

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08347

研究課題名(和文)非トランスフェリン結合鉄による効率的フェロトーシス誘導を介した抗腫瘍効果の探求

研究課題名(英文)Anti-tumor effect achieved by effective induction of ferroptosis utilizing non-transferrin-bound iron

研究代表者

生田 克哉 (IKUTA, KATSUYA)

旭川医科大学・医学部・客員教授

研究者番号：00396376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、近年発見された新しい細胞死であるフェロトーシスに対する鉄の影響を分子生物学的に解明し、効率的にフェロトーシスを惹起させる方法を明らかにする目的で行った。肝癌、血液腫瘍、膵癌など多種類の腫瘍細胞株でフェロトーシス誘導物質erastinによるフェロトーシスが確認され、その細胞増殖抑制効果は鉄負荷で増強されることが示され、特に、トランスフェリンと結合していない鉄である非トランスフェリン結合鉄(NTBI)やその酸化能labile plasma iron(LPI)が腫瘍細胞に効率的に増殖抑制をもたらす事も示唆された。全体として、鉄の調節による効率的フェロトーシス誘導の可能性を実験的に示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、肝癌、血液腫瘍、膵癌など様々な腫瘍細胞において、新しい細胞死フェロトーシスが起ることが確認され、さらに誘導物質に少量の鉄負荷を行うと、より効率的に起ることが示された。加えて、トランスフェリンと結合していない非トランスフェリン結合鉄(NTBI)やNTBIによる酸化能labile plasma iron(LPI)が特に効率的に腫瘍細胞にフェロトーシスを惹起する可能性も見出し、指標としての意義も示唆された。各種難治性腫瘍に対する既存薬物とは全く異なる新規の治療アプローチに繋がる可能性が示され、今後の基礎および臨床研究にも寄与できる基盤となる意義深い結果を得られたと考えている。

研究成果の概要(英文)：The present study was performed to elucidate the precise mechanisms of iron involvement for ferroptosis by using molecular biological techniques and also to elucidate the effective methods for inducing ferroptosis by iron modulation. Various cell lines derived from such as hepatocellular carcinoma, hematological malignancies, pancreas cancers showed ferroptosis by ferroptosis inducing reagent erastin. The inhibitory effect for cell growth by erastin was increased by adding iron to cell culture medium. Especially, non-transferrin-bound iron (NTBI) and labile plasma iron (LPI) seemed to cause ferroptosis effectively than transferrin-bound iron. We consider that the present data showed the possibility of effective induction of ferroptosis by iron modulation.

研究分野：血液内科学、鉄代謝、肝臓内科学、臨床検査医学

キーワード：フェロトーシス 抗腫瘍効果 非トランスフェリン結合鉄(NTBI) 鉄 labile plasma iron (LPI)

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

鉄は生体にとって必須の金属元素であり、鉄がないと生命は維持できない。しかし、逆に鉄が過剰に存在すると、体内で大量のフリーラジカルが産生され、細胞・組織に障害を与え、臓器障害や発癌、最終的には鉄過剰そのものだけで予後にも悪影響を及ぼす。

