

血液透析患者の血漿グレリンは血清ペプシノーゲンと強く関連する

坂尾幸俊*1 杉本光繁*2,3 安田日出夫*2

*1 浜松医科大学血液浄化療法部 *2 浜松医科大学第一内科 *3 滋賀医科大学医学部附属病院光学医療診療部

key words : グレリン, ペプシノーゲン, ヘリコバクターピロリ, 胃粘膜萎縮

要 旨

胃で主に産生される食欲増進ホルモンのグレリンは抗炎症作用, 心血管保護作用など多彩な働きを持ち, 透析患者の低栄養や生命予後の改善効果に期待がもたれているが, その動態や意義はいまだ明らかではない。また, グレリン分泌量は胃粘膜内への *Helicobacter pylori* (HP) 感染の影響を受けることが知られているが, 透析患者における関連は不明である。今回われわれは, 血液透析 (HD) 患者の血漿活性型グレリン (AG) と非活性型グレリン (DG) を測定し, 各種臨床パラメ

ータや HP 感染との関連を検討した。その結果, 腎機能正常者と比べ HD 患者の AG に有意差はないが, DG は有意に高値だった。HP 陽性 HD 患者の血漿 AG, DG は, HP 陰性 HD 患者に比べ低値の傾向を認めるものの有意ではなかった。単相関では, AG, DG ともに, 胃粘膜萎縮の指標である血清ペプシノーゲン (PG) I, PG II, PG I/II 比との間に有意な正の相関を認めた。また重回帰分析では PG I, 年齢, BMI, Alb が AG を予測する独立した規定因子であった。以上より, AG は低栄養状態 (BMI 低値, Alb 低値) に対し拮抗して分泌されるが, 胃粘膜萎縮の進行によって産生が減少することが示唆された。

1 緒 言

HD 患者は, 食欲低下やサイトカインの活性化, アシドーシス, インスリン抵抗性, 骨ミネラル代謝異常などによって蛋白異化が亢進し, 筋肉量や体脂肪減少をきたす。このような HD 患者特有の低栄養状態は protein-energy wasting (PEW) とよばれ, 生命予後の悪化に大きく関わることから, 病態の解明と治療介入の必要性が求められている¹⁾。

胃で主に産生されるホルモンのグレリンは, 食欲増進, 蛋白同化作用, 抗炎症作用などをもたらすことから PEW の改善に寄与する可能性が期待されている^{2~4)}。グレリンは, N 末端側のセリン残基がオクタン酸で修飾 (アシル化) されることで活性を示し, 活性型である acyl ghrelin (AG) と非活性型である desacyl ghrelin (DG) により構成される。血中では約 10% が AG として存在し, 大部分は DG が占めている⁵⁾。透析患者における血漿グレリンレベルについては, ①総グレリンは低値から高値まで患者によって幅がある⁶⁾, ②非活性型グレリンレベルは上昇するが活性型は上昇しない⁷⁾, ③活性型グレリンレベルが上昇する⁸⁾等, 報告によって異なる。これには測定方法や患者背景の違いなどが影響していると推測されるが, 透析患者にお

Plasma ghrelin level is strongly associated with serum pepsinogen in hemodialysis patients

Blood Purification Unit, Hamamatsu University School of Medicine

Yukitoshi Sakao

Division of Digestive Endoscopy, Shiga University of Medical Science Hospital/First Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Mitsushige Sugimoto

First Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Hideo Yasuda

けるグレリンの動態，意義は明らかではない。

Helicobacter pylori (HP) 感染は透析患者の食欲低下や栄養状態に関与する因子の一つであり，除菌療法により炎症反応および栄養不良が改善する可能性が示されている⁹⁾。また胃内へのHP感染は萎縮性胃炎，胃十二指腸潰瘍，胃癌などの原因となるとともに，グレリン産生を低下させ食欲低下に関与することが報告されている¹⁰⁾。しかし，これは正常腎機能者における検討であり，透析患者におけるグレリンとHP感染の関連は不明である。

2 目的

血液透析 (HD) 患者における血漿活性型グレリン (AG) および非活性型グレリン (DG) レベルを明らかにする。またグレリン血中濃度に影響を与える因子についてHP感染との関連から明らかにする。

