

血液透析患者における腎性貧血治療と鉄代謝、FGF23 との関係

本田浩一*1 田中賢治*2 平尾圭市*3 柴垣圭吾*4 油座利貴*5 道端哲郎*6 友杉直久*7
Tomas Ganz*8 東元祐一郎*9

*1 昭和大学医学部内科学講座腎臓内科学部門 *2 翠悠会診療所 *3 柴垣医院戸越 *4 柴垣医院自由が丘 *5 柴垣医院久が原
*6 エバラクリニック *7 金沢医科大学総合医学研究所プロジェクト研究センター寄付部門天然変性蛋白質創薬科学研究所
*8 UCLA 内科 *9 久留米大学医学部化学教室

key words : 赤血球造血刺激因子製剤, 鉄欠乏, 高リン血症, 貯蔵鉄

要 旨

短時間作用型赤血球造血刺激因子製剤 (ESA) 投与後の fibroblast growth factor (FGF) 23 の挙動に関する検討が基礎ならびに臨床研究で行われ、短時間作用型 ESA 投与は intact-FGF23 ならびに FGF23 の分解物である C-term FGF23 の上昇と関係することが報告された。一方、我々は長時間作用型 ESA と FGF23 に関する臨床的検討を進め、長時間作用型 ESA は intact-FGF23 の増加ではなく、むしろ低下と関係する研究成果を報告した。しかし、同研究では長時間作用型 ESA と C-term FGF23 の挙動との関係は明らかではない問題があった。今回、血液透析患者における ESA 療法と FGF23 の関係の詳細を検討する目的で、長時間作用型 ESA と intact-FGF23 と C-term FGF23 の関係について鉄代謝マーカーの変化も含めて検討を行った。結果は長時間作用型 ESA が intact-FGF23 の減少と C-term FGF23 の増加に関係しており、短時間作用型 ESA の FGF23 への作用とは異なる可能性が考えられた。

はじめに

fibroblast growth factor (FGF) 23 は骨細胞から産生されるリン (P) 利尿ホルモンである。CKD 患者では高 P 血症やビタミン D 代謝異常などが関与して FGF23 が増加するが、FGF23 は単に反応性に増加す

るだけでなく、高 FGF23 血症は保存期 CKD 患者や透析期患者の生命予後に関係することが報告されている^{1,2)}。また、FGF23 の挙動は慢性炎症や鉄欠乏の影響を受け、最近では造血にも関係する研究成果が報告されている^{3,4)}。

FGF23 は hypoxia inducible factor (HIF) の発現抑制やエリスロポエチンの産生を障害し、さらに前赤芽球系細胞のアポトーシスを誘導する結果が報告されている⁵⁾。ESA と FGF23 との関係では、基礎研究では短時間作用型 ESA 刺激が赤芽球系細胞からの FGF23 産生を促し、血清レベルを上昇させること、臨床研究では短時間作用型 ESA 単回投与により、intact-FGF23 と C-term FGF23 がともに半減期依存性に増加することが示されている⁵⁾。

我々は、長時間作用型 ESA と intact-FGF23 の関係について血液透析患者を対象に臨床的に検討を行い、ESA の単回投与後に半減期に依存して intact-FGF23 が低下する結果を平成 28 年度の本研究助成の研究成果として報告した⁶⁾。その研究成果では、長時間作用型 ESA のヘプシジン 25 抑制が intact-FGF23 の低下と関係する可能性が示唆されている。ESA は、造血幹細胞から赤血球へ分化・成熟する過程で、赤芽球からのエリスロフェロン産生を亢進させ、その結果、ヘプシジン 25 の産生・分泌を抑制して貯蔵鉄の汲み出しを増加させる。特に長時間作用型 ESA はヘプシジン 25 の抑制効果が強く、intact-FGF23 の減少に関連する可

Associations of erythropoiesis stimulation agents with fibroblast growth factor 23 and biomarkers of iron metabolism in patients under hemodialysis

