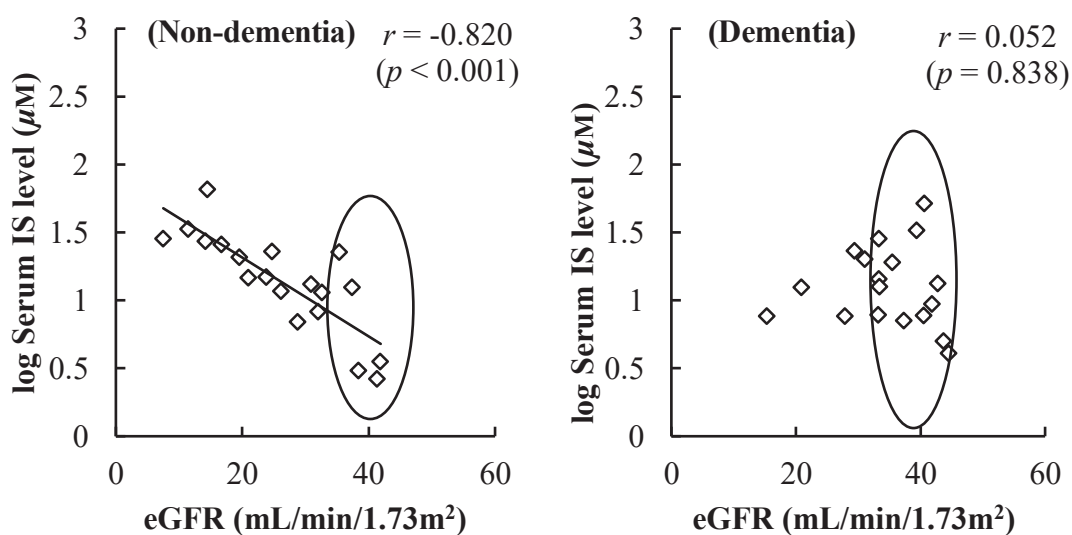


Fig. 8. Correlation between Serum IS Levels and eGFR in the Non-dementia and Dementia Groups

Each point represents the individual data of 19 (Non-dementia) or 18 (Dementia) subjects.

第4節 考察

本章では、認知症を発症している高齢腎機能低下者と認知症を発症していない高齢腎機能低下者における血清中 IS 濃度を比較した。その結果、以下のような知見を得た。

- ①CKD ステージ G3b では、認知症群の平均血清中 IS 濃度が非認知症群よりも高値を示す傾向が見られた (Fig. 7).
- ②非認知症群では血清中 IS 濃度と eGFR の間に極めて良好な相関性が示されたのに対し、認知症群では相関性は認められなかった (Fig. 8).
- ③eGFR が 35~44 mL/min/1.73 m² の血清中 IS 濃度を見ると、有意差は得られなかったが、認知症群で高値を示す被験者が多かった。

前章において全被験者の血清中 IS 濃度と eGFR の間に有意な相関は見られたものの相関係数が低値を示した要因として、③の知見が影響していたと考えられる。また、①の知見は Yeh ら⁴⁸⁾ による以前の報告と一致していた。彼らは、より高い血清中 IS 濃度が CKD の初期段階における認知障害に関連していると言及している。

Fig. 8 に示された結果は、日常的に摂取する食物の影響を可能な限り除去した場合、認知症ではない高齢者における eGFR は血清中 IS 濃度を精度良く推測するのに有効な指標となることを示した。この結果は、認知症がなければ IS と Cr の体内蓄積がパラレルに起こることを示唆している。これに対し、認知症を有する高齢者では eGFR は血清中 IS 濃度を知る指標として適切ではないことが示された (Fig. 8)。このことは、認知症を有する高齢者では IS の体内蓄積が Cr の体内蓄積と関連なく起こることを示唆している。ただ、今回の検討では、認知症群で CKD ステージ G5 に該当する被験者がいなかった (Table 4, Fig. 8) ため、非認知症群に比べ相関性の検討が十分でなかった可能性が残されている。今後更に各 CKD ステージの被験者数を増やし、詳細な検討を重ねる必要がある。

CKD 患者の大腸では L-トリプトファンからインドールへの代謝が亢進されること、^{49, 50)} 一方、認知症患者では小腸における L-トリプトファンの吸収が顕著に低下すること⁵¹⁾ が報告されている。大腸における L-トリプトファンの代謝促進は、代謝に係わるトリプトファナーゼが CKD 患者の大腸で増加することによると見なされている。⁵²⁾ したがって、本検討のように CKD と認知症を合併している被験者

では、吸収不良により大腸に達する L-トリプトファン量の増加と、そこでのインドール生成の増加が連続して起こると考えられる。その結果、粘膜透過性が良好であるインドールの吸収量が増加し、それに伴い肝での IS 生成が促進されると推測される。この一連のプロセスにより、eGFR とは関わりなく血中 IS 濃度が上昇し (Fig. 8), それに伴って IS の脳内蓄積が増加すると考えられる。

Iwata ら⁵³⁾ は、脳内 IS 濃度の著しい上昇が中枢神経系の毒性に関与することを報告しているが、その一方で、IS は BBB に存在する OAT3 を介して脳内から排出される。^{54,55)} したがって、CKD と認知症を合併した高齢者では、BBB での OAT3 が十分に機能せず、これにより IS の脳内蓄積が進行している可能性が考えられる。これに関連して最近、アルツハイマー型認知症の患者では BBB の P-糖タンパク質の機能不全によって脳からの β アミロイドの排出が減少し、このことが認知症の進展をもたらすことが報告されている。⁵⁶⁾

③の知見に従えば、認知症を有する被験者では CKD ステージ G2 の段階ですでに血中 IS 濃度が高値を示していたと推察される。このことを確認するための検討が今後更に必要であるが、IS が認知症の発症や進展に密接に係わるならば、認知症対策の一つとして、年齢を問わず早期 CKD の段階 (G1 または G2) で血中 IS 濃度を直接モニタリングし、高値を示すと判断された患者では血中 IS 濃度を低下させるための対応 (例えば、球形吸着炭の投与など) を積極的に行うことが重要であると考えられる。

第2部 スタチン系薬服用患者におけるクレアチンキナーゼ (CK) 値と腎機能との関連性の検討

第1章 スタチン系薬服用患者における CK 値と腎機能検査値との相関性に関する検討

第1節 緒言

スタチン系薬であるプラバスタチンのインタビューフォーム (interview form, IF) には、「1年以上の長期投与中に慢性腎不全の増悪が認められたとの報告がある。腎障害患者に長期連用した場合、長時間高濃度が維持されることにより横紋筋融解症や、ミオグロビン血症・尿症を惹起し、腎機能をさらに悪化させたとも考えられる。」との記載がある。⁵⁷⁾ また、ピタバスタチンの IF にも「腎障害は 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル補酵素 A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A, HMG-CoA) 還元酵素阻害剤により横紋筋融解症が発現する危険因子の一つとされている。また、横紋筋融解症に伴って急激な腎機能の悪化が起こることがある。腎障害の患者又はその既往がある患者には観察を十分に行い、慎重に投与すること。」という記載があり、⁵⁸⁾ 腎機能障害患者への投与に対して注意が喚起されている。しかし、その要因 (機序) の詳細については明確にされていない。

アニオン性薬物であるプラバスタチンは、肝細胞の血管側膜上に存在する OATP1B1 や OATP2B1 により血液側から肝細胞に取り込まれて HMG-CoA 還元酵素を阻害し、肝におけるコレステロールの生合成を低下させる。⁵⁹⁻⁶¹⁾ その後、一部が肝細胞内で代謝されるものの、多くが未変化体のまま多剤耐性関連タンパク質 (multidrug resistance-associated protein, MRP) 2 を介し胆汁中に排泄される。⁶²⁾ したがって、腎機能低下時には何らかの影響によりプラバスタチンの肝輸送に関わるトランスポーターの輸送能が低下し、その結果プラバスタチンの血中濃度上昇を招いている可能性がある。プラバスタチンの血中濃度上昇は横紋筋融解症の発症リスクであり、⁶³⁾ 血中濃度の上昇に伴い筋肉などへのプラバスタチンの移行が増大し、横紋筋融解症が発症しやすくなる。プラバスタチンの血中濃度が上昇する機序として、IS などの UTs による OATP 阻害が指摘されている。⁶⁴⁾

そこで第 2 部第 1 章では、腎機能障害時にプラバスタチンなどのスタチン系薬により横紋筋融解症が惹起されやすくなる要因に関する基礎的知見を得ることを目的に、いずみ会北星病院の採用薬であるプラバスタチン、ロスバスタチン、アトルバスタチン、ピタバスタチンのいずれかを服用している脂質異常症患者を対象として、横紋筋融解症の指標とされる CK 値と腎機能検査値 (Scr, eGFR, BUN) との相関性を検討した。また、患者を水溶性スタチン系薬 (プラバスタチンまたはロスバスタチン) 服用群と脂溶性スタチン系薬 (アトルバスタチンまたはピタバスタチン) 服用群に分け、各患者群の CK 値と Scr, eGFR, BUN との相関性を評価した。さらに、各スタチン系薬服用群について CK 値と Scr, eGFR, BUN との相関性についても検討を加えた。

第2節 調査方法

第1項 対象患者の選択

いずみ会北星病院に外来通院中の患者のうち、スタチン系薬を単独で、または併用薬剤が4剤以内でスタチン系薬を服用し、スタチン系薬服用中における各検査値の調査が可能であった患者45名を対象とした。患者背景をTable 5に示した。プラバスタチン、ロスバスタチン、アトルバスタチン、ピタバスタチンを服用している患者は、それぞれ5名、22名、12名、6名であった。

なお、本調査は医療法人社団いずみ会北星病院倫理委員会の承認（承認番号39）を得て実施した。

Table 5. Main Demographic and Clinical Characteristics of the Study Population

Number	45
Age (years)	65.6 ± 1.8 (32-89)
Male/Female	28 / 17
Scr (mg/dL)	0.85 ± 0.03 (0.56-1.67)
eGFR (mL/min / 1.73 m ²)	65.4 ± 1.9 (30.6-92.6)
BUN (mg/dL)	15.2 ± 0.7 (7.7-35.4)
CK (IU/L)	109.3 ± 6.3 (38-226)

Data represents the mean ± S.E. with range in parentheses.

第2項 臨床検査値の調査

対象患者の年齢、Scr、eGFR、BUN、CKは患者カルテより確認した。

第3項 統計処理

相関性の検討は、第1部 第1章 第2節 第5項に準拠した。

第3節 結果

第1項 スタチン系薬服用患者におけるCK値と腎機能検査値との相関性

45名のスタチン系薬服用患者におけるCK値とScr, eGFR, BUNの相関性をFig.9に示した. 相関係数 r は, CK vs. Scrで0.051 ($p = 0.742$), CK vs. eGFRで0.268 ($p = 0.075$), CK vs. BUNで0.085 ($p = 0.578$)であり, いずれにおいても有意性は認められなかった (Fig. 9).

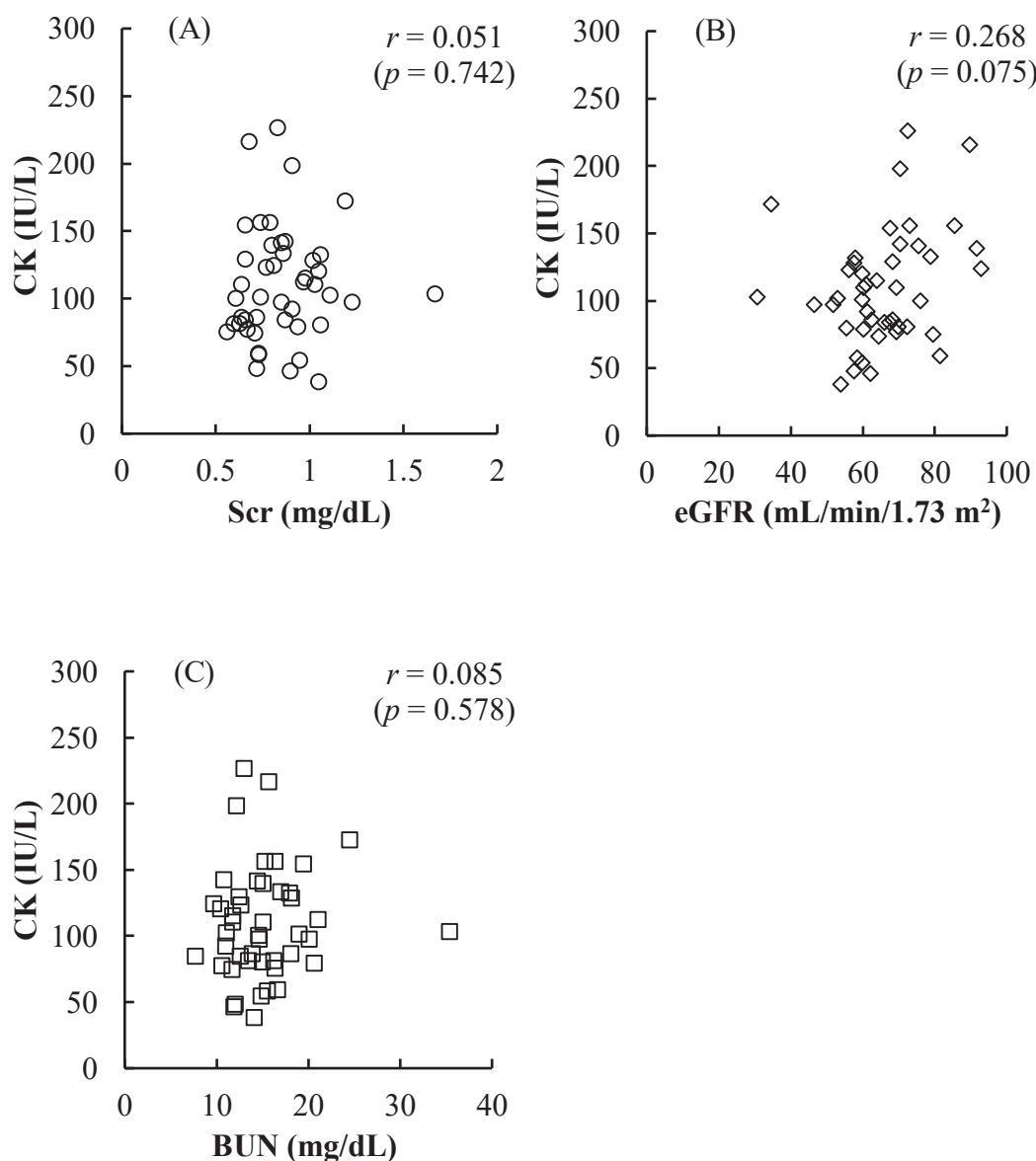


Fig. 9. Correlation between CK Values and Scr (A), eGFR (B) and BUN (C)
Each point represents the individual data of 45 patients