3 対象・方法

3-1 対象患者

浜名クリニック (静岡県浜松市) で慢性維持透析を受けている HD 患者，および浜松医科大学附属病院に入院した慢性腎臓病 (CKD) 患者 (保存期～透析導入期) のうち，臨床的適応に基づいてHP除菌歴がなく，上部内視鏡検査を受けた患者を対象とした。本研究は浜松医科大学倫理委員会の承認を得た (第 23-185 号)。すべての対象患者に対して文書および口頭によるインフォームドコンセント後に同意書を取得した。日本腎臓学会の定めた推算式と腎機能区分に基づいて¹¹⁾，推算糸球体濾過値 (eGFR) 60 ml/min/1.73 m² 以上を CKD 1+2，30～59 ml/min/1.73 m² を CKD 3，15～29 ml/min/1.73 m² を CKD 4，15 未満 ml/min/1.73 m² を CKD 5 とした。

3-2 採血

グレリン測定用の採血は内視鏡検査当日の朝に空腹時で行った。アプロチニン/EDTA 入り採血管を用いて採血し，採血後速やかに血漿分離した (4℃ で 1,500 回転×15 分間遠心)。得られた血漿に直ちに 1/10 量の 1 mol/L 塩酸を加え攪拌し，測定まで -80℃ で保存した。HD 患者については非透析日に内視鏡を行ったため，グレリン以外の項目については，直近の中 2 日透析前 (食後) に採血を行った。

3-3 血漿グレリン濃度測定

特異抗体を使用した 2 site Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を測定原理とした LSI メディエンス (日本) 製造の Active Ghrelin ELISA Kit，および Desacyl Ghrelin ELISA Kit を用いて，AG，DG を測定した。

3-4 HP 感染診断

内視鏡施行時に迅速ウレアーゼ試験，培養検査を施行するとともに，血液検査により HP-IgG 抗体を測定した。三つの項目のうちいずれかが陽性であれば HP 感染ありと診断した。

3-5 その他

HD 患者の body mass index (BMI) の算出にはドライウエイトを用いた。胃粘膜萎縮の指標として HD 患者の血清ペプシノーゲン I (PG I)，ペプシノーゲン II (PG II) をラテックス凝集法により測定した。動脈硬化の指標として ankle-brachial pressure index (ABI)，brachial-ankle pulse wave velocity を透析前に計測した。

3-6 統計学的解析

データは平均値±標準偏差または中央値 (25～75 percentile) で示した。2 群間の比較には t 検定または Mann-Whitney U 検定を，多重比較には分散分析 (Tukey's post hoc test 併用) を用いた。2 因子間の相関の解析は Spearman 順位相関を用いて行った。AG または DG を従属変数とした重回帰分析では，年齢，透析歴，糖尿病の有無，HP 感染の有無，BMI，血液尿素窒素 (BUN)，血清クレアチニン (Cr)，アルブミン (Alb)，リン，C 反応性蛋白 (CRP)，ヘモグロビン (Hb)，PG I，PG II，ABI，baPWV を独立変数として選択した。非正規分布の因子については対数変換を行った。統計ソフトは SPSS version 17.0 を使用し，P<0.05 を有意差ありとみなした。

4 結果

4-1 対象患者背景

HD 患者 78 人および CKD 患者 (stage 1～5) 51 人が登録された。HD は週 3 回，1 回あたり 4 時間行っており，血液流量は 180～240 ml/min，透析液流量 500 ml/min であった。透析歴は中央値 7.5 年 (2.9～

表1 患者背景

	CKD 1+2	CKD 3	CKD 4	CKD 5	HD	p-value
N	12	9	7	23	78	
年齢(歳)	48.6±19.2	55.6±17.2	70.6±19.5	68.1±16.4	70.2±11.5	<0.001
BMI(kg/m ²)	20.28±1.92	23.95±5.63	20.18±2.74	21.53±2.98	19.63±2.93	0.001
BUN(mg/dl)	13.8±4.6	21.4±5.5	51.3±2.2	64.4±19.3	59.3±15.2	<0.001
Cr(mg/dl)	0.74±0.21	1.29±0.28	2.25±0.57	6.90±2.49	10.32±2.84	<0.001
eGFR(ml/min/1.73 m ²)	76.83±11.984	44.33±7.984	20.86±3.848	7.43±3.072	—	<0.001
P(mEq/l)	3.98±0.48	4.33±2.01	3.60±0.73	5.28±1.32	5.22±1.34	0.001
Alb(g/dl)	3.44±0.91	3.50±0.93	2.64±0.90	3.41±0.43	3.43±0.40	0.010
CRP(mg/dl)	0.09(0.02~0.22)	0.15(0.13~0.40)	0.20(0.12~0.48)	0.21(0.05~0.82)	0.09(0.04~0.23)	0.036
Hb(g/dl)	13.04±1.68	12.26±3.33	10.71±2.77	8.92±1.74	10.59±1.17	<0.001