Hirokazu Honda, Kenji Tanaka, Keiichi Hirao, Keigo Shibagaki, Toshiki Yuza, Tetsuo Michihata, Naohisa Tomosugi, Tomas Ganz, Yuichiro Higashimoto

能性が考えられる。しかしながら C-term FGF23 は測定していなかったため、intact-FGF23 と C-term FGF23 の挙動の関係やヘプシジン 25 と C-term FGF23 の関係については不明であった。よって本研究の目的は、前回の研究と同様の測定条件で新たに C-term FGF23 を測定し、intact-FGF23 や鉄代謝マーカーとの関係を検討することである。

1 方法

対象患者は、前回の本公募研究で対象患者となり、文書にて本研究への参加に同意を得た血液透析患者 107 名である。対象患者の除外基準は平成 28 年公募研究助成報告書⁶⁾に記載の通りであり、なお、観察期間中は ESA の投与量ならびに P 吸着薬や活性型ビタミン D 製剤、calcimimetics、鉄剤の使用量は変更していない。

横断解析は ESA 投与前のデータで全症例において検討し、縦断解析は ESA の未投与例と ESA の種類毎に検討を行った⁶⁾。

2 研究デザインならびに測定項目

研究デザインと C-term FGF23 以外の測定項目は、平成 28 年公募研究助成報告書⁶⁾に記載の通りである。C-term FGF23 測定は観察開始時 (ESA 投与前)、ESA 投与 3 日目、5 日目、7 日目、14 日目に採取し、 -80 度に凍結保存した血清を用いて実施した。C-term FGF23 ELISA kits (Immutopics Inc., San Clemente, CA, USA) で測定した。また、平成 28 年公募研究助成報告書⁶⁾に記載の通り、ヘプシジン 25 は liquid chromatography-tandem mass spectrometry、intact-FGF23 は intact-FGF23 ELISA kit (Kainos Laboratories Inc., Tokyo, Japan)、エリスロフェロンはうさぎ抗ヒト

ERFE monoclonal 抗体を用いた sandwich immunoassay で測定した。

C-term FGF23 値はすでに測定済みのアルブミン、Ca、P、intact-FGF23、鉄、TIBC、フェリチン、ヘプシジン 25、エリスロフェロンなどの測定結果とともに検討した。

3 結果

観察開始時に全症例において、Ca、P、ヘプシジン 25 やエリスロフェロンを含む鉄代謝マーカーと intact-FGF23 や C-term FGF23 の関係を解析した (表 1)。intact-FGF23 は C-term FGF23、intact-PTH、P と相関したが、TSAT やフェリチンとは相関を認めなかった (表 1)。また、C-term FGF23 は intact-PTH、P と相関したが、intact-FGF23 と同様に、TSAT やフェリチンとは相関を認めなかった (表 1)。

今回の研究も縦断解析は前回同様に、ESA 非投与群 (N=7 例)、エポエチン群 (N=24 例)、ダルベポエチン群 (N=32 例)、CERA 群 (N=44 例) の 4 群で検討を行った。ESA 非投与群、エポエチン群では intact-FGF23 は上昇し、P 値の挙動に相関していた。一方、C-term FGF23 値は一定の挙動を示さずに変動した。ダルベポエチン群では intact-FGF23 は不変であったが、C-term FGF23 は ESA 非投与群、エポエチン群同様に一定の挙動は示さなかった。CERA 群では ESA 非投与やエポエチン群に比べて intact-FGF23 は 3 日から 7 日まで有意に低下し、14 日目にベースラインレベルへ上昇した。一方、C-term FGF23 は intact-FGF23 と相反する挙動を取り、3 日から 7 日まで有意に上昇し、14 日目に低下した。

intact-FGF23 と C-term FGF23 の変化に関連する因子を解析する目的で、全症例を対象に観察開始時から

表 1 FGF23 と関連する因子の関係 (相関係数)