第2項 水溶性スタチン系薬服用群と脂溶性スタチン系薬服用群におけるCK値と腎機能検査値との相関性

次に、患者を水溶性スタチン系薬（プラバスタチンまたはロスバスタチン）服用群と脂溶性スタチン系薬（アトルバスタチンまたはピタバスタチン）服用群に分け、両患者群におけるCK値とScr, eGFR, BUN間の相関性を検討した。

水溶性スタチン系薬服用群における相関係数 r はCK vs. Scrで -0.070 ($p = 0.730$), CK vs. eGFRで 0.365 ($p = 0.061$), CK vs. BUNで 0.036 ($p = 0.860$)であった (Figs. 10A, 10C, 10E)。

一方、脂溶性スタチン系薬服用群での相関係数 r はCK vs. Scrで 0.394 ($p = 0.106$), CK vs. eGFRで 0.094 ($p = 0.710$), CK vs. BUNで 0.224 ($p = 0.372$)であった (Figs. 10B, 10D, 10F)。

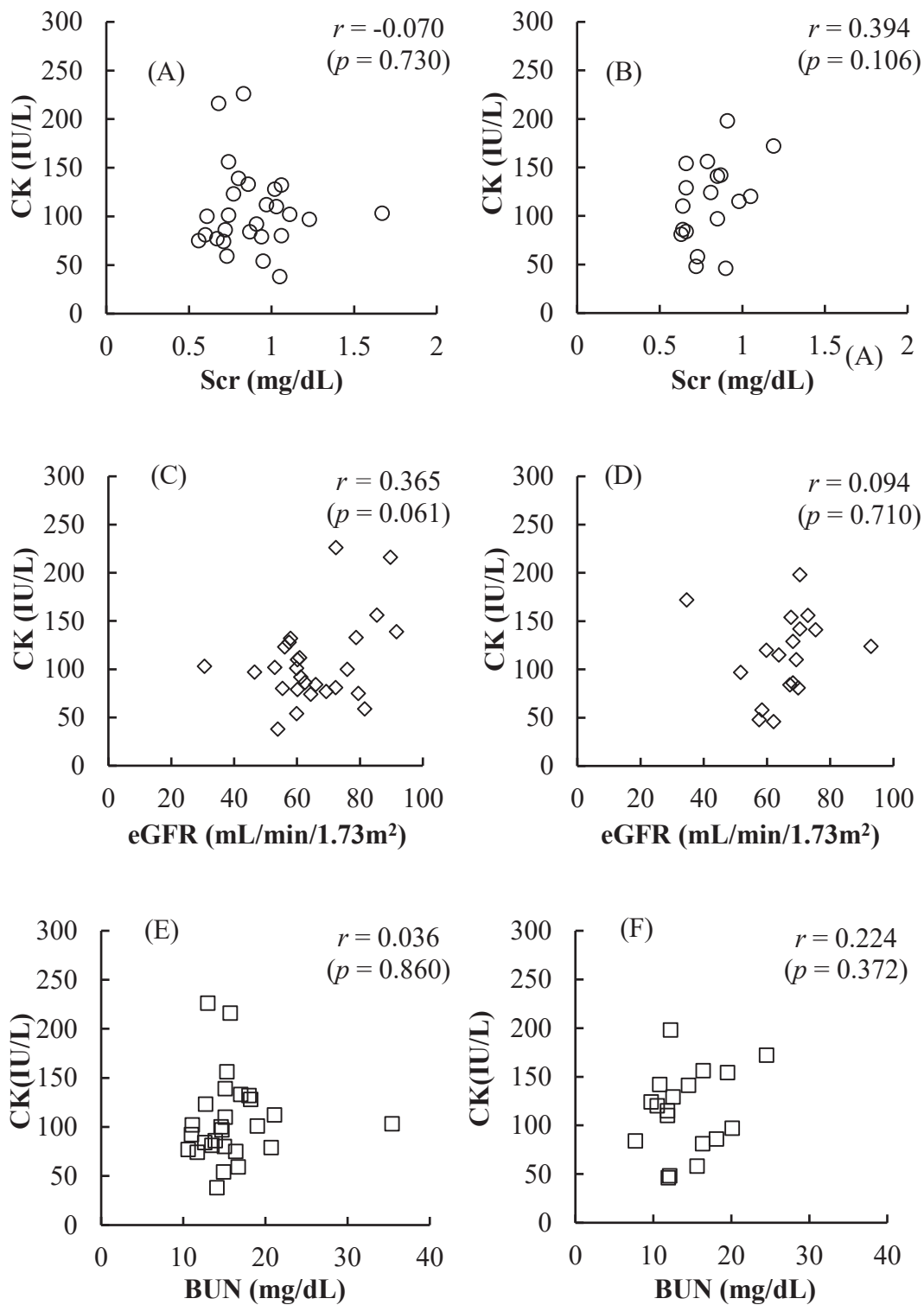


Fig. 10. Correlation between CK Values and Scr (A and B), eGFR (C and D), or BUN (E and F) in Patients Receiving Hydrophilic Statins (A, C and E) and Lipophilic Statins (B, D and F)

Each point represents the individual data.

第3項 各スタチン系薬服用患者におけるCK値と腎機能検査値との相関性

各スタチン系薬服用群におけるCK値とScr, eGFR, BUNの相関性を検討し、その結果をTable 6およびFigs. 11~13に示した。

水溶性スタチンの相関係数 r は、プラバスタチンの場合、CK vs. Scrで0.271 ($p = 0.659$), CK vs. eGFRで-0.817 ($p = 0.091$), CK vs. BUNで0.654 ($p = 0.232$)であり、ロスバスタチンの場合、CK vs. Scrで-0.130 ($p = 0.565$), CK vs. eGFRで0.380 ($p = 0.081$), CK vs. BUNで-0.013 ($p = 0.956$)であり、全ての検討において有意な相関は見られなかった。

脂溶性スタチンの場合、アトルバスタチンにおける相関係数 r は、CK vs. Scrで0.187 ($p = 0.560$), CK vs. eGFRで0.625 ($p = 0.030$), CK vs. BUNで0.161 ($p = 0.616$)であり、CK vs. eGFRで正の相関性が確認された。ピタバスタチンではCK vs. Scrで0.782 ($p = 0.066$), CK vs. eGFRで-0.359 ($p = 0.484$), CK vs. BUNで0.374 ($p = 0.465$)であり、CK vs. Scrで正に相関する傾向が見られた。

Table 6. Correlation between CK Values and Scr, eGFR, or BUN in Patients Receiving Four Statins

	CK vs. Scr	CK vs. eGFR	CK vs. BUN
Pravastatin	0.271 ($p = 0.659$)	-0.817 ($p = 0.091$)	0.654 ($p = 0.232$)
Rosuvastatin	-0.130 ($p = 0.565$)	0.380 ($p = 0.081$)	-0.013 ($p = 0.956$)
Atorvastatin	0.187 ($p = 0.560$)	0.625 ($p = 0.030$)	0.161 ($p = 0.616$)
Pitavastatin	0.782 ($p = 0.066$)	-0.359 ($p = 0.484$)	0.374 ($p = 0.465$)

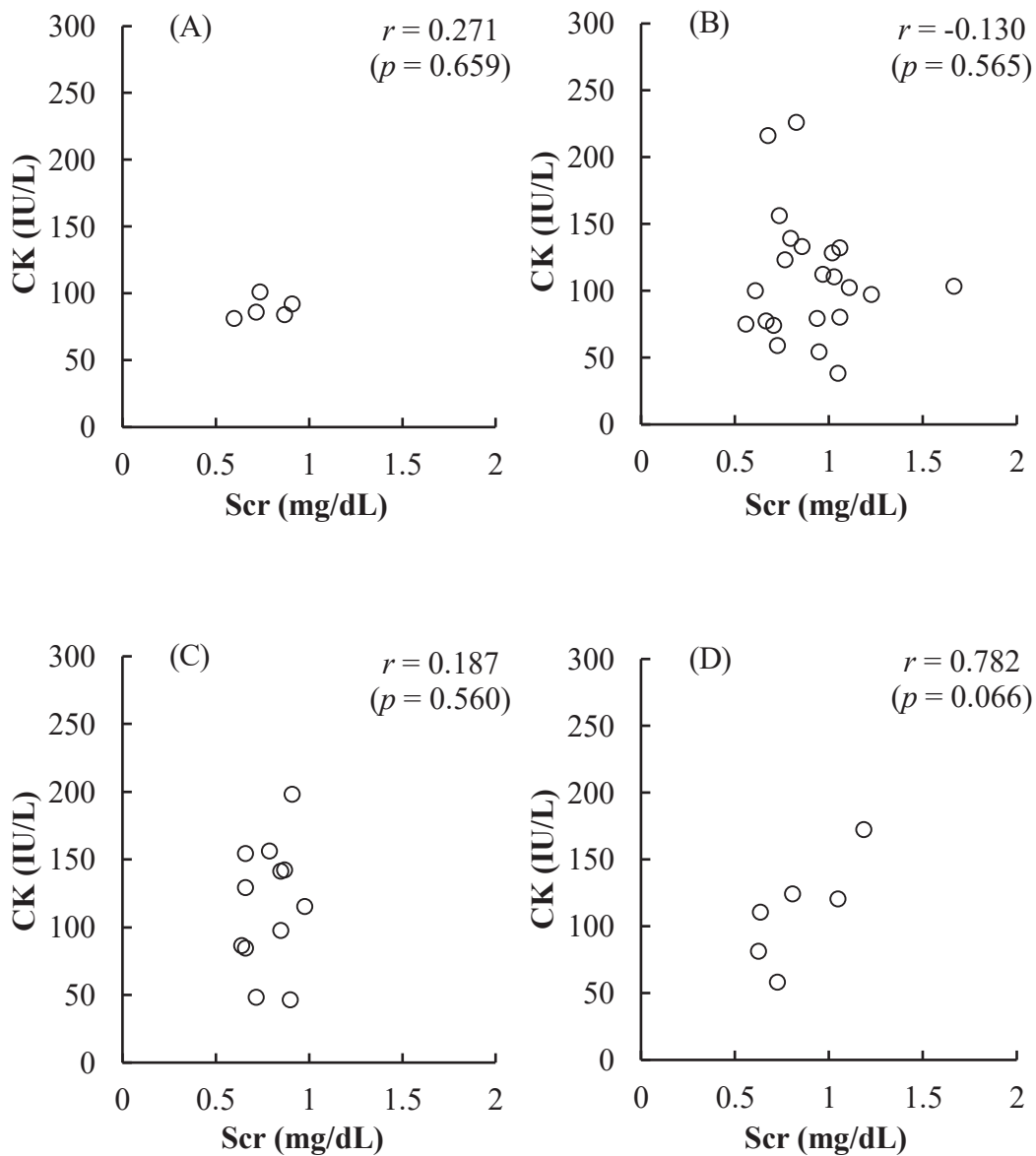


Fig. 11. Correlation between CK Values and Scr in Patients Receiving Pravastatin (A), Rosuvastatin (B), Atorvastatin (C) or Pitavastatin (D)
 Each point represents the individual data.

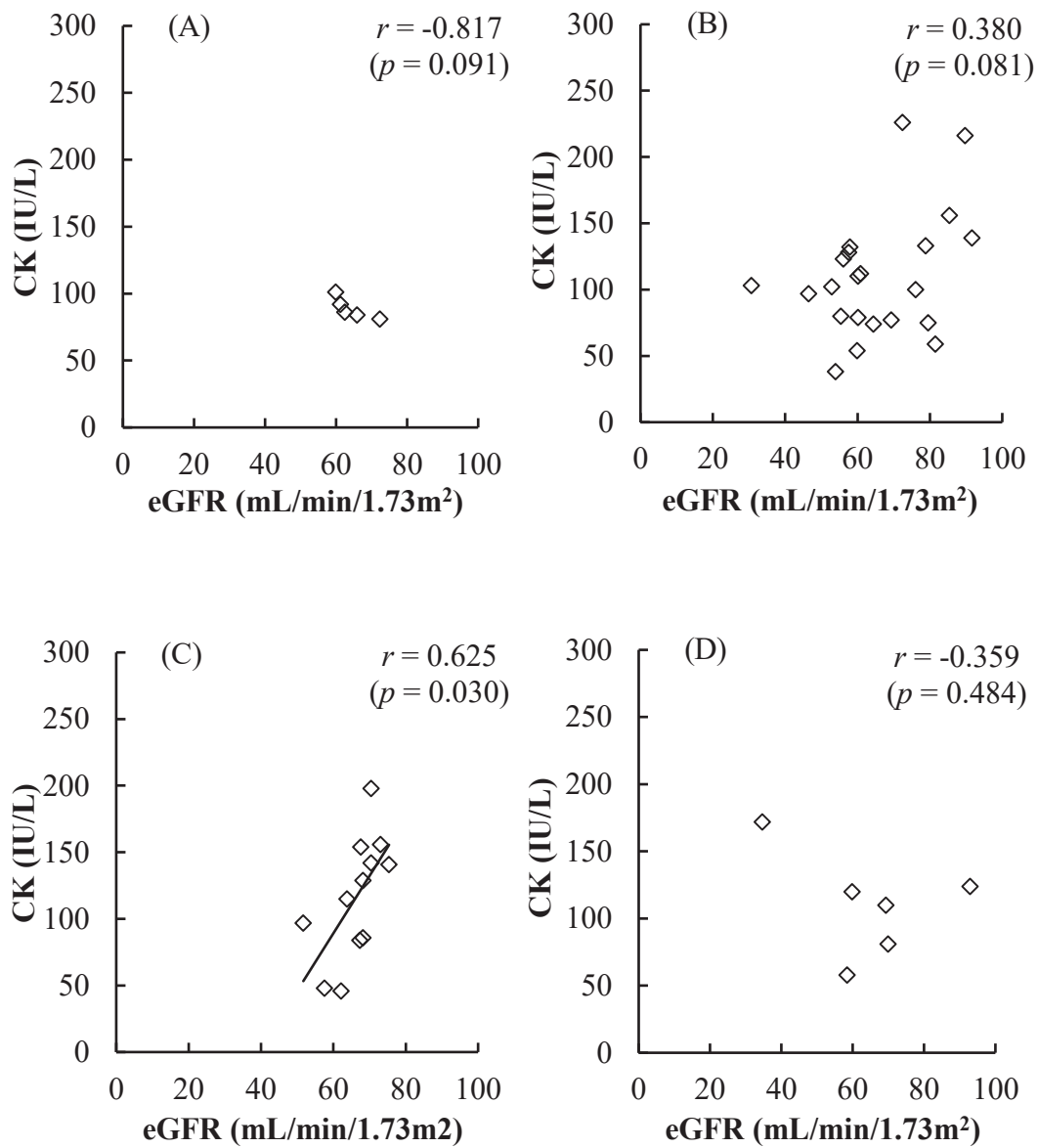


Fig. 12. Correlation between CK Values and eGFR in Patients Receiving Pravastatin (A), Rosuvastatin (B), Atorvastatin (C) or Pitavastatin (D)
 Each point represents the individual data.