一方、鉄はプログラム細胞死にも関与していることが最近注目されている。近年明らかにされた特殊な細胞死であるフェロトーシスと呼ばれる現象は、これまで広く知られているアポトーシスやネクローシスなどとは全く異なる細胞死の形態であり、ミトコンドリアの縮小および膜濃度上昇、クリスタの消失などの形態学的特徴を呈し、他の金属には依存せず鉄のみに依存した形で起こり、細胞内での活性酸素種産生および脂質過酸化により細胞死をもたらす (Dixon SJ, et al. *Cell*. 2012; 149: 1060-1072)。各種の腫瘍細胞においてはフェロトーシスを巧みに回避することが腫瘍増殖の一端を担っている可能性も示されている (Viswanathan VS et al. *Nature*. 2017; 547(7664): 453-457.)。フェロトーシスは細胞膜に存在する Na⁺依存性シスチン/グルタチオン交換輸送体や細胞内 glutathione peroxidase 4 (GPx4)の阻害により細胞内酸化ストレス除去機構を障害されると誘導される (Yang WS, et al. *Cell*. 2014; 156: 317-331)。通常は p53 が SLC7A11 発現を抑制することでシスチンの取り込みを阻害しフェロトーシスを誘導しているが、腫瘍細胞で p53 に変異が存在するとフェロトーシスを逃れ増殖に向かう (Jiang L, et al. *Nature*. 2015; 520(7545): 57-62)。さらに癌細胞の治療抵抗性が lipid peroxidase pathway に依存しながらフェロトーシスを逃れているためとする報告もあり、腫瘍増殖への関与や既存の抗腫瘍薬とは異なる機構による抗腫瘍効果への期待という点で注目されており、各種のフェロトーシス誘導物質の抗腫瘍効果も検討されている (Xie Y, et al. *Cell Death and Differentiation*. 2016; 23: 369-379)。しかし、フェロトーシスに細胞内の鉄が非常に重要であることは明らかにはされていないが、鉄という観点では未だ詳細な検討はなされていない。腫瘍細胞は鉄要求性が高く、細胞膜表面トランスフェリン受容体 1 (transferrin receptor 1: TfR1) 発現が高く、トランスフェリン (transferrin: Tf) 結合鉄を多く取り込むことが推測されているが、Tf 結合鉄は基本的には TfR1 発現が極めて高い赤芽球に非常に効率よく取り込まれるし、血液中での Tf 結合鉄の濃度は通常でも非常に高く、TfR1 の Tf 結合鉄に対する親和性も極めて高いため、ほとんどの細胞ですぐに細胞膜表面の TfR1 は飽和されることから、単に Tf 飽和度を上げるだけでは腫瘍細胞でも簡単には鉄過剰にはならない可能性が高い。また、腫瘍細胞内では鉄格納蛋白フェリチンの発現亢進も起きている可能性があり、反応性が高い細胞質内不安定鉄プール (Labile iron pool: LIP) も簡単に増加しない可能性が高い。さらに、鉄の取り込みは TfR1 発現を低減させるため、持続的な効果に関しても問題がある。このような、鉄の形態・量による違い、細胞内での分子生物学的挙動、さらに鉄濃度・形態の操作による抗腫瘍効果への影響などの検討はこれまで行われていない。

この点に着目し、細胞内外の鉄濃度や鉄の形態 (Fe²⁺や Fe³⁺、Tf との結合の有無) がどのようにフェロトーシスに影響を与えるか、さらに細胞内外の鉄を巧みに操ることで効率的にフェロトーシスを誘導し抗腫瘍効果を出すことができないか、特に鉄過剰状態の際に血液中出现し全身の細胞内に容易に取り込まれ細胞障害をもたらすとされる非 Tf 結合鉄 (non-transferrin-bound iron: NTBI) を逆に利用することで、腫瘍細胞内に一時的に強い鉄過剰状態を作り出し、効率的なフェロトーシス惹起による抗腫瘍効果をもたらすことができないか、というのが本研究の核心をなす学術的な問いである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、フェロトーシスに対する鉄の影響を分子生物学的に詳細に解明し、効率的にフェロトーシスを惹起させる方法を明らかにすることとして検討を進めた。フェロトーシスによる抗腫瘍効果に関しては、erastin、スルファサラジンといった各種のフェロトーシス誘導物質の抗腫瘍効果が報告されているが、本研究では、腫瘍細胞内外の鉄の濃度・状態に焦点を置くこと、特に鉄過剰状態の際に血液中出现する NTBI を巧みに使用することで、効率的なフェロトーシスを惹起させる方法を探求することが他の研究と全く異なる学術的独創性と考え、検討を行った。また、我々はこれまでの研究で NTBI を簡便に測定できる生化学自動分析装置対応試薬の開発に成功しており、このシステムによる細胞培養液の測定を行うという他施設ではできない検討も加え、さらに NTBI による酸化活性として測定される LPI という新しい指標も含め検討し、最終的に臨床的安全性をも視野に入れ、且つ独自性を持った研究となるよう計画した。もし NTBI や LPI などの操作により効率的にフェロトーシス誘導による抗腫瘍効果を出せれば、従来の抗腫瘍薬とは全く違った作用機序での腫瘍制御となり、一方で NTBI・LPI モニタリングによる鉄毒性を回避しながらの安全な治療を創造できる可能性があり、臨床に大きく貢献できると考え、本研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 各種癌細胞由来細胞株における erastin による細胞増殖抑制効果の検討

肝癌由来細胞株として HepG2、Hep3B、Huh7 を使用した。また、血液悪性腫瘍のモデルとして HL60 (急性前骨髄性白血病)、U937 (単芽球性白血病)、THP-1 (単球性白血病)、Meg-01 (巨核芽球性白血病) を、さらに膵癌細胞由来株 MIAPaCa-2、PANC-1 を使用した。各細胞は 96 穴 plate に培養し、フェロトキシ誘導物質 erastin は 0.5-50 μM で細胞培養液に添加した。培養は 24 時間行い、その後、①顕微鏡による観察、②可溶化して総蛋白量を Bradford 法にて検討したが、主には③AlamarBlue®による評価を行った。