	Intact-PTH	Intact-FGF23	C-term FGF23	TSAT	Ferritin	Erythroferrone	Hepcidin 25
Phosphate	0.23 ^{†1}	0.50 ^{†2}	0.47 ^{†2}	-0.09	-0.21 ^{†1}	-0.14	-0.20 ^{†1}
Intact PTH		0.23 ^{†1}	0.20 ^{†1}	-0.22 ^{†1}	-0.22 ^{†1}	-0.04	-0.18
Intact FGF23	—		0.93 ^{†2}	-0.18	-0.14	0.06	-0.18
C-term FGF23	—			-0.15	-0.13	0.17	-0.18
TSAT	—	—	—		0.48 ^{†2}	-0.14	0.53 ^{†2}
Ferritin						0.16	0.87 ^{†2}
Erythroferrone							0.08

* Spearman correlation tests.

FGF23 : fibroblast growth factor 23, PTH : parathyroid hormone, TSAT : transferrin saturation.

†1 P<0.05, †2 P<0.0001

表 2 Intact-FGF23 の変化量に関連する因子の多変量解析結果

Changes in biomarkers	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4
Phosphate (mg/dL)	0.14, 0.03, p<0.0001	0.14, 0.03, p<0.0001	0.13, 0.03, p<0.0001	0.12, 0.03, p<0.0001
Transferrin Saturation (%)	0.0009, 0.004, p=0.71	—	0.002, 0.002, p=0.56	0.0006, 0.003, p=0.83
Ferritin (ng/mL)	—	0.002, 0.001, p=0.12	0.002, 0.001, p=0.22	0.001, 0.001, p=0.32
Erythroferrone (ng/mL)	—	—	-0.001, 0.0005, p=0.04	-0.0003, 0.0006, p=0.63
Hepcidin 25 (ng/mL)	—	—	—	0.002, 0.0008, p=0.03

説明因子ならびに従属因子は観察開始時 3 日目の変化量で解析。

表 3 C-term FGF23 の変化量に関連する因子の多変量解析結果

Changes in biomarkers	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4
Phosphate (mg/dL)	0.05, 0.04, p=0.12	0.05, 0.04, p=0.22	0.04, 0.04, p=0.31	0.05, 0.04, p=0.27
Transferrin Saturation (%)	0.0005, 0.004, p=0.19	—	0.006, 0.004, p=0.14	0.007, 0.004, p=0.12
Ferritin (ng/mL)	—	0.002, 0.002, p=0.31	0.002, 0.002, p=0.35	0.002, 0.001, p=0.33
Erythroferrone (ng/mL)	—	—	-0.0005, 0.0009, p=0.56	-0.0007, 0.001, p=0.44
Hepcidin 25 (ng/mL)	—	—	—	-0.0007, 0.001, p=0.60

説明因子ならびに従属因子は観察開始時 3 日目の変化量で解析。

3 日目の鉄代謝調節因子と P, FGF23 の変化量との関係を多変量解析で検討したところ, P とヘプシジン 25 の変化が intact-FGF23 の変化と有意に関係した (表 2)。一方, C-term FGF23 は P やヘプシジン 25 との間に有意な関係は認めなかった (表 3)。

4 考 察

短時間作用型 ESA, エポエチンは直接 intact-FGF23 と C-term FGF23 の上昇に起因する可能性が報告された⁴⁾。一方, 本研究において長時間作用型 ESA 製剤では intact-FGF23 を半減期に依存して低下させ, C-term FGF23 の挙動から, FGF23 の分解促進の結果, intact-FGF23 が減少する可能性が考えられた。ESA は直接, 赤芽球系細胞に作用し, FGF23 の産生を亢進させると考えられるが, 長時間作用型 ESA では FGF23 の上昇を抑制する機構が存在する可能性が考えられる。

