

慢性腎不全患者における血中ヘプシジンと微量金属との 関わりについて

山谷金光¹、坪井 滋¹、葛谷知佳子¹、須藤美穂子¹、橋本安弘¹、齋藤久夫¹、舟生富寿¹、
下中 靖²、世良耕一郎³、後藤祥子⁴、畠山真吾⁵、大山 力⁵

¹ (財) 鷹揚郷腎研究所弘前病院
036-8243 青森県弘前市小沢字山崎 90

² 中外製薬(株) 鎌倉研究所
247-8530 神奈川県鎌倉市梶原 200

³ 岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

⁴ 日本アイソトープ協会滝沢研究所
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

⁵ 弘前大学大学院医学研究科泌尿器科
036-8562 青森県弘前市在府町 5

1 はじめに

慢性腎不全患者において、貧血は重要な合併症である。近年、遺伝子組み換えヒトエリスロポエチンの投与によって、多くの患者で貧血は劇的に改善されるようになってきたが、改善されない症例も少なからず存在し、鉄代謝調節機序の解明が求められている。

鉄は生体に最も多く存在する必要不可欠な微量金属であり、赤血球のヘモグロビン合成、酸素の運搬、各種酸化還元反応、細胞増殖、抗炎症作用などに関与すると同時に、過剰の鉄は酸化ストレスによる組織傷害の原因となる¹⁾ため、その代謝は、鉄を安全な形で貯蔵するフェリチンおよび安全な形で輸送するトランスフェリンなどを含めて、調節維持されている。

近年、肝臓で産生される蛋白であるヘプシジンが、鉄の造血系、消化管からの吸収、肝細胞や網内系への移動などに広く関わり、鉄代謝調節の重要な部分を担っていることが分ってきた²⁾。しかし、慢性腎不全患者においては、ヘプシジンは、健常人に比して全体としては有意に高値³⁾であり、ヘプシジンによる鉄利用の阻害が考えられるものの、ヒトエリスロポエチンおよび鉄剤投与時を含めて必ずしも一様ではない^{4,5)}。

近年、トランスフェリンがヘプシジン発現調節に関わっていることも分ってきた^{6,7)}が、一方で、鉄以外の生体内微量遷移金属は、極めて多数の蛋白や酵素中に存在し、種々の生体内物質輸送、信号伝達などの重要な役割を担うと同時に、銅欠乏は鉄およびヘプシジンに関連し⁸⁾、亜鉛投与は鉄の吸収に関連する⁹⁾など鉄代謝およびヘプシジンに関する報告があるが、その詳細はいまだ明らかでない。

そこで、本研究では、貧血改善の求められる慢性腎不全患者において、生体内に比較的多く存在する銅、亜鉛、セレンなどの遷移金属とヘプシジンとの関連性について、トランスフェリンを介する部分を含め検討することとした。

2 対象および方法

2.1 対象

当院の血液透析患者 140 例（男性 76 例、女性 64 例）を対象とした。その年齢は 65.3 ± 12.4 歳、透析期間は 7.1 ± 6.4 年であり、原疾患は、糖尿病性腎症 54 例、慢性子糸球体腎炎 14 例、嚢胞腎 11 例、IgA 腎症 7 例、腎硬化症 7 例、膜性腎症 5 例、その他 14 例、不明 28 例であった。

2.2 方法

対象患者において、血液生化学検査等に加えて、血漿中ヘプシジン濃度を GC-MASS 法で、鉄、銅、亜鉛およびセレン濃度を硝酸インジウム標準液を内部標準とした PIXE 法により測定し、血液透析患者全体でのヘプシジンと各金属濃度との相関性につき検討した。

また、ヘプシジンレベルで、 <40 、 $40 \sim 90$ 、 $90 < \text{ng/ml}$ の 3 群に分けて、各金属濃度との関連についても検討した。

3 結果

3.1 血中のヘプシジンおよび総鉄結合能 (TIBC) と各金属濃度との相関性

血液透析患者全体でのヘプシジンと各金属濃度との関連 (図 1) をみると、銅およびセレンとは相関しなかったが、鉄と有意に正相関 ($r=0.22$, $p<0.05$) し、亜鉛とは ($r=0.21$, $p<0.05$) 負相関した。

また、TIBC との相関 (図 2) では、鉄とは認めなかったが、亜鉛およびセレンと有意に正に相関し、銅とは負に相関した。なお、図には示さなかったが、ヘプシジンは TIBC と負に相関 ($r=-0.50$, $p<0.001$) した。

