

# 透析患者における骨ミネラル代謝異常の進展および治療効果を規定する遺伝子多型の同定

山口 慧\*<sup>1</sup> 小尾佳嗣\*<sup>1,2</sup> 濱野高行\*<sup>3</sup> 坂口悠介\*<sup>3</sup> 下村明弘\*<sup>1,4</sup> 難波倫子\*<sup>1</sup>  
三上聡司\*<sup>5</sup> 西 紀\*<sup>6</sup> 田中元子\*<sup>7</sup> 嘉元章人\*<sup>8</sup> 小尾靖江\*<sup>9</sup> 友杉直久\*<sup>10</sup>  
椿原美治\*<sup>11</sup> 猪阪善隆\*<sup>1</sup>

\*1 大阪大学大学院医学系研究科腎臓内科学 \*2 カリフォルニア大学アーバイン校腎高血圧部門 \*3 大阪大学大学院医学系研究科腎疾患臓器連関制御学 \*4 カリフォルニア大学アーバイン校移植部門 \*5 東香里病院内科 \*6 西診療所 \*7 あけほのクリニック \*8 双葉クリニック \*9 小尾クリニック \*10 エムシープロット・バイオテクノロジー \*11 滋慶医療科学大学院大学

key words : 血液透析, 天然型ビタミンD, コレカルシフェロール, ヘプシジン, rs11568820

## 要 旨

天然型ビタミンDは健常人のヘプシジンを減少させ、保存期CKD患者のPTHを抑制する。96名の維持透析患者に対してコレカルシフェロール9,000単位/週とプラセボのRCTを行い、貧血とCKD-MBDへの影響を調べた。コレカルシフェロールはヘプシジンを抑制しなかったが、ビタミンDに関わる遺伝子多型によらず、25(OH)D、1,25(OH)<sub>2</sub>D濃度を上昇させ、活性型ビタミンD製剤の投与量を減らした。

## 緒 言

血液透析療法は、末期腎不全患者の生命予後を大きく改善する優れた治療法であるが、依然として心血管疾患や骨・ミネラル代謝異常など合併症の克服が重要な課題である。各種薬剤や外科的な介入が行われているが、さらなる対策が必要である。これらの合併症の発症や進展、ビタミンDや赤血球造血刺激因子製剤などの薬剤の効果については個人差が大きく、環境要因とともに遺伝的な背景が関与していると考えられる。さらに近年の透析関連医療費の増大から、費用対効果の視点も含めた管理方法が必要とされている。

ビタミンD<sub>3</sub>は、コレステロールが生合成されるさ

いの代謝産物である7デヒドロコレステロール(コレステロールの1段階前の代謝物)に紫外線が照射されることで起こる光化学反応と、その後の体温によって起こる熱異性化反応によって生成され、この反応は皮膚表面で進行する。このビタミンD<sub>3</sub>は、肝臓で代謝を受けて25水酸化ビタミンD [25(OH)D] となったのち、さらに腎臓で代謝されて強力な活性体である1,25水酸化ビタミンD [1,25(OH)<sub>2</sub>D] へと変化する。

従来、25(OH)Dは腎臓で活性化を受けて1,25(OH)<sub>2</sub>Dになる前の前駆体にすぎないと考えられてきたが、弱いながらもビタミンD受容体との結合能をもち、1,25(OH)<sub>2</sub>Dに比し、非常に高い濃度で血中に存在していることから、慢性腎臓病(CKD)における25(OH)D欠乏が骨・ミネラル代謝異常(MBD)の進展に関与している可能性がある<sup>1)</sup>。実際、血清25(OH)D濃度とPTHには負相関の関係があり<sup>2)</sup>、保存期CKD患者に対する天然型ビタミンDの投与はPTHを抑制する<sup>3,4)</sup>。これは、副甲状腺細胞に1 $\alpha$ 水酸化酵素が存在し、細胞内で25(OH)Dが1,25(OH)<sub>2</sub>Dに変換され、これが局所のVDRを刺激し、結果的にPTHを抑制することで説明される<sup>5)</sup>。

天然型ビタミンDには動物性のビタミンD<sub>3</sub>(コレカルシフェロール)と植物性のビタミンD<sub>2</sub>(エルゴ

Impact of genetic variants in DBP, CYP2R1, CYP24A1, and VDR on serum 25-hydroxyvitamin D levels and cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients

Department of Nephrology, Osaka University Graduate School of Medicine

Satoshi Yamaguchi

Division of Nephrology and Hypertension, University of California Irvine

Yoshitugu Obi

Department of Inter-Organ Communication Research in Kidney Disease, Osaka University Graduate School of Medicine

Takayuki Hamano

カルシフェロール)が存在する。ヒトが効率的に利用できるビタミンDは大部分がビタミンD<sub>3</sub>である。エルゴカルシフェロールよりコレカルシフェロールのほうがPTHの抑制作用は強い<sup>6)</sup>。天然型ビタミンD製剤は、活性型ビタミンD製剤より高Ca血症をきたしにくいという特性を持っている。海外では、天然型ビタミンD製剤は、活性型ビタミンD製剤より安価でありよく使われている。本邦では、活性型ビタミンD製剤が医薬品として二次性副甲状腺機能亢進症に対する適応があり頻用されている一方で、天然型ビタミンDは適応となっておらず、患者に処方できず、市販のサプリメントの購入を推奨することも一般的に行われていない。血液透析患者におけるエビデンスは乏しいものの、二次性副甲状腺機能亢進症における臨床の有効性を評価するに十分値すると考えられ、KDIGOガイドラインにおいても臨床試験による検証が推奨されている<sup>7)</sup>。

さらに最近の報告で、天然型ビタミンDがヘプシジンの産生を抑制することが基礎研究と健常人において示された。機序としては、1,25(OH)<sub>2</sub>DがビタミンD受容体を介してヘプシジンの転写活性を抑制すると考えられている<sup>8)</sup>。ヘプシジンは肝臓で産生される鉄代謝を調整するホルモンである。細胞(肝細胞、腸管)内の鉄は、鉄輸送膜蛋白であるフェロポルチンにより血清中に供給される。ヘプシジンはフェロポルチンの鉄輸送を制御しており、ヘプシジンの増加は鉄を細胞内に囲い込む。なお、ヘプシジンは鉄負荷により上昇<sup>9)</sup>、炎症性サイトカインのIL-6により著明に亢進する<sup>10)</sup>。またエリスロポエチンはヘプシジンを抑制する<sup>11)</sup>。腎不全患者では炎症の存在や腎排泄能の低下からヘプシジン濃度が上昇しており、主要な合併症である腎性貧血の増悪因子として知られている。

腎性貧血は患者の身体活動性や生活の質を低下させることから、赤血球造血刺激因子製剤(erythropoiesis stimulating agents; ESA)によって治療が行われているが、ヘプシジン濃度が高いことによって鉄が囲い込まれ機能性鉄欠乏を呈することで、ESA治療に対して抵抗性を示すと考えられている。この抵抗性のために健常人と同程度まで貧血を改善させるためには大量のESAが必要となり、かえって心血管疾患の発症が増加することが示されており<sup>12,13)</sup>、腎性貧血治療における大きな問題点となっている。透析患者に対する天

然型ビタミンDの投与によって血中ヘプシジン濃度を低下させることができれば、ESAに対する抵抗性が軽減し、ESAの投与量が減少することによって、より安全な治療の実施や医療コストの減少が可能となりうる。

## 1 目的

上記の背景から、我々は血液透析患者を対象として、天然型ビタミンDの一種であるコレカルシフェロールの貧血、および骨代謝マーカーに対する効果を検討する多施設共同・二重盲検・ランダム化比較試験を実施した(CHAMBER試験: ClinicalTrials.gov登録番号NCT02214563)。

この試験では、貧血や骨ミネラル代謝異常に関連する項目を詳細に調査しつつ参加者をフォローアップした。そこで、この試験に参加した患者を対象として、東北メディカル・メガバンク機構との共同研究によって、日本人に特徴的な塩基配列を持つ約67.5万カ所の一塩基多型(SNP)の中から、二次性副甲状腺機能亢進症(SHPT)の進展度に関わる遺伝子、および天然型ビタミンDに対する反応に関連する遺伝子を明らかにすることも目的とした。これにより、将来的に予後や薬剤に対する反応の予測に基づいた最適な個別治療の提供を目指した。