13.2), 原疾患は慢性糸球体腎炎 36 人 (46.2%), 糖尿病性腎症 20 人 (25.6%), 腎硬化症 5 人 (6.4%), 不明 9 人 (11.5%) であった。HD 患者は保存期 CKD に比較し有意に高齢で BMI が低値であった (<0.001)。CKD 5 は有意に Hb 値が低く, BUN, CRP は高値であった (<0.001) (表 1)。

4-2 CKD stage 別 AG, DG

血漿 AG の中央値は各群 15.0~22.0 fmol/mL の範囲にあり, 各群間で有意差は認めなかった ($p=0.119$, 図 1)。一方, HD 患者の DG レベルは CKD 1+2 に比べ有意に高値であった ($p=0.016$)。また, HD 患者では AG, DG の分布範囲が広く, 個体間差が大きい傾向を認めた。

4-3 HP 感染の有無で比較した HD 患者の背景および AG, DG レベル

HD 患者 78 人のうち, HP 感染率は 24.4% (19/78)

であった。HP 感染者と非感染者において, AG, DG レベルに有意な差は認めなかったが, PG I および PG I/II 比は HP 感染者のほうが有意に低値であった (<0.001) (表 2)。

4-4 単相関

HD 患者では, AG, DG とともに, PG I, PG II, PG I/II 比との間に有意な正の相関を認めた。AG は BUN との間にも有意な正の相関を認めた (表 3)。木村・竹本分類による内視鏡的胃粘膜萎縮度と PG I ($r=-0.475$, $p=0.001$) および PG II ($r=-0.299$, $p=0.046$) との間には有意な負の相関を認め, 萎縮の程度が強いほど PG I, PG II は低値となる関係が示されたが, PG I/II 比 ($r=-0.264$, $p=0.079$) との間には有意な相関はなかった。

4-5 重回帰分析

HD 患者において重回帰分析を行うと, PG I, 年齢,

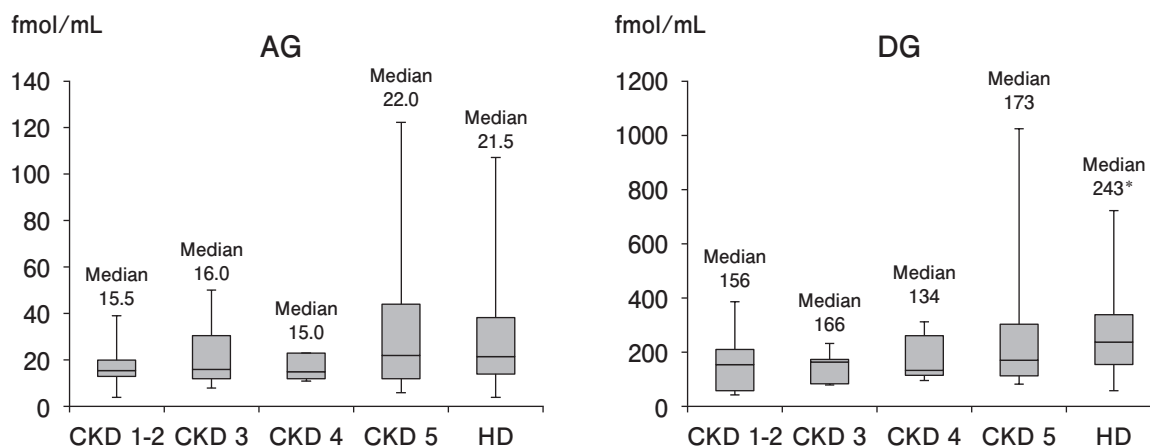


図1 腎機能別血漿グレリンレベル

box plot は中央値と 4 分位を, error bar は最大値と最小値を示す。* $p=0.016$ (vs CKD 1-2)

