



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I634907 B

(45) 公告日：中華民國 107 (2018) 年 09 月 11 日

(21) 申請案號：101150260 (22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 26 日

(51) Int. Cl. : *A61K9/08 (2006.01)* *A61K31/724 (2006.01)*
A61K33/14 (2006.01) *A61P39/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2011/12/27 歐洲專利局 11195786.6

(71) 申請人：傑拓保護有限公司 (奧地利) ZYTOPROTEC GMBH (AT)
 奧地利

(72) 發明人：羅賽伊 克莉斯汀娜席微亞 RUSAI, KRISZTINA SZILVIA (HU)；艾佛瑞曲 克里
 斯多福 AUFRICHT, CHRISTOPH (AT)

(74) 代理人：李文賢

(56) 參考文獻：
 CN 1278596C WO 2008/106702A1
 J Neurochem. 2000 Dec; 75(6): 2401-2408

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：8 共 31 頁

(54) 名稱

腹膜透析液

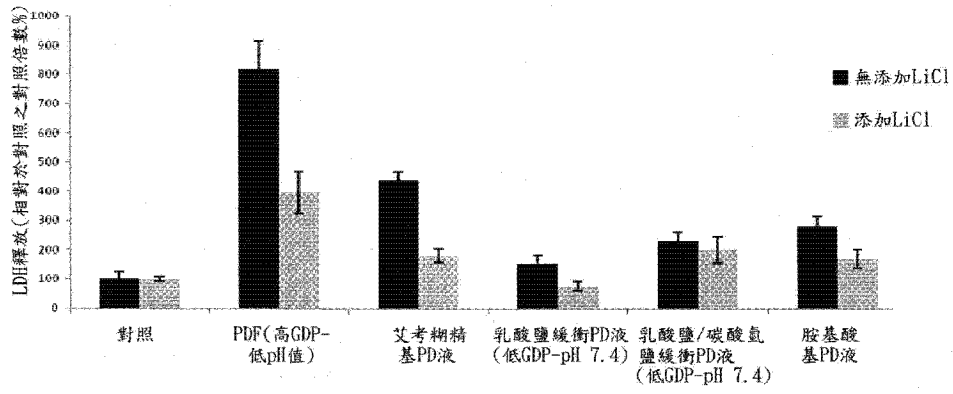
PERITONEAL DIALYSIS FLUID

(57) 摘要

本發明係關於一種腹膜透析液，其包含抑制肝糖合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3，GSK-3)活性之化合物，特別是，抑制 GSK-3 β 活性之化合物。此化合物用於預防傳染性及非傳染性腹膜併發症，諸如腹膜炎，腹膜損傷、損壞及破壞，屏障功能障礙(barrier dysfunction)及間皮細胞剝離(mesothelial cell detachment)。

The present invention relates to a peritoneal dialysis fluid comprising a compound inhibiting glycogen synthase kinase (GSK)-3 activity, in particular (GSK)-3 β activity, for use in the prevention of infectious and non-infectious peritoneal complications such as peritonitis, peritoneal membrane injury, damage and failure, barrier dysfunction and mesothelial cell detachment.

指定代表圖：



第2圖

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種腹膜透析液（下文亦稱為「PDF」）。

【先前技術】

腹膜透析（peritoneal dialysis, PD）是一種安全且低本高效之腎臟替代療法，當與血液透析相比時，亦提供較佳的生活品質。不幸的是，PD 治療經常導致膜的超過濾能力之逐步下降，而此通常與腹膜組織學變化及腹膜完整性損失相關（1）。

目前，超過三分之二的患者在頭兩年治療期間遭受 PD 相關傳染性或非傳染性併發症（諸如腹膜炎、腹膜功能退化或技術性失敗）。

不同種類之液體可用於 PD。此等液體之間的不同之處在於滲透劑之類型、其濃度及 PD 液中之緩衝液的類型與 pH 值。

仍扮演臨床實踐中之所有 PD 液的約 80% 的標準液體含有非生理學高濃度之葡萄糖作為其滲透劑。腹膜中之病理學變化主要由高滲壓高葡萄糖濃度以及低 pH 值引起(2)。更複雜且慢性之損傷由葡萄糖代謝產物(glucose degradation product, GDP) 誘發，而此些產物在 PD 液之熱滅菌期間形成(3)。新穎且更具生物相容性之葡萄糖基 PD 液因使用多腔室系統而具有正常 pH 值及低 GDP 含量；然而，此些 PD 液非常昂貴，因此其在全球背景下之臨床使用仍是有限的。

亦有替代性的非葡萄糖基 PD 液出售，諸如艾考糊精（icodextrin）基 PD 液或胺基酸（amino-acid）基，然而，其使用限於每天單次交換且其超濾能力不如葡萄糖基溶液好。此外，其亦具有較低 pH 值，進而增強腹膜中之不利細胞變化。

因此，搜尋用於降低 PD 液毒性之策略仍為實驗及臨床腎臟學中之實際領域且具有極大醫學及社會經濟學重要性。

先前已在許多研究中證明，熱休克蛋白（Heat shock protein, HSP）對實

驗性 PD 中之間皮細胞 (mesothelial cell) 存活具有顯著影響，因為藉由藥理學方式或藉由質體媒介 (plasmid-mediated) 之方式的 HSP 的調升防止間皮細胞受 PD 液之毒性特徵影響 (12,13,14)。

然而，有趣的是，與標準葡萄糖基 PD 液一起培養導致間皮細胞中之 HSP 表現調降，此引起細胞防禦機制變弱。

WO 2008/106702 揭露一種碳水化合物基腹膜透析液，其含有選自由以下組成之群的化合物：麩醯胺酸 (glutamine)、能夠釋放麩醯胺酸之二肽 (dipeptide)、由二至七個麩醯胺酸組成之寡肽 (oligopeptide) 及其混合物。其中，麩醯胺酸較佳為 L-麩醯胺酸；二肽所釋放的麩醯胺酸較佳為游離形式之 L-麩醯胺酸；二肽較佳選自由麩醯胺醯基-甘胺酸 (glutaminy-glycine)、甘胺醯基-麩醯胺酸 (glyciny-glutamine)、麩醯胺醯基-丙胺酸 (glutaminy-alanine)、丙胺醯基-麩醯胺酸 (alany-glutamine) 組成之群；寡肽較佳為 L-麩醯胺酸殘基 (L-glutamine residue)。

