

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究 C
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590597
 研究課題名（和文） ミネラル・微量元素と透析患者の骨代謝・疾患発症・予後に関する大規模コホート
 研究課題名（英文） Association of minerals and trace elements with bone metabolism and prognosis in hemodialysis patients
 研究代表者
 板井 一好（ITAI KAZUYOSHI）
 岩手医科大学・医学部・准教授
 研究者番号：10048572

研究成果の概要：

透析患者の血清中微量元素濃度を測定し、健常成人の血清中微量元素濃度と比較した。透析患者で健常成人よりも高値を示した元素は、モリブデン、コバルト、マンガン、ホウ素、ストロンチウム、ヒ素、フッ素で、ルビジウムとカドミウムは男性のみが高値を示した。反対に透析患者で低値を示した元素は亜鉛、銅、セレンであった。透析患者の死亡率と関連が見られたのは銅、セレン及びホウ素であった。透析患者の骨密度は同年代の健常人に比べて低レベルにあった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：血液透析、血清、微量元素、腎不全

1. 研究開始当初の背景

透析患者においては、健常成人と比べてミネラル及び微量元素の攪乱（アンバランス）が見られ、これによる多くの影響が報告または示唆されている。活性型ビタミン D3 の低下が血漿中カルシウム濃度の低下をもたらす、次いで副甲状腺ホルモンの分泌が刺激され骨量が減少すると考えられている。一方で、血漿中のリン濃度の上昇が、リンとカルシウムの結合を促進して、軟組織や血管内壁へのカルシウム沈着をもたらす。血液透析を受けている患者の心血管系の石灰化スコアが、受

けていない患者の 2.5 倍から 5 倍高値あり、このことが透析患者の予後不良をもたらす、死因の半数を占める循環器疾患の重要な危険要因であることを示唆している。また、Framingham 研究でも、大きく骨量が減少している女性は腹部大動脈石灰化が最も進行していた。これらの報告は、透析患者におけるミネラルの攪乱による骨代謝と循環器疾患との強い関連性を示唆している。最近の学説では、透析患者の動脈硬化症進展に大きく影響するものとして、炎症反応亢進状態、低栄養、アシドーシスなどが挙げられているが、

いまだ十分な検討がなされていない。以前から透析患者の動脈硬化症の特徴として、粥状動脈硬化症とは別に、動脈の石灰化と硬化性変化を主体としたメンケベルグ型の動脈硬化症が特徴として挙げられているが、動脈石灰化やこのメンケベルグタイプの動脈硬化症にはカルシウム・リン代謝が大きくかわることが示唆されているものの、多数の臨床例を扱って、石灰化主体の動脈硬化症やメンケベルグ動脈硬化症との関連を検討した研究は少ない。

また、透析患者の血清または血漿中の微量元素濃度に関する報告では、健常成人に比べて上昇している元素（ヒ素、コバルト、セシウム、クロム、水銀、モリブデン、ストロンチウム、フッ素）と、減少している元素（臭素、ルビジウム、セレン、亜鉛）がある。透析患者では健常人に比べてガンによる死亡率が高いが、血液中セレンや亜鉛の低下と相俟ってヒ素とカドミウムの上昇はガン発症のリスクとなる可能性がある。動物実験では、ヒ素、カドミウム、銅等が肝臓、腎臓、心臓等における脂質の酸化に影響を及ぼすことが報告されており、銅の欠乏が循環器疾患と関連があることも報告されている。

以上の様に、ミネラルや微量元素のアンバランスが起きている可能性が高い透析患者は、このことが骨代謝の異常、ガン及び循環器疾患と関連があると考えられる。これまでの研究報告では、多数例の透析患者について、ミネラルや微量元素のアンバランスの実態を報告した研究は見当たらない。また、これらのアンバランスが透析患者の予後に及ぼす影響について、悉皆性のある集団で前向きに検討している研究は存在しない。