表 2 HP 感染 HD 患者と非感染 HD 患者の比較

	HP (-) (N = 59)	HP (+) (N = 19)	p-value
年齢(歳)	69.8 ± 11.1	71.5 ± 13.1	0.585
透析歴(y)	8.5 (2.9~14.9)	5.3 (2.6~9.0)	0.175
DM (%)	27.1	21.1	0.598
AG (pg/ml)	24 (16~41)	19 (12.0~37.0)	0.271
DG (pg/ml)	259 (158~349)	202 (139~260)	0.152
AG/DG 比	0.098 (0.082~0.137)	0.089 (0.071~0.125)	0.456
AG/(AG + DG) 比	0.089 (0.076~0.120)	0.082 (0.067~0.111)	0.456
DG/(AG + DG) 比	0.911 (0.880~0.924)	0.918 (0.890~0.933)	0.456
BMI (mg/dl)	19.6 ± 2.8	19.8 ± 3.3	0.772
Alb (g/dl)	3.5 ± 0.4	3.3 ± 0.4	0.119
Cr (mg/dl)	10.49 ± 2.81	9.80 ± 2.95	0.358
BUN (mg/dl)	59.4 ± 16.1	59.0 ± 12.3	0.934
P (mEq/l)	5.2 ± 1.3	5.3 ± 1.5	0.893
CRP (mg/dl)	0.08 (0.03~0.21)	0.09 (0.05~0.35)	0.592
Hb (g/dl)	10.6 ± 1.2	10.4 ± 1.2	0.490
PG I (ng/ml)	329.7 (189.0~571.6)	150.3 (66.8~356.8)	<0.001
PG II (ng/ml)	32.0 (20.0~50.5)	39.3 (24.6~61.6)	0.190
PG I/II 比	10.5 (8.4~12.8)	4.2 (2.0~5.7)	<0.001
ABI 比	1.05 ± 0.20	1.08 ± 0.23	0.567
baPWV (cm/sec)	2,081 ± 644	2,071 ± 709	0.567

表 3 AG, DG との単相関

	AG		DG	
	rs	p-value	rs	p-value
年齢	-0.204	0.073	-0.171	0.133
透析歴	-0.047	0.685	0.007	0.951
BMI	0.008	0.947	-0.088	0.443
BUN	0.232	0.041	0.194	0.088
Cr	0.010	0.934	0.042	0.714
P	0.143	0.212	0.207	0.069
Alb	0.022	0.848	0.123	0.283
CRP	-0.072	0.528	-0.076	0.510
Hb	-0.018	0.877	0.023	0.840
PG I	0.514	0.000	0.602	<0.001
PG II	0.364	0.001	0.424	<0.001
PG I/II 比	0.370	0.001	0.450	<0.001
ABI	-0.037	0.746	-0.069	0.554
baPWV	-0.152	0.194	-0.045	0.696

BMI, Alb が AG を予測する有意な因子であった。特に PG I は、種々のモデルでも一貫した有意性を認めた (表 4)。一方、DG についても PG I, BMI, Alb が有意な予測因子であった (表 5)。しかし、HP 感染の有無はいずれのモデルでも有意な因子にはならなかった。

5 考 察

我々は、血漿グレリンを AG, DG に分けて測定したさいに、AG は腎機能によって有意な変化は受けませんが、HD 患者では CKD 1~2 (eGFR ≥ 60 ml/min/1.73 m²) に比べ DG は有意に高値を示すことを明らかにした。

表 4 AG を従属変数とした重回帰分析

	Model 1 R=0.678, p<0.001		Model 2 R=0.671, p<0.001		Model 3 R=0.636, p<0.001	
	β	p-value	β	p-value	β	p-value
年齢	-0.31	0.016	-0.299	0.010	-0.285	0.015
BMI	-0.222	0.064	-0.271	0.008	-0.201	0.037
Alb	-0.260	0.074	-0.286	0.017	-0.269	0.022
PG I	0.692	0.003	0.653	<0.001	0.616	<0.001
PG II	-0.042	0.841	—	—	—	—
透析歴	0.045	0.713	—	—	—	—
DM	0.188	0.211	0.207	0.058	—	—
HP 感染	0.097	0.500	0.087	0.401	—	—
BUN	0.062	0.641	—	—	—	—
Cr	-0.146	0.383	—	—	—	—
P	-0.184	0.177	-0.200	0.068	-0.180	0.089
CRP	0.006	0.961	—	—	—	—
Hb	0.105	0.356	0.110	0.281	—	—
ABI	0.167	0.208	0.155	0.153	—	—
baPWV	-0.047	0.680	—	—	—	—

