

血液透析患者における血中 HMGB1 および FGF-23 濃度と動脈硬化進展の関わりに関する検討

倭 成史*1 小尾靖江*2 峰松佑輔*3 島 陽子*1 藤村龍平*1 森影直子*1
中野知沙子*1 和田 晃*1 伊藤孝仁*1

*1 国立病院機構大阪医療センター腎臓内科 *2 小尾クリニック *3 国立病院機構大阪医療センター臨床工学室

key words : 維持血液透析, HMGB1, FGF-23, 動脈硬化, 心臓足首血管指数

要 旨

目的：心血管系合併症は、透析患者死亡の主要な原因となっており、その発症は健常者に比べて約 10 倍と高率であり、透析患者では動脈硬化の進展が速いことが深く関係していることが原因であるとされている。今回、動脈硬化の指標として心臓足首血管指数 (cardio-vascular index; CAVI) を測定し、慢性炎症の指標として血中 high mobility group box 1 (HMGB1) 濃度や、CKD-MBD (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) 関連因子である fibroblast growth factor 23 (FGF-23) 濃度を含む種々のパラメーターとの関連について検討した。

対象と方法：全身状態が安定した 42 名の維持血液透析患者を対象に、CAVI を測定した。血液検査は中 2 日の週始めの非絶食下条件で透析開始前に施行し、エントリー時の血中 HMGB1 濃度および FGF-23 濃度を含む各種パラメーターと CAVI の相関についてまず横断的に検討した。さらに、平均約 16 カ月後の追跡期間後に CAVI が再評価可能であった 32 名において、CAVI 値の変化を指標とした動脈硬化の進展の有無とエントリー時の各種パラメーターとの関係を検討した。

結果：維持血液透析中の血中 HMGB1 濃度は 3.21 ± 2.44 ng/mL, CAVI 値は 8.4 ± 1.5 であった。CAVI 値

は、性別および糖尿病の有無で有意な差は認めなかったが、年齢と有意な正の相関を、血清 BUN 値と有意な負の相関をそれぞれ認めた。しかし、慢性炎症の指標である血中 HMGB1 濃度や FGF-23 濃度を含む CKD-MBD 関連因子とは有意な相関を認めなかった。また、エントリー時と追跡後の CAVI 値の変化を指標とした動脈硬化の進展との関係も認められなかった。

結論：維持血液透析患者では、非感染状態においても、血中での HMGB1 レベルが活性化していることが判明した。維持透析患者の血中 HMGB1 濃度および FGF-23 濃度は、CAVI を指標とした動脈硬化進展との関係は認めなかったが、維持透析患者では HMGB1 が活性化されており、引き続き他の指標を用いてその臨床的意義を検討していく必要があると考えられた。

1 緒 言

腎機能低下自体が、糖尿病や高血圧などから独立した心血管系イベント発症のリスク要因となることが知られている。近年、医学の進歩による透析患者の長期生存に伴い、心血管系合併症に対する集学的治療を要する透析患者が増加している。現在、心血管系合併症は、透析患者死亡の主要な原因となっており、その発症は健常者に比べて約 10 倍と高率であると報告されている¹⁾。これには、透析患者では動脈硬化の進展が

Associations between HMGB1 or FGF-23 blood concentration and atherosclerosis in patients on maintenance hemodialysis

Division of Nephrology, Osaka National Hospital

Masafumi Yamato

OBI CLINIC

Yasue Obi

Division of Clinical Engineering, Osaka National Hospital

Yusuke Minematsu

速いことが深く関係していると考えられている。

透析患者における動脈硬化の進展には、高血圧はもとよりさまざまな因子が複雑に絡んでいるが、その中でも特に慢性腎臓病とそれに伴うミネラルと骨の代謝異常 (chronic kidney disease-mineral and bone disorder; CKD-MBD) および慢性炎症の関与は重要視されている分野である。

