

ESA 製剤の作用時間の長短による鉄代謝の差異

庄司繁市*1 稲葉雅章*2 山川智之*1

*1 白鷺病院 *2 大阪市立大学大学院医学研究科代謝内分泌病態学

key words : 血液透析, 貧血, フェリチン, 鉄, ヘプシジン

要 旨

血清のフェリチンは透析患者の予後を予測する^{1,2)}。ダルベポエチン (DPO) はエリスロポエチン (EPO) に比べ貧血改善効果が優れている。EPO (Unit) : DPO (μg) を 200 : 1 で変更すると, EPO 投与時よりも DPO 投与時にはヘモグロビン値が上昇する³⁾。ヘプシジンは鉄代謝の主たる調節因子であり, 赤血球造血で抑制される⁴⁾。それゆえ, あたらしく測定が可能になったヘプシジン 25 を連続測定し, DPO と EPO の鉄利用について調べることは興味あることである⁵⁾。EPO 投与時と DPO 投与時における投与 1 週間のヘプシジン 25 低下面積は DPO 投与時に有意に大きかったことより, EPO および DPO 投与後のヘプシジンの変化から EPO より DPO のほうが造血に対してすぐれていると思われた⁶⁾。

はじめに

遺伝子組み換えヒトエリスロポエチン (rHuEPO) が 1990 年から臨床使用可能となり, 腎性貧血治療は大きく変貌した。2007 年より新しい erythropoiesis stimulating agent (ESA) 製剤として DPO の臨床応用が始まった。DPO は週 1 回の投与であるが, EPO より貧血改善効果がすぐれている。鉄代謝, ヘプシジン, フェリチンについて述べ, 最後に ESA 製剤のヘプシ

ジンからみた反応について報告する。

1 鉄代謝について

鉄は生体のホメオスタシスの維持に必要である。酸化還元反応における電子受容媒体で, 鉄は遷移元素で 2 価と 3 価を容易にとり, 酸素を直接配位する構造をもつ。しかし鉄過剰状態では毒性を発揮する。鉄は活性酸素の産生を触媒するので, なるべく鉄を蛋白と結合させて毒性を消す。それゆえ人体内での鉄イオンの存在様式は細胞内では毒性が中和された形, つまり蛋白に結合した形で存在する。組織鉄は生命維持に積極的な役割を果たし, 細胞の呼吸反応にかかわるヘム酵素群, TCA 回路などエネルギー代謝に必須な鉄イオン蛋白, DNA 合成に不可欠なヘム酵素, 異物を代謝するヘム酵素 (P 450) がある。貯蔵鉄は鉄を解毒・貯蔵し, 必要に応じて生命維持機構へ供給するが, フェリチンとその変性体であるヘモジデリンがある。また細胞間の鉄や酸素輸送を司る蛋白としてトランスフェリンやヘモグロビンがある。その他, 不安定鉄プールが, 酸化還元反応, 細胞増殖および細胞情報伝達など, 細胞の恒常性維持に役立っている。

体内の鉄の 60~70% は赤血球中のヘモグロビンを形成する鉄として存在し, 25% は肝細胞や肝・脾の網内系マクロファージに貯蔵鉄 (フェリチンやフェリチンの集合体であるヘモジデリン) として, そして 4

The difference of iron metabolism depend on acting time of erythropoiesis-stimulating agents

Kidney Center, Shirasagi Hospital

Shigeichi Shoji

Tomoyuki Yamakawa

Department of Metabolism, Endocrinology and Molecular Medicine, Osaka City University Graduate School of Medicine

Masaaki Inaba

%は筋肉内にミオグロブリンとして存在する。末梢血中（血清中）でトランスフェリンと結合した形態で存在する、いわゆる血清鉄は体内の鉄の0.1%にすぎず、さらに微量が末梢血中のフェリチン（血清フェリチン）として存在する。鉄吸収は1日約1mg、消化管粘膜上皮細胞の脱落が約1mgであり、それ以外の鉄は閉鎖循環されていることになる。