2. 研究の目的

平成 15 年度から高い悉皆性と標準化した方法を用いて、透析患者の予後を明らかにし、特に心血管疾患発症と古典的危険因子との関わりを明らかにすることを目的として、KAREN 研究 (Kaleidoscopic Approaches to patients with end-stage RENal disease: The KAREN Study) を開始している。現在、平成 16 年度から年度の追跡調査を終了し、4 年目に相当する平成 19 年度の追跡調査終了した。KAREN 研究開始時の血清の一部が -80°C で現在も保存されている。本研究では、保存されている血清を用いてミネラル及び微量元素を測定し、追跡調査結果とリンクさせて解析することにより、癌や循環器疾患発症及び予後との関連性についても検討する。

また、新たに透析患者から同意を得て、透骨密度と微量元素との関連について検討する。

3. 研究の方法

(1) 対象者

KAREN 研究では、平成 15 年から 16 年にかけて対象地域内に存在する 25 透析施設の患者 1499 名のうち、面会が可能であった 1447 名に研究趣旨を説明して 1260 名から同意を得た。現在、平成 16 年度から追跡調査を開始し、4 年目に相当する平成 19 年度の追跡調査終了した。同意の得られた研究対象者の中で血清中微量元素測定が終了した 860 名（男性 533 名、女性 327 名、平均年齢 61.9 ± 12.6 歳）を微量元素と一般住民との比較及び予後の研究対象とした。また、健常人 185 名（男性 94 名、女性 91 名、平均年齢 59.8 ± 10.7 歳）の血清中微量元素濃度を対照集団として用いた。

骨密度と微量元素の関連を検討するため、研究の主旨を説明して同意の得られた透析患者から、血液を採取してフッ素などの微量元素を測定するとともに、カルテ調査を行ってもっとも最近の骨密度測定値を記録した。骨密度の測定は 124 名（男性 89 名、女性 35 名）について測定した。骨密度は ALOKA 社製の X 線骨密度測定装置：ダイクロマスキヤン DCS - 600EX - III を用いて、前腕部（橈骨）で測定した。

(2) 追跡調査

直接透析施設を訪問し患者診療記録および死亡診断書を閲覧して、死亡と死亡原因、循環器疾患発症（冠動脈疾患、心不全、脳血管疾患）の有無、悪性新生物の有無について追跡調査を行った。

(3) 血清中微量元素の測定

KAREN 研究開始時の血清で -80°C で保存されている血清を試料とした。血清中微量元素濃度の測定は、テフロン試験管に血清 1.0ml を分取し、高純度硝酸 3ml を加えて 2 時間室温で放置後、ブロックバスを用いて 120°C で 12 時間加熱分解した。この間にブロックバスよりテフロン試験管を取り出して冷却し、これに高純度過酸化水素水 1ml を加える行程を 2 回行った。その後、テフロンジャーに移し変えて、 100°C のホットプレート上で蒸発乾燥させ、10%硝酸溶液 5ml を加えて溶解させて測定用試料とした。試料溶液中微量元素濃度の測定は ICP-MS (Perkin Elmer 社製 Elan 6000) を用いた。また、血清中フッ素イオン濃度は 10 倍に希釈してイン電極を用いたフローインジェクション法を用いて行った。

(4) 統計解析

透析患者群および健常者群について、男女別に平均値と標準偏差を用いた。透析患者群と健常者群の年齢調整元素濃度 (95%CI) は、共分散分析 (ANCOVA) を用いた。年齢調整は 60 歳を基準として調整した。

透析患者の血清中微量元素と総死亡との関連を検討するために、Cox 比例ハザードモデルを用いて解析した。調整要因として、性、

年齢、BMI、現在喫煙、過去喫煙、飲酒、血圧高値 (≥ 169 mmHg)、血圧低値 (< 140 mmHg)、アルブミン低値 (< 3.5 mg/dL)、CRP 高値 (≥ 0.36 mg/L)、糖尿病の有無、高脂血症の有無、脳卒中の既往、心筋梗塞の既往を用いた。骨密度または骨密度の1年間変化量と微量元素との関連は、年齢を共変量として重回帰分析を用いて解析した。