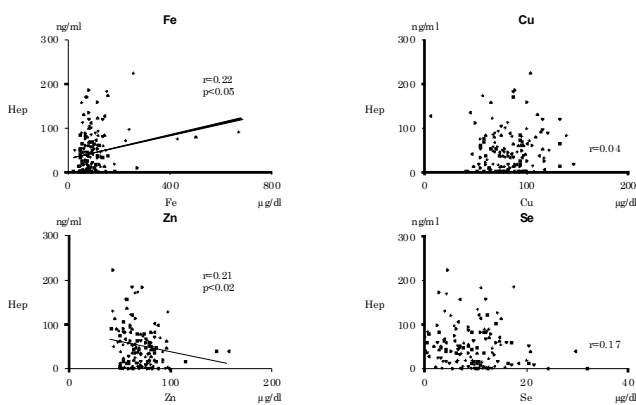


図 1 血液透析患者におけるヘプシジンと血中各金属濃度の相関

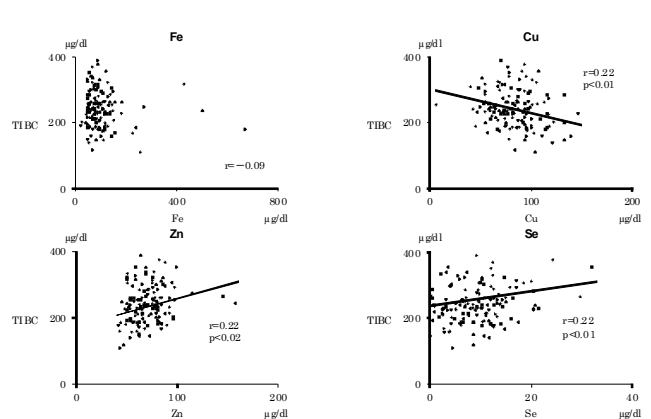


図 2 血液透析患者における総鉄結合能 (TIBC) と血中各金属濃度の相関

なお、各金属間の相関係数は、鉄—銅、鉄—亜鉛、鉄—セレン、銅—亜鉛、銅—セレン間についてそれぞれ、-0.11、-0.01、-0.10、0.04 および-0.10 で、いずれも有意ではなかったが、亜鉛—セレンのみ 0.22 で有意 ($p < 0.05$) に相関した。

3.2 エリスロポエチン投与および血中ヘモグロビン濃度と各金属濃度の関連

表1のように、エリスロポエチン投与の有無および血中ヘモグロビン濃度レベルによる各金属濃度の差はなかった。

表1 エリスロポエチン投与の有無およびヘモグロビン濃度と各金属濃度の関連

		n	Fe ($\mu\text{g/dl}$)	Cu ($\mu\text{g/dl}$)	Zn ($\mu\text{g/dl}$)	Se ($\mu\text{g/dl}$)
エリスロポエチン投与	有	115	84 \pm 29	82 \pm 19	71 \pm 15	10.2 \pm 7.6
	無	25	93 \pm 52	84 \pm 23	70 \pm 18	9.3 \pm 5.0
ヘモグロビン濃度 (g/dl)	< 10	57	91 \pm 42	87 \pm 26	68 \pm 18	8.7 \pm 6.7
	10~11	60	95 \pm 59	80 \pm 18	72 \pm 18	10.1 \pm 4.6
	11 <	23	84 \pm 32	84 \pm 23	70 \pm 12	9.9 \pm 4.8

3.3 血中ヘプシジン濃度による3群における成績

まず、ヘモグロビンであるが、図3のようにヘプシジン低値群に比し、高値群でやや高い傾向だったが、有意ではなかった。

一方、TIBCはヘプシジン低値群に比し、高値の両群で有意に低かった。

各金属濃度については、図4のように、鉄でヘプシジン低値群に比し、高値群でやや高い傾向だったが、有意ではなかった。銅については差を認めなかったが、亜鉛およびセレンに関してはヘプシジン低値群に比し、高値群で有意に高い群がみられた。