(2) Erastin による細胞増殖抑制効果がフェロトキシであることの検討

肝癌細胞株において、erastin による細胞増殖抑制効果がフェロトキシによるものであるか否かを検討した。フェロトキシ抑制物質として ferrostatin 0.5 μM 、鉄キレート剤として desferrioxamine (DFO) 100 μM を使用し、AlamarBlue®染色での検討を行った。AlamarBlue®は細胞生存率アッセイの酸化還元指示薬レサズリンであり、代謝的に活性な細胞の蛍光リポーター分子レゾルフィンに変換され、高感度に細胞生存率や細胞毒性指標となる。各種培養細胞株の培養液に 10%となるよう添加し、37°Cで 4 時間培養し、蛍光プレートリーダーを用いて、励起波長 570 nm/蛍光波長 585 nm にて測定を行った。また、real-time PCR 法 (Hs_00989766) 及び western blotting 法を用いて、フェロトキシの際に機能が阻害される glutathione peroxidase 4 (GPX4)の発現量も検討した。

(3) Erastin によるフェロトキシに対する鉄負荷の影響の検討

各種培養細胞株に対して、細胞増殖抑制効果が出ていない、もしくは弱く出現する erastin 濃度において、培養液中への鉄負荷によって erastin によるフェロトキシを増強できるかどうかを検討した。鉄は Tf 結合鉄として、もしくは ferric ammonium citrate (FAC)として細胞培養液に加えて検討を行った。

(4) 鉄負荷による細胞内鉄蓄積の検討

各種肝癌細胞株に対して、鉄を Tf 結合鉄 5-200 μM として、もしくは ferric ammonium citrate (FAC) 5-200 μM として細胞培養液に加えた。細胞内鉄蓄積は、 Fe^{2+} を特異的に検出することが可能な FerroOrange®試薬を用いて解析した。各種細胞株を各条件で培養後、PBSにて 2 回洗浄して細胞外の鉄を除き、FerroOrange® 1 μM にて 37°Cで 30 分間培養し、その後再び PBSにて 2 回洗浄し、蛍光顕微鏡で観察した。

(5) 細胞培養液中の鉄代謝関連マーカーの測定

本研究では、細胞培養液中に各種試薬や鉄負荷を行っており、これらの添加時の鉄代謝関連マーカーを測定することで、培養液中の鉄の状態の把握を行った。血清鉄、unsaturated iron binding capacity (UIBC)は比色定量法 (クイックオートネオ Fe®および UIBC®: シノテスト)にて行い、Tf 飽和度は血清鉄/血清鉄+UIBCにて算出した。NTBI は、以前我々が構築した生化学自動分析対応測定試薬を用いて測定した (Ito S, Ikuta K, et al. Clin Chim Acta. 2014; 437: 129-135)。

(6) Labile Plasma Iron (LPI)測定系開発と細胞培養液測定への応用

研究分担者の齋藤が中心となり、NTBI による酸化活性能である LPI を測定するため、生化学自動分析装置対応測定試薬を新たに開発することに成功した。血清中に酸化力を有する鉄があると、同じく血清中に存在する ceruloplasmin の酸化力を介する形で Trinder 反応と呼ばれる比色定量系が回り、吸光度変化を測定することで LPI が測定されるという原理を用いている

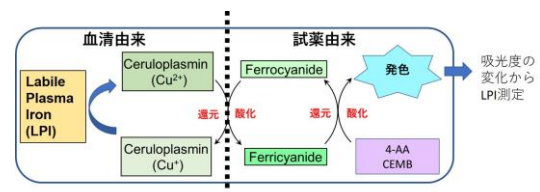


図1. 自動分析装置対応試薬によるLabile plasma iron (LPI)測定原理

【図 1】(Saito T, Ikuta K, et al. Ann Clin Biochem. 2019; 56: 654-661)。この測定系を用いて、細胞培養液 100 μL を用いて LPI を併せて測定した。

4. 研究成果

(1) 肝癌細胞株における erastin による細胞増殖抑制

まず erastin 0.5-50 μM と幅広い濃度で加え顕微鏡観察したところ、erastin 10 μM 以上で HepG2 細胞の増殖が抑制されていた【図 2A】。しかし、Hep3B および Huh7 細胞では HepG2 ほど明確な抑制を観察するのは困難であった【図 2B】。Erastin 刺激後で細胞可溶液の総蛋白量測定も行ったが、これも明確な増殖抑制効果を観察で

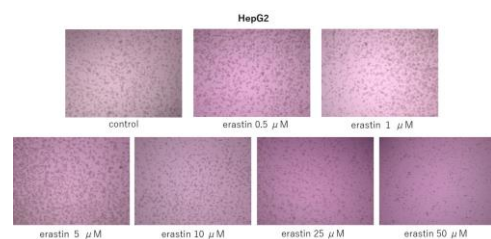


図2A. HepG2細胞におけるerastinによる細胞増殖抑制 (顕微鏡観察)