表 5 DG を従属変数とした重回帰分析

	Model 1 R=0.696, p<0.001		Model 2 R=0.669, p<0.001		Model 3 R=0.635, p<0.001	
	β	p-value	β	p-value	β	p-value
年齢	-0.196	0.113	-0.134	0.245	-0.117	0.310
BMI	-0.262	0.026	-0.312	0.002	-0.24	0.012
Alb	-0.214	0.131	-0.245	0.040	-0.229	0.051
PG I	0.867	<0.001	0.662	<0.001	0.641	<0.001
PG II	-0.206	0.317	—	—	—	—
透析歴	0.000	0.997	—	—	—	—
DM	0.127	0.385	0.230	0.032	—	—
HP 感染	0.178	0.205	0.065	0.509	—	—
BUN	0.083	0.525	—	—	—	—
Cr	-0.151	0.357	—	—	—	—
P	-0.046	0.728	-0.029	0.781	-0.011	0.909
CRP	-0.053	0.642	—	—	—	—
Hb	0.066	0.552	0.076	0.448	—	—
ABI	0.080	0.536	0.119	0.265	—	—
baPWV	-0.005	0.962	—	—	—	—

これまで、透析患者の血漿総グレリン濃度は、年齢、栄養指標 (subjective global assessment, 血清 Alb, トランスフェリン, 蛋白摂取量), BMI, インスリン, レプチン, 体幹部脂肪量と負の相関を示すことが報告されている^{8,12)}。われわれは特異抗体を用いた ELISA で AG のみを測定し, AG を予測する重回帰では年齢, BMI, 血清 Alb が有意な負の偏回帰係数を持つことを示した。これらの結果からは, AG は既報のごとく低栄養に対し拮抗して分泌されることが示唆される。

グレリン産生は胃粘膜内への HP 感染の影響を受け, 一般的には HP 感染者は非感染者に比べ血漿 AG, DG

レベルは有意に低値であることが報告されている¹³⁾。透析患者の血漿グレリンレベルと HP 感染の関連についてはこれまで報告されていないが, 今回の検討では, HP 感染者の血漿 AG, DG は, 非感染者に比べ低値の傾向はあるものの有意ではなかった。このことは, HP 感染率が 24.4% と既報よりも低く, 対象症例数が少なかった可能性も考えられる。

血清 PG の測定は胃粘膜萎縮, 特に胃体部萎縮の検出に有用であり, 主に胃癌のスクリーニングやリスクの評価に応用されている。一般的に HP 感染があると, 炎症により PG I, PG II は上昇し PG I/II 比は低下す

るが¹⁴⁾、もともと腎不全患者では腎機能正常者に比べ PG レベルは高値を呈することから¹⁵⁾、健常者の基準を当てはめることができない。

Tamura らの報告では、HP 陽性透析患者の PG I、PG II は HP 陰性透析患者に比べ有意に高いが、PG I/II 比は有意に低かった。また、正常腎機能者における萎縮性胃炎のカットオフ値である PG I/II 比 <3.0 は透析患者には当てはまらず、多くの患者がより高い値を呈した¹⁶⁾。また Araki らの検討では、HP 陽性透析患者の PG I は非感染透析患者と比べ有意な差を認めなかったが、PG II は有意に高く、PG I/II 比は有意に低かった¹⁷⁾。われわれの検討では HP 陽性者の PG I は陰性者に比べ有意に低値であり、既報告と異なる結果であった。また胃粘膜萎縮の程度が強いほど PG I、PG II は低値となる相関関係が認められた。したがって、HP 感染後、長期間が経過し萎縮が進行した結果として PG I が低下したと考えられる。

PG I と血漿 AG、DG レベルの間には有意な正の相関を認めたことから、胃粘膜萎縮が強いほどグレリン分泌量が減少する可能性が示唆された。今回の研究では、HP 感染とグレリンレベルの間に有意な関連は認められなかったが、HP 除菌により胃粘膜萎縮の改善が得られた場合にはグレリン分泌量が増加し、栄養状態の改善に寄与するかもしれない。種々の検査で HP 陰性者と判断された症例の中には内視鏡検査で胃粘膜萎縮を認め、既感染者と考えられる症例があり、今後は現感染者、既感染者、未感染者とわけたうえでの検討も必要と考えられる。