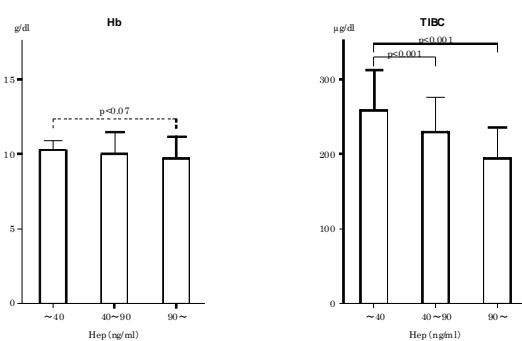


図3 ヘプシジン濃度による3群におけるヘモグロビンおよびTIBC値

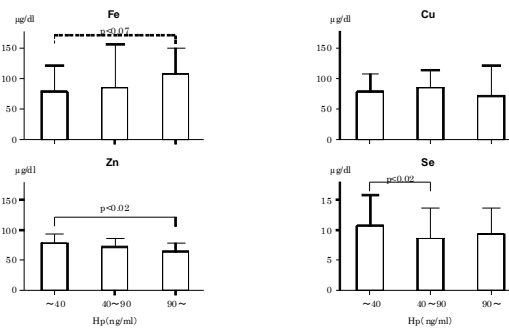


図4 ヘプシジン濃度による3群における血中各金属濃度

4 考察

まず、トランスフェリンは、鉄欠乏時に肝臓での産生が亢進、増加し、感染症などで低下するが、鉄代謝に関してはヘプシジンの発現を調節する^{6,7)}ことが知られており、これを介する各金属の影響も考えられるため、ここでは、血中トランスフェリンの総量をあらかず、血中TIBC濃度を測定し検討に供した。

ヘプシジンは、血液透析患者全体では TIBC と負に相関 ($r=-0.50$) し、ヘプシジン濃度からの 3 群に分けた成績でも、TIBC はヘプシジン高値群で有意に低値であった。すなわち、TIBC、すなわちトランスフェリンはヘプシジンを高め、逆に高値でヘプシジンを抑えると考えられる。

また、ヘプシジンと鉄濃度との関連についてみると、血液透析患者全体では、ヘプシジンは鉄と有意に正相関 ($r=0.22$, $p<0.05$) した (図 1) が、ヘプシジン濃度から 3 群に分けてみた場合 (図 4) には、鉄はヘプシジン高値群でやや高い傾向はみられたが、有意ではなかった。

ヘプシジンは鉄代謝系の調節に深く関わり²⁾、血液透析患者においても、ヘプシジンは鉄状態を反映するとも言われる¹⁰⁾ように、鉄濃度と相関したことは当然ともいえる。

しかし、その相関性が低い点およびヘプシジン濃度から 3 群に分けてみた場合、鉄との関連が明らかでなかったのは、ヘプシジンと EPO 抵抗性の関連が推測される^{4,5)}ように、ヘプシジン高値例が混在するためと考えられる。

次にヘプシジンと他の微量遷移金属との関連についてみると、亜鉛は HDP 全体では負に相関 ($r=0.21$, $p<0.05$) し、ヘプシジン濃度から 3 群に分けてみた場合も、ヘプシジン高値群で有意に低く、亜鉛の低下がヘプシジン上昇に関与していることが考えられた。その機序としては、血中 TIBC は、亜鉛と有意に正相関 (図 2) したことから、亜鉛は血中トランスフェリンに対し促進的に作用し、結果的にヘプシジンに対しては抑制的に関与して、亜鉛低値例ではヘプシジンが高くなることが考えられた。

また、セレンは、全体ではヘプシジンとは相関しなかったが、群間の比較ではヘプシジンの中間群でセレン濃度が有意に低く ($p<0.02$)、ヘプシジン高値群でもやや低い傾向がみられた。血中 TIBC とセレン濃度は正相関 (図 2) し、各金属間の相関でも亜鉛—セレン間に有意の相関がみられたことから、セレンも亜鉛より弱いながら、トランスフェリンに対し促進的に作用していることが考えられた。

次に、銅はヘプシジンとは相関しなかったが、TIBC と負相関しており、亜鉛とは逆にトランスフェリンに対し抑制的に作用すると考えられた。マウスやラットの実験では、亜鉛欠乏食で鉄濃度が上昇¹¹⁾し、亜鉛投与では鉄吸収が低下した⁹⁾との成績が得られているが、我々の先の成績からは亜鉛低下がヘプシジン上昇に作用すると、鉄は低下することになって反対の成績となる。Jenkitasemwong らは銅欠乏食投与のラットで肝のヘプシジン発現は低下し、フェロポルチンは有意に高まるが、血中の鉄とヘプシジンレベルに差はないことを報告¹²⁾している。このように、これらの金属はヘプシジン調節等に深く関わると考えられるが、短期間での食事等による摂取では血中ヘプシジンの変化は現われにくく、やや長時間にわたる影響が必要かもしれない。

ところで、これら各金属濃度に関しては、エリスロポチン投与による影響および結果としてのヘモグロビン濃度が関連することが考えられたが、実際にはいずれの金属も各群間の差を認めなかった (表 1)。このことは、血中ヘプシジン濃度と各金属との間には関連を認めたことを考えると、これら金属がエリスロポエチン投与やヘモグロビン濃度とは独立してヘプシジンの調節に関わっている事を示唆するものと思われた。