きなかった。

顕微鏡観察や総蛋白量測定、浮遊液作成による細胞数測定では検討が難しいことが判明したため、AlamarBlue®染色による検討を行ったところ、細胞増殖抑制が簡便かつ鋭敏に把握できることが判明した【図3】。

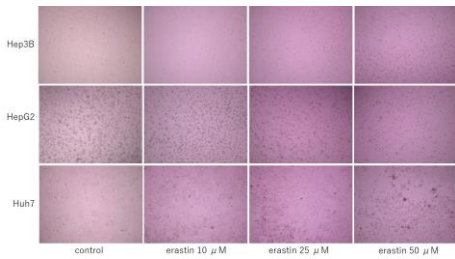


図2B. 肝癌由来3細胞株におけるerastin効果の比較

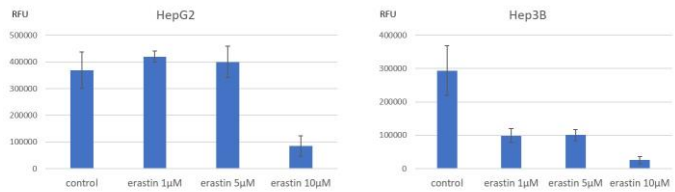


図3. HepG2細胞におけるerastinによる細胞増殖抑制効果

(2) Erastinによるフェロトシス誘導

Erastinによる肝癌細胞増殖抑制効果がフェロトシスによることを確認するため、フェロトシス抑制物質ferrostatinおよび鉄キレート剤DFO添加を行ったところ、erastinによる効果がcancellationされた【図4】。

フェロトシスへ強く関与するglutathione peroxidase 4 (GPX4)の発現は、mRNAやタンパクレベルでは低下しておらず、erastinはGPX4の機能を抑制することでフェロトシスを起こすことが考えられた【図5】。

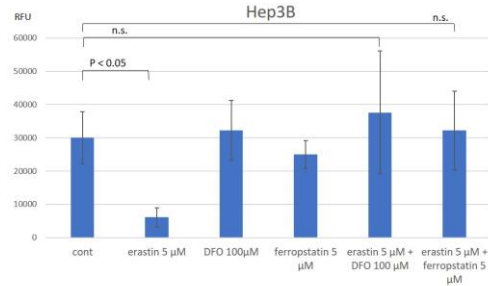


図4. HepG2細胞でのferrostatin、DFOによるerastinの細胞増殖抑制効果の打ち消し

(3) 肝癌細胞以外の各種悪性腫瘍由来培養細胞株におけるerastinの作用

肝癌以外の各種悪性腫瘍由来培養細胞株でerastinの効果を検討したところ、幅広い細胞株で増殖抑制が観察された【図6A、6B】。

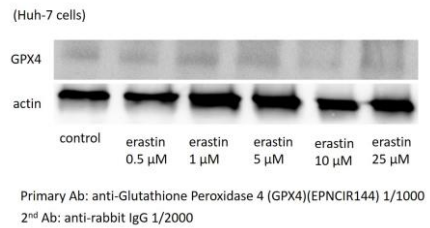


図5. GPX4発現に対するerastinの効果 (western blotting法)

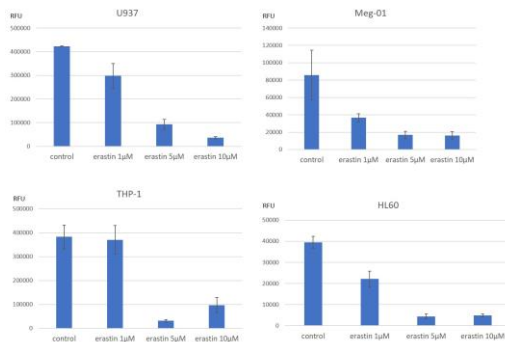


図6A. 血液悪性腫瘍由来細胞株におけるerastin効果

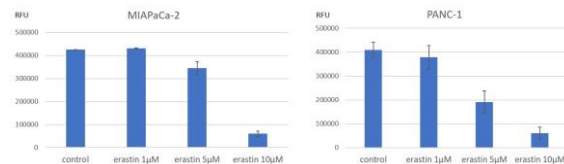


図6B. 腫瘍由来細胞株におけるerastin効果

(4) 細胞培養液中への鉄負荷によるerastinの細胞増殖抑制効果増強作用

FerroOrange®による検討では、FACを10 μM添加時より著明な細胞内鉄蓄積を認めた。一方、holo-Tfでは同様の鉄蓄積には100 μMという高濃度が必要であった【図7】。