## 2 方法

CHAMBER試験のデザインは多施設共同無作為化二重盲検プラセボ対照群間比較試験である。

週3回の維持透析を受けている血液透析患者で、ESAの投与を受けている患者を対象とした。除外基準は、①エポエチンベータペゴルを投与中(エポエチンベータペゴル自体がヘプシジンを長期間抑制するため)、②天然型ビタミンDを内服中、③高Ca血症(補正Ca $\geq$ 10.5 mg/dL)の合併、④経静脈的に鉄剤を投与中、とした。基準を満たした患者を、「コレカルシフェロール3,000単位・週3回投与群」「プラセボ・週3回投与群」「コレカルシフェロール9,000単位・月1回投与群」「プラセボ・1回投与群」の4群に、コレカルシフェロール群とプラセボ群がそれぞれ2:1となるように無作為に割り付けた。

背景因子に関しては、天然型ビタミンD群(コレカルシフェロール群)とプラセボ群別に、頻度分布や

基礎統計量を求めた。またカテゴリー変数に関しては、カイ二乗検定もしくは Fisher の正確検定、正規分布の連続変数に関しては t 検定、非正規分布の連続変数に関しては Wilcoxon の順位和検定を用いた。

試験開始 3 カ月、6 カ月後の 25(OH)D、1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度、試験開始 2 日後、3 カ月後のヘプシジン濃度、血清インターロイキン 6 (IL-6)、TNF $\alpha$  濃度、試験期間中の血清カルシウム、リン、intact PTH 濃度、ESA 抵抗性指数 (erythropoietin resistance index; ERI) 変化率、6 カ月後の BAP、TRACP-5b 濃度を評価した。各評価項目について、割付け群と、各項目の登録時データを共変量とした一般化線形モデルを用いた。

また、ビタミン D に関連する遺伝子の解析に関しては、文書にて同意を得た。CHAMBER 試験参加者 96 名から提供された末梢血約 2 mL を研究委託先の東芝ヘルスケア社に送付し、抽出した DNA を用いて「ジャポニカアレイ<sup>®</sup>」により、約 67.5 万カ所の一塩基多型 (SNP) に関して解析を行った。結果は共同研究契約を締結する東北大学東北メディカル・メガバンク機構に送られ、全ゲノム構造を疑似的に再構成した。SNP としては、特に一般人口においてビタミン D 結合蛋白と関連している遺伝子 (rs7041, rs12512631, and rs2282679)、肝臓におけるビタミン D の水酸化酵素である CYP2R1 と関連している遺伝子 (rs10741657 and rs2060793)、1,25(OH)<sub>2</sub>D の代謝酵素である CYP24A1 と関連している遺伝子 (rs2209314)、およびビタミン D 受容体と関連している遺伝子 (rs11568820) に注目し、これらの遺伝子の Allele と、①SHPT の進展度、および、②コレカルシフェロールの効果との関連を以下のように検討した。

#### ① SHPT の進展度に関連する SNP の同定

ベースラインデータを用いて、各症例の年齢・性別・透析歴・血清カルシウム・血清リン・シナカルセト投与量から予測される PTH 値を求め、これと実際の PTH 値との比を SHPT の進展度として、各 SNP の頻度との間の相関を横断的に検討した。

#### ② コレカルシフェロールの効果に関連する SNP

の同定

ヘプシジン、ESA 抵抗指数、骨代謝関連マーカー (intact PTH, BSAP, TRACP-5b)、25(OH)D に対するコレカルシフェロールの効果を一層別化して検討し、SNP の有無によって効果が修飾されるかどうかを検討する。

### 3 結果

計 96 人の患者がエントリーされ、コレカルシフェロール・週 3 投与群に 32 人、月 1 投与群に 30 人、プラセボ群に 34 人がランダムに割り付けられた。3 カ月までに 3 人、3 カ月から 6 カ月までに 4 人が脱落した。エントリーされた患者の年齢は中央値 67 歳で、男性が 64% を占めており、透析歴は中央値約 5 年であった。

ベースラインの血清 25(OH)D 濃度は低く、症例全体で 11 (8~14) ng/mL であった。ビタミン D 受容体と関連している rs11568820 の T allele は血清 25(OH)D 濃度が 12% 高いことと関連していたが、他の Allele と血清 25(OH)D 濃度の間には有意な関連は認められなかった。なお、rs11568820 と血清アルブミン濃度には有意な関連は認められなかった。また SHPT の進展度と、いずれの遺伝子の SNP とも有意な関連は認められなかった。