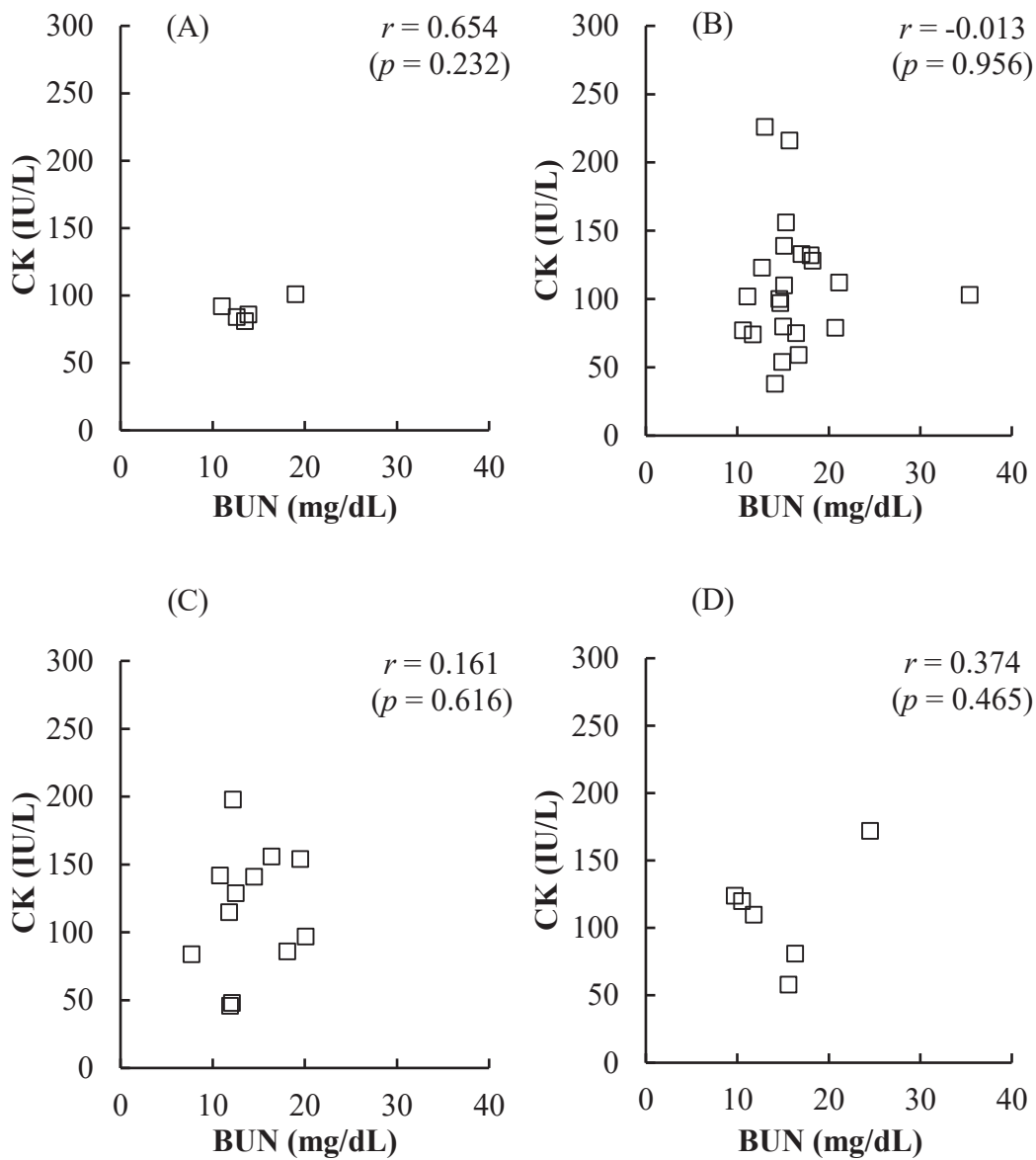


Fig. 13. Correlation between CK Values and BUN in Patients Receiving Pravastatin (A), Rosuvastatin (B), Atorvastatin (C) or Pitavastatin (D)
 Each point represents the individual data.

第4節 考察

スタチン系薬による横紋筋融解症は、血中濃度の上昇が引き金となる重篤な全身性副作用である。⁶⁵⁾ プラバスタチンを始めとして、スタチン系薬の血液中から薬理作用発現部位である肝細胞内への移行には、OATP1B1 や OATP1B3, OATP2B1 が関与している。⁶⁶⁾ 緒言でも言及したように、腎機能低下時にスタチン系薬による横紋筋融解症のリスクが高まることについて IF などで注意喚起がなされているが、腎機能低下の程度と横紋筋融解症の発現リスクの関係についてはほとんど検討されていない。また、横紋筋融解症により腎機能の悪化が急激に起こることも知られている。⁶⁵⁾

横紋筋融解症の診断は、血清 CK 値の変化（上昇）やミオグロビン尿の検出を指標として行われる。そこで本章では、CK 値と腎機能検査値との相関性を検討した。その結果、全対象患者 45 名で比較した場合、水溶性スタチン系薬服用群と脂溶性スタチン系薬服用群に分けて評価した場合、あるいは各スタチン系薬服用群に分けて評価したものの、腎機能の低下が CK を上昇させるという有意な相関性は見出すことはできなかった。

当院では CK 値が、男性 221 IU/L 以上、女性 171 IU/L 以上を高値としているが、45 名の対象患者のうちこの数値を超えていたのは 1 名のみであり、大部分が正常値の範囲内にあった (Fig. 9)。

スタチン系薬は単独投与中に軽度の CK 上昇や一過性の筋肉痛が出現することはあっても、横紋筋融解が発症することは比較的まれであるとされている。⁶⁷⁾ 米国における調査⁶⁸⁾ では、スタチン系薬服用者において筋肉痛は 2~7%で起こり、CK 値上昇や筋力低下の発現率は 0.1%~1.0%と報告されている。本検討に参加した脂質異常症患者において調査時 CK 値が上昇した例が少なかったこと、また対象患者の平均 eGFR が 66 mL/min/1.73 m² であり腎機能低下患者が少なかった (Fig. 9) ことなどが、相関性が得られなかった要因になっていると考えられた。

なお、アトルバスタチンにおいて CK 値と eGFR の間に有意な正の相関が見られた (Fig. 12C)。この結果は、腎機能が正常なほど CK 値が高くなる、すなわち横紋筋融解症のリスクが高まることを示しており、妥当性に欠けている。この点については今後例数を増やして再検討する必要があると思われる。

第2章 スタチン系薬服用患者における CK 値と血清中 IS 濃度の相関性に関する検討

第1節 緒言

腎機能低下時にスタチン系薬による横紋筋融解症が起こりやすくなることには、スタチン系薬の血中濃度の上昇が密接に関与している。この血中濃度上昇の要因の一つとして、スタチン系薬の肝取り込みに関与するトランスポーターである OATPs の機能低下が考えられる。腎機能低下時の OATPs の機能低下については、*in vitro* の研究から体内に蓄積する UTs による OATPs の直接的な阻害⁶⁴⁾ や OATPs の発現抑制⁶⁹⁾ などが *in vitro* の研究から推定されているが、臨床的な検証はほとんど行われていない。

IS は、ESRD 患者の体内に最も蓄積しやすい UTs の一つである。⁶⁾ 著者は、第1部第1章において血清中 IS 濃度が腎機能検査値である Scr や eGFR, BUN と有意に相関することを示した (Figs. 2, 3 & 4) が、第2部第1章では腎機能低下が顕著でない脂質異常症患者が主な対象となっていたため、スタチン系薬服用患者における CK 値と腎機能検査値との相関性に関する検討を十分に行うことができなかった。そこで本章では、いずみ会北星病院に入院時にスタチン系薬(プラバスタチン, ロスバスタチン, アトルバスタチン, ピタバスタチンのいずれか)を服用していた患者で、同意の得られた 243 名を対象として、血清中 IS 濃度を測定し、CK 値との相関性を検討した。なお、評価内容としては第1章と同様に、水溶性スタチン系薬(プラバスタチンおよびロスバスタチン)服用群と脂溶性スタチン系薬(アトルバスタチンおよびピタバスタチン)服用群間での比較、各スタチン系薬服用群における比較を行った。さらに、対象患者の腎機能が CKD ステージ G1, G2, G3a, G3b, G4 に亘っていたことから、CKD ステージごとにおける CK 値と血清中 IS 濃度との相関性についても合わせて検討した。

第2節 実験方法

第1項 スタチン系薬服用患者からの血液試料の採取

いずみ会北星病院に入院中で、スタチン系薬を服用している患者に対して、所定の様式に従った文書を用いて研究の主旨と個人情報保護について説明を行い、同

意の得られた患者を対象とした。患者背景を Table 7 に示す。入院採血時に血液を真空密封型採血管（インセンパック®II-D, 徳山積水工業株式会社）に採取後, 遠心分離 (1,600 g, 5 分, 室温) して血清画分を得た。試料は定量時まで-30°C にて保存した。なお, 本研究は, 医療法人社団いずみ会北星病院倫理委員会の承認承認 (承認番号 39) を得て, いずみ会北星病院臨床検査科のスタッフ, 札幌臨床検査センター株式会社の協力の下に実施した。

Table 7. Main Demographic and Clinical Characteristics of the Study Population

Number	243
Age (years)	78.6 ± 0.7 (24-99)
Male/Female	71 / 172
Scr (mg/dL)	0.92 ± 0.02 (0.41-3.34)
eGFR (mL/min / 1.73 m ²)	56.5 ± 1.4 (12.9-160)
BUN (mg/dL)	20.1 ± 0.7 (4.7-104.6)
CK (IU/L)	73.9 ± 3.9 (12-364)

Data represents the mean ± S.E. with range in parentheses.

第 2 項 血清中 IS 濃度の定量

IS の定量は第 1 部 第 1 章 第 2 節 第 3 項に準拠した。

第 3 項 臨床検査値の調査

今回対象となった患者の年齢, Scr, eGFR および BUN は患者カルテより確認した。

第 4 項 統計処理

対象者の血清中 IS 濃度と, Scr, eGFR および BUN との相関性の検討は, 第 1 部 第 1 章 第 2 節 第 5 項に準拠した。

第3節 結果

第1項 スタチン系薬服用患者における腎機能検査値と血清中 IS 濃度の相関性

まず、243名のスタチン系薬服用患者における血清中 IS 濃度と Scr, eGFR および BUN との相関性を検討した。得られた相関係数 r は、IS vs. Scr で 0.389 ($p < 0.001$), IS vs. eGFR で -0.363 ($p < 0.001$), IS vs. BUN で 0.506 ($p < 0.001$) であり、第1部第1章での検討と同様に、血清中 IS 濃度と Scr および BUN の間には有意な正の相関が、一方血清中 IS 濃度と eGFR との間には有意な負の相関が見られた (Fig. 14).

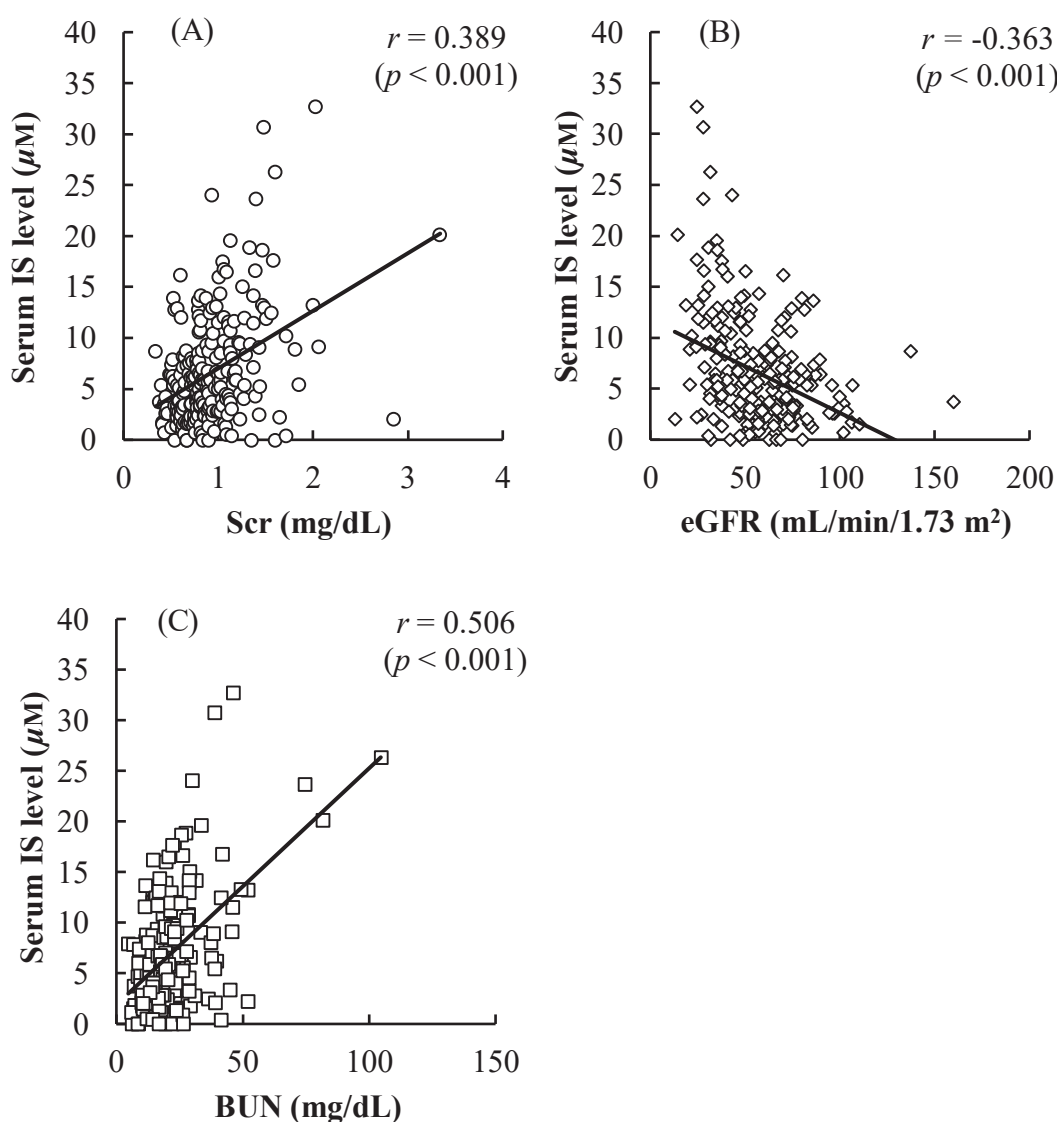


Fig. 14. Correlation between Serum IS Levels and Scr (A), eGFR (B) or BUN (C)

Each point represents the individual data of 243 patients.