HepG2細胞においてFAC 10 μMで十分な細胞内鉄蓄積を認めたため、この鉄負荷でのerastin効果の変化を検討した。HepG2細胞では効果増強が認められたものの、鉄負荷の効果は大きくはなかった。しかし、Hep3B細胞での検討では鉄負荷の効果は大きく【図8A】、さらに、より低濃度のerastin

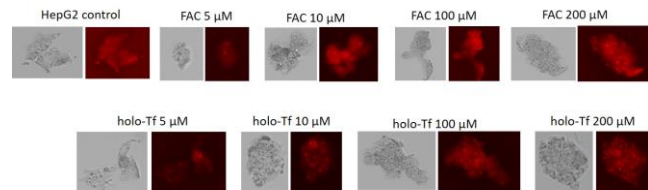


図7. HepG2細胞への鉄負荷での細胞内鉄蓄積 (FerroOrange®での検討)

濃度やFAC濃度においても細胞増殖抑制効果が増強することも観察された【図8B】。FACは1 μMでも認められ、holo-Tf 50 μMと同程度であり、効率的に効果を出していた。細胞種

によって、erastin や FAC 濃度に差はあるが、軽度の鉄負荷で低濃度の erastin でも細胞増殖抑制効果が増強した。

事前に細胞を鉄欠乏状態にしてから鉄や erastin を加えたり、鉄を取り込ませる時間を十分与えてからの erastin 効果の検討では、erastin の細胞増殖抑制効果に対する明確な上乗せ反応は確認できなかった。

本研究結果では、erastin と鉄を同時に細胞に添加することで十分に erastin 細胞増殖抑制効果を増強できることが示唆された。

しかし、いずれの実験においても、実験間で細胞の反応に非常にバラつきが大きく認められ、安定した結果を得るためには試薬濃度や細胞の増殖状態などに常に細心の注意が必要で、今後も条件調整を試み続ける必要があると思われた。

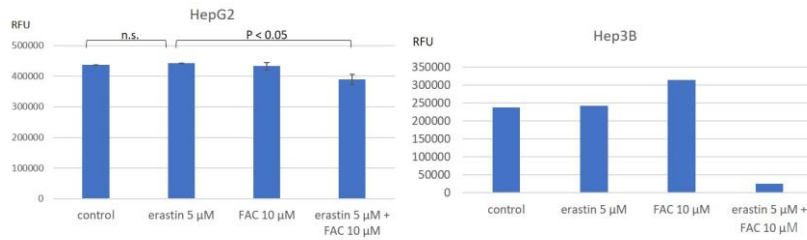


図8A. HepG2およびHep3B細胞におけるerastinによる細胞増殖抑制効果の変化

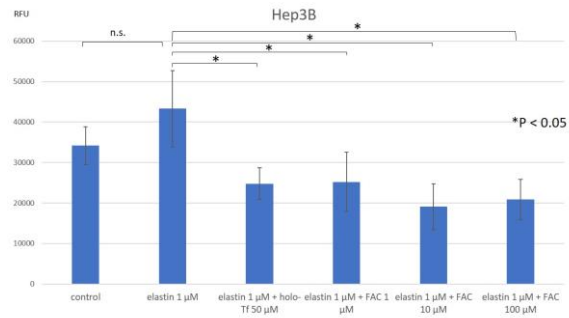


図8B. Hep3B細胞におけるFACによるerastinの細胞増殖抑制作用増強

(5) 細胞培養液中の各種鉄代謝関連マーカーの測定

各種試薬を加え調整した培養液中の鉄代謝関連マーカーを測定した結果、培養液中では、おそらく FBS 中の bovine Tf が鉄でかなり飽和されている事が考えられた【表1】。また、鉄を加えると当然 Tf 飽和度上昇などは認めるが、holo-Tf 添加よりも FAC 添加で効率的に NTBI や LPI が増加していることが判明した。これは、FerroOrange®での観察結果と合致するものと考えられた。また、我々の構築した新規測定系は培養液中の NTBI や LPI も再現性を持って測定できることが示され、基礎研究にも利用可能と示唆された。