大人の男性であれば体内の鉄は約4gであり、そのうち1gが肝臓、50%以上の2gより少し多い量がヘモグロビンであり、その1%の赤血球が壊れ1日に20~25mgの鉄が失われる。赤血球生産に用いられる鉄量は、鉄動態機能検査（フェロカインテイクス）から0.4~0.9mg/kg/日、1日に20~25mgである。血清鉄は3~4mg（体内の0.1%）であるので、数時間で血清鉄は回転していることになる。

2 ヘプシジンについて

ヘプシジンは肝臓から産生されるタンパクで、構成アミノ酸数から20, 22, 25が確認されているが、鉄代謝に関しては主に25によって行われている。血清鉄の供給は腸管上皮細胞（消化管での吸収）、肝細胞（貯蔵鉄）、マクロファージ（古いRBCを貪食）から行われるが、いずれの場合でも鉄輸送膜蛋白であるフェロポルチンを介して行われる。ヘプシジン25は、フェロポルチンに結合することで細胞内に取り込まれ、ライソゾームで分解される。フェロポルチンは一旦分解されると新規合成に2~3日かかる⁷⁾。つまり、ヘプシジン25が高値であると、血清鉄の供給がスムーズに行われず。

ヘプシジン25発現に関与する因子には、①鉄負荷、②炎症反応、③骨髄造血機能、④growth differentiation factor 15（GDF 15）がある。鉄負荷は飽和トランスフェリンの刺激でトランスフェリン受容体（TfR2）が誘導され、BMP 2/4, Smadシグナル伝達系を介して、ヘプシジンが産生される。炎症反応はIL-6によるSTAT pathwayが活性化され、それによりヘプシジンが産生される。骨髄造血機能はX線照射で骨髄抑制させると、貧血下でもヘプシジン産生が増加する。GDF 15はサラセミア患者は骨髄造血機能が亢進しており、その血清にはヘプシジン産生を抑制するGDF 15が含まれると言われている。

感染症においては、IL-6の産生とともにヘプシジン

25の発現が著明に増加し、血清鉄は著しく減少しフェリチンが増加する。ほとんどの細菌がその増殖に多量の鉄を要するため、血清鉄の低下は細菌増殖を防ぐ防御反応とも言える。

3 フェリチンについて

血清フェリチン値は貯蔵鉄量とよく相関する。血清フェリチン値の1ng/mLの上昇は、貯蔵鉄量の8~10mgの増加を反映する。

腎性貧血患者において、ESA製剤の効果を発揮するためには鉄欠乏性を診断し、適切に鉄剤補充を行う必要がある。しかし鉄過剰により感染やその他のさまざまな臓器障害を起こす可能性が知られており、鉄過剰は避ける必要がある。残念ながら鉄剤補充の安全限界を検討したエビデンスの高い研究はなく、各国のガイドラインでも鉄剤補充の基準はさまざまである⁸⁾。日本のガイドラインは、TSAT 20%以下かつ血清フェリチン値100ng/mL以下が鉄剤補充の開始基準になっている。2012年に発表されたKDIGOのガイドラインでは、Hbの増加やESAの減量を目指し、TSAT 30%以下かつフェリチン値500ng/mLの場合、1~3カ月の鉄剤投与を行うことを提案しており、今までのガイドラインに比べ高めの値になっている。

しかし、鉄は生体にとって造血に不可欠の物質であるが、その過剰は酸化ストレスを通して老化、発癌のみならず、造血障害も起こす。血液透析患者の鉄の至適指標はTSAT 20%（できれば22%）以上、血清フェリチン60ng/mL未満が効率よく造血に鉄が利用される状態であるとの報告もある⁹⁾。また、鉄の投与方法について、経静脈的投与法は短時間投与でなく持続的注入がよいとの意見がある⁹⁾。これは、CKD患者に鉄剤を静注すると24時間後にヘプシジン濃度が3倍以上に上昇するからである¹⁰⁾。

4 ヘプシジンからみたESA製剤の効果⁶⁾

4-1 目的

DPOの貯蔵からの鉄利用能力を、明らかな炎症や感染のない血液透析患者で、血清鉄、TAST、フェリチン、ヘプシジン25を連続して調べることによってEPOの能力と比較する。