第2項 スタチン系薬服用患者における CK 値と血清中 IS 濃度との相関性

次に CK 値と血清中 IS 濃度との間の相関係数 r を算出したところ、 -0.081 ($p = 0.206$) であり、有意な相関は認められなかった (Fig. 15). なお、243 名の対象患者の内、CK 値が男性 221 IU/L 以上、女性 171 IU/L 以上の高値であった患者は 11 名であった.

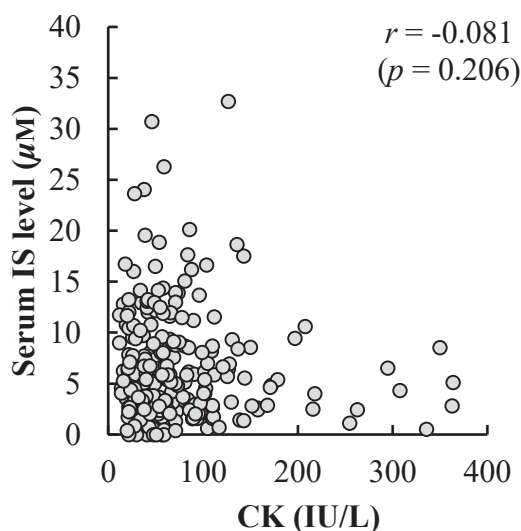


Fig. 15. Correlation between Serum IS Levels and CK Values
Each point represents the individual data of 243 patients.

第3項 水溶性スタチン系薬服用群と脂溶性スタチン系薬服用群における CK 値と血清中 IS 濃度との相関性の比較

次に、患者を水溶性スタチン系薬 (プラバスタチンおよびロスバスタチン) または脂溶性スタチン系薬 (アトルバスタチンおよびピタバスタチン) 服用群に分類し、各患者群の CK 値と血清中 IS 濃度の相関性を検討した. その結果、水溶性スタチン系薬服用群における相関係数 r は -0.033 ($p = 0.709$), 脂溶性スタチン系薬服用群における相関係数は -0.108 ($p = 0.247$) であり、いずれの服用群においても有意性は認められなかった (Fig. 16).

なお、Fig. 15 で示されていた CK 値が高値であった患者は、水溶性スタチン系薬服用群 127 名中 1 名 (0.8%), 脂溶性スタチン系薬服用群 116 名中 10 名 (8.6%) であり、 χ^2 検定により脂溶性スタチン系薬服用群に多いことが示された ($p = 0.003$) (Fig. 16).

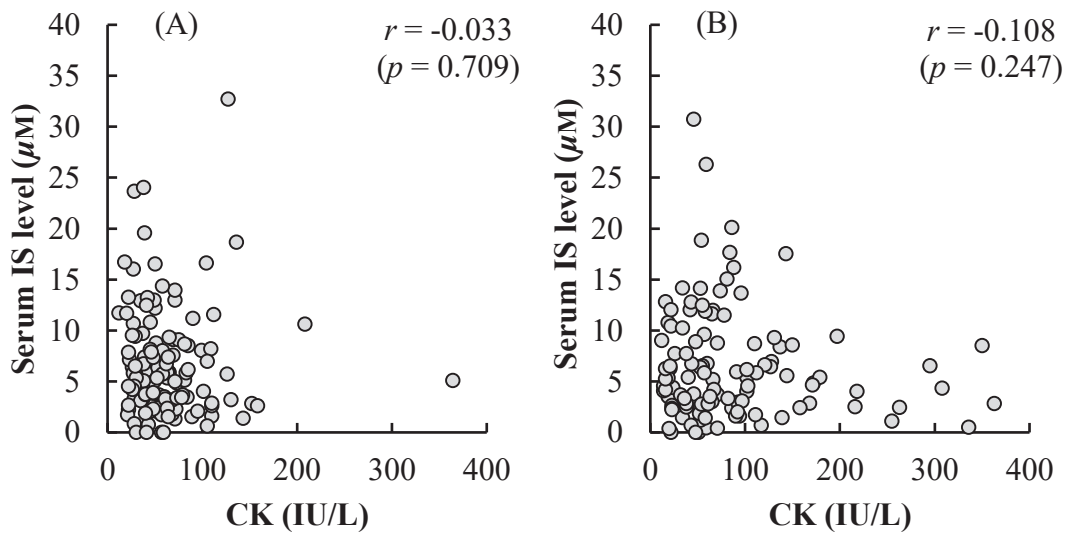


Fig. 16. Correlation between Serum IS Levels and CK Values

A : Hydrophilic statin (n = 127), B : Lipophilic statin (n = 116).

Each point represents the individual data.

第4項 各スタチン系薬服用群におけるCK値と血清中IS濃度との相関性の比較

さらに、CK値と血清中IS濃度との相関性を各スタチン系薬服用群で比較した結果、得られた相関係数 r はプラバスタチン服用群で -0.314 ($p = 0.080$)、ロスバスタチン服用群で -0.010 ($p = 0.926$)、アトルバスタチン服用群で -0.125 ($p = 0.224$)、ピタバスタチン服用群で 0.152 ($p = 0.522$)であった。いずれのスタチン系薬服用群においても有意な相関は認められなかった (Fig. 17)。

なお、Fig. 16の脂溶性スタチン系薬服用群で多く見られていた、CK値が高値であった患者は、プラバスタチン服用群32名中0名(0%)、ロスバスタチン服用群95名中1名(1.1%)、アトルバスタチン服用群96名中8名(8.3%)、ピタバスタチン服用群20名中2名(10.0%)であり、 χ^2 検定によりロスバスタチン服用患者と比較しアトルバスタチン服用群に ($p = 0.018$)、並びにロスバスタチン服用患者と比較しピタバスタチン服用群 ($p = 0.023$)にCK値高値例が多いことが示された。

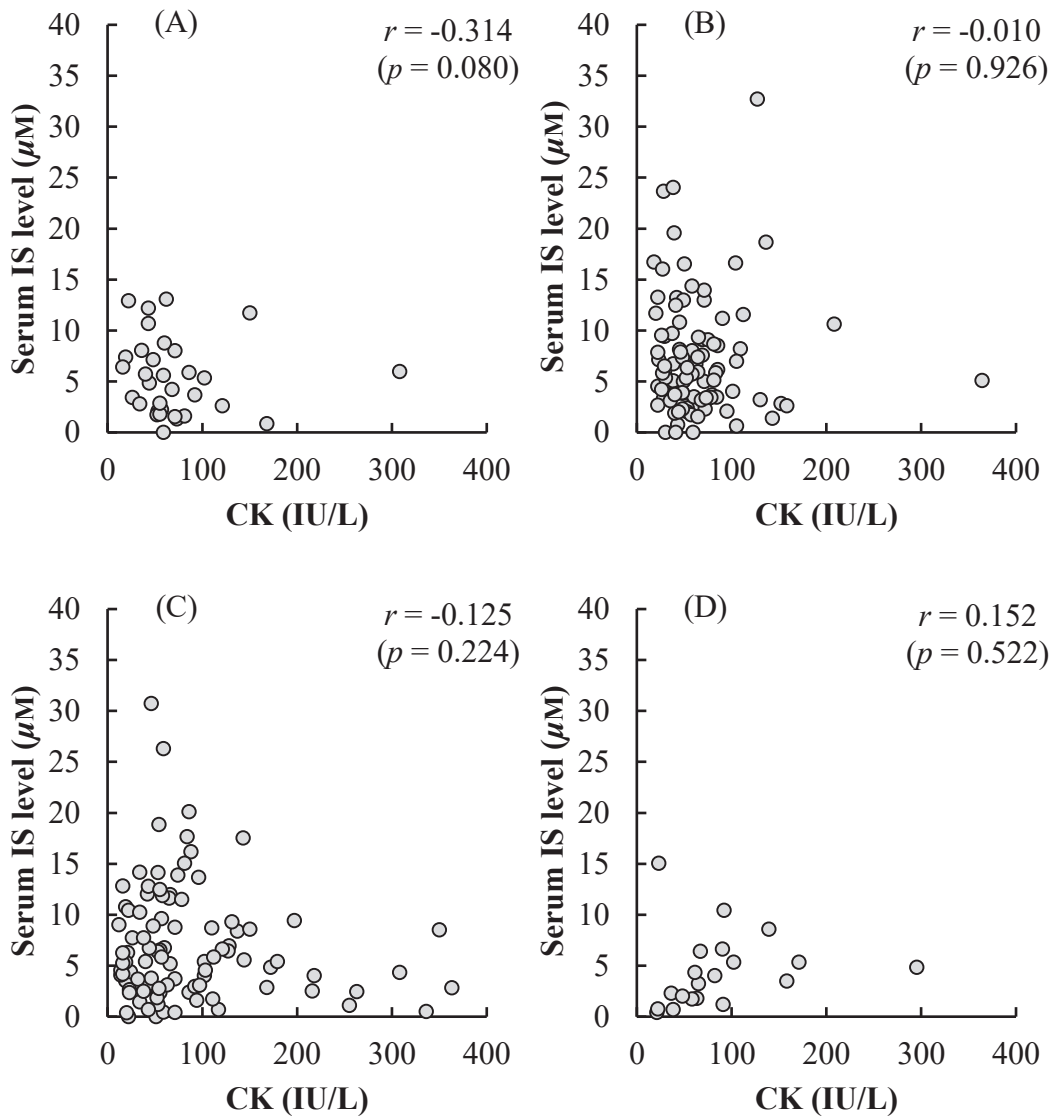


Fig. 17. Correlation between Serum IS Levels and CK Values

A : pravastatin (n = 32), B : rosuvastatin (n = 95), C : atorvastatin (n = 96),

D : pitavastatin (n = 20).

Each point represents the individual data of patients in each group.

第5項 各CKDステージにおけるCK値と血清中IS濃度の相関性

243名の対象患者を腎機能の状態からG1からG4までの5段階のCKDステージに分け、各ステージにおけるCK値と血清中IS濃度との相関性を検討した。得られた相関係数 r は、G1で0.182 ($p = 0.533$), G2で-0.063 ($p = 0.576$), G3aで-0.142 ($p = 0.215$), G3bで-0.051 ($p = 0.725$), G4で0.517 ($p < 0.028$)であり、CKDステージG4において有意な正の相関が認められた (Fig. 18).

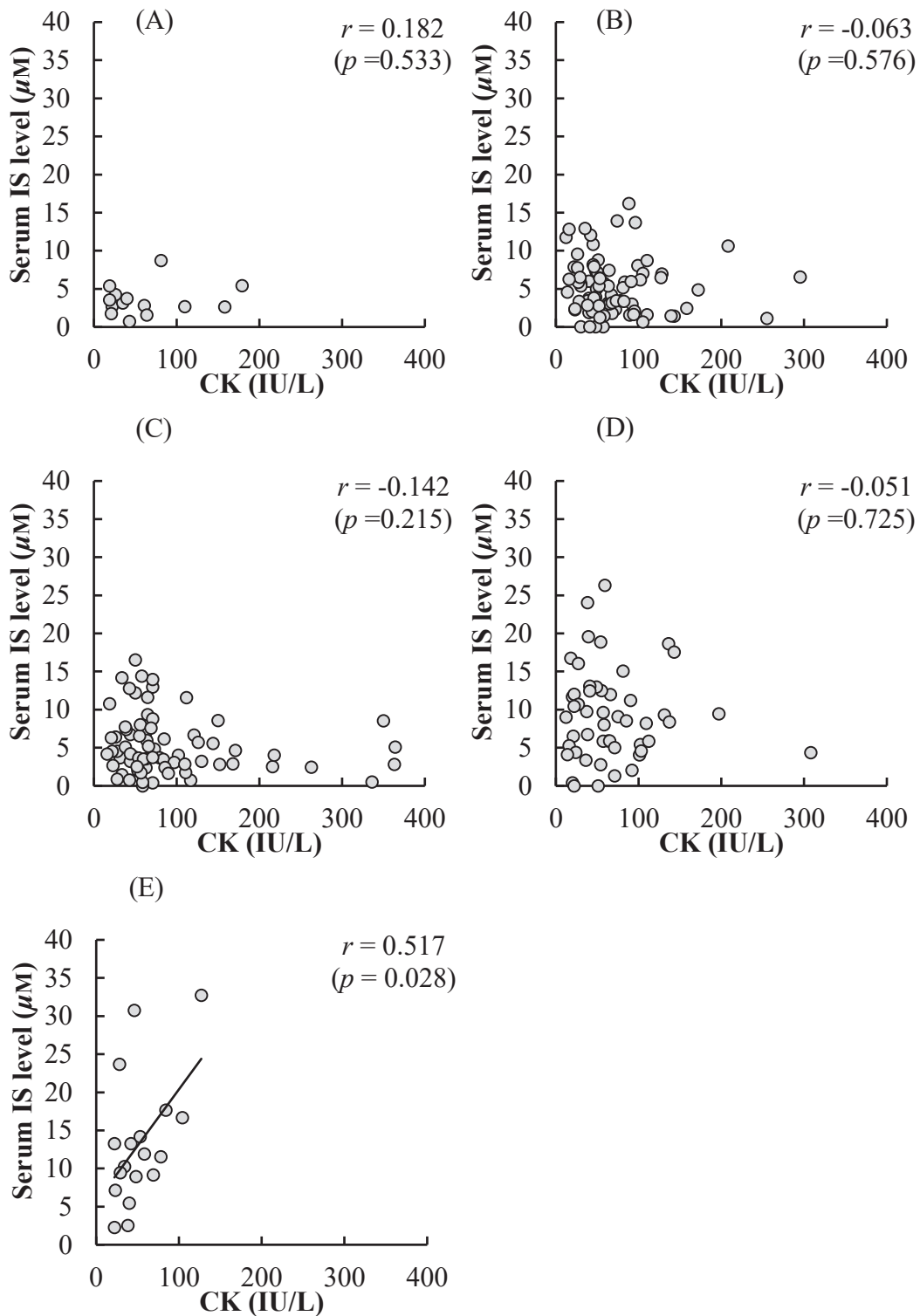


Fig. 18. Correlation between Serum IS Levels and CK Values among Five CKD Stages

A : G1 (n = 14), B : G2 (n = 81), C : G3a (n = 78), D : G3b (n = 50),

E : G4 (n = 18).

Each point represents the individual data of subjects in each group.