表1. 検討に用いた細胞培養液の鉄代謝関連マーカー測定値

	NTBI (μM)	LPI (Abs x 10000)	F _h (μg/dL)	UIBC (μg/dL)	TSAT (%)
①control	0.24	0	21	3	88%
②erastin 0.5 μM	0.28	0	20	6	77%
③erastin 1 μM	0.28	1	21	3	88%
④ferrostatin 5 μM	0.44	0	20	3	87%
⑤Tf 50 μM	2.41	7	805	-4	100%
⑥FAC 1 μM	0.57	0	25	3	88%
⑦FAC 10 μM	6.71	10	67	-39	239%
⑧erastin 0.5 μM + ferrostatin 5 μM	0.40	0	20	3	87%
⑨erastin 0.5 μM + Tf 50 μM	1.99	5	658	-4	101%
⑩erastin 0.5 μM + FAC 1 μM	0.65	1	26	2	93%
⑪erastin 0.5 μM + FAC 10 μM	79.86	174	538	-444	572%
⑫erastin 1 μM + ferrostatin 5 μM	0.49	1	21	3	88%
⑬erastin 1 μM + Tf 50 μM	2.24	5	778	-3	100%
⑭erastin 1 μM + FAC 1 μM	0.49	0	26	1	96%
⑮erastin 1 μM + FAC 10 μM	83.24	181	549	-459	610%
⑯erastin 0.5 μM + ferrostatin 5 μM + Tf 50 μM	2.33	6	797	-5	101%
⑰erastin 0.5 μM + ferrostatin 5 μM + FAC 1 μM	0.70	1	26	0	100%
⑱erastin 0.5 μM + ferrostatin 5 μM + FAC 10 μM	85.00	183	552	-463	620%
⑲erastin 1 μM + ferrostatin 5 μM + Tf 50 μM	2.16	5	675	-2	100%
⑳erastin 1 μM + ferrostatin 5 μM + FAC 1 μM	0.91	0	27	-1	104%
㉑erastin 1 μM + ferrostatin 5 μM + FAC 10 μM	77.02	173	509	-430	644%

【まとめ】 本研究では、最重要検討項目であった erastin による細胞増殖抑制効果が鉄負荷によって増強されることが示された。また、こうした基礎検討には AlamarBlue®染色が簡便で多くの検討が可能であることが示された。Erastin 以外のフェロトキシ誘導物質でも同様に鉄負荷によって細胞増殖抑制効果の増強が起こる可能性もあり、今後の検討課題の一つと考える。また、肝癌細胞株での検討を主体に行ったが、各種血液悪性腫瘍や膵癌など特に難治性の腫瘍に対する新規治療アプローチとなる可能性も示された。

鉄負荷に関しては、同時の鉄負荷で細胞増殖抑制作用が増強していたが、我々が構築した NTBI および LPI 測定系を用いて細胞培養液中の過剰鉄及びそれによる酸化活性の評価も併せて行ったところ、holo-Tf での鉄添加よりも FAC での鉄添加が効率的に NTBI や LPI を増加させ、これらがフェロトキシ増強効果に繋がっている可能性が考えられた。事前に細胞を鉄欠乏状態にしておくことで鉄負荷による erastin の効果増強が強く得られる可能性などは残り、今後も重要な検討課題として残ると考えている。ただ、本検討での問題点として、実験間で erastin への反応が安定せず、条件設定が非常に困難であったことが挙げられる。また、鉄の取り込み・細胞内への蓄積も細胞による違いが大きく、個々人の癌腫によって至適鉄量は異なる可能性を念頭に入れる必要が示唆された。