4-2 方法

(1) 長期のクロスオーバー試験

26名の維持血液透析患者を対象に、1年間のEPO使用後2年間はDPOに切り替えた。

この間Hbは10~11 g/dLに維持するようESA製剤を調節した。またTSAT>20%、フェリチン>50 ng/mLに維持されるよう鉄剤の静注がされた。

(2) 短期のクロスオーバー試験

EPO 9,000単位/週投与でHbが維持されている外来維持透析患者6名を対象に、EPO (3,000単位×3/週)使用4週間後に、DPO (40 μg/週)使用4週間に変更した。試験期間中の鉄剤投与はしなかった。観察開始時、2日後、4日後、7日後、4週間後、4週後に切り替えして、切り替え時、2日後、4日後、7日後、4週間後の血液透析前に、血清鉄、TAST、フェリチン、

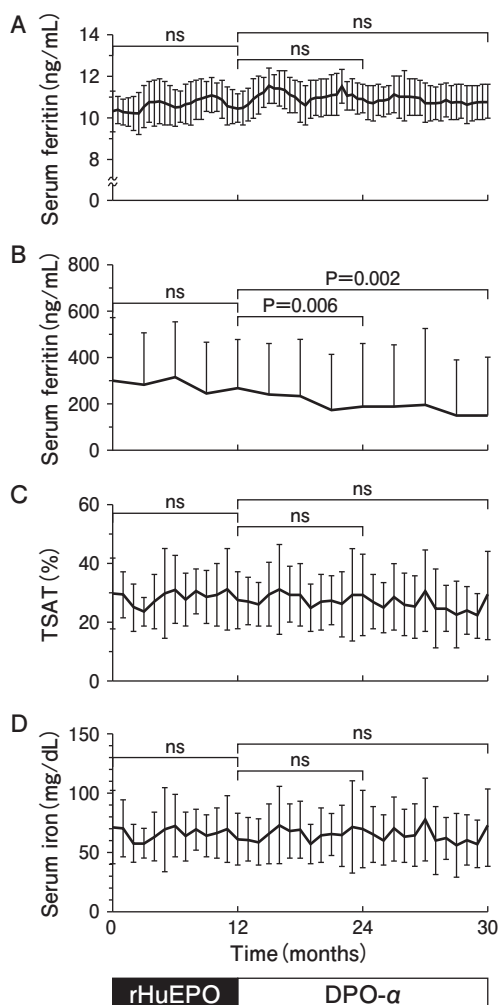


図1 3年間クロスオーバー試験中のHb、血清フェリチン、TAST、血清鉄に対するEPOとDPOの効果 (文献6より)

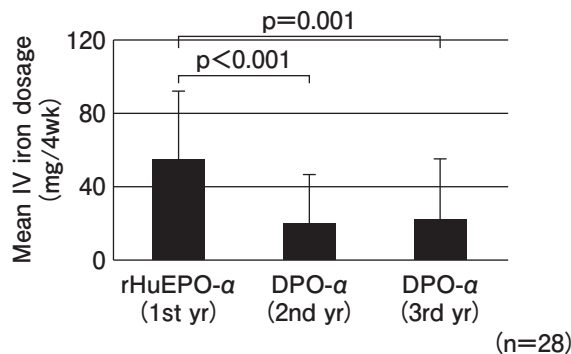


図2 3年間クロスオーバー試験中にTSAT 20%以上、フェリチン 50 ng/ml以上に維持するための静注鉄量に対するEPOとDPOの効果 (文献6より)

ヘプシジン 25, hsCRP, IL-6の採血を行った。EPO投与時とDPO投与時における投与1週間のヘプシジン 25 低下面積で評価した。

4-3 結果

- Hbは3年間変わらず (図1A)。EPO使用時の1年間フェリチンは変化がなかったが、DPO使用時の2年間にフェリチン値は268.9から150.1 ng/mLへ減少した (図1B)。しかしこの3年間にTSAT (図1C) 血清フェリチン (図1D) に変化はなかった。EPO使用時の静注鉄剤の量は53.5 mg/4週からDPO使用1年後、2年後には19.7, 21.0 mg/4週 ($p<0.001$)、3年目 ($p=0.001$) に減少した (図2)。
- EPO投与時にHbの変化は認めなかったが、DPO投与時に有意な増加が認められた (11.68 ± 1.14 vs. 11.07 ± 0.84 g/dL, $p=0.035$) (図3A)。EPO投与時にフェリチンの変化は認めなかったが、DPO投与時に有意な減少が認められた (52.5 ± 36.9 vs. 105.7 ± 61.8 ng/mL, $p<0.001$) (図3B)。EPO投与時とDPO投与時における投与1週間のヘプシジン 25 低下面積は、DPO投与時に有意に大きかった (-348.0 ± 92.4 vs. -178.4 ± 131.5 · 日, $p=0.030$) (図4B))。