第4節 考察

本章では、腎機能の低下に伴って血中濃度が上昇する IS が、スタチン系薬による横紋筋融解症のリスクを高める要因になるか否かを明らかにするために、横紋筋融解症の指標とされる CK 値と血清中 IS 濃度の相関性を検討した。

まず、本検討における対象患者の血清中 IS 濃度と腎機能検査値の相関性を確認した結果、血清中 IS 濃度は弱いながらも Scr と BUN との間に有意な正の相関を、また eGFR との間には有意な負の相関を示すことが示された (Fig. 14)。これらの結果は、腎機能が低下するに伴い血清中 IS 濃度が上昇する、すなわち IS が体内に蓄積するという第1部第1章の結果を反映するものであった。

このことを踏まえ、CK 値と血清中 IS 濃度の相関性を、①全対象患者 243 名で、②水溶性スタチン系薬服用群と脂溶性スタチン系薬服用群間で、③各スタチン系薬服用群間で評価した。その結果、ピタバスタチンの場合 (Fig. 17D) を除き、いずれも負の相関、すなわち血清中 IS 濃度が高くなるにつれて CK 値が低値を示すという整合性のない結果となった (Figs. 15, 16 & 17)。

Fig. 15~17 の検討では、CKD ステージ G1~G4 の患者を分けることなく一括して評価に用いた。そこで次に、各ステージ毎に CK 値と血清中 IS 濃度の相関性を検討した。その結果、Fig. 18 に示すように、G1, G2, G3a, G3b の各 CKD ステージでは相関が得られなかったが、CKD ステージ G4 では有意な正の相関が得られた (Fig. 18E)。*In vitro* の研究で IS が OATPs を直接阻害すること、あるいは OATPs の発現を抑制することが報告されている。^{64, 69)} 本検討ではスタチン系薬の血中濃度を測定していないが、これらの先行研究に従えば、この結果は OATPs に対する IS の作用によりスタチン系薬の肝細胞への取り込みが阻害されて血中からの消失が遅延し、それが横紋筋融解症の指標となる CK 値の上昇に繋がった可能性を示唆した。ただ、本検討では CKD ステージ G4 に属する対象患者数が限定的であったことから、他の CKD ステージで同様な結果が得られなかった要因を含め、更なる検討が必要である。

第3部 ラットにおけるプラバスタチンの肝輸送に対するISおよびシクロスポリンの阻害効果の比較

第1節 緒言

今日まで *in vitro* の研究において IS と薬物との様々な相互作用が検討されてきた。IS は腎尿細管上皮細胞血管側膜に存在する OAT1 や OAT3 を介して尿細管分泌を受けることから、この過程において種々のアニオン性薬物と相互作用が起こる可能性が指摘されている。その一方で、Fujita ら⁷⁰⁾ は、OATPs を発現させたヒト胎児腎由来細胞株 293 (human embryonic kidney cell, HEK) 293 において IS がイリノテカンの活性代謝物である 7-エチル-10-ヒドロキシカンプトテシン(SN-38) の取り込みを直接阻害したことを報告している。また、Katsube ら⁷¹⁾ は OATPs を発現させた HEK293 において IS は、濃度依存的に SN-38 の取り込みを減少させたと報告している。

CKD 患者は病状の進展に伴い様々な合併症を併発する。腎移植患者の術前合併症に関する調査では、高血圧症 55.2%、貧血 22.7%、糖尿病 22.9%、脂質異常症 13.7% と報告された。⁷²⁾ したがって、重度 CKD 患者は多種多様な薬剤を併用している割合が高いことが考えられる。OATPs が肝細胞に見出されて以来、その輸送特性について多くの研究がなされ、数々のアニオン性薬物が OATPs の基質となることが主に *in vitro* の研究で示されてきた。したがって、*in vitro* の実験における IS の阻害効果が *in vivo* レベル、すなわち CKD 患者の体内でどの程度再現されるかを明らかにすることは臨床上大変重要な意味を持つ。また、IS は OATPs の発現をダウンレギュレートすることを示す結果も報告されている。⁶⁹⁾ それゆえに、患者体内では直接的な OATP 阻害効果と発現抑制のいずれが優先的に起こるかを把握することも、CKD 患者における適切な薬物療法を推進する上で重要である。

第2部第2章で、IS が肝 OATPs の輸送活性に影響を及ぼすか否かについて、スタチン系薬を服用する患者の CK 値との相関性の観点から検討した。しかしながら、CKD ステージ G4 の患者群で血清中 IS 濃度と CK 値との間に有意な相関が見られたものの、IS の OATPs に対する影響を明確にはできなかった、そこで第3部では、ラットに IS とプラバスタチンを静脈内投与し、プラバスタチンの血中動態ならびに胆汁中排泄挙動を評価することで、IS による OATPs の直接的な阻害効果

の有無を検討することとした。なお、比較のために、OATPsを阻害することがすでに明らかになっており、^{73, 74)} IFにもプラバスタチンとの相互作用が明記されている⁷⁵⁾ CyAを用い、同様の検討を行った。

第2節 実験方法

第1項 使用薬物および試薬

本章で新たに用いた薬物は以下の通りである。

プラバスタチンナトリウム塩水和物 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)

シクロスポリン水和物 (和光純薬工業, 大阪)

これらの構造式を Fig. 19 に示す。その他の試薬および溶媒は、すべて市販の特級規格品を用いた。

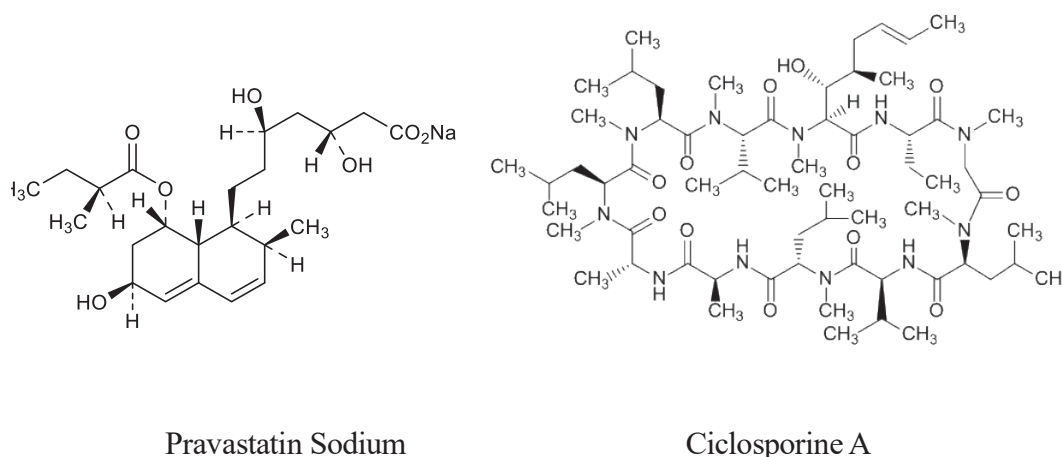


Fig. 19. Chemical Structures of Drugs Used in This Study

第2項 ラットへのプラバスタチンと IS の静脈内投与

(1) 実験動物

実験動物には Sprague-Dawley 系雄性ラット (200~650 g, ホクドー, 札幌) を用いた。動物実験は北海道医療大学動物実験センターの承認を得、北海道医療大学動物実験規定に従って行った。

(2) 薬物溶液の調製

プラバスタチンはポリエチレングリコール 400 と生理食塩液の 1 : 1 混液に溶解し、濃度は 1 mM とした。IS は生理食塩液にて溶解し、濃度は 11.5 mM または 60 mM とした。CyA はエタノールと生理食塩液の 1 : 1 混液に溶解し、濃度は 10 mg/mL とした。

(3) 投与実験

ラットを15～18時間絶食した後、ペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与 (40 mg/kg) することにより麻酔し、解剖台に固定した。ISの単独投与実験では投与量を23 $\mu\text{mol/kg}$ または120 $\mu\text{mol/kg}$ とし、テルモシリンジ (容量1 mL, 針サイズ26G \times 1/2") を用いて頸静脈より投与した。ISの投与直前および投与後2, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120分にIS投与を行っていない側の頸静脈よりヘパリンナトリウム (味の素ファルマ, 東京) で処理したシリンジを用いて0.4 mLずつ採血した。採取した血液は遠心分離 (5,400 g, 15分, 5°C) して血漿画分を得た。得られた血漿は定量時まで-30°Cで保存した。得られた血漿50 μL に生理食塩液50 μL およびメタノール200 μL を加えて十分に攪拌後、氷冷下で10分放置して遠心分離 (5,400 g, 10分, 5°C) し、得られた上清中のIS濃度を測定した。

IS とプラバスタチンまたは CyA とプラバスタチンの併用実験では、IS または CyA をプラバスタチン投与直前に頸静脈より投与した。プラバスタチンの投与量は 2 $\mu\text{mol/kg}$, IS の投与量は 23 $\mu\text{mol/kg}$ または 120 $\mu\text{mol/kg}$, CyA の投与量はヒトにおける臨床用量を基に 5 mg/kg とした。胆汁は、麻酔下に腹部正中線に沿って開腹した後、胆管にポリエチレンチューブ (i.d. : 0.28 mm, Becton Dickinson, NJ, USA) を挿入し、プラバスタチン投与後 120 分まで 30 分間隔で採取した。胆汁量はシリンジを用いて測定した。採取した胆汁 20 μL に超純水980 μL を加えて希釈した後、50 μL を取り生理食塩液 50 μL とメタノールを 100 μL 加えて十分に攪拌後、氷冷下で 10 分放置して遠心分離 (5,400 g, 10分, 5°C) し、得られた上清中のプラバスタチン濃度を測定した。

第3項 血漿中 IS 濃度の測定

IS の定量は全て HPLC-UV 法にて行い、その分析条件を Table 8 に示した。なお、血液由来のブランクピークの干渉を排除するため、第1部、第1章、第3項に示した条件を若干変更した。

Table 8. HPLC Conditions for IS Assay

Apparatus	Shimadzu LC-10AT _{VP} (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Detector	Shimadzu SPD-10A _{VP} (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Injection volume	40 μ L
Column	Cosmosil 5C ₁₈ AR- II (5 μ m, 4.6 mm i.d. \times 150 mm, Nacalai tesque Inc., Kyoto, Japan)
Column temperature	50°C
Wave length	282 nm
Mobile phase	0.05 M KH ₂ PO ₄ : CH ₃ OH = 9 : 1
Flow rate	1.0 mL/min
Retention time	11 min

第4項 血漿中並びに胆汁中プラバスタチン濃度の測定

プラバスタチンの定量は全て HPLC-UV 法にて行った。その分析条件を Table 9 に示した。

Table 9. HPLC Conditions for Pravastatin Assay

Apparatus	Shimadzu LC-10AS (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Detector	Shimadzu SPD-10A (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Injection volume	40 μ L
Column	Inertsil ODS-3 (5 μ m, 4.6 mm i.d. \times 250 mm, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan)
Column temperature	40°C
Wave length	238 nm
Mobile phase	2.5 mM CH ₃ COONH ₃ : CH ₃ CN = 7 : 3
Flow rate	1.0 mL/min
Retention time	11 min

第5項 AUC および V_d の算出

Yamaoka ら⁷⁶⁾によって開発された、血中濃度解析プログラム MULTI を用いて

2-コンパートモデル ($C_p = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t}$) による当てはめを行い、初期血漿中濃度 (C_0) を算出した。薬物投与後 120 分までの血漿中濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{i.v., 0-120}$) は台形法により算出した。分布容積 (V_d) は投与量と C_0^{-1} の積により算出した。

第 6 項 統計処理

結果は平均値または平均値 \pm 標準誤差 (mean \pm S.E.) で示した。なお、有意差検定は Student's *t*-test または Dunnett 検定にて行い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

第3節 結果

第1項 IS 静脈内投与後の血中濃度推移

まず IS をラットに単独で単回静脈内投与し、その血漿中濃度推移を評価した (Fig. 20). 23 $\mu\text{mol/kg}$ 投与群における C_0 は $190.87 \pm 7.40 \mu\text{M}$, 投与後 120 分 (C_{120}) での血漿中濃度は $20.74 \pm 3.65 \mu\text{M}$ であった. 一方, 120 $\mu\text{mol/kg}$ 投与群における C_0 は $630.40 \pm 80.83 \mu\text{M}$, C_{120} は $107.26 \pm 19.08 \mu\text{M}$ であった.

両投与量の間にはすべての測定時間において有意差が認められた.

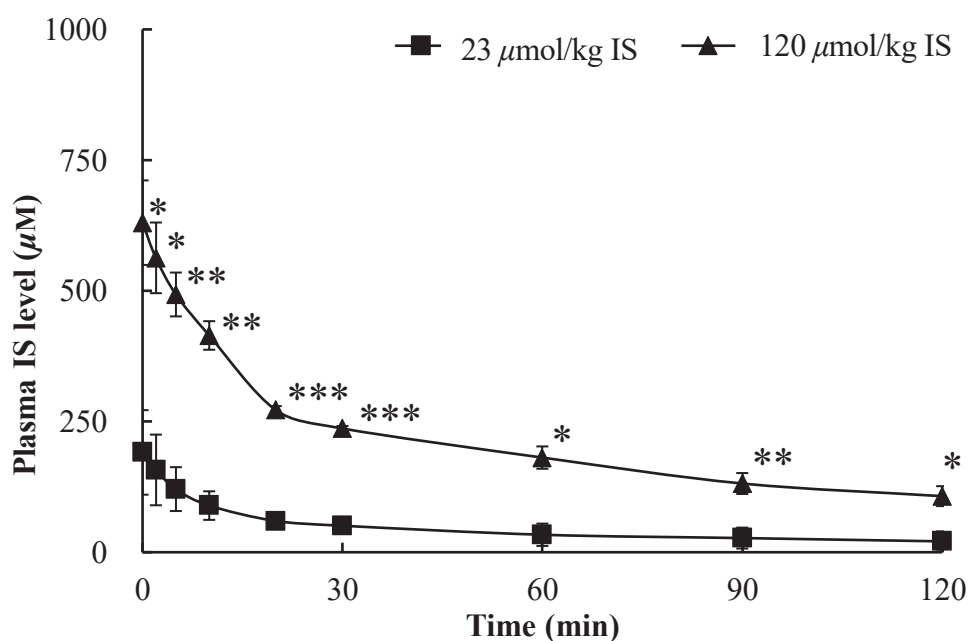


Fig. 20. Plasma Concentrations versus Time Profiles of IS after Intravenous Administration to Rats

Each point represents the mean with S.E. of 3-4 experiments.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, significantly different from 23 $\mu\text{mol/kg}$ IS.

