Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-07-15

Serum pro-hepcidin as an indicator of iron status in dialysispatients

土橋, 大輔

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2008-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲4319
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004319

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏　　名	土橋　大輔
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学　位　記　番　号	博い第 1919 号
学位授与の　要　件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の　日　付	平成 20 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Serum pro-hepcidin as an indicator of iron status in dialysispatients(透析患者における鉄動態の指標としての血清 pro-hepcidin の研究)

審　査　委　員

主　査　　教　授　熊谷　俊一
　　教　授　南　　康博
　　教　授　西尾　久英

緒言

鉄は酸素の運搬や様々な酵素反応に関与するため、生体にとって必須な微量元素である。その一方、過剰な鉄はフリーラジカルの産生などを介して細胞に障害を与える有害な面も有している。また生体には積極的に鉄を排泄する機構が存在しないため、骨髄での造血状態や肝臓での鉄貯蔵状態の情報に基づいて消化管からの吸収と網内系からの放出により、体内での鉄動態は厳密に調整が行われている。

これらの鉄の厳密な調整を行っている因子として肝細胞由来の抗菌ペプチドである hepcidin が発見され、鉄動態の調節に不可欠なホルモンであることが明らかになった。この hepcidin は鉄負荷や炎症により発現が増大し、その一方鉄欠乏・貧血・低酸素などにより発現が低下することにより鉄動態の調整に関与している。hepcidin は腸管での鉄吸収およびマクロファージからの鉄の遊離を抑制する負の調節因子と考えられている。また最近腎性貧血に関与するerythropoietinがhepcidin産生を抑制する作用も報告されている。

腎性貧血の合併、recombinant human erythropoietin (rHuEPO)製剤や鉄剤の投与、慢性炎症の合併などを有する慢性腎不全あるいは血液透析患者におけるhepcidinの動向が注目されている。今回我々はこれら hepcidin の発現に寄与する因子を中心に血液透析患者における血清 pro-hepcidin を検討した。

対象

肝疾患を合併していない血液透析患者のうち、過去3ヶ月以内に鉄剤やビタミンC製剤投与の既往歴がなく、かつ血液検査上感染兆候を認めない(高感度 CRP :HS-CRP 0.2 mg/dl 以下)患者 23 名(男性 13 名、女性 10 名)を対象とし、透析群とした。透析群のすべての患者から informed consent を得た。

① 血液透析患者群と健常人群における血清 pro-hepcidin の比較

透析群と年齢を mach させた健常人 10 名(男性 5 名、女性 5 名、健常人群:C 群)を選出し、透析群および C 群において血清 pro-hepcidin を測定した。なお両群のすべての女性は 5 年以上前に閉経を迎えていた。

② 血液透析患者における鉄欠乏が血清 pro-hepcidin に及ぼす影響の検討

本研究では、鉄飽和率(TSAT)が 20%未満かつフェリチンが 100 ng/ml 以下を鉄欠乏有りと定義した。透析群を鉄欠乏有り群(n=10)と鉄欠乏無し群(n=13)に更に群分けを行い、両群間における血清 pro-hepcidin を比較検討した。

③ 血液透析患者における血清 pro-hepcidin の変動の検討

透析群において 2 ヶ月間経過観察を行い、観察開始時と開始後2ヶ月後の時点において、血清 pro-hepcidin 測定および血液

諸検査を行った。なおこの2ヶ月間鉄欠乏患者に対し鉄剤を投与した以外の治療条件の変更を行わなかった。

Ⅰ. 鉄欠乏の出現の影響

鉄欠乏無し群 13 名のうち経過観察開始後2ヶ月目の時点で、新たにTSATが20%未満かつフェリチンが100 ng/ml以下となり、かつ感染症を認めなかった(HS-CRP が 0.2mg/dl 未満)5名について、血清 pro-hepcidin の変動を検討した。

Ⅱ. 鉄剤投与の影響

鉄欠乏有り群 10 名に対し観察期間の2ヶ月間毎回透析終了時にコンドロイチン硫酸鉄コロイド 40mg の静脈注射を行い、観察開始後2ヶ月(鉄剤開始後2ヶ月)の時点で、HS-CRP が 0.2mg/dl 以上となり感染症ありと判断された4名を除いた6名について、鉄剤投与が血清 pro-hepcidin に及ぼす影響を検討した。

方法

HS-CRP は BNⅡnephrelometer を用いた Latex-Enhanced Immunonephelometrics 法により測定した。

透析量の指標として Kt/V を用い、Kt/V は下記の式を用いて求めた。

Kt/V=-ln(透析後尿素窒素／透析前尿素窒素)

1. 鉄動態の検討

血清鉄は比色法にて、トランスフェリンは nephelometry 法にて

測定した。また TSAT は下記の式にて求めた。

$$\text{TSAT}(\%) = \frac{\text{血清鉄}(\mu\text{g/dl})}{\text{トランスフェリン}(\text{mg/dl}) \times 1.3} \times 100$$