4. 研究成果

(1) 透析患者と健常成人の血清中微量元素濃度

血清中微量元素濃度の男女合わせた測定結果 (平均値 \pm 標準偏差、 μ g/L) は、透析患者と健常者の順で、亜鉛 (Zn) : 720 ± 158 ; 942 ± 143 、銅 (Cu) : 843 ± 183 ; 983 ± 233 、セレン (Se) : 99.4 ± 21.9 ; 128.3 ± 20.3 、ホウ素 (B) : 121.3 ± 48.2 ; 19.3 ± 8.5 、マンガン (Mn) 1.04 ± 1.58 ; 0.62 ± 0.60 、コバルト (Co) : 2.38 ± 1.41 ; 0.35 ± 0.48 、ヒ素 (As) : 40.6 ± 35.0 ; 10.6 ± 6.6 、モリブデン (Mo) : 14.7 ± 6.7 ; 1.39 ± 0.76 、カドミウム (Cd) : 0.22 ± 0.29 ; 0.11 ± 0.43 、ストロンチウム (Sr) : 39.6 ± 10.6 ; 32.2 ± 11.2 、ルビジウム (Rb) : 129.6 ± 33.5 ; 136.1 ± 27.2 、フッ素 (F) : 46.8 ± 40.8 ; 9.0 ± 3.1 であった。Zn、Cu、Se、Rb が患者群で健常群よりも有意に低く ($p < 0.01$)、B、Mn、Mo、Co、Sr、Cd、As が患者群で健常群よりも有意に高かった ($p < 0.01$)。

表1に透析患者群と健常者群の微量元素濃度の測定結果を男女別に示した。年齢調整を行っていないが、B、Mo、Co、As、Fが、患者群で健常群に比べて顕著に高値を示した。

表2に60歳を基準として年齢調整した元素濃度 (95%CI) を男女別に示した。Zn、Cu、Se が男女共に患者群が健常者群に比べて有意に低値を示した。Rbは男性で有意に患者群が低値を示した。Mo、Co、Mn、B、Sr、As、Fが男女ともに患者群が有意に高かった。Cdは患者群の男性で有意に健常者群の男性よりも高値であった。Bは患者群及び健常者群ともに男

性よりも女性が高値を示した。Rbは健常者群で男性が高値を示し、Srは患者群で情勢が男性よりも高値であった。

血清中微量元素の測定できた対象者について、追跡期間中の死亡者は273名で粗死亡率は96.9 (/1000人年)であった。

血清中微量元素濃度と総死亡との関連について、Cox 比例ハザードモデルで解析した結果、Cuは高いほど有意に死亡率が高く、SeとBは高いほど有意に死亡率が低かった ($p < 0.05$)。

(2) 透析患者の血清中微量元素濃度と予後微量元素と疾患発症との関連では、As濃度が高いほど有意に心筋梗塞の発症が多く、Se濃

表1 透析患者群と健常者群の元素濃度

元素	性	患者群	健常群
Zn	男	717 \pm 162	950 \pm 176
	女	729 \pm 159	949 \pm 186
Cu	男	826 \pm 181	936 \pm 191
	女	858 \pm 185	1006 \pm 233
Se	男	99 \pm 23	129 \pm 24
	女	100 \pm 21	126 \pm 20
Mo	男	14.9 \pm 6.4	1.35 \pm 0.75
	女	14.3 \pm 7.1	1.42 \pm 0.77
Co	男	2.33 \pm 1.31	0.32 \pm 0.40
	女	2.48 \pm 1.55	0.39 \pm 0.54
Mn	男	1.07 \pm 1.84	0.65 \pm 0.48
	女	0.98 \pm 1.04	0.65 \pm 0.76

元素	性	患者群	健常群
B	男	116 \pm 45	18.2 \pm 8.3
	女	130 \pm 52	20.1 \pm 8.6
Rb	男	129 \pm 33	141 \pm 28
	女	131 \pm 34	131 \pm 26
Sr	男	37.9 \pm 9.5	32.4 \pm 10.9
	女	42.3 \pm 11.6	31.6 \pm 11.4
Cd	男	0.22 \pm 0.33	0.09 \pm 0.33
	女	0.22 \pm 0.21	0.12 \pm 0.52
As	男	42.9 \pm 40.0	11.1 \pm 7.8
	女	37.0 \pm 24.7	10.4 \pm 5.4
F	男	46.4 \pm 24.3	10.3 \pm 3.3
	女	47.3 \pm 23.6	10.5 \pm 3.0