4-4 結論

EPOおよびDPO投与後のヘプシジンの変化から、EPOよりDPOのほうが造血に対してすぐれていると思われた。

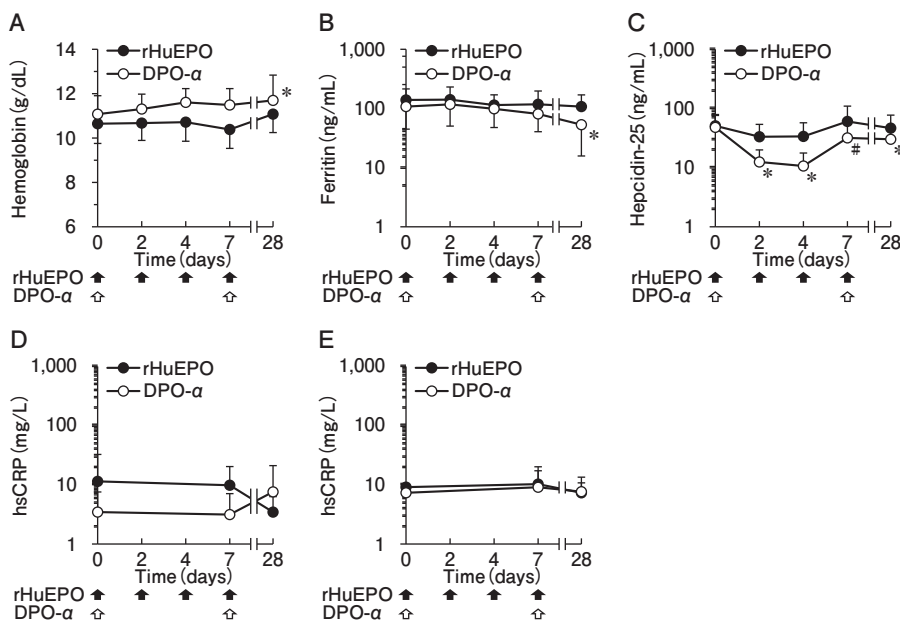


図3 8週間の短期クロスオーバー試験中のHb, 血清フェリチン, 血清ヘプシジン 25, hsCRP, IL-6 に対する EPO と DPO の効果 (文献6より)

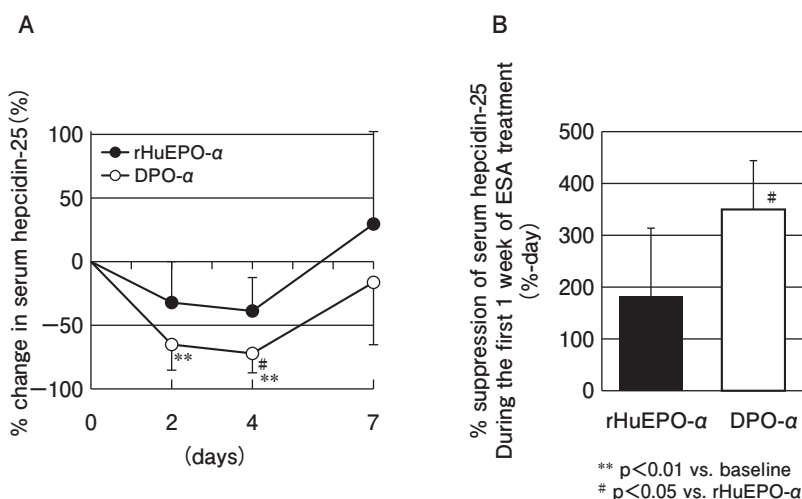


図4 ヘプシジン 25 の % チェンジ (A) と 1 週間のヘプシジン 25 低下面積 (B) における DPO の EPO に対する優位性 (文献6より)