CKD-MBD については、リン代謝に関わる fibroblast growth factor 23 (FGF-23) が独立した透析患者の心血管イベントの発症リスクとなることが知られている^{2,3)}。Blacher らは、脈波伝播速度 (pulse wave velocity; PWV) 値にて、血液透析患者を3群に分けて140カ月間の生存率を検討し、PWV 値が高値な群ほど生存率は低下していくことを報告している。さらに、PWV 高値の血液透析患者では、低値の患者に比べて心血管系合併症の頻度が高いことも報告している⁴⁾。

一方、慢性炎症が関わる病態メカニズムに関してはまだまだ知見が乏しい。近年、敗血症ショックにおいて致死の後期メディエータとして働く炎症関連分子 (high mobility group box 1; HMGB1) が慢性的な促進因子として動脈硬化の進展にも関与していること⁵⁾、および慢性腎臓病では腎機能の進行とともに血中 HMGB1 濃度が上昇することが報告されている⁶⁾。血液透析患者における血中 HMGB1 に関する報告は乏しいが、以上のことより、透析患者において、HMGB1 が活性化されており、CKD-MBD 関連因子と共に直接的に透析患者の動脈硬化の進展に関与していることが推察される。

PWV は測定時の血圧の影響を受けることが問題であるため、本研究では、PWV ではなく心臓足首血管指数 (cardio-vascular index; CAVI) を動脈硬化の臨床指標として用い、血液透析患者における血中 HMGB1 および FGF-23 濃度と CAVI との関連性について横断的かつ縦断的に検討した。

2 対象と方法

2-1 対象

当院もしくは維持透析施設である小尾クリニックを通院中の維持血液透析患者のうち、血中の HMGB1 濃度に影響を及ぼしうる悪性腫瘍に現在罹患中の患者、3カ月以内に急性感染症で入院歴を有する患者、および採血時に明らかな急性感染症に罹患中の患者を除外

した。baPWV 同様に CAVI は下肢に末梢動脈硬化性疾患を有すると偽性低値を示すため、スクリーニングの上で ABI が 0.9 以下の患者を除外した。さらに、通常の採血に加えて血中 HMGB1 濃度、CKD-MBD 関連因子 (FGF-23, intact-PTH, カルシウム, リン濃度) が同時測定可能であった 42 名 (年齢 61 ± 15 歳, 平均透析歴 69 ± 64 カ月, 男性 26 名, 糖尿病患者 52.4%) を対象とした。

なお、今回の臨床試験においては、倫理委員会に相当する当院の受託研究審査委員会で承認を得、患者には文書にて同意を得た。

2-2 採血測定

血漿 HMGB1 および血清 FGF-23 濃度を含む各種パラメーターの測定は、中2日の週始めの非絶食下の透析開始前に施行した。なお、血漿 HMGB1 は ELISA 法 (Shino-test Corporation, Tokyo, Japan)、血清 FGF-23 は ELISA 法 (Kainos Laboratories Inc, Tokyo, Japan) にて外注委託で測定した。

2-3 動脈硬化の評価

フクダ電子製の CAVI-VaSera VS-1000 を用い、CAVI を透析前もしくは非透析日に測定し、左右の平均値を解析に用いた。

2-4 方法

エントリー時の血中 HMGB1 濃度および FGF-23 濃度を含む各種パラメーターと CAVI の相関についてまず横断的に検討した。

さらに、平均約 16 カ月後の追跡期間後に CAVI が再評価可能であった 32 名において、CAVI 値が増加した患者を [動脈硬化進展有り群]、増加しなかった患者を [動脈硬化進展無し群] とそれぞれ 2 群に分けるとともに、CAVI 値の変化比 (追跡後 CAVI/エントリー時 CAVI) を Δ CAVI と定義し、エントリー時の各種パラメーターと Δ CAVI 値との関係を検討した。

2-5 統計学的解析

統計処理には統計ソフトウェア JMP 8 を用いた。検査成績は平均値 \pm 標準偏差もしくは中央値と四分位範囲を用いた。2 群間の比較はピアソンの χ^2 検定もしくは Wilcoxon 検定を行った。FGF-23 は対数変換後