第2項 プラバスタチンの血漿中濃度推移に対するISの影響

プラバスタチンを単独またはIS併用でラットに静脈内投与した場合の血漿中濃度推移を Fig. 21 に、 $AUC_{i.v.,0-120}$ および V_d を Table 10 に示した。

プラバスタチンを単独投与群されたラット群における C_0 は $5.02 \pm 0.80 \mu\text{M}$ 、 C_{120} は $0.13 \pm 0.07 \mu\text{M}$ であった。

一方、 $23 \mu\text{mol/kg}$ のIS併用群における C_0 は $7.27 \pm 3.75 \mu\text{M}$ 、 C_{120} は $0.04 \pm 0.02 \mu\text{M}$ であった。また、 $120 \mu\text{mol/kg}$ のIS併用群における C_0 は $4.96 \pm 0.19 \mu\text{M}$ 、 C_{120} は $0.07 \pm 0.04 \mu\text{M}$ であった。

プラバスタチンはIS併用の有無に関わらず、投与後30分までに血漿中から大部分が消失し、60分以降血漿中にほとんど検出されなくなった (Fig. 21)。IS併用時におけるプラバスタチンの $AUC_{i.v.,0-120}$ は、 $23 \mu\text{mol/kg}$ 併用群で単独投与時の65.1%、 $120 \mu\text{mol/kg}$ 併用群で単独投与時の64.8%まで減少したが、有意差は認められず、 V_d には有意な変化はみられなかった (Table 10)。

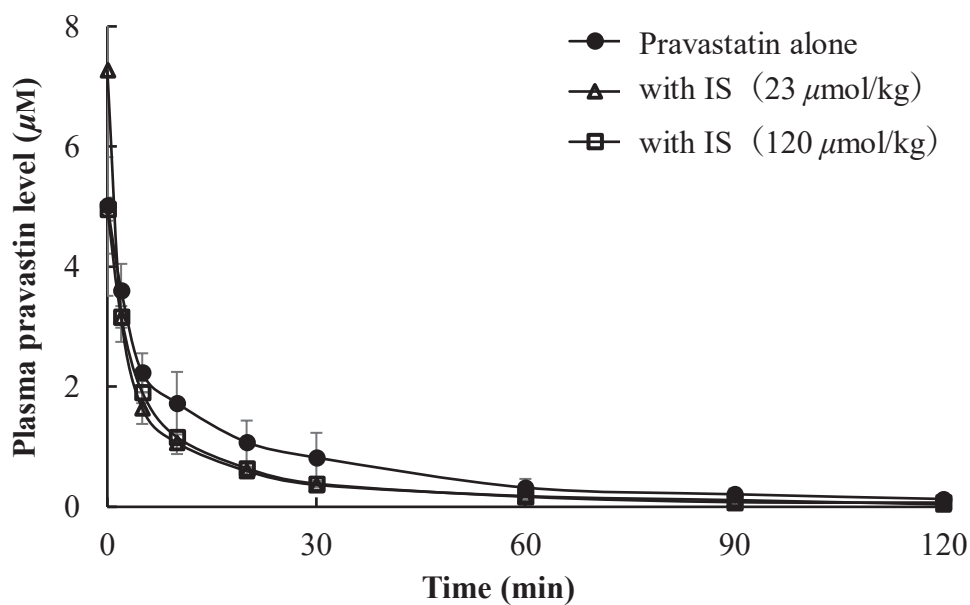


Fig. 21. Plasma Concentrations versus Time Profiles of Pravastatin after Intravenous Administration to Rats with or without IS

Each point represents the mean \pm S.E. (pravastatin alone : n = 4, with IS : n = 3).

Table 10. Pharmacokinetic Parameters of Pravastatin after Intravenous Administration to Rats with or without IS

	AUC _{i.v.,0-120} (μ mol \cdot min/L)	V_d (L/kg)
Pravastatin alone	79.9 \pm 25.9	0.42 \pm 0.05
with IS (23 μ mol/kg)	52.0 \pm 1.6	0.43 \pm 0.15
with IS (120 μ mol/kg)	51.8 \pm 5.0	0.41 \pm 0.02

Each data represents the mean \pm S.E. (pravastatin alone : n = 4, with IS : n = 3).

第3項 プラバスタチンの胆汁中排泄に対するISの影響

プラバスタチンをラットに静脈内投与後の累積胆汁中排泄率を Fig. 22 に示した。プラバスタチン単独投与時、30 分後および 120 分後における累積胆汁中排泄率はそれぞれ投与量の $49.7 \pm 3.4\%$ 、 $55.4 \pm 4.8\%$ であった。 $23 \mu\text{mol/kg}$ または $120 \mu\text{mol/kg}$ の IS を併用した場合、投与後 30 分における累積排泄率はそれぞれ $51.5 \pm 2.0\%$ 、 $48.2 \pm 2.0\%$ であり、IS 併用による有意な変化は認められなかった。

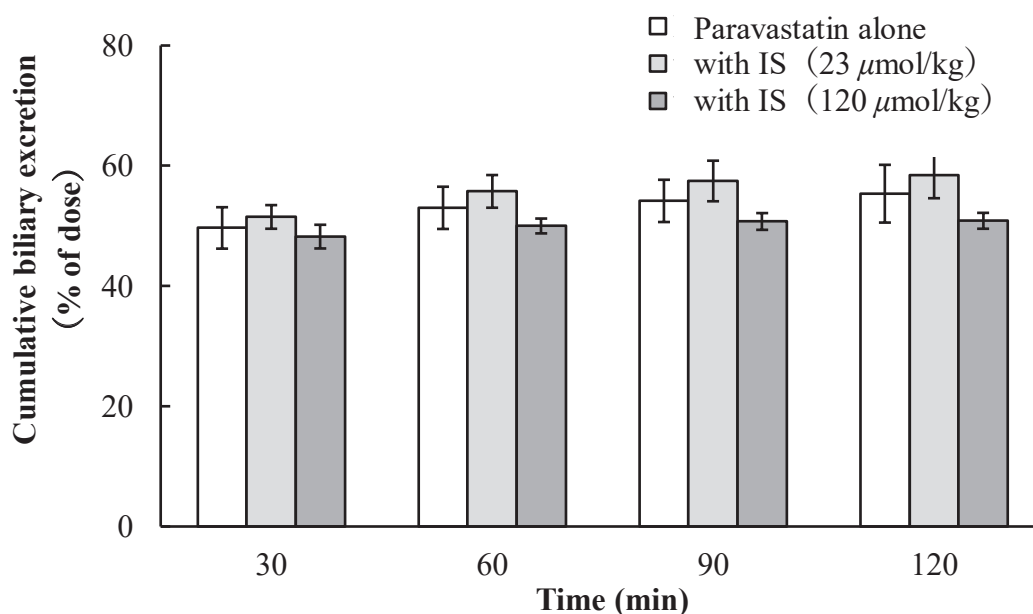


Fig. 22. Cumulative Biliary Excretion of Pravastatin after Intravenous Administration to Rats with or without IS

Each column represents the mean or mean \pm S.E. (pravastatin alone : $n = 4$, with IS : $n = 3$).

第4項 プラバスタチンの血漿中濃度推移に対する CyA の影響

プラバスタチン単独投与時および CyA 併用時における血漿中濃度推移を Fig. 23 に、 $AUC_{i.v., 0-120}$ および V_d を Table 11 に示した。

CyA 併用群における C_0 は $4.79 \pm 1.52 \mu\text{M}$ 、 C_{120} は $0.23 \pm 0.05 \mu\text{M}$ であった。

CyA を併用した場合、プラバスタチンの $AUC_{i.v., 0-120}$ は、単独投与群に比べて 92.3%まで減少したが、有意差は認められなかった。一方、 V_d は 2.2 倍に増加した。

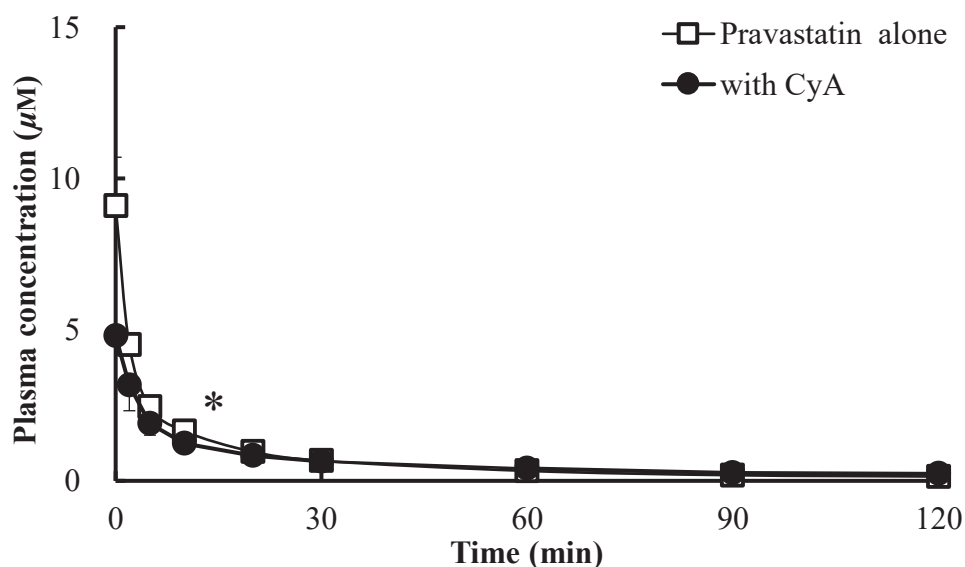


Fig. 23. Plasma Concentration versus Time Profiles of Pravastatin after Intravenous Administration to Rats with or without CyA

Each point represents the mean \pm S.E. (pravastatin alone : $n = 8$, with CyA : $n = 4$).

* $p < 0.05$, significantly different from pravastatin alone.

Table 11. Pharmacokinetic Parameters of Pravastatin after Intravenous Administration to Rats with or without CyA

	$AUC_{i.v., 0-120}$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{min/L}$)	V_d (L/kg)
Pravastatin alone	81.92 ± 4.71	0.27 ± 0.04
with CyA	75.62 ± 5.76	0.59 ± 0.20

Each data represents the mean \pm S.E. (pravastatin alone : $n = 8$, with CyA : $n = 4$).

第5項 プラバスタチンの胆汁中排泄に対する CyA の影響

プラバスタチン単独投与時および CyA 併用時における投与後 120 分までの累積胆汁中排泄率を Fig. 24 に示した. CyA を併用した場合, 投与後 30 分における累積排泄率は $30.6 \pm 2.7\%$ から $13.8 \pm 3.8\%$ へ, 投与後 120 分における累積排泄率は $32.9 \pm 3.1\%$ から $16.7 \pm 3.8\%$ へ有意に減少した.

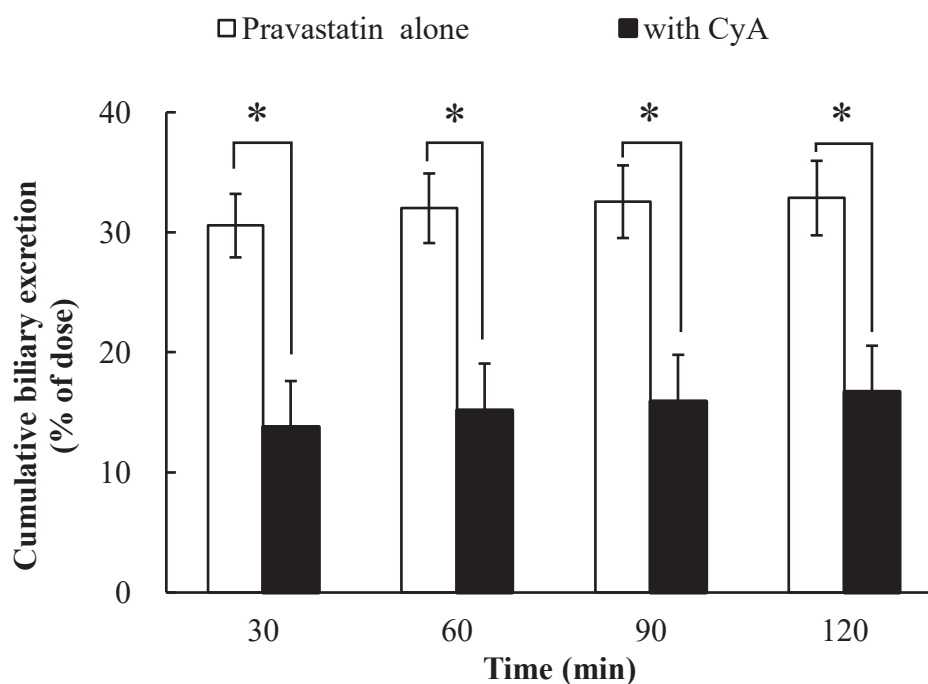


Fig. 24. Cumulative Biliary Excretion of Pravastatin after Intravenous Administration to Rats with or without CyA

Each column represents the mean \pm S.E. (pravastatin alone : n = 8, with CyA : n = 4).

* $p < 0.05$, significantly different from pravastatin alone.

第4節 考察

当研究室で以前、札幌東徳洲会病院に通院中の外来血液透析患者の血漿中 IS 濃度を測定した検討において、透析前血漿中 IS 濃度の最大値および最小値は 358.4 μM 、8.9 μM で、平均血漿中 IS 濃度は $157.9 \pm 19.9 \mu\text{M}$ であった。³⁶⁾ これと同様に、Niwa ら³⁰⁾ は透析患者 80 名の血清中総 IS 濃度を測定し、透析前は平均 153.1 μM であったと報告している。また別の報告³¹⁾ では、血液透析直前で $129.6 \pm 77.5 \mu\text{M}$ であった。

透析患者におけるこれらの報告を基に、ラットの血漿中 IS 濃度を血液透析患者と同程度 (約 150 μM) とするために、まず IS の投与量について検討を加えた。IS の投与量を 23 $\mu\text{mol/kg}$ または 120 $\mu\text{mol/kg}$ として静脈内投与した場合の平均血漿中 IS 濃度は、投与後 2 分でそれぞれ $190.9 \pm 7.4 \mu\text{M}$ 、 $630.4 \pm 80.8 \mu\text{M}$ 、投与後 120 分で $20.7 \pm 3.7 \mu\text{M}$ 、 $107.2 \pm 19.1 \mu\text{M}$ であった。120 $\mu\text{mol/kg}$ 投与群は 120 分後でも IS が高濃度で維持されていたことから、IS を 120 $\mu\text{mol/kg}$ で投与すると血液透析患者の血液中と類似した状態になると推察された。また、23 $\mu\text{mol/kg}$ 投与群における 120 分後の平均血清中 IS 濃度は、第 1 部第 1 章における CKD ステージ G4 群の平均血清中 IS 濃度 $15.4 \pm 2.3 \mu\text{M}$ とほぼ同様であった。したがって、23 $\mu\text{mol/kg}$ 群の血清中 IS 濃度は、透析導入前患者の血清中 IS 濃度と類似すると推察された。

IS は OAT により尿細管分泌を受けることから、⁷⁷⁾ その過程においてアニオン性薬物と相互作用を引き起こす。¹⁷⁾ また、MRP2 や OATPs に対する阻害作用も報告されている。⁷⁸⁾ このように IS は、様々なトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性があるが、*in vivo* における相互作用の報告はこれまで少なく、薬物の体内動態に対する IS の影響については不明な点が多い。そこで本章では、プラバスタチンを IS と共にラットに単回静脈内投与し、プラバスタチンの血漿中濃度推移および胆汁中排泄挙動の変化について検討した。