4-5 考察

長期のクロスオーバー試験で、長期作用型の DPO は EPO より造血のための骨髄での鉄利用を増加させている可能性を示した。さらに、短期試験で、鉄代謝の主たる調節因子であるヘプシジンを、長期作用型の DPO は EPO より抑制することからその機序が説明できた。長期試験では、EPO 使用時には体内の貯蔵鉄のマーカー¹¹⁾である血清のフェリチンが減少せず、DPO 使用時に減少した。このことは、DPO が骨髄での赤血球造血における鉄利用は減少させず、貯蔵鉄を

減少させたことを示している。それゆえ、DPO が EPO より赤血球の造血における鉄利用の効率を改善したことを示している。

血清のフェリチンは貯蔵鉄を示す臨床的に有用なパラメータである¹²⁾。そして、体内へ入る鉄の量と出る鉄の量はむしろ制限されている¹³⁾。DPO 使用時の血清フェリチンの減少は静注鉄量の減少による¹⁴⁾。DPO が EPO よりヘプシジン 25 を抑制したことは、DPO が EPO より赤血球の造血における鉄利用の効率を改善したことを指示する。ヘプシジン 25 は鉄代謝の主

たる調節因子であり、鉄の移動を調節している鉄輸送膜蛋白であるフェロポルチンを細胞内に取り込み、ライソゾームで分解して細胞膜をとおして循環中に出る鉄の量を調節している¹⁵⁾。ただし、慢性腎臓病では血清フェリチンが91 ng/mL以上でヘプシジンとHbで相関がみられるが、血清フェリチンが低い場合は造血機能の指標になりにくいとの報告がある。このことは、ヘプシジン25は十分な貯蔵鉄がある場合にのみ赤血球造血の調節因子であることを示している¹⁶⁾。

赤血球造血に使われる鉄は多量で、絶えず循環中に供給されなければならない⁴⁾。そして循環中の鉄の量を調節しているのは主にヘプシジンである¹⁷⁾。持続的なヘプシジン25の抑制が、骨髄での赤血球造血に鉄が供給されるためにはなくてはならないことである。鉄の静注は貯蔵鉄を増加させる。そして循環中の鉄の供給を止めてしまうヘプシジンを増加させる^{14, 17)}。十分な貯蔵鉄がある場合には、ヘプシジン25とHbは負の相関を示し、フェリチンとは正の相関を示す¹⁸⁾。それゆえこの研究では、血清フェリチンは100 ng/mL以上を対象とした。

鉄過剰は感染、臓器不全、内皮障害や動脈硬化を進める酸化コレステロールなどのさまざまな合併症に密接に関係のある反応型ラジカルの産生を触媒するので、細胞や組織を害する¹⁹⁾。さらに、血清フェリチンの高値は透析患者の入院²⁰⁾、罹病率や全死亡率を増加させる²¹⁾。ヒトの動脈硬化巣の主たる破たん病巣のマクロファージに鉄の蓄積が報告されており²²⁾、局所の酸化ストレスが増加することで²³⁾、鉄過剰が動脈硬化を進めるかもしれない²⁴⁾。破たんのリスクの高い所にマクロファージが集積している²⁵⁾、マクロファージに集積した鉄が、酸化ストレスによって動脈硬化のプラークの破たんに関係しているかもしれない。これらのデータから、過剰の貯蔵鉄は、集まった細胞や組織に酸化ストレスによる害を及ぼすと考えられる。

最近、血清フェリチン値が100以上で死亡率が上昇することが示され²⁾、日本透析医学会のガイドラインでは血清フェリチン値は100 ng/mL以下が提案されている²⁶⁾。

5 おわりに

我々はDPOがEPOより、腎性貧血の治療に有利であり、貯蔵鉄から骨髄への鉄移動を促進し造血を効

率的に行い、体内の貯蔵鉄の過剰が引き起こすと思われる害を防止できる可能性を示した。長期作用型のEPO製剤を使用する場合は、その作用時間から鉄利用が持続的に行われる投与間隔にする必要がある。