仍需要可用來預防或至少抑制傳染性及非傳染性腹膜併發症 (諸如腹膜炎、腹膜損傷、損壞及破壞、屏障功能障礙 (barrier dysfunction) 及間皮細胞剝離) 發生之腹膜透析液。經由預防此些傳染性及非傳染性腹膜併發症，可抑制接受 PD 治療之患者的技術性失敗。術語「技術性失敗」為熟習此技藝者所熟知且意謂需要終止腹膜透析，並換成替代性腎臟替代療法，諸如血液透析。

【發明內容】

因此，本發明之一目的在於提供一種腹膜透析液，其可用來預防或抑制此等傳染性及非傳染性腹膜併發症的發生。

在一個態樣中，本發明係關於一種腹膜透析液，其包含抑制肝糖合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 活性、特別是 GSK-3 β 活性之化合物，此化合物用於預防傳染性及非傳染性腹膜併發症，諸如腹膜炎、腹膜損傷、損壞及破壞、屏障功能障礙 (barrier dysfunction) 及間皮細胞剝

離 (mesothelial cell detachment)。

在另一態樣中，本發明係關於一種基於艾考糊精 (icodextrin) 之腹膜透析液，其包含抑制 GSK-3 活性、特別是 GSK-3 β 活性之化合物。

在又一態樣中，本發明係關於一種抑制 GSK-3 活性 (特別是 GSK-3 β 活性) 之化合物，其用於預防傳染性及非傳染性腹膜併發症，諸如腹膜炎、腹膜損傷、損壞及破壞、屏障功能障礙及間皮細胞剝離。

【實施方式】

肝糖合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 是一種絲胺酸-蘇胺酸蛋白激酶。GSK-3 β 自身藉由不同上游激酶對絲胺酸-9 殘基之磷酸化來調節及抑制，其中 Akt 及血清和糖皮質激素調節激酶-1 (serum and glucocorticoid-regulated kinase-1, SGK-1) 獲得更多關注 (4)。GSK-3 β 最初鑑別為一種對不同程度之葡萄糖及葡萄糖代謝產物 (glucose degradation product, GDP) 調節、藉此對肝糖合成起作用之關鍵酶 (5,6)。然而，後續工作證明，GSK-3 β 在總體細胞存活、細胞週期進程及遷移中具有主要作用。

儘管約 30 年前已描述 GSK-3 β ，但對其作為潛在藥物標靶之興趣僅在本世紀初變得突出，因為發現 GSK-3 β 為涉及若干生理學及病理學過程之多面激酶。研究報導，由選擇性小分子抑制劑或以鋰 (lithium) 所產生之 GSK-3 β 抑制在多種疾病模型中具有保護性質。GSK-3 β 抑制經證明可改善 II 型糖尿病之胰島素抗性 (23,24)，以在如阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease) 之神經病症中具有有益作用 (25) 且減少心肥大及局部缺血 (26)。

許多 GSK-3 β 標靶為導致應力反應改變、細胞凋亡增加及神經傳遞變化之轉錄因子 (HSF-1、 β -索煙素 (β -catenin)、C-Jun、CREB)。GSK-3 β 亦能夠調節細胞骨架物質 (7,8)，其完全使 GSK-3 β 成為在細胞命運中具有極大作用之細胞信號傳導之中心介體。

GSK-3 β 之主要標靶之一為熱休克因子-1 (heat shock factor-1, HSF-1)，其為細胞保護性熱休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 表現之關鍵誘導物

(9,10)。在應力條件下，HSF-1 以多步驟方式活化，包括過磷酸化、易位至細胞核中、結合 HS 元件 (HSE)、接著各別基因轉錄。HSF-1 經磷酸化且藉此由 GSK-3 β 抑制 (11)，導致 HSP 含量降低。GSK-3 β 使 HSF-1 在絲胺酸-303 殘基處磷酸化，進而負調節其與 DNA 之結合及 HSF-1 依賴性轉錄，此導致 HSP-72 產生受抑制 (21)，另一方面，GSK-3 β 抑制增加有助於改善細胞防禦之熱休克反應。

因為 GSK-3 β 由葡萄糖及 GDP 強調節 (15)，所以本發明之發明者認為，其可能為 PD 相關細胞信號傳導中之相關分子參加者。然而，GSK-3 β 與 PD 之間之直接關係尚未被描述。

假設抗存活 GSK-3 β 之活性增加 (可能由 PD 液曝露媒介) 抑制促存活 HSF-1，其為在 PD 期間 HSP 轉錄之關鍵調節因子。因此，阻斷 GSK-3 β 活性可能會導致 HSF-1 之活化增強，且因此導致較高 HSP 表現及較小細胞毒性。

現已發現，GSK-3 抑制、特別是 GSK-3 β 抑制可減少間皮細胞損傷及用 PD 液處理之細胞的死亡率。間皮細胞保護與較高 HSF-1 活性及 HSP-72 表現相應。

此作用在選自由碳水化合物基透析液及胺基酸基透析液組成之群的 PD 液情況下特別顯著。該作用在 pH 值為 7.3 或 7.3 以下、較佳為 7.0 或 7.0 以下、最佳為 6.0 或 6.0 以下之碳水化合物基腹膜透析液情況下甚至更顯著。

碳水化合物基腹膜透析液特別是基於葡萄糖或艾考糊精之腹膜透析液。最佳地，腹膜透析液是基於艾考糊精。

因此，本發明之一特別較佳實施例為基於艾考糊精之腹膜透析液，其包含抑制肝糖合成酶激酶(GSK)-3 活性、特別是(GSK)-3 β 活性之化合物。

如上文所提及，本發明之另一態樣是關於一種抑制肝糖合成酶激酶(GSK)-3 活性、特別是(GSK)-3 β 活性之化合物，其用於預防由用腹膜透析液治療引起之傳染性及非傳染性腹膜併發症，諸如腹膜炎，腹膜損傷、損

