

機関番号：33303  
 研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20590966  
 研究課題名 (和文) 慢性腎不全でのヘプシジン発現制御機構の解明—骨髓造血関連因子の影響—  
 研究課題名 (英文) Regulation of hepcidin expression in renal failure  
 -participation of erythropoiesis related factor-  
 研究代表者  
 友杉 直久 (TOMOSUGI NAOHISA)  
 金沢医科大学・付置研究所・教授  
 研究者番号：80155580

## 研究成果の概要 (和文)：

本研究において、鉄代謝の制御因子である血清ヘプシジン-25 の測定が質量解析計で可能になり、腎性貧血、鉄過剰症、炎症など、骨髓造血機能が抑制されている様々な疾患評価の分子バイオマーカーとして臨床応用が可能になった。鉄代謝の特徴は、積極的な鉄排泄系を持たずに閉鎖系で鉄を再利用し、血清鉄濃度を一定に保つことである。これはトランスフェリン受容体 2・ヘプシジン-25・フェロポルチン系でのフィードバック機構で管理されている。

## 研究成果の概要 (英文)：

In this study, serum hepcidin-25, which is the regulator of the iron-metabolism, has been measured by mass spectrometry, and has become a molecular biomarker of erythropoietic disorders including renal anemia, iron overload and inflammation. The characteristics of iron-metabolism are to recycle iron in the closed system without an active iron-excretion system, and to keep the concentration of the serum iron. This is managed with the feed back mechanism based on the transferring receptor2-hepcidin-ferroportin system.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：加齢制御

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、腎臓内科

キーワード：ヘプシジン-25、骨髓造血機能、骨髓造血由来因子

## 1. 研究開始当初の背景

Hepcidin は肝臓で産生される一種のペプチドホルモンであり、鉄代謝制御機構の中心的役割を演じていると考えられているが、これまで尿中 hepcidin が研究室レベルで測定されているのみであり、血中の hepcidin は測定することができなかった。われわれは、ブ

ロテオミクス技術である表面改良型レーザー脱離イオン化 (SELDI) を利用した質量解析装置を用いて、血清 hepcidin-25 を世界に先駆けて初めて検出し、血清 hepcidin-25 の判定量測定系を確立した。さらに、最近ハイブリッド質量解析装置 (LC-MS/MS) を用いて hepcidin-25 の定量測定系を開発した。

本法を用いることにより、血清 hepcidin-25 の変動に基づき、腎不全患者の鉄代謝を臨床的に解明する手段が得られるようになった。

## 2. 研究の目的

現在、肝臓で産生される hepcidin の制御機構は、鉄負荷、血清鉄濃度や炎症により制御されていると考えられている。慢性腎不全における骨髄造血機能低下時では、hepcidin 産生に伴う貯蔵鉄の利用障害が推測されている。

今回の研究の目的は、以下の3点である。

(1) さまざまな骨髄抑制状態に伴う血清 hepcidin-25 の発現反応を確認する。

(2) hepcidin-25 発現と関連して発現する蛋白質/ペプチドを、モデル動物や透析患者血清の質量解析で探索する。

(3) 骨髄抑制状態を評価した腎性貧血の診断・治療基準を作成する。

## 3. 研究の方法

(1) 動物実験にて抗癌薬経静脈投与に伴う骨髄機能障害モデルの新規発現蛋白質/ペプチドを探索する。

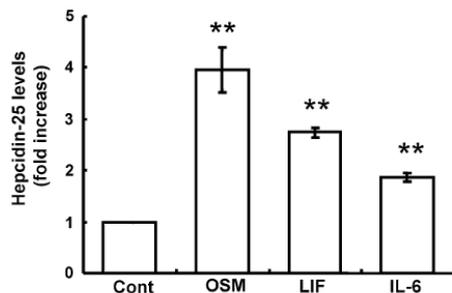
(2) 骨髄造血機能抑制時に骨髄で発現する因子のヘプシジン発現への影響を解析する。

(3) ヘプシジン発現の亢進に伴う骨髄造血機能障害を、IL-6 が発現する Castleman 病、およびサル関節炎で、更に鉄過剰症で解析する。

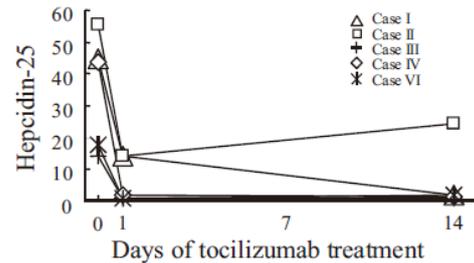
## 4. 研究成果

(1) 抗がん剤投与により障害されたるマウス骨髄から、hepcidin に先立ち発現する数種類のペプチド群が、また数倍の発現量を有する数種類の遺伝子群が見つかった。