に検討を行った。P<0.05をもって統計学的に有意、0.05≤p<0.10をもって統計学的に傾向があるとした。

3 結果

対象患者の患者背景、各種採血項目結果、CAVI値

を表1に示す。血中HMGB1濃度は3.21±2.44 ng/mL、FGF-23濃度は1,600 (499~4,125) pg/mL、CAVI値は8.4±1.5であった。CAVI値は、男女間および糖尿病の有無で有意な差は認めなかった (data not shown)。

表2および図1に示すように、CAVIは対象患者の

表1 エントリー時の患者背景

(n=42)

Variable		Variable	
Age (years)	61 ± 15	BUN (mg/dL)	66.8 ± 18.3
Gender (Male/Female)	26/16	UA (mg/dL)	7.5 ± 1.5
Diabetes mellitus (%)	52.4	Ca (corrected) (mg/dL)	9.1 ± 0.6
SBP (mmHg)	151 ± 21	Pi (mg/dL)	4.8 ± 1.0
DBP (mmHg)	89 ± 13	Albumin (g/dL)	3.9 ± 0.4
MAP (mmHg)	110 ± 15	Intact-PTH (pg/mL)	183 ± 117
HD duration (month)	69 ± 64	FGF-23 (pg/mL)	1,600 (499~4,125)
TC (mg/dL)	165 ± 39	Log FGF-23 (pg/mL)	7.3 ± 1.5
HDL-C (mg/dL)	51 ± 13	HMGB1 (ng/mL)	3.21 ± 2.44
HbA1c (%) [†]	5.4 ± 0.9	CAVI	8.4 ± 1.5

† n=41

Values are expressed as the mean ± SD, number (percent), or median (interquartile range)

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, MAP: mean artery pressure, HD: hemodialysis, TC: total cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, HbA1c: hemoglobin A1c; BUN: blood urea nitrogen, UA: uric acid, FGF-23: fibroblast growth factor 23, HMGB1: high mobility group box 1, CAVI: cardio-ankle vascular index

表2 エントリー時のCAVI値と各種パラメーターとの単変量解析による相関関係

(n=42)

Variables	R	p value	Variables	R	p value
Age (years)	0.623	<0.0001 ^{†2}	UA (mg/dL)	-0.283	0.070
SBP (mmHg)	0.156	0.32	Ca (corrected) (mg/dL)	0.206	0.19
DBP (mmHg)	-0.089	0.58	Pi (mg/dL)	-0.203	0.20
MAP (mmHg)	0.022	0.89	Albumin (g/dL)	-0.259	0.098
HD duration (month)	-0.238	0.13	Intact-PTH (pg/mL)	-0.172	0.28
TC (mg/dL)	-0.235	0.13	FGF-23 (pg/mL)	0.017	0.92
HDL-C (mg/dL)	-0.140	0.38	Log FGF-23 (pg/mL)	0.006	0.97
HbA1c (%) ^{†1}	0.144	0.36	HMGB1 (ng/mL)	-0.056	0.72
BUN (mg/dL)	-0.333	0.031 ^{†2}			

†1 n=41

†2 statistically significant

CAVI: cardio-ankle vascular index, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, HD: hemodialysis, TC: total cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, HbA1c: hemoglobin A1c; BUN: blood urea nitrogen, UA: uric acid, FGF-23: fibroblast growth factor 23, HMGB1: high mobility group box 1