壞及破壞，屏障功能障礙及間皮細胞剝離。

在腹膜透析治療過程中該化合物較佳與腹膜透析液一起投與。PD 液較佳選自上文已論述之 PD 液。

抑制肝糖合成酶激酶(GSK)-3 活性、特別是(GSK)-3 β 活性之化合物較佳選自由以下組成之群：鋰、替德格魯西布 (tideglusib)、NP-103、GSK-3 β 抑制劑 I(TDZD-8, 4-苯甲基-2-甲基-1,2,4-噻二唑啉-3,5-二酮 (4-Benzyl-2-methyl-1,2,4-thiadiazolidine-3,5-dione))、GSK-3 β 抑制劑 II(2-硫基(3-碘苯甲基)-5-(1-吡啶基)-[1,3,4]-噁二唑 (2-Thio(3-iodobenzyl)-5-(1-pyridyl)-[1,3,4]-oxadiazole))、GSK-3 抑制劑 IV(SB-216763, 3-(2,4-二氯苯基)-4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1H-吡咯-2,5-二酮 (3-(2,4-Dichlorophenyl)-4-(1-methyl-1H-indol-3-yl)-1H-pyrrole-2,5-dione))、GSK-3 抑制劑 IX(BIO, (2'Z,3'E)-6-溴靛紅-3'-肟 ((2'Z,3'E)-6-Bromoindirubin-3'-oxime))、GSK-3 β 抑制劑 VI(2-氯-1-(4,5-二溴噻吩-2-基)-乙酮 (2-Chloro-1-(4,5-dibromo-thiophen-2-yl)-ethanone))、GSK-3 β 抑制劑 VII(2,4'-二溴苯乙酮 (2,4'-Dibromoacetophenone))、GSK-3 β 抑制劑 VIII(AR AO14418, N-(4-甲氧基苯甲基)-N'-(5-硝基-1,3-噻唑-2-基)脲 (N-(4-Methoxybenzyl)-N'-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl)urea))、GSK-3 抑制劑 X(BIO-丙酮肟 (BIO-Acetoxime), (2'Z,3'E)-6-溴靛紅-3'-丙酮肟 ((2'Z,3'E)-6-Bromoindirubin-3'-acetoxime))、GSK-3 β 抑制劑 XI(3-(1-(3-羥基丙基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)-4-吡嗪-2-基-吡咯-2,5-二酮 (3-(1-(3-Hydroxypropyl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)-4-pyrazin-2-yl-pyrrole-2,5-dione), 7AIPM)、GSK-3 抑制劑 XIII(5-甲基-1H-吡唑-3-基)-(2-苯基喹啉-4-基)胺 (5-Methyl-1H-pyrazol-3-yl)-(2-phenylquinazolin-4-yl)amine))、GSK-3 β 抑制劑 XII(TWS119, 3-[[6-(3-氨基苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘓啶-4-基]氧基苯酚二-三氟乙酸酯 (3-[[6-(3-Aminophenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl]oxyphenol

ditrifluoroacetate))、GSK-3 β 抑制劑 XVIII(2-(氯-4-(4-噻吩-2-基-嘧啶-2-基胺基)-苯基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮(2-(Chloro-4-(4-thiophen-2-yl-pyrimidin-2-ylamino)-phenyl)-(4-methyl-piperazin-1-yl)-methanone))、GSK-3 β 抑制劑 X(BIO-丙酮脞、(2'Z,3'E)-6-溴靛紅-3'-丙酮脞)、GSK-3 β 抑制劑 XI(3-(1-(3-羥基丙基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]-4-吡嗪-2-基-吡咯-2,5-二酮, 7AIPM)、GSK-3 β 抑制劑 XIX(IM-12, C₂₂H₂₀FN₃O₂, 吲哚基順丁烯二醯亞胺衍生物(indolylmaleimide-derivate))、GSK-3 抑制劑 XVI(6-(2-(4-(2,4-二氯苯基)-5-(4-甲基-1H-咪唑-2-基)-嘧啶-2-基胺基)乙基-胺基)-菸鹼腈(6-(2-(4-(2,4-Dichlorophenyl)-5-(4-methyl-1H-imidazol-2-yl)-pyrimidin-2-ylamino)ethyl-amino)-nicotinonitrile), CHIR99021)、GSK-3 抑制劑 XVII(5-苯甲基胺基-3-側氧基-2,3-二氫-1,2,4-噻二唑(5-Benzylamino-3-oxo-2,3-dihydro-1,2,4-thiadiazole), TDZD-20)、GSK-3 抑制劑 XXII、化合物 A(6-甲基-N-[3-[[3-(1-甲基乙氧基)丙基]胺甲醯基]-1H-吡嗪-4-基]吡啶-3-甲醯胺(6-Methyl-N-[3-[[3-(1-methylethoxy)propyl]carbamoyl]-1H-pyrazol-4-yl]pyridine-3-carboxamide))、GSK-3 β 抑制劑 XXIII、3F8(5-乙基-7,8-二甲氧基-1H-吡咯并[3,4-c]-異喹啉-1,3-(2H)-二酮(5-Ethyl-7,8-dimethoxy-1H-pyrrolo[3,4-c]-isoquinoline-1,3-(2H)-dione))、GSK-3 β 肽抑制劑(L803, H-KEAPPAPPQSpP-NH₂)、GSK-3 β 肽抑制劑(L803-mts, Myr-N-GKEAPPAPPQSpP-NH₂)、GF-109203X(2-[1-(3-二甲基胺基丙基)吲哚-3-基]-3-(吲哚-3-基)順丁烯二醯亞胺(2-[1-(3-Dimethylaminopropyl)indol-3-yl]-3-(indol-3-yl) maleimide))及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

在一較佳實施例中，抑制肝糖合成酶激酶(GSK)-3 活性之化合物為鋰鹽，特別是氯化鋰(lithium chloride)或碳酸鋰(lithium carbonate)。透析

液中鋰鹽之濃度較佳為 1 mM 至 10 mM，最佳為 2 mM 至 5 mM。

鋰為藉由競爭鎂 (magnesium) 來抑制 GSK-3 β 之熟知 GSK-3 β 抑制劑 (27)。自從二十世紀五十年代，鋰已用於治療雙相情緒障礙 (bipolar mood disorder)，那時並不知其特定作用模式。1996 年，發現其為 GSK-3 β 之有效抑制劑且愈來愈多的證據表明此可能為鋰在雙相障礙中之已知及所用情緒穩定作用之基礎機制之一 (16,17,18,22)。除情緒障礙外，鋰現在在 II 期臨床試驗中用於治療肌肉萎縮性側索硬化 (amyotrophic lateral sclerosis) 及用於治療供體幹細胞移植後之腸道移植物抗宿主疾病 (intestinal graft versus host disease)。