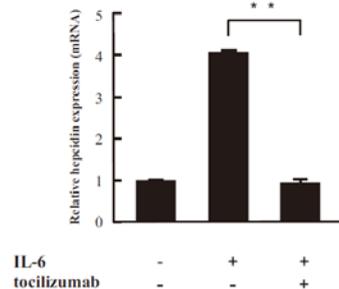
(2) 骨髄抑制モデルとして、抗がん剤を投与したマウスの骨髄液中のペプチド、遺伝子発現を解析し、oncostatin M (OSM)、leukemia inhibitory factor (LIF) の発現亢進を認めた。この OSM と LIF は、培養 hepatoma cell lines を刺激し、hepcidin-25 産生を亢進させた。これらは、JAK/STAT 系を介して hepcidin を制御しており、炎症に伴う貧血に関与している可能性が示唆された。



(3) Castleman 病では、IL-6 受容体抗体により hepcidin-25 は早期に低下し、その後貧血と自覚症状は徐々に改善した。

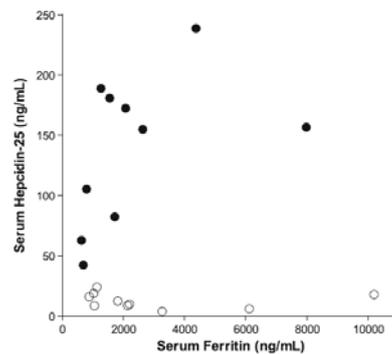


培養実験においても、IL-6 で誘導される HepG2 の hepcidin-25 産生は、IL-6 受容体抗体で完全に抑制された。



同様の効果は、サル関節炎においても観察された。以上より、長期投与 IL-6 受容体抗体の有効性は、hepcidin-25 産生の抑制によることが明らかになった。

(4) フェロポルチン病、二次性鉄過剰症ではフェリチンに応じた hepcidin-25 高値を呈したが、遺伝性ヘモクロマトシス患者ではフェリチン高値にもかかわらず著名な hepcidin-25 低下を認めた。以上より、鉄過剰症の鑑別診断に血清 hepcidin-25 値が有用であることが明らかになった。



## 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)

〔雑誌論文〕(計21件)

① Hayashi H, Piperno A, Tomosugi N, Hayashi K, Kimura F, Wakusawa S, Yano M, Tatsumi Y, Hattori A, Pelucchi S, Katano

Y, Goto H. Patients with chronic hepatitis C may be more sensitive to iron hepatotoxicity than patients with HFE-hemochromatosis. Intern Med. 2010; 49(22):2371-7. 査読有

② Kono S, Yoshida K, Tomosugi N, Terada T, Hamaya Y, Kanaoka S, Miyajima H. Biological effects of mutant ceruloplasmin on hepcidin-mediated internalization of ferroportin. Biochim Biophys Acta. 2010 1802(11):968-75. 査読有

③ Song SN, Tomosugi N, Kawabata H, Ishikawa T, Nishikawa T, Yoshizaki K. Downregulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman's disease (MCD). Blood. 2010 116(18):3627-34. 査読有

④ Kaneko Y, Miyajima H, Piperno A, Tomosugi N, Hayashi H, Morotomi N, Tsuchida KI, Ikeda T, Ishikawa A, Ota Y, Wakusawa S, Yoshioka K, Kono S, Pelucchi S, Hattori A, Tatsumi Y, Okada T, Yamagishi M. Measurement of serum hepcidin-25 levels as a potential test for diagnosing hemochromatosis and related disorders. J Gastroenterol. 2010 45(11):1163-71.

⑤ Kosuge T, Sawada T, Shimoda M, Kita J, Tomosugi N, Kubota K. Increased Hepcidin Production Impairs Iron Metabolism after Pancreatoduodenectomy. World J Surg. 2010 34(10):2452-6. 査読有

⑥ Hashizume M, Uchiyama Y, Horai N, Tomosugi N, Mihara M. Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, improved anemia in monkey arthritis by suppressing IL-6-induced hepcidin production. Rheumatol Int. 2010 30:917-923. 査読有

⑦ Kroot JJ, Kemna EH, Bansal SS, Busbridge M, Camostrini N, Girelli D, Hider RC, Koliaraki V, Mamalaki A, Olbina G, Tomosugi N, Tselepis C, Ward DG, Ganz T, Hendriks JC, Swinkels DW. Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. Haematologica. 2009 94:1748-1752. 査読有

⑧ Kanda J, Uchiyama T, Tomosugi N, Higuchi M, Uchiyama T, Kawabata H. Oncostatin M and leukemia inhibitory factor increase hepcidin expression in hepatoma cell lines. Int J Hematol. 2009 90:545-552.