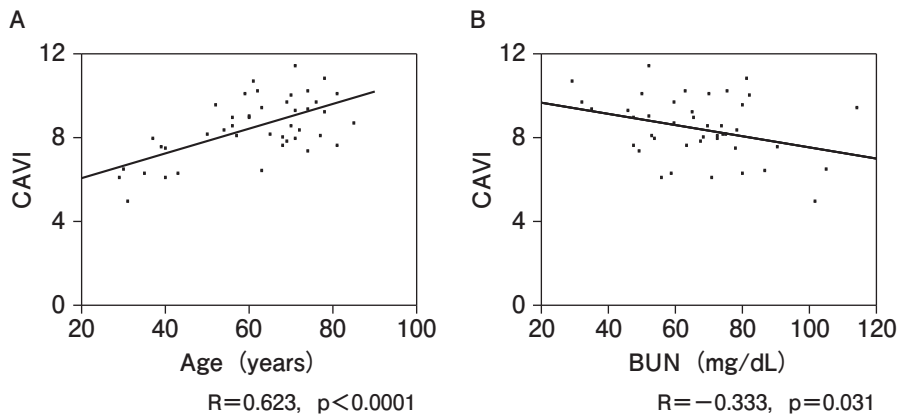


図1 CAVIと年齢(A)および血清BUN濃度(B)との関係

表3 追跡期間前後の動脈硬化進展の有無によるエントリー時の各種パラメーターの群間比較

(n=32)

	All (n=32)	進展有り (n=16)	進展無し (n=16)	p value
Age (years)	64 (45~71)	62 (41~71)	66 (51~73)	0.68
Gender (Male/Female)	18/14	7/9	11/5	0.15
Diabetes mellitus (%)	59.4	62.5	56.3	0.72
HD duration (month)	45 (31~83)	37 (27~106)	53 (32~82)	0.61
TC (mg/dL)	164 (135~192)	165 (148~217)	155 (126~182)	0.17
HDL-C (mg/dL)	49 (41~60)	51 (45~64)	49 (38~57)	0.17
BUN (mg/dL)	67.9 (54.4~75.4)	71.2 (55.4~78.3)	65.3 (53.1~73.9)	0.32
UA (mg/dL)	7.4 (6.7~8.3)	7.2 (6.8~8.2)	7.8 (6.6~8.6)	0.56
Ca (corrected) (mg/dL)	9.2 (8.5~9.6)	9.5 (8.4~9.9)	9.0 (8.6~9.3)	0.23
Pi (mg/dL)	4.8 (4.4~5.4)	5.0 (4.2~6.0)	4.8 (4.4~5.0)	0.31
Albumin (g/dL)	3.9 (3.7~4.1)	4.0 (3.7~4.3)	3.9 (3.7~4.1)	0.58
Intact-PTH (pg/mL)	159 (88~244)	149 (88~292)	159 (87~206)	0.88
FGF-23 (pg/mL)	2,000 (800~3,700)	1,250 (367~3,700)	2,450 (1,275~6,200)	0.32
Log FGF-23 (pg/mL)	7.6 (6.7~8.2)	7.1 (5.9~8.2)	7.8 (7.1~8.7)	0.32
HMGB1 (ng/mL)	2.65 (1.93~3.73)	3.00 (1.60~4.53)	2.30 (1.93~3.33)	0.44
CAVI	8.2 (7.5~9.4)	8.0 (7.5~8.5)	9.1 (7.5~10.0)	0.15

Values are expressed as number (percent), or median (interquartile range)

HD : hemodialysis, TC : total cholesterol, HDL-C : high density lipoprotein cholesterol, BUN : blood urea nitrogen, UA : uric acid, FGF-23 : fibroblast growth factor 23, HMGB1 : high mobility group box 1, CAVI : cardio-ankle vascular index

表4 追跡期間前後の CAVI 値の変化比: Δ CAVI とエントリー時の各種パラメーターの相関関係

(n=32)

Variables	R	p value	Variables	R	p value
Age (years)	-0.101	0.58	Pi (mg/dL)	0.282	0.12
HD duration (month)	-0.059	0.75	Albumin (g/dL)	0.094	0.61
TC (mg/dL)	0.272	0.13	Intact-PTH (pg/mL)	0.005	0.98
HDL-C (mg/dL)	0.299	0.10	FGF-23 (pg/mL)	0.012	0.95
BUN (mg/dL)	0.116	0.53	Log FGF-23 (pg/mL)	0.029	0.88
UA (mg/dL)	-0.082	0.65	HMGB1 (ng/mL)	0.175	0.34
Ca (corrected) (mg/dL)	0.197	0.28			

CAVI : cardio-ankle vascular index, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, HD : hemodialysis, TC : total cholesterol, HDL-C : high density lipoprotein cholesterol, HbA1c : hemoglobin A1c; BUN : blood urea nitrogen, UA : uric acid, FGF-23 : fibroblast growth factor 23, HMGB1 : high mobility group box 1

年齢と有意な正の相関を認め ($R=0.623, P<0.0001$), 血清 BUN 値と有意な負の相関 ($R=-0.333, p=0.031$), 血清 Alb 値と負の相関を示す傾向 ($R=-0.259, p=0.098$) を示した. しかし, 透析期間, 血漿 HMGB1 濃度および血清 FGF-23, 血清 intact-PTH 値, 血清アルブミン補正カルシウム値, 血清リン値などの CKD-MBD 関連因子とは相関関係を認めなかった.