2. 血清 pro-hepcidin の測定

血清 pro-hepcidin は Hepcidin Prohormone ELISA(DRG Instruments GmbH, Germany)を用いた ELISA 法にて測定した。本測定法の感度は 3.95～1000ng/ml である。

3. 統計学的検討

結果は median(25 percentile、75 percentile)で表し、統計学的検討は Stat View computer software (version 5.0; SAS Institute Inc; Cary, NC, USA) により、Paired t-test、Mann-Whitney's U test、Fisher's exact probability test を用いて、p値が 0.05 未満を有意差ありと判断した。

結果

① 血液透析患者群と健常人群における血清 pro-hepcidin の比較

患者背景において、透析群は C 群に比べ Hb、Ht、血清鉄、TSAT、トランスフェリンが有意に低値であった。

血清 pro-hepcidin 値はそれぞれ 295.1 (241.9, 413.7) ng/ml および 301.7 (280.5, 383.5) ng/ml と有意差を認めなかった(それぞれ HD 群および C 群)。

② 血液透析患者における鉄欠乏が血清 pro-hepcidin に及ぼす影響の検討

患者背景において、鉄欠乏有り群は鉄欠乏無し群に比べ血清鉄、TSAT が有意に低値であり、トランスフェリンが有意に高値であった。またフェリチンは低値の傾向があった。

血清 pro-hepcidin 値はそれぞれ 262.6 (233.1, 295.1) ng/ml および 359.2 (282.3, 446.5) ng/ml と鉄欠乏あり群が有意に低値であった(それぞれ鉄欠乏有り群および鉄欠乏無し群：$p<0.05$)。

③ 血液透析患者における血清 pro-hepcidin の変動の検討

Ⅰ. 鉄欠乏の出現の影響

新たな鉄欠乏の出現により Hb、Ht、Fe 、TSAT の有意な低下を認めた。血清 pro-hepcidin 値は 444.7 (389.4, 470.1) ng/ml から 299.8 (233.4, 330.4) ng/ml まで有意な低下を認めた ($p<0.05$)。

Ⅱ. 鉄剤投与の影響

鉄剤の投与により Hb、Ht、Fe 、TSAT の有意な上昇を、トランスフェリンの有意な低下を認めた。血清 pro-hepcidin 値はそれぞれ 246.9 (205.5, 329.1) ng/ml から 344.6 (290.1, 377.9) ng/ml に上昇傾向を認めた。

考察

血液透析患者の血清 pro-hepcidin 値について、健常人と比較した報告が数多くなされているが、その結果は一致していない。この原因として hepcidin 発現を増大する感染症が存在するなどの点が影響していると考える。本研究はこれらの問題点を可能な限り除外し、血液透析患者の血清 pro-hepcidin を検討した最初の研究である。本研究では鉄欠乏、貧血、rHuEPO 製剤の投与など hepcidin の発現を低下させる因子が複数存在するにもかかわらず、血液透析患者の血清 pro-hepcidin 濃度は健常人と同等であることが明らかになった。この結果はこれまでに報告されている hepcidin に影響する因子以外の何らかの因子が血液透析患者の血清 pro-hepcidin 濃度に影響している可能性が考えられた。その血液透析患者特有の因子として、腎機能低下に伴う pro-hepcidin の蓄積の可能性、腸管など肝臓以外での hepcidin の発現増強の可能性、pro-hepcidin は分子量的(10kDa)に血液透析による除去効率は不良でありそれに伴い体内に蓄積する可能性などが推定され、今後の検討が必要である。

血液透析患者では hepcidin の発現を低下させる因子が存在するにもかかわらず、血清 pro-hepcidin 濃度は健常人と同等であることより、hepcidin の反応性が健常人と異なる可能性が考えられた。しかし本研究では鉄欠乏有り群は鉄欠乏無し群に比べ血清 pro-hepcidin 濃度は有意に低い。また2ヶ月間の本研究経過観察中に鉄剤投与により鉄欠乏の改善した群では血清

pro-hepcidin 値の上昇傾向を認め、鉄欠乏が出現した群では有意な血清 pro-hepcidin 値の低下を認めた。以上の結果より血液透析患者においても健常人と同様に血清 pro-hepcidin 値は鉄動態に影響されることが明らかになった。

Hepcidin は 20 個のアミノ酸からなる(hepcidin-20)あるいは 25 個のアミノ酸からなるもの(hepcidin-25)が major form であるが、22 アミノ酸のもの(hepcidin-22)も存在する。これらは 84 アミノ酸からなる前駆体(pro-hepcidin)から切断されたものであり、hepcidin-25 が一番の活性を有している。この hepcidin-25 の尿中を測定する方法は、hepcidin-25 内に cyasteine 含量が多く、測定時に安定した抗体が得られないなどの欠点があり、Kulaksiz らは前駆体である pro-hepcidin に対する抗体を作成し、安定した ELISA 法を確立し、本研究ではこの ELISA 法を用いて測定した。最近タンパク質の質量解析技術に基づく、プロテオミクス技術を駆使し測定する方法などが報告されており、今後の検討が待たれる。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第1920号	氏　名	土橋　大輔
論文題目 Title of Dissertation	Serum pro-hepcidin as an indicator of iron status in dialysis patients 透析患者における鉄動態の指標としての血清 pro-hepcidin の研究		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 副　査 Vice-examiner 副　査 Vice-examiner	熊谷俊一 南康博 西尾久英	
審査終了日	平成20年　2月　19日		