關於鋰對 GSK-3 β 抑制之下游作用是否直接涉及 HSP 知之甚少。然而，最近在諸如缺血性腦損壞之實驗模型中證明保護性鋰作用與改善之 HSP 含量相關 (30,31) 且亦暗示鋰之神經保護性作用直接歸因於誘導之 HSF-1 活性 (32,33)。

在臨床環境下已將鋰添加至葡萄糖基 PD 液中以治療接受連續非臥床 PD 患者之雙相症狀；然而，此應用形態並不以常規投藥形式引入 (28)。在此研究中，鋰是在 2 L 袋中以 0.9 mM 之最終劑量於 Dianeal® 2.5% 溶液中給予且每天更換溶液三次，因此產生連續鋰曝露。

後來，在實驗性大鼠 PD 模型中，與葡萄糖基 PD 液一起投與碳酸鋰以研究其對急性超濾速率 (acute ultrafiltration rate) 之作用，然而，結果顯示相反作用，即鋰降低超濾速率 (29)。在此研究中，施用 5 mM Li。

GSK-3 β 抑制亦可藉由替代性特定藥理學抑制劑 (GSK-3 或 GSK-3 β 抑制劑) 來達成。存在若干種市場上可得之抑制劑。此等藥劑中之一些目前處於對特定條件療法之臨床研究階段，但其均未於 PD 溶液中投與或投與用於治療 PD 引起之腹膜功能下降。

在特定 GSK-3 抑制劑中，替德格魯西布 ((Zentylor)，非 ATP 競爭性抑制劑) 為已批准用於臨床使用之唯一一種抑制劑。Zentylor 由 FDA 在 2010

年獲准用於治療進行性核上麻痺 (progressive supranuclear palsy) 且處於阿茲海默氏病之療法的 II 期試驗中。其他特定抑制劑為上文所列者。

在 GSK-3 抑制劑而非鋰或鋰鹽之情況下，適合於 PD 液中之各別抑制劑的劑量可由熟習此技藝者容易地確定。

實例

方法

細胞培養

人類 Met-5a 細胞株是購自美國菌種保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC, Rockville, MD)。將所有細胞於補充有 L-麩醯胺酸 (0.1 g/L)、青黴素 (100 U/mL)、鏈黴素 (100 µg/mL)、10%胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 之 M199 培養基中培養且在 37°C 下在含有 5% CO₂ 之含濕氣空氣培養箱中繁殖。

除非另外規定，否則標準化學物質是購自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。所有細胞培養程序均使用 Falcon™ 組織培養塑膠 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)。

PDF 曝露

與 PDF 一起培養時，使用來自 Baxter AG, Vienna, Austria 之低 pH 值 (5.5) 的 3.86% 葡萄糖基液體 (Dianeal PD4 溶液)、低 pH 值 (5.5) 之艾考糊精基液體 (Extraneal)、胺基酸基液體 (pH 值 6.7) (Nutrineal)、中性 pH 值之葡萄糖基乳酸鹽/碳酸氫鹽緩衝液 (Physioneal)。中性 pH 值之葡萄糖基乳酸鹽緩衝溶液 (Balance) 是獲自 Fresenius, Austria。

對照溶液為補充有 L-麩醯胺酸 (0.1 g/L)、青黴素 (100 U/mL)、鏈黴素 (100 µg/mL) 而無胎牛血清之 M199 培養基。

PDF 曝露模型：使 12 孔板上之匯合培養物曝露於 PD 液溶液所指示時間 (30 分鐘或 1 小時) 或平行保持於對照培養基中。

對於 HSF-1 活性分析，採集細胞且在曝露時間後立即溶解，而對於 LDH

及 HSP-72、p-GSK-3 β 西方墨點法 (Western blot) 分析之量測，使細胞藉由與含有 10% FBS 之正常培養基一起培養 16 小時來回收。

LiCl 處理

氯化鋰 (LiCl) 是購自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)，且以所指示劑量施用。

LDH 釋放

對於 LDH 分析，在所述實驗設置後移出 200 μ L 上清液之等分試樣且保持於 -20 $^{\circ}$ C 直至在 48 小時內分析時為止。根據製造商之說明書，使用 Sigma TOX-7 LDH 套組進行量測，一式兩份。校正 LDH 流出物之蛋白質含量。

中性紅攝取

為藉由中性紅攝取評估細胞存活力，將細胞接種於 96 孔板且曝露於如前文所述之不同處理方案。根據製造商之方案，使用標準試劑 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 量測中性紅攝取。

螢光素酶分析

為測定熱休克因子-1 (HSF-1) 之特異性結合，將含有熱休克元件 (heat shock element) [5'CTGGAATTTTCTAGACTGGAATTTTCTAGACTGGAATTTTCTAGA3'] 之市售螢光素酶報導載體 (LR0038, Panomics, Italy) 以及空對照載體轉染於 MeT-5a 細胞中。在轉染前 24 小時，將 MC 接種於 96 孔細胞培養板上且使其在轉染當天達到約 80-90% 匯合。在轉染前，將每孔 0.15 μ l Fugene6 (Roche) 轉染試劑及 0.1 μ l HSE 報導載體或對照載體各用 5 μ l 無 FCS 之正常生長培養基稀釋並培養 5 分鐘。將溶液混合培養 30 分鐘。將 10 μ l 此混合物添加至各孔中，在 5% CO₂ 及 37 $^{\circ}$ C 下在含濕氣氛圍中培養 24 小時。如前文所述進行實驗性曝露且使細胞回收 6 小時以促進螢光素酶之蛋白質合成。洗滌細胞且使用市售緩衝液 (E1531, Promega) 溶解。將細胞溶解物轉移至白色平底微板 (Nunc)。使用自動吸液管以 3 秒時間間隔添加螢光素酶試劑 (E1500, Promega) 且 2 分鐘後使用光度計讀板器