各群における投薬開始後の 25(OH)D 濃度の推移は、[表 1](#) の結果であった。

ベースラインの 25(OH)D 濃度はプラセボ群のほうが有意に高値であった (P=0.01)。ベースラインの値で補正すると、25(OH)D 濃度は、天然型ビタミン D 群でプラセボ群に比べ 3 カ月後 (P<0.001)、6 カ月後 (P<0.001) ともに有意に高値であった。血清 25(OH)D 濃度に対する天然型ビタミン D の効果と各 SNP との関連を検討したところ、いずれの SNP とも関係なく同様の上昇が認められた。

1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度の結果を[表 2](#)に示す。

1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度も、天然型ビタミン D 群のほうがプラセボ群より 3 カ月後 (P=0.03)、6 カ月後 (P=

表 1 25(OH)D 濃度の推移

	ベースライン (ng/mL)	3 カ月後 (ng/mL)	6 カ月後 (ng/mL)
天然型ビタミン D 群	10 (8~12)	24 (20~28)	23 (20~29)
プラセボ群	12 (10~15)	13 (11~17)	13 (12~16)

表2 1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度の推移

	ベースライン (ng/mL)	3カ月後 (ng/mL)	6カ月後 (ng/mL)
天然型ビタミンD群	15 (10~20)	17 (14~20)	14 (13~20)
プラセボ群	14 (9~21)	15 (10~18)	13 (10~17)

表3 ヘプシジン濃度の推移

	ベースライン (ng/mL)	2日後 (ng/mL)	3カ月後 (ng/mL)	6カ月後 (ng/mL)
天然型ビタミンD群	23 (5~43)	15 (6~31)	22 (9~50)	22 (4~41)
プラセボ群	18 (8~54)	13 (2~25)	18 (9~42)	20 (14~42)

0.01) ともに有意に高値となった。天然型ビタミンD群では、血清カルシウム、リン濃度やPTH, BAP, TRACP-5bは有意な変化は認めなかった。しかし、6カ月時点で活性型ビタミンDの使用量が減少した患者は天然型ビタミンD群で有意に多かった(天然型ビタミンD群31%, プラセボ群10%,  $P=0.02$ )。

ヘプシジン濃度は、表3の結果であった。

ベースラインのヘプシジン濃度で補正すると、2日後時点では、天然型ビタミンD群のほうがプラセボ群に比べ有意に高かった。3カ月後時点では有意差は消失した。月1投与群、週3投与群ともにヘプシジンは抑制されなかった。3カ月後時点で天然型ビタミンD群のヘモグロビン濃度、TSAT、フェリチン、炎症性サイトカインであるTNF $\alpha$ 、IL-6はプラセボ群と有意な差はなかった。ベースラインで補正した解析では、6カ月時点ではヘプシジンは天然型ビタミンD群で有意に低値であった( $P=0.04$ )が、ESA投与量のベースラインからの変化率で補正すると、この関係は有意ではなくなった。またヘプシジンとESA投与量の変化率は有意な負相関を示した( $P=0.01$ )。また、ERIのベースラインからの変化率は天然型ビタミンD群のほうが高い傾向であった( $P=0.07$ )。

#### 4 考察

健常人での結果とは異なり、透析患者ではコレカルシフェロールは投与3日後のヘプシジンを抑制しなかった。Meredithらも、小児の保存期CKD患者に対してコレカルシフェロール(4,000単位/日)を投与したが、本研究と同様にヘプシジンは減少しなかったと報告している<sup>14)</sup>。この研究と本研究の結果からは、健常人で見られた天然型ビタミンDのヘプシジン抑制効果は、CKD患者においては認められないと考えられ

る。この結果の理由にはいくつかの可能性が考えられる。CKD患者では残腎機能の低下に伴う近位尿細管での25(OH)Dの活性化の低下が想起される。これは健常人との大きな違いである。本研究でコレカルシフェロールを投与した患者の透析歴は約5年であるが、血清1,25(OH)<sub>2</sub>D濃度が上昇していることから、内分泌学的な観点からも残腎機能の存在が示唆された。しかし、統計学的に有意な差ではあるものの、その上昇度は低く、そのためにヘプシジンが抑制されなかった可能性は残る。