(平均値 \pm 標準偏差、 μ g/L)

表2 透析患者群と健常者群の年齢調整元素濃度

元素	性	患者群 (95%CI)	健常群 (95%CI)
Zn	男	719 (705-733)	950 (914-987)
	女	734 (716-752)	947 (910-984)
Cu	男	828 (812-843)	936 (893-979)
	女	856 (836-876)	1005 (962-1049)
Se	男	100 (98-102)	129 (125-134)
	女	101 (99-103)	126 (122-131)
Mo	男	14.9 (14.3-15.6)	1.35 (1.20-1.50)
	女	14.1 (13.3-14.8)	1.42 (1.27-1.58)
Co	男	2.30 (2.18-2.43)	0.33 (0.23-0.42)
	女	2.48 (2.32-2.63)	0.39 (0.29-0.49)
Mn	男	1.09 (0.93-1.24)	0.65 (0.52-0.78)
	女	0.98 (0.79-1.17)	0.65 (0.52-0.78)

元素	性	患者群 (95%CI)	健常群 (95%CI)
B	男	115 (111-119)	18.2 (16.5-19.8)
	女	129 (124-134)	20.3 (18.6-21.9)
Rb	男	128 (126-132)	141 (136-146)
	女	131 (127-135)	130 (125-135)
Sr	男	37.9 (36.9-38.9)	32.4 (30.2-34.7)
	女	42.6 (41.4-43.8)	31.6 (29.3-33.9)
Cd	男	0.22 (0.19-0.25)	0.09 (0.01-0.18)
	女	0.22 (0.19-0.26)	0.12 (0.03-0.20)
As	男	42.5 (39.4-45.6)	11.0 (9.7-12.3)
	女	36.8 (32.9-40.6)	10.5 (9.2-11.9)
F	男	46.6 (43.9-49.3)	10.3 (9.7-11.0)
	女	47.9 (44.4-51.4)	10.6 (9.9-11.2)

(μ g/L)

度の4分位で最低濃度グループに対して最大濃度グループが有意に脳卒中の発症が低かった ($p < 0.05$)。また、Cu濃度が高いほど心不全発症が多かった ($p < 0.05$)。これらの結果については、血清中微量元素濃度測定数を増やしてさらに検討する必要がある。

(3) 透析患者の骨密度

表3に男性透析患者の骨密度 (BMD)、健常人の同年代の骨密度との比較 (Zスコア、%)及び若年成人 (25歳から30歳)の期待値との比較 (Tスコア、%)を示した。やや例数が少ないが、50歳代のBMD、Zスコア及びTスコアがそれぞれ 0.719g/cm^2 、96.8%及び93.1%と健常人とほぼ同じレベルにあった。30歳から49歳までの群と60歳代は健常人の同年代の約90%と低いレベルにあったが、70歳以上の群では同年代の96%のレベルで骨密度の顕著な低下は認められなかった。

表4に男性と同様に女性透析患者の骨密度について示した。前例数が35例と少ないが、男性と同様に50歳代で同年代の健常人と比較して96.3%にとどまっておらず、この年代での骨密度の顕著な低下は認められなかった。40歳代、60歳代及び70歳以上の群では同年代の健常人の骨密度に比べて82%から90%の低いレベルにあった。

表3 男性透析患者の骨密度 (BMD)、Zスコア及びTスコア

Age group (year-old)	Subjects (n)	BMD (g/cm^2)	Z score (%)	T score (%)
30-49	13	0.693 (0.106)	90.5 (13.4)	89.8 (13.7)
50-59	22	0.719 (0.079)	96.8 (11.1)	93.1 (10.2)
60-69	26	0.640 (0.094)	89.0 (12.9)	83.0 (12.0)
70 or older	28	0.640 (0.078)	95.9 (10.9)	83.0 (10.1)