その機序として、ヘプシジンは、細胞内での鉄輸送体であるフェロポルチンをブロックすることにより鉄の輸送を低下させる²⁾とされるが、そのフェロポルチンの調節に関しては、亜鉛、銅およびカドミウムなどの金属が関与しているとの報告^{12,13)}や、ヘプシジンと 2 荷金属イオンとの直接的結合性も報告されており¹⁴⁾、トランスフェリンと独立した関与も考えられるが、さらなる検討を要する。

まとめると、亜鉛は TIBC と正相関し、ヘプシジンとは負相関しており、主にトランスフェリンを介してヘプシジンと関連する可能性が示唆された。同様に、セレンおよび銅はともにヘプシジンとの直接的関連は明らかでなかったが、トランスフェリンとは正相関し、逆に銅は負相関し、それぞれトランスフェリンを介してヘプシジンに関わることが考えられた。

参考文献

- 1) Ryter SW and Tyrrell RM. The heme synthesis and degradation Pathways:role in oxidant sensitivity.Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radic Bio Med* 28:289-309,2000
- 2) Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 507:29-35, 2006
- 3) Xu Y and Ding XQ et al. Serum hepcidin in hemodialysis patients: associations with iron status and microinflammation. *J Int Med Res* 39:1961-1967,2011
- 4) Costa E and Swinkels DW et al. Heparin serum levels and resistance to recombinant human erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Acta Haematol* 122:226-229,2009
- 5) Kato A and Tsuji T et al. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 28:115-121,2008
- 6) Bartnikas TB. Known and potential roles of transferrin in iron biology. *Biometals* 25:677-686,2012
- 7) Gkouvatsos K and Papanikolaou G et al. Regulation of iron transport and the role of transferrin. *Biochim Biophys Acta* 1820:188-202,2012
- 8) Chen H and Huang G et al. Decreased hephaestin activity in the intestine of copper-deficient mice causes systemic iron deficiency. *J Nutr* 136:1236-1241,2006
- 9) Kelleher SL and Lönnerdal B. Zinc supplementation reduces iron absorption through age-dependent changes in small intestine iron transporter expression in suckling rat pups. *J Nutr*136:1185-1191,2006
- 10)Van der Putten K and Jie KE et al. Heparin-25 is a marker of the response rather than resistance to exogenous erythropoietin in chronic kidney disease/chronic heart failure patients. *Eur J Heart Fail* 12:943-950,2010
- 11)許斐亜紀、横井克彦 鉄・亜鉛の単独および同時欠乏が生体に及ぼす影響。 *Trace Nutrients Research* 24:82-89,2007
- 12)Jenkitkasemwong S and Broderius M et al. Anemic copper-deficient rats, but not mice, display low hepcidin expression and high ferroportin levels. *J Nutr* 140:723-730,2010
- 13)Troade MB and Ward DM et al. Induction of FPN1 transcription by MTF-1 reveals a role for ferroportin in transition metal efflux. *Blood* 116:4657-4664,2010
- 14)Tselepis C and Ford SJ et al. Characterization of the transition-metal-binding properties of hepcidin. *Biochem J* 427:289-296,2010

Plasma hepcidin and trace elements in chronic renal failure

K.Yamaya¹, S. Tsuboi¹, C. Tsutaya¹, M. Sutoh¹, Y. Hashimoto¹, H. Saitoh¹, T. Funyu¹
Y. Shimonaka², K. Sera³, S. Goto⁴, S. Hatakeyama⁵ and C. Ohyama⁵

¹Oyokyo Kidney Research Institute
90 Yamazaki Kozawa Hirosaki 036-8243, Japan

²Chugai-pharmaceutical Co. Ltd.
200 Kajihara Kamakura Kanagawa 247-8530 ,Japan

³Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

⁴Takizawa Laboratory, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

⁵Department of Urology, Hirosaki University Graduate School of Medicine
⁵ Zaifu-cho Hirosaki 036-8562, Japan

Abstract

Iron deficiency and anemia are commonly in chronic renal failure. Heparin, a peptide hormone synthesized in the liver is a key homeostatic regulator of iron metabolism.

It is known that the trace transition elements are also related to anemia and iron level, however, little is known about the interaction of hepcidin with trace elements.

We examined the association between plasma hepcidin and iron, zinc, selenium and copper concentrations in 150 regular hemodialysis patients. Heparin and trace elements (iron, zinc, selenium and copper) in blood were measured respectively by using mass spectrometry and PIXE method.

As a result, although Epo medication or the HB level did not influence each metal concentration, the significant relationships were found between hepcidin and iron ($r=0.22$, $p<0.05$) or zinc ($r=-0.21$, $p<0.05$). Moreover the significant relationships were found between total iron-binding capacity (TIBC) and zinc, selenium or copper.

In conclusion, a possibility that the hepcidin level influenced the iron level was suggested. And a possibility that zinc, selenium and copper level also influenced the hepcidin level was suggested.