(Flx800, BioTek) 量測所得信號。

西方墨點法分析

對於西方墨點法，藉由布萊德福分析 (Bradford assay) (Biorad, Vienna, Austria) 測定蛋白質含量且藉由標準 SDS-PAGE，使用 Pharmacia Multiphore II 裝置分離等量蛋白質樣品 (每泳道 2 μg)。接著藉由半乾式轉移，在 Pharmacia Multiphore II Novablot 裝置中將尺寸分級之蛋白質轉移至 PVDF 膜。用含 5% 奶粉之 TBS-Tween (10 mM Tris、150 mM NaCl、0.05% Tween 20, pH 7.4) 阻斷膜。將膜與各別一級抗體 (HSP-72, p-GSK-3 β) 一起培養 16 小時。藉由與偶合過氧化酶之二級抗體 (抗小鼠或抗兔 IgG, 皆來自 Dako Cytomation, CA, USA) 一起培養且藉由增強之化學發光 (enhanced chemiluminescence, ECL) (利用 ECL 西方墨點法分析系統 (Renaissance, NEN-Life Science Products, Boston, MA, USA)) 來實現偵測。

資料分析

所有統計分析均使用 Sigmaplot 11.0 軟體 (Systat Software GmbH, Erkrath, Germany) 進行。適當時使用 t 檢驗或 ANOVA 比較來自不同組之值。在 ANOVA 情況下，使用塔基氏 HSD (Tukey's HSD) 作為事後檢驗 (post-hoc test)。P 值 < 0.05 被視為顯著的。結果以平均值 \pm SEM 來呈現。

結果

與習知 PD 液一起培養誘導間皮細胞損傷及死亡

間皮細胞與低 pH 值之葡萄糖基乳酸鹽緩衝腹膜透析液 (PDF, Dianeal) 及低 pH 值之艾考糊精基 PDF (Extraneal) 一起培養導致嚴重細胞損傷，而此嚴重細胞損傷由藉由光譜法及活-死染色 (資料未圖示) 所說明之細胞收縮、分離及部分為破碎來反映。

此與高 LDH 釋放 (資料未圖示)、細胞存活力顯著降低及高細胞死亡率相應。

與 PD 液一起培養增加活化之 GSK-3 β 之含量

藉由免疫螢光染色（資料未圖示）及藉由西方墨點法（第 1 圖）所分析，PDF 培養降低非活性 Ser-9 磷酸化之 GSK-3 β (phosphorylated GSK-3 β , p-GSK-3 β) 的含量，而總 GSK-3 β 之含量保持不變（第 1 圖），因此導致與對照細胞相比，激酶活性 GSK-3 β 之淨含量較高。

藉由免疫螢光染色分析 p-GSK-3 β 之細胞表現且特別是 p-GSK-3 β 之定位。與不同 PD 液一起培養後，存在 p-GSK-3 β 之總體較低表現，特別是在經低 pH 值之葡萄糖基 PDF 及艾考糊精基液體處理的細胞中，此與細胞核周圍之顯著凝聚（資料未圖示）相應。然而，亦在其他處理組（乳酸鹽緩衝 PD 液、乳酸鹽/碳酸氫鹽緩衝 PD 液及胺基酸基 PD 液）中觀察到與對照細胞相比之減少及凝聚。

不同市售 PD 液對 Ser-9 p-GSK-3 β 之影響顯示，低 pH 值之艾考糊精基 PD 液 (Extraneal) 與低 pH 值之葡萄糖基溶液具有類似作用，亦即 p-GSK-3 β 之表現顯著較低。此作用在正常 pH 值之葡萄糖基（乳酸鹽或乳酸鹽/碳酸氫鹽緩衝；分別為 Balance 及 Physioneal) PD 液及具有中等酸性的 pH 值 (pH 6.7) 之胺基酸基 PD 液 (Nutrineal) 中較不顯著（第 1 圖）。此等結果與先前關於葡萄糖及 GDP 之觀察結果一致 (19,20)。此等研究報導高葡萄糖減少 (19)，而 GDP 之終產物上調 GSK-3 β 活性 (20)。

第 1 圖之描述：以具有不同滲透劑及有毒性質之不同市售 PD 液處理的間皮細胞中之 p-GSK-3 β 表現。對照細胞是以正常細胞培養基處理，PDF 處理細胞是分別以具有高 GDP 含量及低 pH 值之葡萄糖基 PD 液 (PDF, Dianeal)、艾考糊精基 PD 液 (Extraneal)、低 GDP 且 pH 7.4 之乳酸鹽緩衝 PD 液 (Balance)、低 GDP 且 pH 7.4 之乳酸鹽/碳酸氫鹽緩衝 PD 液 (Physioneal)、胺基酸基 PD 液 (Nutrineal) 處理於此，處理方式為 1 小時曝露而不回收。* 表示相對於對照 $P < 0.01$ 。

鋰抑制 GSK-3 β ，導致在 PD 液培養後間皮細胞之細胞損傷及死亡減少

低 pH 值且含高 GDP 的葡萄糖基 PD 液及低 pH 值之艾考糊精基 PD 液

引起顯著 LDH 升高，與細胞存活力相較於對照顯著降低相應（第 2 圖）。正常 pH 值之葡萄糖基 PD 液及胺基酸基 PD 液引起更適度顯著 LDH 釋放（第 2 圖），此不導致顯著細胞死亡（資料未圖示）。

在此等 PD 液曝露系統中，如由衰減 LDH 釋放所反映，在添加 10 mM LiCl 下抑制 GSK-3 β 活性使用所有 PD 液處理後均觀察到之細胞損傷減少（第 2 圖）。在與低 pH 值之葡萄糖基溶液及低 pH 值之艾考糊精基溶液一起培養後，觀察到最突出保護（第 2 圖）。

因此，使用活-死染色及用中性紅攝取量測活細胞來進一步研究 LiCl 在此等曝露系統中之保護性作用。以 LiCl 處理使得在與低 pH 值之葡萄糖基 PD 液或低 pH 值之艾考糊精基 PD 液一起培養後細胞結構得到保護（資料未圖示）、細胞死亡率降低（資料未圖示）及活細胞數目增加（第 3 圖）。