次に, 平均追跡期間である約 16 カ月後に CAVI が評価可能であった 32 名において, エントリー時の各種パラメーターと動脈硬化進展との関係を検討した. それぞれ, 動脈硬化進展有り群は 16 名, 無し群は 16 名であった. 表 3 に示すように, 両群間での血漿 HMGB1 濃度や血清 FGF-23 濃度を含む各種パラメーターにおいて, 有意な差を認めなかった. また, 同様に表 4 に示すように, CAVI の変化率である Δ CAVI

ともこれらは有意な相関を認めなかった.

4 考察

血液透析患者における動脈硬化関連合併症は心血管系疾患 (CVD) に直結し, CVD は血液透析患者の予後を左右する重要な合併症である. 動脈硬化症を診断するうえで, PWV 同様に, CAVI は非侵襲的で簡易的な測定装置であり測定時の血圧の影響を受けにくいことが知られている. そこで, 動脈硬化病変の評価として, 今回 CAVI を使用し, 慢性炎症の指標として血中 HMGB1 や血中 FGF-23 濃度を含む CKD-MBD 関連因子など各種パラメーターとの関係を検討した. なお, PWV 同様, CAVI は下肢の動脈硬化性疾患が存在すると低値傾向を示すことが示唆されており, 今回の検討において, スクリーニングのうえで ABI が 0.9 以下の

患者を除外した。

今回の検討において、CAVIは年齢と有意な正の相関、血清BUN濃度と負の相関をそれぞれ示した。年齢とCAVIとの逆相関に関しては、Takenakaら⁷⁾の報告と合致する。一方、CAVI値は血清BUN濃度と有意な逆相関を、血清Alb濃度と有意ではないものの逆相関を示す傾向 ($p=0.098$) が認められた。今回、Kt/Vなどを用いた透析効率の評価はできていないものの、Stenvinkelら⁸⁾が1999年に提唱したMIA症候群 (malnutrition, inflammation, and atherosclerosis syndrome) の考え方も今回の結果は矛盾しないもの、すなわち摂食状態である栄養状態が良好な患者ほど動脈硬化病変が軽微である可能性を示唆していると考ええる。

ところで、炎症性サイトカインIL-6が単なる慢性炎症の指標のみでなく、MIA症候群の中心的な役割を果たす可能性があること⁹⁾、血液透析患者において血中IL-6濃度がbaPWVと正の相関を示すことが報告されている¹⁰⁾。HMGB1はIL-6などの炎症性サイトカインの刺激により、単球などから血中に放出される炎症関連因子である¹¹⁾。動脈硬化との関連においては、基礎的研究ではアテローム性動脈硬化症のモデルマウスにおいて、動脈硬化部位で単核球などの刺激によりHMGB1が活性化されていること、抗HMGB1抗体投与がアテロームプラーク形成を抑制しうること⁵⁾、臨床的研究では、1型糖尿病患者において血中HMGB1濃度が高いほど、心血管イベントの新規発生率が高いことや死亡率が高いことなどがそれぞれ報告されている¹²⁾。腎機能が正常の患者の血中HMGB1濃度は 1.65 ± 0.04 (ng/mL) とこれまで報告されている¹³⁾が、血液透析患者におけるHMGB1濃度に関しては我々が知る限り未知である。