一方で、Bhupeshらは、CKD stage 3,4の患者に対してカルシトリオール0.5 $\mu$ g/日を6週間投与したがヘプシジンは減少しなかったと報告しており<sup>15)</sup>、1,25(OH)<sub>2</sub>Dが臨床的に十分に上昇してもCKD患者ではヘプシジンが抑制されない可能性もある。具体的には、CKD患者においては慢性炎症や鉄剤投与<sup>9)</sup>等の様々な要因により複合的にヘプシジンが強く誘導されており、この環境下では1,25(OH)<sub>2</sub>Dによる抑制効果が認められないのかもしれない。Miskulinらは、透析患者のRCTでエルゴカルシフェロールはESA量もCRPも減らさなかったと報告している<sup>16)</sup>。Miskulinらの研究ではヘプシジンは測定されていないが、少なくともエルゴカルシフェロールによる炎症反応の改善を介したESA抵抗性の改善効果は否定的であり、ヘプシジンも減少していないと推測される。

本研究でもTNF $\alpha$ やIL-6の有意な減少は認めておらず、慢性炎症が抑制されなかったことも、天然型ビタミンD投与によるヘプシジン抑制効果が観察されなかった原因の可能性もある。また、月1投与群でも週3投与群でも結果は同様であり、月1投与群では9,000単位/週相当量を1回で投与していることを考えると、コレカルシフェロールの1回投与量を増やして

もヘプシジンの抑制効果はないことが示唆された。

天然型ビタミンDがヘプシジンを抑制しなかった他の理由として、維持透析患者ではヘプシジンの値がESAにより修飾された可能性がある。既報でも、維持透析患者において、ESA投与によりヘプシジンは減少し、ヘプシジン濃度とエリスロポエチン投与量は負相関するという報告もある<sup>17)</sup>。本研究においても、6カ月後時点ではコレカルシフェロール群でヘプシジンは有意に低い、エリスロポエチン抵抗性指数(ERI)はむしろ高い傾向であった。すなわち、ESAの投与量は多かった。ESA投与量の変化率で補正すると両群間のヘプシジンの有意差はなくなるため、6カ月時点でのヘプシジン低下はコレカルシフェロールの効果ではなく、ESA増量に伴うものと考えられる。TSAT、フェリチンは有意な変動はなく、ERI増悪の原因として鉄欠乏は否定的であった。

天然型ビタミンDの投与は透析患者の貧血管理に関しては利点が示されなかったが、SHPTの管理を同等に維持しつつ活性型ビタミンDの投与量を減らしたことは特筆すべきである。天然型ビタミンDは活性型ビタミンDより安価であり、透析医療の医療費を減少させることが期待される。今後、本邦でも天然型ビタミンD製剤が上市され治療の選択肢が増えることが期待される。

遺伝子多型に関しては、rs11568820のT alleleはベースラインの高い25(OH)D濃度と関連していた。体内に存在するビタミンDには、摂取した食物由来のものと日光暴露により皮膚で合成されたものと2種類が存在し、いずれも肝臓で25(OH)Dに代謝される。つまりは、25(OH)Dは栄養状態と屋外での活動度を反映する。栄養状態に関しては、血清アルブミン濃度とrs11568820のSNPは関連を認めなかった。そこで、身体的活動度にrs11568820のSNPが関連していたという仮説を立てた。

活動度に関連する機序としては、ビタミンDの筋への作用が考えられる。筋にもVDRが発現しており、ビタミンDは筋力を増強させる<sup>18)</sup>。つまりは、血清25(OH)D濃度が高いと筋力が増強する。それによって、活動度が上昇し日光暴露が増え、さらに血清25(OH)D濃度は上昇すると考えられる。この血清25(OH)D高値と筋力増強の相乗効果が、rs11568820のT alleleをもつ患者では、より強く発現されている可

能性が考えられる。rs11568820のT alleleの表現型は明らかではないが、rs11568820のG>A変異が高いVDR転写活性と関連していると報告されている<sup>19)</sup>。そこから類推すると、rs11568820のT alleleがあると、VDRの転写活性が強くビタミンDの筋への作用が発現しやすい可能性が考えられる。一方、健常人での既報では、rs11568820のC>T変異と25(OH)D濃度は関連を認めていない<sup>20)</sup>。CKD患者は健常人よりフレイルの側面が強いことから<sup>21)</sup>、本研究では25(OH)Dの筋力への作用が観察しやすかった可能性が考えられる。この点も、rs11568820のSNPが活動度と関連しているという上記の仮説と矛盾しない。

## 5 結論

透析患者で頻度の高いビタミンD欠乏症に対する天然型ビタミンDを用いた介入は、ヘプシジンを抑制しなかった。しかし、ビタミンD代謝に関わる遺伝子多型によらず一定の血清25(OH)D濃度を上昇させ、活性型ビタミンDの使用量を節約できる効果があると考えられる。一方で、SHPTの進展や天然型ビタミンDによる骨代謝マーカーの効果に対して、これらの遺伝子による有意な影響は認められなかった。