第 2 圖之解釋：用具有不同滲透劑及有毒性質之不同市售 PD 液處理的間皮細胞中之 LDH 釋放。用正常細胞培養基處理對照細胞，用低 pH 值且高 GDP 含量之葡萄糖基 PD 液 (Dianeal)、艾考糊精基 PD 液 (Extraneal)、低 GDP 且 pH 7.4 之乳酸鹽緩衝 PD 液 (Balance)、低 GDP 且 pH 7.4 乳酸鹽/碳酸氫鹽緩衝 PD 液 (Physioneal)、胺基酸基 PD 液 (Nutrineal) 處理經 PDF 處理細胞。於此，LiCl 是以 10 mM 劑量施用。#表示相對於對照 $P < 0.05$ ；*表示相對於無添加 LiCl $P < 0.01$ 。(1 小時曝露，16 小時回收)

第 3 圖之解釋：由與對照細胞相比之中性紅攝取（以 % 計）評估之細胞存活力。細胞是以 PDF(低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液(Dianeal)) 或低 pH 值的艾考糊精基 PD 液 (Extraneal) 處理。於此，LiCl 是以 10 mM 劑量。#為相對於對照 $P < 0.01$ ；*表示相對於無添加 LiCl $P < 0.01$ 。(1 小時曝露，16 小時回收)。對照細胞以正常細胞培養基處理。

LiCl 導致較高 HSF-1 活性

螢光素酶分析顯示，在對照細胞中且在與低 pH 且含高 GDP 的葡萄糖基 PD 液及低 pH 值的艾考糊精基 PD 液一起培養後，LiCl 處理顯著降低

HSF-1 轉錄活性 (第 4 圖)。

第 4 圖之解釋：根據螢光素酶分析之熱休克因子-1 活性。對照細胞是以正常細胞培養基處理，而 PDF 處理細胞是分別以低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液 (Dianeal)、及低 pH 值的艾考糊精基 PD 液 (Extraneal) 處理。於此，LiCl 是以 10 mM 劑量施用。(30 分鐘曝露，6 小時回收) #表示相對於對照 $P < 0.01$ ；*表示相對於無添加 LiCl $P < 0.01$ 。

LiCl 處理導致較高 HSP-72 表現

在培養 30 分鐘或 1 小時後，在投與 LiCl 或不投與 LiCl 之情況下，在以低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液或艾考糊精基 PD 液處理的細胞中評估 HSP-72。

與對照細胞相比，HSP-72 表現在與低 pH 且含高 GDP 的葡萄糖基液體一起培養 30 分鐘後略微增加且在培養 1 小時後顯著降低 (第 5 圖)。與對照相比，HSP-72 之表現在與艾考糊精基 PD 液一起培養 30 分鐘後增加，但在 1 小時培養後未改變 (第 5 圖)。當與各別未處理細胞相比時，在各培養設置下，用 LiCl 處理顯著增加 HSP-72 之含量。

第 5 圖之解釋：由西方墨點法評估之熱休克蛋白-72 (HSP-72) 表現。對照細胞是以正常細胞培養基處理，而 PDF 處理細胞是分別以低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液 (Dianeal)、及低 pH 值的艾考糊精基 PD 液 (Extraneal) 處理。於此，LiCl 是以 10 mM 劑量施用。(30 分鐘 (左圖) 或 1 小時曝露 (右圖)，16 小時回收)。*表示相對於對照 $P < 0.05$ ；%表示相對於對照 $P < 0.001$ ；&表示相對於無添加 LiCl $P < 0.05$ 。

LiCl 投藥之劑量曲線分析

為了檢查何濃度之鋰有效減輕間皮細胞損傷，在與低 pH 值的葡萄糖基液體 (PDF) 或艾考糊精基液體一起培養期間分析劑量曲線。檢查 1 mM、2 mM、5 mM 及 10 mM LiCl 之劑量。

在低 pH 值的葡萄糖基液體 (PDF) 中，1 mM 至 5 mM 劑量之 LiCl 不

會改變 LDH 釋放至上清液中 (第 6 圖), 但如先前所偵測, 當與對照相比時, 10 mM LiCl 顯著減少 LDH 釋放 (第 6 圖)。在與艾考糊精基液體一起培養期間, 存在劑量依賴性 LDH 反應曲線: 1 mM LiCl 不會顯著變化, 而 2 mM LiCl 已降低 LDH 含量且在投與 5 mM 及 10 mM LiCl 時該降低甚至更顯著 (第 6 圖)。

第 6 圖之解釋: LDH 釋放至上清液中。對照細胞是以正常細胞培養基處理, 而 PDF 處理細胞是分別以低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液 (Dianeal)、及低 pH 值的艾考糊精基 PD 液 (Extraneal) 處理。於此, LiCl 是以 1 mM、2 mM、5 mM 或 10 mM 劑量施用。(30 分鐘曝露, 6 小時回收)。#表示相對於對照 $P < 0.001$; *表示相對於無添加 LiCl $P < 0.05$ 。

由螢光素酶分析評估之 HSF-1 活性顯示, 在與低 pH 值 PDF 的葡萄糖基或用艾考糊精基 PDF 一起培養的細胞中, 與各別對照細胞相比, 存在 HSF-1 活性之劑量依賴性上調節 (第 7 圖)。

第 7 圖之解釋: 由螢光素酶分析評估之熱休克因子 (HSF-1) 轉譯活性。對照細胞是以正常細胞培養基處理, 而 PDF 處理細胞是分別以低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液 (Dianeal)、及低 pH 值的艾考糊精基 PD 液 (Extraneal) 處理。於此, LiCl 是以 1 mM、2 mM、5 mM 或 10 mM 劑量施用。(30 分鐘曝露, 6 小時回收)。#表示相對於對照 $P < 0.01$; *表示相對於無添加 LiCl $P < 0.01$ 。

在與低 pH 值的葡萄糖基 PDF 一起培養之細胞中, 當與未處理細胞相比時, HSP-72 表現僅在投與 2 mM 或 10 mM LiCl 後增加 (第 8 圖)。另一方面, 在與艾考糊精基 PD 液一起培養後, 所有施用之 LiCl 劑量均使 HSP-72 蛋白質表現增加 (第 8 圖)。

第 8 圖之解釋: 由西方墨點法評估之熱休克蛋白-72 (HSP-72) 表現。對照細胞是以正常細胞培養基處理, 而 PDF 處理細胞是分別以低 pH 值且高 GDP 含量的葡萄糖基 PD 液 (Dianeal)、及低 pH 值的艾考糊精基 PD 液

(Extraneal) 處理。於此，LiCl 是以 1 mM、2 mM、5 mM 或 10 mM 劑量施用。(30 分鐘曝露，16 小時回收)。#表示相對於對照 $P < 0.05$ ；*表示相對於無添加 LiCl $P < 0.05$ 。

概要：

在本研究中，氯化鋰 (LiCl) 降低 LDH 釋放，降低細胞死亡率並改善細胞存活力。在對市售 PD 液具有最顯著影響之 GSK-3 β 活化上，此影響在以低 pH 值的葡萄糖基 PD 液及艾考糊精基 PD 液處理之間皮細胞最顯著。

文獻：

(1) Davies SJ, Phillips L, Russell GI. Peritoneal solute transport predicts survival on CAPD independently of residual renal function. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13: 962-68.