临床上、プラバスタチンは経口的に投与されるが、今回の検討でラットに単回静脈内投与すると、投与後 30 分までに血漿中から大部分が消失し、60 分以降血漿中にはほとんど検出されなかった (Fig. 21)。一方、胆汁中には最初の 30 分間で投与量の約 50% が排泄されたにもかかわらず、30 分以降その値はほとんど変化せず、プラバスタチンの胆汁中排泄は、それ自身が血漿からほぼ完全に消失したときに終了したと考えられる (Fig. 22)。

これらの結果は、プラバスタチンが血液中から肝細胞に極めて速やかに取り込まれて胆汁中に輸送されることを強く示唆しており、ラットにおけるプラバスタチンの体内動態には肝細胞に存在する Oatps や Mrp2 が密接に係わっていることを良く反映すると考えられた。

プラバスタチンと IS の併用時、プラバスタチンの血漿中濃度が単独投与時に比べ若干減少する傾向にあり、 $AUC_{i.v., 0-120}$ は単独投与時に比べ $23 \mu\text{mol/kg}$ 併用群、 $120 \mu\text{mol/kg}$ 併用群ともに減少したが有意差がなく、また V_d にも有意な変化は見られなかった (Table 10)。また、IS 併用時、プラバスタチンの累積胆汁中排泄率に有意な変化は認められなかった (Fig. 22)。以前当研究室において、プラバスタチンのアルブミン結合に対する IS の影響について限界ろ過法により検討したところ、プラバスタチンの結合率が有意に低下することを見出した。³⁶⁾ この知見を踏まえると、Fig. 21 の結果は IS の併用によってプラバスタチンのタンパク結合率が低下して遊離型が増加し、血中からの消失が促進されたことを反映すると考えられた。また、 $120 \mu\text{mol/kg}$ の IS 併用時にプラバスタチンの血中濃度の上昇ならびに胆汁中排泄の減少が認められなかったことから、ラットへの単回投与時に IS が Oatps や Mrp2 を阻害する可能性は低いと判断された。

CyA は、添付文書にも示されるように、多くの薬物との間で相互作用が報告されている。これは、CyA 自身が CYP3A4 の基質であることに加えて、CYP3A4 あるいは P-糖タンパク質を阻害する性質を有すること、⁷⁹⁻⁸¹⁾ さらには OATP1B1、OATP1B3、MRP2、BCRP の阻害剤にもなり得ることなどに起因する。一般にプラバスタチンは薬物相互作用が比較的少ない薬物と見なされているが、⁸²⁾ 添付文書上 CyA とは併用注意である。両薬物間での相互作用の機序として、CyA による OATP1B1 や OATP1B3 の阻害が指摘されている。^{73,74)} この情報に従えば、本検討においてラットにプラバスタチンと CyA を投与した場合に、プラバスタチンの肝クリアランスが低下し、血中濃度の上昇が起こることが予測された。しかしながら、Fig. 23 に示されたように、CyA 併用時にプラバスタチンの血漿中濃度が上昇するという結果は得られなかった。

以前当研究室で、OATP1B1、OATP1B3 に認識されて肝細胞内に輸送されることが明らかにされているミコフェノール酸グルクロニド体 (mycophenolic acid glucuronide, MPAG)⁸³⁾ の血漿中濃度推移および胆汁中排泄挙動に対する CyA の影

響を、本検討と同一の CyA 投与量で評価したところ、CyA の併用により MPAG の血漿中濃度が有意に増加し、胆汁中排泄率が有意に減少することを見出した。⁸⁴⁾ これは、MPAG の OATP1B1, OATP1B3 による肝取り込みが CyA によって阻害され、これに伴い胆汁中排泄率も大きく減少したと考えられた。この結果に基づくと、CyA は OATP1B1 や OATP1B3 を阻害しているが、その影響がプラバスタチンには現れなかったことになる。この要因については更なる検討が必要であるが、現時点ではプラバスタチンが OATP1B1 や OATP1B3 に比べて CyA による阻害を受けにくい OATP2B1 によって効率良く肝細胞内に輸送されていることを示唆すると考えられた。CyA は肝胆管側膜上の MRP2 を阻害することから、Fig. 24 の結果はこの機序に因ると見なすことができる。ただし、CyA を繰り返し投与することで徐々に OATP2B1 に対する阻害効果が強まり、CyA とプラバスタチンによる相互作用が臨床で惹起される可能性は十分に残されている。

結 論

本研究から得られた知見を以下にまとめる。

腎機能低下者における血清中 IS 濃度と腎機能検査値との相関性について

1. 末期腎不全状態になると血清中 IS 濃度が顕著に上昇する。
2. 血清中 IS 濃度と Scr, eGFR および BUN との間に弱いながらも有意な相関が認められたことから、血清中 IS 濃度の上昇は腎機能低下と密接に関連する。

腎機能低下者における認知機能低下と血清中 IS 濃度との相関性について

1. 非認知症群では血清中 IS 濃度と eGFR との間に良好な有意の相関関係が得られたのに対して、認知群では相関が全く見られなかった。
2. 認知症群では早期の CKD ステージから血清中 IS 濃度の上昇が起きると予測されるので、高齢者では血清中 IS 濃度を CKD の早期でモニタリングし、高値を示す高齢者への適切な対応を考慮する必要がある。

スタチン系薬服用患者における CK 値と腎機能検査値との相関性について

腎機能低下により UTs が蓄積し、それが OATPs に作用することによりスタチン系薬の血中濃度が上昇し、それにより筋肉関連副作用が発現して CK 値が上昇すると仮定し腎機能検査値との相関性を評価したが、有意性は見いだせなかった。

スタチン系薬服用患者における CK 値と血清中 IS 濃度との相関性について

CKD ステージ G4 群において、CK 値と血清中 IS 濃度との間に正の相関が得られたことから、腎機能が悪化して血清中 IS 濃度が上昇する患者で、スタチン系薬による副作用発現のリスクが高まる可能性が示された。

プラバスタチンの血中動態と胆汁中排泄挙動に対する IS と CyA の影響について

1. 単回投与された IS は、肝 Oatps によるプラバスタチンの肝取り込みならびに Mrp2 によるプラバスタチンの胆汁中排泄を阻害しない。
2. CyA は、単回投与では肝 OATPs を介したプラバスタチンの肝取り込みに影響を与えず、MRP2 に対しより強い阻害作用を示して胆汁中排泄を阻害する。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究に際して終始懇切なるご指導ご鞭撻を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 齊藤浩司教授に心より深く感謝いたします。

本論文の主査としてご審査賜り、また発表の際の座長としてご助言を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 小林道也教授に深く御礼申し上げます。

また、副査として本論文のご審査を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 吉村昭毅教授、北海道医療大学大学院薬学研究科 平野剛教授に心より感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、終始有益なご指導ご支援を賜り、副査としてご審査を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 小田雅子准教授に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、終始有益なご指導ご支援を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 市村祐一助教に深く感謝いたします。

本研究の実施にあたり、終始有益なご支援を賜り、種々の検討にご協力いただきました青木志織学士、大塚さとみ学士、菅谷香緒里学士に深く感謝いたします。

本研究の実施にあたり、終始有益なご支援、ご協力をいただきました、札幌臨床検査センター株式会社の皆様に深く感謝いたします。

本研究の実施にあたり、終始有益なご支援、ご協力をいただきました、いずみ会北星館施設長 藤本博生先生をはじめ、スタッフの皆様に深く感謝いたします。

本研究の実施にあたり、終始有益なご支援、ご協力をいただきました、いずみ会北星病院理事長 遠藤昭先生をはじめ、臨床検査科 三上紗世氏をはじめとする臨床検査科の皆様、薬剤科科長 大沼利次氏、係長 佐々木和代氏、武田容加氏に深く感謝いたします。

本研究の実施にあたり、暖かいご支援を賜りました北海道腎と薬剤研究会会長 武田清孝先生をはじめ、顧問、理事の皆様にご協力いただき深く感謝いたします。

本研究に際し、終始多大なるご協力と暖かいご支援を賜りました北海道医療大学薬学部薬剤学講座（薬剤学）の皆様にご協力いただき感謝いたします。

本研究の実施にあたり、終始有益なご指導、暖かいご支援を賜りました須賀好子修士に深く感謝いたします。

令和2年3月

須賀 秀行

引用文献

- 1) 日本腎臓学会, “エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2018”, 東京医学社, 東京 (2018).
- 2) Go A. S., Chertow G. M., Fan D., McCulloch C. E., Hsu C. Y., Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization., *N. Engl. J. Med.*, **351**, 1296-1305 (2004).
- 3) Jha V., Garcia-Garcia G., Iseki K., Li Z., Naicker S., Plattner B., Saran R., Wang A. Y. M., Yang C. W., Chronic kidney disease: global dimension and perspectives., *Lancet*, **382**, 260-272 (2013).
- 4) 新田孝作, 政金生人, 花房規男, 谷口正智, 長谷川毅, 中井滋, 後藤俊介, 和田篤志, 濱野高行, 星野純一, 常喜信彦, 阿部雅紀, 山本景一, 中元秀友, わが国の慢性透析療法の現況 (2017年12月31日現在), *透析会誌*, **51**, 699-766 (2018).
- 5) Duranton F., Cohen G., De Smet R., Rodriguez M., Jankowski J., Vanholder R., Argiles A., Normal and pathologic concentrations of uremic toxins., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **23**, 1258-1270 (2012).
- 6) Vanholder R., De Smet R., Glorieux G., Argilés A., Baurmeister U., Brunet P., Clark W., Cohen G., De Deyn P. P., Deppisch R., Descamps-Latscha B., Henle T., Jörres A., Lemke H. D., Massy Z. A., Passlick-Deetjen J., Rodriguez M., Stegmayr B., Stenvinkel P., Tetta C., Wanner C., Zidek W., Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability., *Kidney Int.*, **63**, 1934-1943 (2003).
- 7) Neiryneck N., Vanholder R., Schepers E., Eloot S., Pletinck A., Glorieux G., An update on uremic toxins., *Int. Urol. Nephrol.*, **45**, 139-150 (2013).
- 8) Fujii H., Goto S., Fukagawa M., Role of uremic toxins for kidney, cardiovascular, and bone dysfunction., *Toxins (Basel)*, **10**, 202 (2018).
- 9) Wu I. W., Hsu K. H., Lee C. C., Sun C. Y., Hsu H. J., Tsai C. J., Tzen C. Y., Wang Y. C., Lin C. Y., Wu M. S., p-Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of chronic kidney disease., *Nephrol. Dial. Transplant.*, **26**, 938-947 (2011).

- 10) Ito S., Yoshida M., Protein-bound uremic toxins: new culprits of cardiovascular events in chronic kidney disease patients., *Toxins (Basel)*, **6**, 665-678 (2014).
- 11) Leong S. C., Sirich T. L., Indoxyl sulfate—review of toxicity and therapeutic strategies., *Toxins (Basel)*, **8**, E358 (2016).
- 12) Barreto F. C., Barreto D. V., Liabeuf S., Meert N., Glorieux G., Temmar M., Choukroun G., Vanholder R., Massy Z. A., Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients., *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **4**, 1551-1558 (2009).
- 13) Post J. B., Morin K. G., Sano M., Jegede A. B., Langhoff E., Spungen A. M., Increased presence of cognitive impairment in hemodialysis patients in the absence of neurological events., *Am. J. Nephrol.*, **35**, 120-126 (2012).
- 14) Watanabe K., Watanabe T., Nakayama M. Cerebro-renal interactions: impact of uremic toxins on cognitive function. *Neurotoxicology*, **44**, 184-193 (2014).
- 15) Niwa T., Nomura T., Sugiyama S., Miyazaki T., Tsukushi S., Tsutsui S., The protein metabolite hypothesis, a model for the progression of renal failure: an oral adsorbent lowers indoxyl sulfate levels in undialyzed uremic patients., *Kidney Int. Suppl.*, **62**, S23-S28 (1997).
- 16) Deguchi T., Kouno Y., Terasaki T., Takadate A., Otagiri M., Differential contributions of rOat1 (slc22a6) and rOat3 (slc22a8) to the *in vivo* renal uptake of uremic toxins in rats., *Pharm. Res.*, **22**, 619-627 (2005).
- 17) Deguchi T., Ohtsuki S., Otagiri M., Takanaga H., Asaba H., Mori S., Terasaki T., Major role of organic anion transporter 3 in the transport of indoxyl sulfate in the kidney., *Kidney Int.*, **61**, 1760-1768 (2002).
- 18) Taki K., Nakamura S., Miglinas M., Enomoto A., Niwa T., Accumulation of indoxyl sulfate in OAT1/3-positive tubular cells in kidneys of patients with chronic renal failure., *J. Ren. Nutr.*, **16**, 199-203 (2006).
- 19) Wu W., Bush K.T., Nigam S. K., Key role for the organic anion transporters, OAT1 and OAT3, in the *in vivo* handling of uremic toxins and solutes., *Sci. Rep.*, **7**, 4939 (2017).

- 20) Deguchi T., Kusuhara H., Takadate A., Endou H., Otagiri M., Sugiyama Y., Characterization of uremic toxin transport by organic anion transporters in the kidney., *Kidney Int.*, **65** 162-174 (2004).
- 21) Takada T., Yamamoto T., Matsuo H., Tan J. K., Ooyama K., Sakiyama M., Miyata H., Yamanashi Y., Toyoda Y., Higashino T., Nakayama A., Nakashima A., Shinomiya N., Ichida K., Ooyama H., Fujimori S., Suzuki H., Identification of ABCG2 as an exporter of uremic toxin indoxyl sulfate in mice and as a crucial factor influencing CKD progression., *Sci. Rep.*, **8**, 11147 (2018).
- 22) Sakamoto A., Urata M., Iwakawa S., Tanaka K., Kitamura Y., Investigation on potential risk factors for adverse events associated with polypharmacy in elderly patients with chronic kidney disease., *Jpn. J. Nephrol. Pharmacother.*, **7**, 13-23 (2018).
- 23) Nolin T. D., Frye R. F., Le P., Sadr H., Naud J., Leblond F. A., Pichette V., Himmelfarb J., ESRD impairs nonrenal clearance of fexofenadine but not midazolam., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **20**, 2269-2276 (2009).
- 24) Tsujimoto M., Kinoshita Y., Hirata S., Otagiri M., Ohtani H., Sawada Y., Effects of uremic serum and uremic toxins on hepatic uptake of digoxin., *Ther. Drug Monit.*, **30**, 576-582 (2008).
- 25) Schech S., Graham D., Staffa J., Andrade S.E., La Grenade L., Burgess M., Blough D., Stergachis A., Chan K.A., Platt R., Shatin D., Risk factors for statin-associated rhabdomyolysis., *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.*, **16**, 352-358 (2007).
- 26) Pasternak R. C., Smith S. C. Jr., Bairey-Merz C. N., Grundy S. M., Cleeman J. I., Lenfant C., ACC/AHA/NHLBI clinical advisory on the use and safety of statins. *Circulation*, **106**, 1024-1028 (2002).
- 27) Ichimura Y., Takamatsu H., Ideuchi H., Oda M., Takeda K., Saitoh H., Correlations between plasma levels of anionic uremic toxins and clinical parameters in hemodialysis patients., *Yakugaku Zasshi*, **136**, 1177-1184 (2016).
- 28) Itoh Y., Ezawa A., Kikuchi K., Tsuruta Y., Niwa T., Protein-bound uremic toxins in hemodialysis patients measured by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and their effects on endothelial ROS production., *Anal. Bioanal. Chem.*, **403**, 1841-1850 (2012).