全体として、フェロトキシ誘導物質に少量の鉄負荷を行うことで、肝癌や膵癌をはじめとする難治性悪性腫瘍に対する新たな効率的治療アプローチに繋がる可能性を示せたと考えられ、今後の基礎・臨床研究に寄与できる意義深い結果を得られたと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nishina S, Tomiyama Y, Ikuta K, Tatsumi Y, Toki Y, Kato A, Kato K, Yoshioka N, Sasaki K, Hara Y, Hino K.	4. 巻 21(1)
2. 論文標題 Long-term phlebotomy successfully alleviated hepatic iron accumulation in a ferroportin disease patient with a mutation in SLC40A1: A case report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 111
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12876-021-01674-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takami A, Tatsumi Y, Sakai K, Toki Y, Ikuta K, Oohigashi Y, Takagi J, Kato K, Takami K.	4. 巻 13(8)
2. 論文標題 Juvenile hemochromatosis: a case report and review of the literature.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals (Basel)	6. 最初と最後の頁 195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ph13080195	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Honma Y, Karasuyama T, Kumamoto K, Shimajiri S, Toki Y, Tatsumi Y, Sumida K, Koikawa K, Morino K, Oe S, Miyagawa K, Yamasaki M, Shibata M, Abe S, Ikuta K, Hayashi H, Harada M.	4. 巻 54(1)
2. 論文標題 Type 4B hereditary hemochromatosis due to heterozygous p.D157A mutation in SLC40A1 complicated with hypopituitarism.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 60-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-020-00259-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松岡直紀、林 学、高橋裕太、持丸友昭、熊川宏美、渡邊一男、巽 康彰、加藤宏一、生田克哉、右田清志、大平弘正。	4. 巻 117(12)
2. 論文標題 アルコール性肝障害を合併し遺伝子変異と異なる病態を呈したFerroportin病の1例。	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本消化器病学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1100-1108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 生田克哉、鈴木康秋、澤田康司、畑山真弓.	4. 巻 109(2)
2. 論文標題 大きく変わったウイルス性肝炎の診療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本内科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 308-316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 齋藤豪志、生田克哉.	4. 巻 275(8)
2. 論文標題 鉄過剰症の新規マーカー、NTBIとLPI	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 904-905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 生田克哉	4. 巻 48(8)
2. 論文標題 鉄欠乏性貧血の人は血小板が高値になる印象があるのですが、関連はあるのでしょうか？	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Technology	6. 最初と最後の頁 888-889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawaguchi T, Ikuta K, Tatsumi Y, Toki Y, Hayashi H, Tonan T, Ohtake T, Hoshino S, Naito M, Kato K, Okumura T, Torimura T.	4. 巻 50 (1)
2. 論文標題 Identification of Heterozygous p.Y150C and p.V274M Mutations in the HJV Gene in a Japanese Patient With a Mild Phenotype of Juvenile Hemochromatosis: A Case Report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 144-150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13423	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sawada K, Shonaka T, Nishikawa Y, Hasegawa K, Hayashi H, Hasebe T, Nakajima S, Ikuta K, Fujiya M, Furukawa H, Okumura T.	4. 巻 58 (12)
2. 論文標題 Successful Treatment of Nivolumab-related Cholangitis With Prednisolone: A Case Report and Review of the Literature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1747-1752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.2330-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto M, Ikuta K, Sawada K, Shindo M, Torimoto Y, Okumura T.	4. 巻 51 (10)
2. 論文標題 Hepatitis B Virus (HBV) Reactivation in an Acute Lymphoblastic Leukemia Patient Despite Being Vaccinated Against HBV in Infancy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestive and Liver Disease	6. 最初と最後の頁 1487-1488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dld.2019.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito T, Ikuta K, Hatayama M, Shibusa K, Matsui K, Tanaka R, Toki Y, Kato D, Iizuka N, Okumura T.	4. 巻 56 (6)
2. 論文標題 Novel Automated Measuring System for Evaluating Labile Plasma Iron in Serum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Clinical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 654-661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0004563219861413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 生田克哉、澤田康司。	4. 巻 第36巻第8号
2. 論文標題 長期間の赤血球輸血に伴う肝機能障害	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 1307-1310
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 生田克哉	4. 巻 第36巻第8号
2. 論文標題 慢性炎症に伴う貧血	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 1249-1254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moriichi K, Fujiya M, Kobayashi Y, Murakami Y, Iwama T, Kunogi T, Sasaki T, Ijiri M, Takahashi K, Tanaka K, Sakatani A, Ando K, Nomura Y, Ueno N, Kashima S, Ikuta K, Tanabe H, Mizukami Y, Saitoh Y, Okumura T.	4. 巻 24(6)
2. 論文標題 Autofluorescence Imaging Reflects the Nuclear Enlargement of Tumor Cells as well as the Cell Proliferation Ability and Aberrant Status of the p53, Ki-67, and p16 Genes in Colon Neoplasms.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 pii: E1106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24061106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikuta K, Ito H, Takahashi K, Masaki S, Terauchi M, Suzuki Y.	4. 巻 109(1)
2. 論文標題 Safety and efficacy of intravenous ferric carboxymaltose in Japanese patients with iron-deficiency anemia caused by digestive diseases: an open-label, single-arm study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 50-58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-018-2529-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikuta K, Hanashi H, Hirai K, Ota Y, Matsuyama Y, Shimura A, Terauchi M, Momoeda M.	4. 巻 109(1)
2. 論文標題 Comparison of efficacy and safety between intravenous ferric carboxymaltose and saccharated ferric oxide in Japanese patients with iron-deficiency anemia due to hypermenorrhea: a multi-center, randomized, open-label noninferiority study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 41-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-018-2501-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikuta K, Shimura A, Terauchi M, Yoshii K, Kawabata Y.	4. 巻 107(5)
2. 論文標題 Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of intravenous ferric carboxymaltose: a dose-escalation study in Japanese volunteers with iron-deficiency anemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 519-527
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-018-2400-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 生田克哉	4. 巻 4921
2. 論文標題 生体内の鉄代謝制御メカニズム	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本医事新報	6. 最初と最後の頁 28-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 齋藤豪志、生田克哉、田中利輝、奥村利勝。
2. 発表標題 血清中フリー鉄による酸化活性 (Labile Plasma Iron) の自動分析装置対応測定
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 紀野修一、生田克哉。
2. 発表標題 わが国の全血採血基準と献血者ヘモグロビン値・赤血球恒数の推移
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤豪志、生田克哉、奥村利勝。
2. 発表標題 輸血医療と関連した各種検査（シンポジウム）
3. 学会等名 第68回日本輸血・細胞治療学会学術総会（誌上開催）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 生田克哉。
2. 発表標題 輸血医療と鉄代謝（特別講演）
3. 学会等名 第64回日本輸血・細胞治療学会北海道支部例会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takami A, Tatsumi Y, Sakai K, Toki Y, Ikuta K, Kato K, Takami K.
2. 発表標題 Homozygous I281T mutation in HJV causing indolent juvenile hemochromatosis with a middle to late onset.
3. 学会等名 24th European Hematology Association Congress（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakajiri T, Nakatsuji M, Teraoka Y, Ikuta K, Inui T, Yamamura T.
2. 発表標題 Zinc-bound ceruloplasmin (Cp) interacts with transferrin (Tf), resulting in safe transfer of Fe (III) from Cp to Tf.
3. 学会等名 8th Congress of the International Biolron Society（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仁科惣治、富山恭行、巽 康彰、生田克哉、加藤宏一、大海宏暢、佐々木恭、吉岡奈穂子、原 裕一、日野啓輔。
2. 発表標題 糖尿病診療を契機に診断された遺伝性ヘモクロマトーシス (Ferroportin病) の一例。
3. 学会等名 第43回日本肝臓学会西部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saito T, Toki Y, Tamamura N, Funayama T, Igarashi S, Ishioh M, Hatayama M, Shindo M, Ikuta K, Torimoto Y, Tatsumi Y, Kato A, Hayashi H, Kato K, Okumura T.
2. 発表標題 Hereditary Hemochromatosis-related gene mutation analysis in Japan.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山村堯樹、坂尻徹也、中辻匡俊、寺岡佳晃、吉田航祐、生田克哉、洪佐琴恵、菅野江里子、富田浩史、乾 隆。
2. 発表標題 セルロプラスミン (Cp) への亜鉛への結合はCpとトランスフェリンとの結合を可能にする。
3. 学会等名 第43回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saito N, Saito K, Morioka T, Shimada H, Ikuta K, Kohgo Y, Miyazaki S.
2. 発表標題 Oral iron administration (OIA) transiently increased serum malondialdehyde modified low-density lipoprotein (MDA-LDL) and non-transferrin-bound iron (NTBI) in hemodialysis (HD) patients.
3. 学会等名 American Society of Nephrology Kidney Week 2018 (Annual Meeting) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤豪志、生田克哉、畑山真弓、土岐康通、進藤基博、鳥本悦宏、松井康蔵、飯塚直美、奥村勝利。
2. 発表標題 血清の酸化活性能の新規測定系構築
3. 学会等名 第42回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 生田克哉
2. 発表標題 鉄代謝異常と貧血
3. 学会等名 第63回日本透析医学会学術集会・総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 生田克哉	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2114 (担当p1077-1078)
3. 書名 今日の治療指針第8版 (担当: 鉄欠乏性貧血 p1077-1078)	