(2) Leung JC, Chan LY, Li FF, Tang SC, Chan KW, Chan TM et al. Glucose degradation products downregulate ZO-1 expression in human peritoneal mesothelial cells: the role of VEGF. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 1336-49.

(3) Amore A, Cappelli G, Cirina P, Conti G, Gambaruto C, Silvestro L et al. Glucose degradation products increase apoptosis of human mesothelial cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18: 677-88.

(4) Juhaszova M, Zorov DB, Yaniv Y, Nuss HB, Wang S, Sollott SJ. Role of glycogen synthase kinase-3 β in cardioprotection. *Circ Res.* 2009; 104: 1240-52. Review.

(5) Pugazhenti S, Khandelwal RL. Regulation of glycogen synthase activation in isolated hepatocytes. *Mol Cell Biochem.* 1995; 149-150:95-101.

(6) Cuzzocrea S, Di Paola R, Mazzon E, Crisafulli C, Genovese T, Muià C et al. Glycogen synthase kinase 3 β inhibition reduces the development of nonseptic shock induced by zymosan in mice. *Shock.* 2007; 27: 97-107.

(7) Hatakeyama D, Kozawa O, Niwa M, Matsuno H, Ito H, Kato K, Tatematsu N, Shibata T, Uematsu T. Upregulation by retinoic acid of

transforming growth factor-beta-stimulated heat shock protein 27 induction in osteoblasts: involvement of mitogen-activated protein kinases. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1589: 15-30.

(8) Takahashi-Yanaga F, Sasaguri T. GSK-3 β regulates cyclin D1 expression: a new target for chemotherapy. *Cell Signal*. 2008; 20: 581-9.

(9) Kline MP, Morimoto RI. Repression of the heat shock factor 1 transcriptional activation domain is modulated by constitutive phosphorylation. *Mol Cell Biol*. 1997; 17: 2107-15.

(10) He, Y.H. Meng and N.F. Mivechi. Glycogen synthase kinase 3 β and extracellular signal-regulated kinase inactivate heat shock transcription factor 1 by facilitating the disappearance of transcriptionally active granules after heat shock. *Mol. Cell Biol*. 1998; 18: 6624–6633.

(11) Chu, R. Zhong, F. Soncin, M.A. Stevenson and S.K. Calderwood , Transcriptional activity of heat shock factor 1 at 37 degrees C is repressed through phosphorylation on two distinct serine residues by glycogen synthase kinase 3 and protein kinases C α and C ζ . *J. Biol. Chem*. 1998; 273: 18640–18646.

(12) Riesenhuber A, Kasper DC, Vargha R, Endemann M, Aufricht C. Quercetin protects human mesothelial cells against exposure to peritoneal dialysis fluid. *Pediatr Nephrol*. 2007 Aug;22(8):1205-8.

(13) Bidmon B, Endemann M, Arbeiter K, Ruffingshofer D, Regele H, Herkner K, Eickelberg O, Aufricht C. Overexpression of HSP-72 confers cytoprotection in experimental peritoneal dialysis. *Kidney Int*. 2004 Dec;66(6):2300-7.

(14) Kratochwill K, Boehm M, Herzog R, Lichtenauer A, Salzer E, Lechner M, Kuster L, Bergmeister K, Rizzi A, Mayer B, Aufricht C. Alanyl-Glutamine dipeptide restores the cytoprotective stress proteome of mesothelial cells exposed to peritoneal dialysis fluids. *Nephrol Dial Transplant* in press.

(15) Mariappan MM, Shetty M, Sataranatarajan K, Choudhury GG, Kasinath BS. Glycogen synthase kinase 3 β is a novel regulator of high

glucose- and high insulin-induced extracellular matrix protein synthesis in renal proximal tubular epithelial cells. *J Biol Chem.* 2008; 283: 30566-75.

(16) Cohen P, Goedert M. GSK3 inhibitors: development and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2004; 3:479-87.

(17) Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res.* 2007; 32: 577-95.

(18) Ryves WJ, Harwood AJ. Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 by competition for magnesium. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 720-725.

(19) Zhou Y, Mao H, Li S, Cao S, Li Z, Zhuang S et al. HSP72 inhibits Smad3 activation and nuclear translocation in renal epithelial-to-mesenchymal transition. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 598-609.

(20) Lin KH, Guh JY, Mo JF, Chiou SJ, Hwang CC, Chuang LY. Advanced glycation end-product-inhibited cell proliferation and protein expression of beta-catenin and cyclin D1 are dependent on glycogen synthase kinase 3beta in LLC-PK1 cells. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 477: 27-32.

(21) Rowe MK, Wiest C, Chuang DM. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31(6):920-31.

(22) Chuang DM, Wang Z, Chiu CT. GSK-3 as a Target for Lithium-Induced Neuroprotection Against Excitotoxicity in Neuronal Cultures and Animal Models of Ischemic Stroke. *Front Mol Neurosci.* 2011;4:15. Epub 2011 Aug 9.

(23) Gum RJ, Gaede LL, Koterski SL, Heindel M, Clampit JE, Zinker BA et al. Reduction of protein tyrosine phosphatase 1B increases insulin-dependent signaling in ob/ob mice. *Diabetes* 2003; 52: 21-28.

(24) Ring DB, Johnson KW, Henriksen EJ, Nuss JM, Goff D, Kinnick TR et al. Selective glycogen synthase kinase 3 inhibitors potentiate insulin activation of glucose transport and utilization in vitro and in vivo. *Diabetes* 2003; 52: 588-595.