⑨ Kanda J, Mizumoto C, Kawabata H,

Tsuchida H, Tomosugi N, Matsuo K, Uchiyama T. Serum hepcidin level and erythropoietic activity after hematopoietic stem cell transplantation. Haematologica. 2008 93(10):1550-4. 査読有

⑩ Fujita N, Sugimoto R, Motonishi S, Tomosugi N, Tanaka H, Takeo M, Iwasa M, Kobayashi Y, Hayashi H, Kaito M, Takei Y. Patients with chronic hepatitis C achieving a sustained virological response to peginterferon and ribavirin therapy recover from impaired hepcidin secretion. J Hepatol. 2008 49(5):702-10. 査読有

〔学会発表〕(計53件)

① 友杉直久 腎性貧血ガイドライン達成を目指す貧血管理へエポシジン-25による新しい観点 平成22年6月18日(金)~20日(日)、第54回日本透析医学会学術集会、神戸国際会議場

② 勝二達也, 友杉直久, 植畑拓也, 川端裕彰, 新畑覚也, 坂口悠介, 下村明弘, 鈴木朗, 金子哲也, 椿原美治 保存期CKD患者における腎性貧血に与える血清インドキシル硫酸の影響の横断的検討 平成22年6月16日(水)~18日(金) 第53回日本腎臓学会学術総会、神戸国際会議場

③ Okubo K, Higuchi M, Kamijo Y, Nagasawa M, Tamura K, Tomosugi N. Elevation of serum hepcidin 25 levels is well correlated with the progression of renal anemia in the peritoneal dialysis patients. ASN Renal Week 2009 October 27 - November 1, 2009, San Diego, CA

④ Mizumoto C, Kanda J, Kawabata H, Uchiyama T, Kojima K, Hayashi T, Hirata M, Nakao K, Tsuchida K, Kawanaka M, Yamada G, Tomosugi N, Tatsumi Y, Hattori A, Hayashi H. Tfr2-related hereditary hemochromatosis in Japan. 2009 International BioIron Society June 7-11, Porto, Portugal, 2009

⑤ 友杉直久 透析患者における貧血 発症メカニズムと病態へエポシジン-25と骨髄造血機能 平成21年6月5日~7日、第54回日本透析医学会学術集会、横浜

⑥ Junya Kanda, Chisaki Mizumoto, Hiroshi Kawabata, Tatsuo Ichinohe, Hideyuki Tsuchida, Tomosugi N, Keitaro Matsuo, Tadakazu Kondo, Takayuki Ishikawa, and Takashi Uchiyama. Clinical Significance of Serum Hepcidin-25 Levels on Early Treatment-Related Complications after Hematopoietic Stem Cell Transplantation 50<sup>th</sup> ASH Annual Meeting, 2008.12.6-9, San Francisco, CA.

⑦ Joyce JC Kroot, Erwin HJM Kemna, Sukhvinder Bansal, Mark Busbridge, Natascia Campostrini, Domenico Girelli, Robert C Hider, Vasiliki Koliarakis, Avgi Mamalaki, Gordana Olbina, Naohisa Tomosugi, Chris Tselepis, Douglas G Ward, Tomas Ganz, Jan CM Hendriks, and Dorine W. Swinkels. Results of the First International Round Robin for the Quantification of Urinary and Plasma Hepcidin: Need for Standardization. 50<sup>th</sup> ASH Annual Meeting, 2008.12.6-9, San Francisco, CA.

⑧ Tomosugi N, H. Tuchida, M. Higuchi, H. Sasaki, and K. Kitagawa. Identification and quantification of tear proteins in Sjögren's syndrome. HUP02008 7th World Congress 2008.8.16-20 Amsterdam, NL

⑨ 植畑拓也、友杉直久、坂口悠介、下村明弘、井上和則、金子哲也、勝二達也、岡田倫之、椿原美治 保存期腎不全患者におけるヘプシジンの検討 平成20年5月30日(金)～6月1日(日) 第51回日本腎臓学会学術総会、福岡

⑩ 藤田尚己、杉本龍亮、本西哲、田中淳一朗、別府徹也、浦和尚史、田中秀明、山本憲彦、小林由直、岩佐元雄、白木克哉、友杉直久、林久男、竹井謙之 C型慢性肝炎にみられる鉄過剰状態へのhepcidinの関与平成20年5月8日(木)～10日(土)、第94回日本消化器病学会総会、福岡国際会議場

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

友杉 直久 (TOMOSUGI NAOHISA)  
金沢医科大学・付置研究所・教授  
研究者番号：80155580