- 29) Iitaka M., Kawasaki S., Sakurai S., Hara Y., Kuriyama R., Yamanaka K., Kitahama S., Miura S., Kawakami Y., Katayama S., Serum substances that interfere with thyroid hormone assays in patients with chronic renal failure., *Clin. Endocrinol.*, **48**, 739-746 (1998).
- 30) 丹羽利充, 小沢裕子, 前田憲志, 柴田昌雄, 透析患者におけるインドキシル硫酸の動態, *透析会誌*, **21**, 951-956 (1988).
- 31) 丹羽利充, 矢澤智子, 前田憲志, 浅田博章, 慢性腎不全患者における蛋白結合性尿毒症毒素としてのインドキシル硫酸とフランカルボン酸の continuous ambulatory peritoneal dialysisによる除去, *透析会誌*, **23**, 83-87 (1990).
- 32) Niwa T., Ise M., Miyazaki T., Progression of glomerular sclerosis in experimental uremic rats by administration of indole, a precursor of indoxyl sulfate., *Am. J. Nephrol.*, **14**, 207-212 (1994).
- 33) Iwasaki Y., Yamato H., Nii-Kono T., Fujieda A., Uchida M., Hosokawa A., Motojima M., Fukagawa M., Uremic toxin and bone metabolism., *J. Bone Miner. Metab.*, **24**, 172-175 (2006).
- 34) Asai H., Hirata J., Hirano A., Hirai K., Seki S., Watanabe-Akanuma M., Activation of aryl hydrocarbon receptor mediates suppression of hypoxia-inducible factor-dependent erythropoietin expression by indoxyl sulfate., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **310**, C142-C150 (2016).
- 35) Sato T., Yamaguchi H., Kogawa T., Abe T., Mano N., Organic anion transporting polypeptides 1B1 and 1B3 play an important role in uremic toxin handling and drug-uremic toxin interactions in the liver., *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **17**, 475-484 (2014).
- 36) Ichimura Y., Takamatsu H., Ideuchi H., Oda M., Takeda K., Saitoh H., Plasma concentrations of anionic uremic toxins in hemodialysis patients and their effects on protein binding of pravastatin., *Yakugaku Zasshi*, **135**, 821-828 (2015).
- 37) Lin C. J., Chen H. H., Pan C. F., Chuang C. K., Wang T. J., Sun F. J., Wu C. J., P-cresylsulfate and indoxyl sulfate level at different stages of chronic kidney disease., *J. Clin. Lab. Anal.*, **25**, 191-197 (2011).

- 38) Shimazu S., Hirashiki A., Okumura T., Yamada T., Okamoto R., Shinoda N., Takeshita K., Kondo T., Niwa T., Murohara T., Association between indoxyl sulfate and cardiac dysfunction and prognosis in patients with dilated cardiomyopathy., *Circ. J.*, **77**, 390-396 (2013).
- 39) Eloit S., Schepers E., Barreto D. V., Barreto F. C., Liabeuf S., van Biesen W., Verbeke F., Glorieux G., Choukroun G., Massy Z., Vanholder R., Estimated Glomerular filtration rate is a poor predictor of concentration for a broad range of uremic toxins., *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **6**, 1266-1273 (2011).
- 40) Chu X., Bleasby K., Chan G. H., Nunes I., Evers R., Transporters affecting biochemical test results: Creatinine-drug interactions. *Clin Pharmacol Ther.*, **100**, 437-440 (2016).
- 41) シー・アール・シー, “尿素窒素 (BUN) が高値となるのはどんなときですか? ”: <http://www.crc-group.co.jp/crc/q_and_a/161.html>, cited 28 December, 2019.
- 42) Etgen T., Kidney Disease as a Determinant of cognitive decline and dementia., *Alzheimer's Res. Ther.*, **7**, 29 (2015).
- 43) Elias M. F., Dore G. A., Davey A., Kidney disease and cognitive function., *Contrib. Nephrol.*, **179**, 42-57 (2013).
- 44) Watanabe Y., Kitamura K., Nakamura K., Sanpei K., Wakasugi M., Yokoseki A., Kabasawa K., Onodera O., Ikeuchi T., Kuwano R., Momotsu T., Narita I., Endo N., Association between dialysis treatment and cognitive decline: A study from the Project in Sado for Total Health (PROST), Japan., *Geriatr. Gerontol. Int.*, **17**, 1584-1587 (2017).
- 45) Müting D., Studies on the pathogenesis of uremia comparative determinations of glucuronic acid, indican, free and bound phenols in the serum, cerebrospinal fluid, and urine of renal diseases with and without uremia., *Clin. Chim. Acta*, **12**, 551-554 (1965).
- 46) Sankowski B., Księżarczyk K., Raćkowska E., Szlufik S., Koziorowski D., Giebułtowicz J., Higher cerebrospinal fluid to plasma ratio of *p*-cresol sulfate and indoxyl sulfate in patients with Parkinson's disease. *Clin. Chim. Acta*, available on line, (2019).
- 47) Berger I., Wu S., Masson P., Kelly P. J., Duthie F. A., Whiteley W., Parker D., Gillespie D., Webster A. C., Cognition in chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis., *BMC Med.*, **14**, 206 (2016).

- 48) Yeh Y. C., Huang M. F., Liang S. S., Hwang S. J., Tsai J. C., Liu T. L., Wu P. H., Yang Y. H., Kuo K. C., Kuo M. C., Chen C. S., Indoxyl sulfate, not p-cresyl sulfate, is associated with cognitive impairment in early-stage chronic kidney disease., *Neurotoxicology*, **53**, 148-152 (2016).
- 49) Wong J., Piceno Y. M., DeSantis T. Z., Pahl M., Andersen G. L., Vaziri N. D., Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short-chain fatty acid-producing intestinal microbiota in ESRD., *Am. J. Nephrol.*, **39**, 230-237 (2014).
- 50) Poesen R., Windey K., Neven E., Kuypers D., De Preter V., Augustijns P., D'Haese P., Evenepoel P., Verbeke K., Meijers B.. The influence of CKD on colonic microbial metabolism., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **27**, 1389-1399 (2016).
- 51) Lehmann J., Persson S., Wålinder J., Wallin L., Tryptophan malabsorption in dementia. Improvement in certain cases after tryptophan therapy as indicated by mental behavior and blood analysis., *Acta Psychiatr. Scand.*, **64**, 123-131 (1981).
- 52) Kikuchi M., Ueno M., Itoh Y., Suda W., Hattori M., Uremic toxin-producing gut microbiota in rats with chronic kidney disease., *Nephron*, **135**, 51-60 (2017).
- 53) Iwata K., Watanabe H., Morisaki T., Matsuzaki T., Ohmura T., Hamada A., Saito H., Involvement of indoxyl sulfate in renal and central nervous system toxicities during cisplatin-induced acute renal failure., *Pharm. Res.*, **24**, 662-671 (2007).
- 54) Ohtsuki S., Asaba H., Takanaga H., Deguchi T., Hosoya K., Otagiri M., Terasaki T., Role of blood-brain barrier organic anion transporter 3 (OAT3) in the efflux of indoxyl sulfate, a uremic toxin: its involvement in neurotransmitter metabolite clearance from the brain., *J. Neurochem.*, **83**, 57-66 (2002).
- 55) Hosoya K., Tachikawa M., Roles of organic anion/cation transporters at the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers involving uremic toxins., *Clin. Exp. Nephrol.*, **15**, 478-485 (2011).
- 56) Sita G., Hrelia P., Tarozzi A., Morrioni F., P-glycoprotein (ABCB1) and oxidative stress: focus on Alzheimer's disease., *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2017**, 7905486 (2017).
- 57) メバロチン[®]錠・細粒 医薬品インタビューフォーム (第一三共株式会社) 2018年11月, 改訂第14版

- 58) リバロ[®]錠・OD錠 医薬品インタビューフォーム (興和株式会社)2019年4月, 改訂第28版
- 59) Hua W. J., Hua W. X., Fang H. J., The role of OATP1B1 and BCRP in pharmacokinetics and DDI of novel statins., *Cardiovasc. Ther.*, **30**, e234-e241 (2012).
- 60) Kellick K., Organic ion transporters and statin drug interactions., *Curr. Atheroscler. Rep.*, **19**, 65 (2017).
- 61) Tsujita Y., Kuroda M., Shimada Y., Tanzawa K., Arai M., Kaneko I., Tanaka M., Masuda H., Tarumi C., Watanabe Y., Fujii S., CS-514, a competitive inhibitor of 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase: tissue-selective inhibition of sterol synthesis and hypolipidemic effect on various animal species., *Biochim. Biophys. Acta*, **877**, 50-60 (1986).
- 62) Ellis L. C. J., Hawksworth G. M., Weaver R. J., ATP-dependent transport of statins by human and rat MRP2/Mrp2., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **269**, 187-194 (2013).
- 63) Uchiyama H., Tsujimoto M., Shinmoto T., Ogino H., Oda T., Yoshida T., Furukubo T., Izumi S., Yamakawa T., Tachiki H., Minegaki T., Nishiguchi K., Uremic toxins enhance statin-induced cytotoxicity in differentiated human rhabdomyosarcoma cells., *Toxins (Basel)*, **6**, 2612-2625 (2014).
- 64) Reyes M., Benet L. Z., Effects of uremic toxins on transport and metabolism of different biopharmaceutics drug disposition classification system xenobiotics. *J. Pharm. Sci.*, **100**, 3831-3842 (2011).
- 65) 厚生労働省, “重篤副作用疾患別対応マニュアル 横紋筋融解症” <<https://www.mhlw.go.jp/topics/2006/11/dl/tp1122-1c09.pdf>>, cited 11 January, 2020.
- 66) Kalliokoski A., Niemi M., Impact of OATP transporters on pharmacokinetics., *Br J Pharmacol.*, **158**, 693-705 (2009).
- 67) Law M., Rudnicka A. R., Statin safety: a systematic review., *Am. J. Cardiol.*, **97**, S52-S60 (2006).
- 68) Armitage J., The safety of statins in clinical practice., *Lancet*, **370**, 1781-1790 (2007).

- 69) Tsujimoto M., Hatozaki D., Shima D., Yokota H., Furukubo T., Izumi S., Yamakawa T., Minegaki T., Nishiguchi K., Influence of serum in hemodialysis patients on the expression of intestinal and hepatic transporters for the excretion of pravastatin., *Ther. Apher. Dial.*, **16**, 580-587 (2012).
- 70) Fujita K., Sugiura T., Okumura H., Umeda S., Nakamichi N., Watanabe Y., Suzuki H., Sunakawa Y., Shimada K., Kawara K., Sasaki Y., Kato Y., Direct inhibition and down-regulation by uremic plasma components of hepatic uptake transporter for SN-38, an active metabolite of irinotecan, in humans., *Pharm. Res.* **31**, 204-215 (2014).
- 71) Katsube Y., Tsujimoto M., Koide H., Ochiai M., Hojyo A., Ogawa K., Kambara K., Torii N., Shima D., Furukubo T., Izumi S., Yamakawa T., Minegami T., Nishiguchi K., Cooperative inhibitory effects of uremic toxins and other serum components on OATP1B1-mediated transport of SN-38., *Cancer Chemother. Pharmacol.* **79**, 783-789 (2017).
- 72) 日本臨床腎移植学会, 日本移植学会, 腎移植臨床登録集計報告 (2018) 2017 年実施症例の集計報告と追跡調査結果, *移植* **53**, 89-108 (2018).
- 73) Shitara Y., Takeuchi K., Nagamatsu Y., Wada S., Sugiyama Y., Horie T., Long-lasting inhibitory effects of cyclosporin A, but not tacrolimus, on OATP1B1- and OATP1B3-mediated uptake., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **27**, 368-378 (2012).
- 74) Shitara Y., Clinical importance of OATP1B1 and OATP1B3 in drug-drug interactions., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **26**, 220-227 (2011).
- 75) ネオーラル[®]内用液・カプセル 医薬品インタビューフォーム(ノバルティスファーマ株式会社) 2018 年 7 月, 改訂第 19 版
- 76) Yamaoka K., Tanigawara Y., Nakagawa T., Uno T., A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer., *J Pharmacobio-Dyn.*, **4**, 879-885 (1981).
- 77) Watanabe H., Miyamoto Y., Otagiri M., Maruyama T., Update on the pharmacokinetics and redox properties of protein-bound uremic toxins., *J. Pharm. Sci.*, **100**, 3682-3695 (2011).
- 78) Naud J., Michaud J., Boisvert C., Desbiens K., Leblond F. A., Mitchell A., Jones C., Bonnardeaux A., Pichette V., Down-regulation of intestinal drug transporters in chronic renal failure in rats., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **320**, 978-985 (2007)

- 79) Niwa T., Yamamoto S., Saito M., Shiraga T., Takagi A., Effect of cyclosporine and tacrolimus on cytochrome P450 activities in human liver microsomes., *Yakugaku Zasshi.*, **127**, 209-216 (2007).
- 80) Satoh T., Fujita K., Munakata H., Itoh S., Nakamura K., Kamataki T., Itoh S., Yoshizawa I., Studies on the interactions between drugs and estrogen: analytical method for prediction system of gynecomastia induced by drugs on the inhibitory metabolism of estradiol using escherichia coli coexpressing human CYP3A4 with human NADPH-cytochrome P450 reductase., *Anal. Biochem.*, **286**, 179-186 (2000).
- 81) Masuda S., Goto M., Kiuchi T., Uemoto S., Kodawara T., Saito H., Tanaka K., Inui K., Enhanced expression of enterocyte p-glycoprotein depresses cyclosporine bioavailability in a recipient of living donor liver transplantation., *Liver Transpl.*, **9**, 1108-1113 (2003).
- 82) Neuvonen P. J., Niemi M., Backman J. T., Drug interactions with lipid-lowering drugs: mechanisms and clinical relevance., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **80**, 565-581 (2006).
- 83) Picard N., Yee S. W., Woillard J. B., Lebranchu Y., Le Meur Y., Giacomini K. M., Marquet P., The role of organic anion-transporting polypeptides and their common genetic variants in mycophenolic acid pharmacokinetics., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **87**, 100-108 (2010).
- 84) Kobayashi M., Saitoh H., Kobayashi M., Tadano K., Takahashi Y., Hirano T., Cyclosporin A, but not tacrolimus, inhibits the biliary excretion of mycophenolic acid glucuronide possibly mediated by multidrug resistance-associated protein 2 in rats., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **309**, 1029-1035 (2004).