（要旨は1，000字～2，000字程度）

鉄は酸素の運搬や様々な酵素反応に関与するため、生体にとって必須な微量元素であるが、生体には積極的に鉄を排泄する機構が存在しないため、骨髄での造血状態や肝臓での鉄貯蔵状態の情報に基づいて消化管からの吸収と網内系からの放出により、体内での鉄動態は厳密に調整が行われている。これらの鉄の厳密な調整を行っている因子として肝細胞由来の抗菌ペプチドであるhepcidinが発見され、鉄動態の調節に不可欠なホルモンであることが明らかになった。このhepcidinは鉄負荷や炎症により発現が増大し、その一方鉄欠乏・貧血・低酸素などにより発現が低下し、腸管での鉄吸収およびマクロファージからの鉄の遊離を抑制する負の調節因子と考えられている。最近erythropoietinがhepcidin産生を抑制する作用も報告され、慢性腎不全や血液透析患者におけるhepcidinの動向が注目されている。今回我々はこれらhepcidinの発現に寄与する因子を中心に血液透析患者における血清pro-hepcidinを検討した。

肝疾患を合併していない血液透析患者のうち、過去３ヶ月以内に鉄剤やビタミンC製剤投与の既往歴がなく、かつ血液検査上感染兆候を認めない患者23名（男性13名、女性10名）を対象とした。 透析群と年齢をmachさせた健常人10名を選出し、透析群およびC群において血清pro-hepcidinを測定した。本研究では、鉄飽和率（TSAT）が20％未満かつフェリチンが100 ng/ml以下を鉄欠乏有りと定義し、透析群を鉄欠乏有り群（n=10）と鉄欠乏無し群（n=13）に更に群分けを行い、両群間における血清pro-hepcidinを比較検討した。 また、透析群において2ヶ月間経過観察を行い、血清pro-hepcidinの変動を検討し、鉄欠乏有り群10名に対し鉄剤投与が血清pro-hepcidinに及ぼす影響を検討した。血清pro-hepcidinはHepcidin Prohormone ELISA（DRG Instruments GmbH, Germany）を用いたELISA法にて測定した。本測定法の感度は3.95～1000ng/mlである。

透析群はC群に比べHb、Ht、血清鉄、TSAT、トランスフェリンが有意に低値であった。一方、血清pro-hepcidin値はそれぞれ295.1 (241.9, 413.7) ng/mlおよび301.7 (280.5, 383.5) ng/mlと有意差を認めなかった（それぞれHD群およびC群）。鉄欠乏有り群は鉄欠乏無し群に比べ血清鉄、TSATが有意に低値であり、トランスフェリンが有意に高値で、またフェリチンは低値の傾向があった。血清pro-hepcidin値は鉄欠乏有り群で262.6 (233.1, 295.1) ng/ml、鉄欠乏無し群で359.2 (282.3, 446.5) ng/mlと鉄欠乏あり群が有意に低値であった（$p<0.05$）。さらに、新たな鉄欠乏の出現によりHb、Ht、Fe 、TSATの有意な低下を認め、血清pro-hepcidin値も444.7 (389.4, 470.1) ng/mlから299.8 (233.4, 330.4) ng/mlまで有意な低下を認めた（$p<0.05$）。 鉄剤の投与によりHb、Ht、Fe 、TSATの有意な上昇を、トランスフェリンの有意な低下を認めるとともに、血清pro-hepcidin値は上昇傾向を認めた。

血液透析患者の血清pro-hepcidin値について、健常人と比較した報告が数多くなされているが、その結果は一致していない。この原因としてhepcidin発現を増大する感染症が存在するなどの点が影響していると考える。本研究はこれらの問題点を可能な限り除外し、血液透析患者の血清pro-hepcidinを検討した最初の研究である。本研究では鉄欠乏、貧血、rHuEPO製剤の投与などhepcidinの発現を低下させる因子が複数存在するにもかかわらず、血液透析患者の血清pro-hepcidin濃度は健常人と同等であることが明らかになった。その血液透析患者特有の因子として、腎機能低下に伴うpro-hepcidinの蓄積の可能性、腸管など肝臓以外でのhepcidinの発現増強の可能性、pro-hepcidinは分子量的（10kDa）に血液透析による除去効率は不良でありそれに伴い体内に蓄積する可能性などが推定され、今後の検討が必要である。

本研究は、血液透析中の慢性腎不全患者の血清pro-hepcidin濃度について研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった血清pro-hepcidin濃度や鉄剤服用の影響について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。