1. 著者名 生田克哉	4. 発行年 2020年
2. 出版社 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患政策研究事業) 特発性造血障害に関する調査研究班編集	5. 総ページ数 52 (担当p109-111)
3. 書名 輸血後鉄過剰症 診療の参照ガイド令和1年改訂版 (担当: 鉄過剰症総論 p109-111)	

1. 著者名 土岐康通、生田克哉	4. 発行年 2020年
2. 出版社 厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）特発性造血障害に関する調査研究班編集	5. 総ページ数 52（担当p133-136）
3. 書名 輸血後鉄過剰症 診療の参照ガイド令和1年改訂版（担当：日本における原発性（遺伝性）鉄過剰症の種類と疫学 p133-136） p109-111）	

1. 著者名 生田克哉	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 635（担当p171-173）
3. 書名 血液専門医テキスト改訂第3版（担当：鉄欠乏性貧血）	

1. 著者名 生田克哉	4. 発行年 2018年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 567（担当p468-472）
3. 書名 EBM血液疾患の治療2019 - 2020（担当：輸血後鉄過剰症に対する介入によって得られる効果 p468-472）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田中 宏樹 (TANAKA HIROKI) (70596155)	旭川医科大学・医学部・助教 (10107)	
研究分担者	土岐 康通 (TOKI YASUMICHI) (90596280)	旭川医科大学・医学部・特任助教 (10107)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	齋藤 豪志 (SAITO TAKESHI) (80837930)	旭川医科大学・大学病院・医員 (10107)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関