今回、維持血液透析患者の血中HMGB1濃度が 3.21 ± 2.44 (ng/mL) と上昇していることが判明し、非感染状態においても維持血液透析患者では血中でのHMGB1が活性化されていた。そのため、IL-6同様に動脈硬化の進展に関与していることが予想されたが、今回の試験においてはCAVIとの相関はみられなかった。しかし、Katoら¹⁴⁾は、血液透析患者においてbaPWVとCAVIと有用性について検討し、追跡期間中の心血管死の予後とbaPWVは相関するものの、CAVIとは無関係であることを報告しており、このことが今回の結果に影響した可能性も考えられる。一方、

維持血液透析患者において、血中FGF-23濃度と心血管イベント発生率との関係は広く知られている^{2,3)}が、動脈硬化病変との関係については、腹部CT検査における腹部大動脈周囲の石灰化の程度とは相関するが血管の硬さの指標であるPWVと相関しないことが最近報告された¹⁵⁾。

以上のことより、少なくとも維持血液透析患者におけるHMGB1と動脈硬化進展との関係の検討においては、CAVIのみならずPWV、頸動脈エコーでの頸動脈内膜肥厚の程度、腹部CTでの大動脈周囲の石灰化の程度など他の指標を使用する必要があると考える。

なお、今回の検討における限界点として、①症例数が少ないこと、②血中HMGB1やFGF-23の測定がエントリー時のみであり、平均16カ月間の追跡期間中におけるこれらの濃度推移が不明であることなどがあげられる。

5 結 語

維持血液透析患者において、CAVIは年齢と正相関、血清BUN濃度と逆相関を各々示した。維持血液透析患者においては、非感染状態でも血中HMGB1レベルは活性化されており、引き続きその臨床的意義につき検討していく必要がある。

本研究は、平成23年度日本透析医会公募研究助成によってなされた。

文 献

- 1) Foley RN, Parfrey P, Sarnak MJ : Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 9; S16-S23, 1998.
- 2) Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, et al. : Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*, 359(6); 584-592, 2008.
- 3) Kirkpantur A, Balci M, Gurbuz OA, et al. : Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 26(4); 1346-1354, 2011.
- 4) Blacher J, Safar ME, Pannier B, et al. : Prognostic significance of arterial stiffness measurements in end-stage renal disease patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 11(6); 629-634, 2002.
- 5) Kanellakis P, Agrotis A, Kyaw TS, et al. : High-mobility group box protein 1 neutralization reduces development of di-

- et-induced atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31(2); 313-319, 2011.
- 6) Bruchfeld A, Qureshi AR, Lindholm B, et al. : High Mobility Group Box Protein-1 correlates with renal function in chronic kidney disease (CKD). *Mol Med*, 14(3-4); 109-115, 2008.
 - 7) Takenaka T, Hoshi H, Kato N, et al. : Cardio-ankle vascular index to screen cardiovascular diseases in patients with end-stage renal diseases. *J Atheroscler Thromb*, 15(6); 339-344, 2008.
 - 8) Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, et al. : Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int*, 55; 1899-1911, 1999.
 - 9) Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, et al. : Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 55; 648-658, 1999.
 - 10) 樋口輝美, 石川由美子, 堀田 直, 他 : 血液透析患者の brachial-ankle pulse wave velocity (baPWV) と各種パラメーターとの関連についての検討. *透析会誌*, 46; 551-559, 2013.
 - 11) Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. : HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 285; 248-251, 1999.
 - 12) Nin JW, Ferreira I, Schalkwijk CG, et al. : Higher plasma high-mobility group box 1 levels are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes : a 12 year follow-up study. *Diabetologia*, 55(9); 2489-2493, 2012.
 - 13) Fukami A, Adachi H, Yamagishi S, et al. : Factors associated with serum high mobility group box 1 (HMGB1) levels in a general population. *Metabolism*, 58(12); 1688-1693, 2009.
 - 14) Kato A, Takita T, Furuhashi M, et al. : Brachial-ankle pulse wave velocity and the cardio-ankle vascular index as a predictor of cardiovascular outcomes in patients on regular hemodialysis. *Ther Apher Dial*, 16(3); 232-241, 2012.
 - 15) Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, et al. : FGF23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. *Osteoporos Int*, 23; 2017-2025, 2012.