(25) Hsiung SC, Adlersberg M, Arango V, Mann JJ, Tamir H, Liu KP. Attenuated 5-HT1A receptor signaling in brains of suicide victims: involvement of adenylyl cyclase, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt and mitogen-activated protein kinase. *J Neurochem* 2003; 87: 182-194.

(26) Morisco C, Seta K, Hardt SE, Lee Y, Vatner SF, Sadoshima J. Glycogen synthase kinase 3beta regulates GATA4 in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 2001; 276: 28586-28597.

(27) Ryves WJ, Dajani R, Pearl L, Harwood AJ. Glycogen synthase kinase-3 inhibition by lithium and beryllium suggests the presence of two magnesium binding sites. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Jan 25;290(3):967-72.

(28) Flynn CT, Chandran PK, Taylor MJ, Shadur CA. Intraperitoneal lithium administration for bipolar affective disorder in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs.* 1987 Mar;10(2):105-7.

(29) Lal SM, Moore HL, Groshong TD, Nolph KD. Lithium carbonate decreases ultrafiltration rates in an experimental model of PD. *Int J Artif Organs.* 1994 Nov;17(11):573-5.

(30) Xu XH, Zhang HL, Han R, Gu ZL, Qin ZH. Enhancement of neuroprotection and heat shock protein induction by combined prostaglandin A1 and lithium in rodent models of focal ischemia. *Brain Res.* 2006 Aug 2;1102(1):154-62.

(31) Xu XH, Hua YN, Zhang HL, Wu JC, Miao YZ, Han R, Gu ZL, Qin ZH. Greater stress protein expression enhanced by combined prostaglandin A1 and lithium in a rat model of focal ischemia. *Laboratory of Aging and Nervous Disease, Soochow University School of Medicine, Suzhou, China.*

(32) Ren M, Senatorov VV, Chen RW, Chuang DM. Postinsult treatment with lithium reduces brain damage and facilitates neurological recovery in a rat ischemia/reperfusion model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 May 13;100(10):6210-5.

(33) Rowe MK, Chuang DM. Lithium neuroprotection: molecular

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 101150260

※ 申請日： 101/12/26

※IPC 分類：

A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/724 (2006.01)
A61K 33/14 (2006.01)
A61P 39/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

腹膜透析液

PERITONEAL DIALYSIS FLUID

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種腹膜透析液，其包含抑制肝糖合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 活性之化合物，特別是，抑制GSK-3 β 活性之化合物。此化合物用於預防傳染性及非傳染性腹膜併發症，諸如腹膜炎，腹膜損傷、損壞及破壞，屏障功能障礙 (barrier dysfunction) 及間皮細胞剝離 (mesothelial cell detachment)。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to a peritoneal dialysis fluid comprising a compound inhibiting glycogen synthase kinase (GSK)-3 activity, in particular (GSK)-3 β activity, for use in the prevention of infectious and non-infectious peritoneal complications such as peritonitis, peritoneal membrane injury, damage and failure, barrier dysfunction and mesothelial cell detachment.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(2)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

mechanisms and clinical implications. Expert Rev Mol Med. 2004 Oct 18;6(21):1-18.

【圖式簡單說明】

第 1 圖：用具有不同滲透劑及有毒性質之不同市售 PD 液處理的間皮細胞中之 p-GSK-3 β 表現。

第 2 圖：用具有不同滲透劑及有毒性質之不同市售 PD 液處理的間皮細胞中之 LDH 釋放。

第 3 圖：由與對照細胞相比之中性紅攝取(以%計)評估之細胞存活力。

第 4 圖：由螢光素酶分析評估之熱休克因子-1 活性。

第 5 圖：由西方墨點法評估之熱休克蛋白-72 (HSP-72) 表現。

第 6 圖：進入上清液中之 LDH 釋放。

第 7 圖：由螢光素酶分析評估之熱休克因子 (HSF-1) 轉譯活性。

第 8 圖：由西方墨點法評估之熱休克蛋白-72 (HSP-72) 表現。

【主要元件符號說明】

無

七、申請專利範圍：

1. 一種包含抑制肝糖合成酶激酶-3 (GSK-3) 活性之化合物之腹膜透析液的用途，其用於預防傳染性及非傳染性腹膜併發症，其特徵在於該抑制肝糖合成酶激酶-3 活性之化合物為鋰鹽且該腹膜透析液是基於艾考糊精 (icodextrin)。
2. 如請求項 1 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該抑制肝糖合成酶激酶-3 活性之化合物是 GSK-3 β 活性之化合物。
3. 如請求項 1 或 2 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該腹膜併發症是選自由腹膜炎、腹膜損傷、損壞及破壞、屏障功能障礙及間皮細胞剝離組成之群。
4. 如請求項 1 或 2 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該腹膜透析液之 pH 值為 7.3 或 7.3 以下。
5. 如請求項 4 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該腹膜透析液之 pH 值為 7.0 或 7.0 以下。
6. 如請求項 5 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該腹膜透析液之 pH 值為 6.0 或 6.0 以下。
7. 如請求項 1 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該鋰鹽是氯化鋰或碳酸鋰。
8. 如請求項 7 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該透析液中該鋰鹽之濃度為 1 mM 至 10 mM。
9. 如請求項 8 所述之腹膜透析液的用途，其特徵在於該透析液中該鋰鹽之濃度為 2 mM 至 5 mM。
10. 一種基於艾考糊精之腹膜透析液，其包含抑制肝糖合成酶激酶-3 (GSK-3) 活性之化合物，其特徵在於該抑制肝糖合成酶激酶-3 活性之化合物為鋰鹽。
11. 如請求項 10 所述之基於艾考糊精之腹膜透析液，其特徵在於該抑制肝

糖合成酶激酶-3 活性之化合物是 GSK-3 β 活性之化合物。

12. 如請求項 10 所述之腹膜透析液，其特徵在於該鋰鹽是氯化鋰或碳酸鋰。
13. 如請求項 12 所述之腹膜透析液，其特徵在於該透析液中該鋰鹽之濃度為 1 mM 至 10 mM。
14. 如請求項 13 所述之腹膜透析液，其特徵在於該透析液中該鋰鹽之濃度為 2 mM 至 5 mM。