鉄欠乏は FGF23 の上昇や分解促進の原因となることが報告されている³⁾。一方, 本研究では長時間作用

型 ESA 投与後の TSAT やフェリチンは縦断的に低下傾向となり, 鉄は一過性に欠乏状態となっていたが, intact-FGF23 の変化と TSAT やフェリチンは相関しなかった。P や鉄代謝マーカーの長時間作用型 ESA 投与後の変化量と intact-FGF23 の変化量との関係を検討すると, 多変量解析結果ではヘプシジン 25 の変化 (ヘプシジン低下) と P の変化 (P 上昇) が, intact-FGF23 値の変化に関係した。この結果は, 長時間作用型 ESA の特徴であるヘプシジンの強い抑制作用に関連した効果であることが推察される。しかしながら, 全症例での検討では, C-term FGF23 の変化量は P やヘプシジンと有意な関係を認めない結果であった。

Hanudel らの検討では, ヘプシジン 25 をノックダウンさせたモデルマウスに 5/6 腎摘モデルを作製すると intact-FGF23 が上昇するが, intact-FGF23 の上昇は鉄欠乏食と正常食で変わらないことを示している⁷⁾。一方, C-term FGF23 は同モデルにおいて鉄欠乏食にすると正常食に比べて有意に増加することが示されて

いる⁷⁾。この結果は、CKD 環境下での鉄欠乏の影響がヘプシジンの過剰抑制環境で異なり、FGF23 の産生に比べて分解が促進される、つまり C-term FGF23 の増加が進行して相対的に intact-FGF23 が減少する可能性が示唆される。Hanudel らの研究結果は、急性炎症に伴う機能性鉄欠乏における FGF23 の代謝の仮説³⁾に類似する。つまり鉄欠乏では intact-FGF の増加と C-term FGF23 が増加するが、急性炎症に伴う鉄欠乏状態では FGF23 の分解が促進されて相対的に intact-FGF23 が減少し、C-term FGF23 が増加するという現象である。

以上の基礎研究を加味すると、血液透析患者における長時間作用型 ESA 投与に伴う FGF23 の挙動には、P やヘプシジン 25 に加えて CKD 環境で変化する因子が関係して、FGF23 の分解促進に伴う intact-FGF23 の減少と相対的な C-term FGF23 の増加が生じるのではないかと推測される。

5 結論

長時間作用型 ESA は intact-FGF23 を低下させ、C-term FGF23 を増加させる。その背景には、ヘプシジン 25 の低下を介して FGF23 の産生に対する相対的な分解亢進が関係する可能性が示唆された。今後、FGF23 とヘプシジン 25 の関係について、さらなる検討が必要である。

本研究は平成 29 年度日本透析医会の公募研究助成によるものである。本研究成果は他医学雑誌に投稿中

のため、二重投稿を避ける目的で概要について総説的に記載した。

利益相反自己申告：本田浩一は中外製薬、協和キリン、キッセイ薬品から講演等の謝礼を受領している。その他の著者は申告するものなし。

文 献

- 1) Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, et al. : Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008; 359 : 584-592.
- 2) Munoz Mendoza J, Isakova T, Cai X, et al. : Inflammation and elevated levels of fibroblast growth factor 23 are independent risk factors for death in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2017; 91 : 711-719.
- 3) David V, Martin A, Isakova T, et al. : Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. *Kidney Int* 2016; 89 : 135-146.
- 4) Hanudel MR, Rappaport M, Chua K, et al. : Levels of the erythropoietin-responsive hormone erythroferrone in mice and humans with chronic kidney disease. *Haematologica* 2018; 103 : e141-e142.
- 5) van Vuren AJ, Gaillard CAJM, Eisenga MF, et al. : The EPO-FGF23 Signaling Pathway in Erythroid Progenitor Cells : Opening a New Area of Research. *Front Physiol* 2019; 10 : 304.
- 6) 本田浩一, 田中賢治, 平尾圭市, 他 : 血液透析患者における腎性貧血治療と鉄代謝・FGF23 との関係. *日透医誌* 2019; 34 : 128-130.
- 7) Hanudel MR, Chua K, Rappaport M, et al. : Effects of dietary iron intake and chronic kidney disease on fibroblast growth factor 23 metabolism in wild-type and hepcidin knockout mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016; 311 : F1369-F1377.