グレリンは抗炎症作用、心血管保護効果を持つことも報告されているが⁵⁾、今回のわれわれの研究では、透析患者の AG、DG と CRP、ABI、baPWV との間に関連は認められなかった。

6 結 語

HD 患者の血漿グレリンレベルは、腎機能正常者と比べ AG に有意差はないが、DG は有意に高値であった。HP 感染 HD 患者の血漿 AG、DG は、非感染 HD 患者に比べ低値の傾向を認めるものの有意ではなかった。単相関では、AG、DG とともに、PG I、PG II、PG I/II 比との間に有意な正の相関を認めた。また重回帰分析では、PG I、年齢、BMI、Alb が AG を予測する独立した規定因子であった。AG は低栄養状態 (BMI

低値、Alb 低値) に対し拮抗して分泌されるが、胃粘膜萎縮の進行によって産生が減少することが示唆された。グレリン分泌量の維持、促進のためには胃粘膜萎縮状態の評価とその改善が重要かもしれない。

この研究は平成 24 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) Mak RH, Ikizler AT, Kovesdy CP, et al. : Wasting in chronic kidney disease. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2; 9-25, 2011.
- 2) Akamizu T, Kangawa K : Ghrelin for cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 1; 169-176, 2010.
- 3) Wynne K, Giannitsopoulou K, Small CJ, et al. : Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis : a randomized, placebo-controlled trial. *J Am Soc Nephrol*, 16; 2111-2118, 2005.
- 4) Ashby DR, Ford HE, Wynne KJ, et al. : Sustained appetite improvement in malnourished dialysis patients by daily ghrelin treatment. *Kidney Int*, 76; 199-206, 2009.
- 5) Mak RH, Cheung WW : Is ghrelin a biomarker for mortality in end-stage renal disease? *Kidney Int*, 79; 697-699, 2011.
- 6) Carrero JJ, Nakashima A, Qureshi AR, et al. : Protein-energy wasting modifies the association of ghrelin with inflammation, leptin, and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 79; 749-756, 2011.
- 7) Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, et al. : Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 13; 2748-2752, 2002.
- 8) Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodríguez-Carmona A, et al. : Plasma ghrelin levels in patients undergoing haemodialysis and peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 19; 2095-2100, 2004.
- 9) Aguilera A, Codoceo R, Bajo MA, et al. : Helicobacter pylori infection : a new cause of anorexia in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*, 21; S152-S156, 2001.
- 10) Jang EJ, Park SW, Park JS, et al. : The influence of the eradication of Helicobacter pylori on gastric ghrelin, appetite, and body mass index in patients with peptic ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 23; S278-S285, 2008.
- 11) Japanese Society of Nephrology : Evidence-based clinical practice guideline for CKD 2013. *Clin Exp Nephrol*, 18; 346-423, 2014.
- 12) Rodriguez AE, Pecoits-Filho R, Heimbürger O, et al. : Associations between plasma ghrelin levels and body composition in end-stage renal disease: a longitudinal study. *Nephrol Dial Transplant*, 19; 421-426, 2004.
- 13) Ando T, Mizuno S, Ishida T, et al. : Plasma ghrelin isoforms

- and gastric ghrelin O-acyltransferase expression are influenced by *Helicobacter pylori* status. *Nutrition*, 28; 967-972, 2012.
- 14) Biasco G, Paganelli GM, Vaira D, et al. : Serum pepsinogen I and II concentrations and IgG antibody to *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients. *J Clin Pathol*, 46; 826-828, 1993.
- 15) Nakahama H, Tanaka Y, Shirai D, et al. : Elevated serum pepsinogens in chronic renal failure patients. *Nephron*, 70; 211-216, 1995.
- 16) Tamura H, Tokushima H, Murakawa M, et al. : Influences of *Helicobacter pylori* on serum pepsinogen concentrations in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 14; 113-117, 1999.
- 17) Araki H, Miyazaki R, Matsuda T, et al. : Significance of serum pepsinogens and their relationship to *Helicobacter pylori* infection and histological gastritis in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 14; 2669-2675, 1999.