データは平均値 (標準偏差)をあらわす。

表4 女性透析患者の骨密度 (BMD)、Zスコア及びTスコア

Age group (year-old)	Subjects (n)	BMD (g/cm^2)	Z score (%)	T score (%)
40-49	4	0.511 (0.159)	82.3 (25.1)	79.3 (24.6)
50-59	4	0.543 (0.106)	96.3 (16.3)	84.0 (16.4)
60-69	11	0.450 (0.076)	89.1 (14.4)	69.6 (11.9)
70 or older	16	0.383 (0.116)	85.0 (19.9)	57.4 (14.9)

データは平均値 (標準偏差)をあらわす。

最近の骨密度測定値と血清中微量元素との関連を男女別に年齢を共変量として重回帰分析を行った結果、どの元素も関連は認められなかった。1年間あたりの骨密度変化量と血清中微量元素濃度との関連を男女別に年齢を共変量として重回帰分析を行った結果、男性において1年間の骨密度変化量と血清中フッ素濃度との間に負の関連が認められた ($p < 0.01$)。フッ素は腎臓を介して排泄されるため、透析患者の血清中フッ素濃度が健常人よりも高値である (表2)と考えられる。フッ素は骨組織と親和性が高く、吸収されたフッ素は骨組織に蓄積され、蓄積されたフッ素が骨代謝に応じて血清中に放出される。健常人では血液中のフッ素は腎臓を介して体外に排泄されるが、透析患者でのフ

ッ素の代謝は不明であり、透析患者の男性で1年間の骨密度変化量と血清中フッ素濃度との関連については不明である。今後、さらに例数を増やして検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計4件)

①板井一好、大澤正樹、丹野高三、加藤香廉、藤島洋介、遠藤重厚、岡山明、藤岡知昭. 透析患者の血清中微量元素濃度について. 第19回日本微量元素学会、東京都、平成20年7月

②Masaki Ohsawa, Kozo Tanno, Kazuyoshi Itai, Toshiyuki Onoda, Kiyomi Sakata, Karen Kato, Yosuke Fujishima, Ryuichiro Konda, Tomoaki Fujioka, Fumitoshi Yamauchi, Mikihiro Fujishima, Akira Okayama. Hemodialysis patients rapidly lose their bone minerals after 60 years of age. ASBMR 30th Annual Meeting, September 12-16, 2008, Montreal, Quebec, Canada.

③Kozo Tanno, Masaki Ohsawa, Kazuyoshi Itai, Toshiyuki Onoda, Kiyomi Sakata, Karen Kato, Yosuke Fujishima, Ryuichiro Konda, Tomoaki Fujioka, Fumitoshi Yamauchi, Mikihiro Fujishima, Akira Okayama. Serum ionic fluoride levels among hemodialysis patients are positively associated with levels of serum phosphate and intact PTH. 30th ASBMR Annual Meeting September 12-16, 2008, Montréal, Québec, Canada.

④Kazuyoshi Itai, Masaki Ohsawa, Kozo Tanno, Toshiyuki Onoda, Tamotsu Sato, Toru Kuribayashi, Kiyomi Sakata, Akira Okayama. Elevated serum ionic fluoride levels in post-menopausal women is due to the enhanced release of fluoride from bone. 30th ASBMR Annual Meeting, September 12-16, 2008, Montréal, Québec, Canada.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

板井一好 (ITAI KAZUYOSHI)
岩手医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 10048572

(2) 連携研究者

坂田清美 (SAKATA KIYOMI)
岩手医科大学・医学部・教授
研究者番号: 50225794
中村元行 (NAKAMURA MOTOYUKI)
岩手医科大学・医学部・教授
研究者番号: 40172449

近田龍一郎 (KONDA RYUICHIRO)
岩手医科大学・医学部・准教授
研究者番号：10225609
大澤正樹 (OSAWA MASAKI)
岩手医科大学・医学部・講師
研究者番号：60295970
丹野高三 (TANNO KOZO)
岩手医科大学・医学部・講師
研究者番号：20327026