平成27年度日本透析医会公募研究助成により得られた成果は、原著論文として他誌に投稿中であり、二重投稿となることを避け、本報告書ではその概要を総説的に記載した。なお、一部の内容はAmerican Society of Nephrology Kidney Week 2016にて発表した。

## 文 献

- 1) Dusso AS, Tokumoto M : Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int* 2011; 79(7) : 715-729.
- 2) LaClair RE, Hellman RN, Karp SL, et al. : Prevalence of calcidiol deficiency in CKD : a cross-sectional study across latitudes in the United States. *Am J Kidney Dis* 2005; 45(6) : 1026-1033.
- 3) Dogan E, Erkok R, Sayarlioglu H, et al. : Effect of Depot Oral Cholecalciferol Treatment on Secondary Hyperparathyroidism in Stage 3 and Stage 4 Chronic Kidney Diseases Patients. *Ren Fail* 2008; 30(4) : 407-410.
- 4) Chandra P, Binongo J, Ziegler T, et al. : Cholecalciferol (Vitamin D<sub>3</sub>) Therapy and Vitamin D Insufficiency in Patients with

- Chronic Kidney Disease : A Randomized Controlled Pilot Study. *Endocr Pract* 2008; 14(1) : 10-17.
- 5) Ritter CS, Haughey BH, Armbrrecht HJ, et al. : Distribution and regulation of the 25-hydroxyvitamin D3 1 $\alpha$ -hydroxylase in human parathyroid glands. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012; 130(1-2) : 73-80.
  - 6) Wetmore JB, Kimber C, Mahnken JD, et al. : Cholecalciferol v. ergocalciferol for 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) repletion in chronic kidney disease : a randomised clinical trial. *Br J Nutr* 2016; 116(12) : 2074-2081.
  - 7) Moe SM, Drüeke TB, Block GA, et al. : KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int (Suppl)* 2009; 76(113) : S1-130.
  - 8) Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL, et al. : Suppression of Iron-Regulatory Hepcidin by Vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25(3) : 564-572.
  - 9) Ganz T, Nemeth E : Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res.* 2012; 1823(9) : 1434-1443.
  - 10) Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. : IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; 113(9) : 1271-1276.
  - 11) van der Putten K, Jie KE, van den Broek D, et al. : Hepcidin-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* 2010; 12(9) : 943-950.
  - 12) Szczech LA, Barnhart HX, Inrig JK, et al. : Secondary analysis of the CHOIR trial epoetin-alpha dose and achieved hemoglobin outcomes. *Kidney Int* 2008; 74(6) : 791-798.
  - 13) Solomon SD, Uno H, Lewis EF, et al. : Erythropoietic response and outcomes in kidney disease and type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2010; 363(12) : 1146-1155.
  - 14) Atkinson MA, Juraschek SP, Bertenthal MS, et al. : Pilot study of the effect of cholecalciferol supplementation on hepcidin in children with chronic kidney disease : Results of the D-fense Trial. *Pediatr Nephrol* 2017; 32(5) : 859-868.
  - 15) Panwar B, McCann D, Olbina G, et al. : Effect of calcitriol on serum hepcidin in individuals with chronic kidney disease : a randomized controlled trial. *BMC Nephrol* 2018; 19(1) : 35.
  - 16) Miskulin DC, Majchrzak K, Tighiouart H, et al. : Ergocalciferol Supplementation in Hemodialysis Patients With Vitamin D Deficiency : A Randomized Clinical Trial. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(6) : 1801-1810.
  - 17) Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. : Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009; 75(9) : 976-981.
  - 18) Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, et al. : The Roles of Vitamin D in Skeletal Muscle : Form, Function, and Metabolism. *Endocr Rev* 2013; 34(1) : 33-83.
  - 19) Arai H, Miyamoto KI, Yoshida M, et al. : The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res* 2001; 16(7) : 1256-1264.
  - 20) Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, et al. : Determinants of vitamin D status in Caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, sociodemographic, lifestyle, anthropometric, and genetic factors. *J Invest Dermatol* 2015; 135(2) : 378-388.
  - 21) Chowdhury R, Peel NM, Krosch M, et al. : Frailty and chronic kidney disease : A systematic review. *Arch Gerontol Geriatr* 2017; 68 : 135-142.