文 献

- 1) Kalantar-Zadeh K, Regidor DL, Mcallister CJ, et al. : Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 16; 3070-3080, 2005.
- 2) Hasuike Y, Nonoguchi H, Tokuyama M, et al. : Serum ferritin predicts prognosis in hemodialysis patients:the Nishinomiya study. *Clin Exp Nephrol*, 14; 349-355, 2010.
- 3) Scott DS, and Pharm M, and Pharm D : Dose conversion from recombinant human erythropoietin to darbepoietin alfa: Recommendation from clinical studies. *Pharmacotherapy*, 22 (9 pt 2); 160S-165S, 2002.
- 4) Pak M, Lopez MA, Gabayan V, et al. : Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*, 108 (12); 3730-3735, 2006.
- 5) Murano N, Ishigai M, Yasuno H, et al. : Simple and sensitive quantification of bioactive peptides in biological matrices using liquid chromatography/selected reaction mass spectrometry coupled with trichloroacetic acid clean-up. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 21; 4033-4038, 2007.
- 6) Shoji S, Inaba M, Tomosugi N, et al. : Greater potency of darbepoietin- α than erythropoietin in the suppression of serum hepcidin-25 and utility of iron for erythropoiesis in hemodialysis patients. *Eur J Haematology*, 90; 237-244, 2013.
- 7) Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, et al. : Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 106(6); 2196-2199, 2005.
- 8) 一般社団法人日本腎臓学会：腎性貧血治療における鉄剤補充は推奨されるか？エビデンスに基づくCKD診療ガイドライン2013。日腎会誌, 55(5)：585-860, 2013.
- 9) 前田貞亮, 友杉直久：鉄剤補充療法。透析フロンティア, 17 (3)：14-20, 2007.
- 10) Ashby DR, Ganiel PG, Busbridge M, et al. : Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int*, 75; 976-981, 2009.
- 11) Nakanishi T, Kuragano T, Nanami M, et al. : Importance of ferritin for optimizing anemia therapy in chronic kidney disease. *Am J Nephrol*, 32(5); 439-446, 2010.
- 12) Harrison PM, Arosio P : The ferritins : molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta*, 1275; 161-203, 1996.
- 13) Ganz T. : Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol*, 18(2); 394-400, 2007.
- 14) Ghoti H, Rachmilewitz EA, Simon-Lopez R, et al. : Evidence

- for tissue iron overload in long-term hemodialysis patients and the impact of withdrawing parenteral iron. *Eur J Haematol*, 89 (1); 87-93, 2012.
- 15) Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. : Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306(5704); 2090-2093, 2004.
- 16) Uehata T, Tomosugi N, Shoji T, et al. : Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients : a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant*, 27(3); 1076-1083, 2012.
- 17) Zaritsky J, Young B, Wang HJ, et al. : Heparin—a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 4(6); 1051-1056, 2009.
- 18) van der Putten K, Jie KE, van den Broek D, 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.
- 19) Sengoele G, Sunder-Plassmann G, Horl WH : Potential risk for infection and atherosclerosis due to iron therapy. *J Ren Nutr*, 15; 105-110, 2005.
- 20) Kletzmayer J, Horl WH : Iron overload and cardiovascular complications in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 17 (suppl 2); 25-29, 2002.
- 21) Kalantar-Zadeh K, Don BR, Rodriguez RA, et al. : Serum ferritin is a marker of morbidity and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 37; 564-572, 2001.
- 22) Kooi ME, Cappendijk VC, Cleutjens KB, et al. : Accumulation of ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide in human atherosclerotic plaques can be detected by in vivo magnetic resonance imaging. *Circulation*, 107; 2453-2458, 2003.
- 23) Drueke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, et al. : Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in endstage renal disease. *Circulation*, 106; 2212-2217, 2002.
- 24) Kuragano T, Itoh K, Shimonaka Y, et al. : Heparin as well as TNF- α are significant predictors of arterial stiffness in patients on maintenance hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 26; 2663-2667, 2011.
- 25) Ross R : Atherosclerosis : an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340; 115-126, 1999.
- 26) Tsubakihara Y, Nishi S, Akiba T, et al. : 2008 Japanese Society for Dialysis Therapy : guidelines for renal anemia in chronic kidney disease. *Ther Apher Dial*, 14(3); 240-275, 2010.