

令和元年6月14日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09635

研究課題名(和文)慢性腎臓病での治療によるフラタキシンの回復と合併症の予防

研究課題名(英文) Renal anemia treatment increase frataxin Level in patients with chronic kidney disease

研究代表者

蓮池 由起子 (HASUIKE, Yukiko)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：80399146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,000,000円

研究成果の概要(和文)：血清フェリチンが250 ng/ml以上であった腎臓病患者において、赤血球造血刺激因子製剤(ESA)を6か月間投与し、鉄製剤の投与を最小限とした。結果として、ESA投与量およびESA抵抗性指数は、3か月後に減少をみとめた。血清フェリチン値の低下とともに血清ヘプシジン値は低下をみとめた。フラタキシン蛋白の有意な増加をみとめ、3か月後、血清フェリチン値との間に相関をみとめた。酸化ストレスマーカー・ペントシジンおよびサイトカイン・TNF- α は3か月後に有意な減少をみとめた。ESAを用いてフェリチンを低下させる治療は、フラタキシンを回復させ腎不全患者における酸化ストレスを低減させることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病の患者では心血管疾患の合併が多く、合併症の治療に要する医療費は膨大となっている。合併症の原因となる酸化ストレスは鉄代謝の異常から発生するが、腎臓病患者では鉄代謝の調節蛋白であるフラタキシンが減少し酸化ストレスが亢進することをわれわれは報告してきた。本研究では、腎臓病患者におけるフラタキシン減少とそれに伴う酸化ストレス亢進を明らかにし、フラタキシンを増加させる治療を探究した。この治療により酸化ストレスを軽減して、合併症の発症を未然に防ぐ新しい戦略が可能となる。

研究成果の概要(英文)：During 6 month treatment with erythropoiesis-stimulating agents (ESA) in patients whose ferritin levels were >250 ng/ml, ESA administration had been maintained, without iron administration.

Hemoglobin levels did not change significantly. ESA dose and ESA resistant index were significantly decreased at 3 month. Serum hepcidin levels decreased significantly in parallel with serum ferritin levels. Frataxin protein levels were significantly increased, and correlated with ferritin levels at the start and 3 month. Pentosidine and TNF- α levels were significantly decreased at 3 month. Treatment for renal anemia with ESA, aiming for lowering ferritin levels, may increase frataxin, and decrease oxidative stress in patients on hemodialysis.

研究分野：腎臓病の病態

キーワード：酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

(1) 腎臓病患者では合併症が多い

末期の慢性腎臓病患者において心血管疾患などの合併症の発症は多く、合併症の発症には酸化ストレスの亢進が関与する。わが国では腎臓病による透析患者数は30年間で8倍に増加し(世界第2位)、それに伴い合併症治療の医療費が膨大となっており早急な対策が求められている。

(2) 合併症とフラタキシン減少

生体内での酸化ストレスの亢進には、不安定な状態で存在する鉄が関与する。フラタキシン蛋白は鉄代謝を調節することで酸化ストレス発生を抑え、心筋障害の保護作用などを示す。実際、フラタキシン発現が減少する遺伝性疾患(Friedreich 失調症)では酸化ストレスが亢進するために、合併症を多く発症する。われわれはこれまでに、慢性腎臓病患者では、フラタキシンの mRNA および蛋白が減少しており[Clin Exp Nephrol 2012]、フラタキシンの減少が酸化ストレスと関連、また鉄代謝異常による血管障害 [Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005]を明らかにしてきた。

(3) フラタキシン増加を目指した治療

以上より、慢性腎臓病患者におけるフラタキシン減少は酸化ストレスの亢進を介して合併症の発症・進展を促進させていると考えられ、フラタキシンの増加により酸化ストレスが軽減し、合併症の発症・進展を抑制する可能性がある

2. 研究の目的

本研究では以下の解明を目的として検討を行った。

(1) 腎臓病におけるフラタキシン減少の確認

フラタキシンが著明に減少している患者において、1)原因としての腎臓病の病態の影響、2)鉄代謝との関連、3)抗酸化能と酸化ストレス発生との関連 について検討した。

(2) 治療によるフラタキシンの増加

エリスロポエチン投与を用いた治療を行い、1)フラタキシンの増加作用、2)鉄代謝の変化、3)エリスロポエチン製剤による長期的な影響、を検討した。

(3) フラタキシン増加による合併症の予防

フラタキシン増加に伴う、1)抗酸化能の変化、2)血管機能の変化、3)予後 を検討・調査して治療による合併症予防について評価した。

この治療により酸化ストレスを軽減して、合併症の発症を未然に防ぐ新しい戦略が可能となる。

3. 研究の方法

本研究では、慢性腎臓病患者のなかでも鉄代謝異常を伴う患者を対象として、フラタキシン減少および酸化ストレス亢進の病態を探索した。

(1) フラタキシンの高度低下による病態

慢性腎臓病患者におけるフラタキシンの著明低下

慢性腎臓病患者の中でもフラタキシンの明らかな低下が予測される患者を選択する方法として、まず血清フェリチン値が高値(200 ng/ml 以上)を指標として対象患者を選択した。

このような患者のうち同意を得られた患者を対象として、採取した末梢血から分離剤を用いた遠心処理により白血球層を得た。白血球を溶解して細胞中のミトコンドリア内に存在するフラタキシンを測定した。フラタキシン mRNA は real-time PCR にて測定し、フラタキシン蛋白は lateral flow immunoassay により測定した。

対象の腎臓病患者において、フラタキシン低下と酸化ストレスとの関連

白血球におけるミトコンドリア内のフラタキシンが低下している状態について、関連が予測される3つの病態を以下のように評価した。1) 鉄代謝異常については血清フェリチンに加えて、トランスフェリン飽和率および鉄調節ホルモンであるヘプシジンを liquid chromatography tandem mass spectrometry にて測定した。2) 抗酸化能の評価として、血漿中のグルタチオン酸化型/還元型の比率 (GSH/GSSG 比)を測定した。3) 酸化ストレスによる生成物を3種類測定した：DNA の酸化生成物である 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン、蛋白酸化物である Advanced oxidation protein products、脂質から酸化により生成されるマロンジアルデヒドを測定した。

(2) 治療によるフラタキシンの回復と合併症の進展予防

エリスロポエチンを用いた治療による、フラタキシン発現の回復と酸化ストレスの軽減の確認と合併症への効果

対象患者において、貧血治療としてエリスロポエチン製剤の投与を開始し、6 か月後にフラタキシンを含む鉄代謝や酸化ストレス関連の指標を測定して、治療によるフラタキシン回復を確認するとともに、鉄代謝異常の正常化、抗酸化能の回復、酸化ストレスの軽減を確認した。血管への影響として、定期的に施行している血管評価検査 (足関節上腕血圧比 ABI および脈波伝播速度 PWV)において治療前後での変化を検討し、心血管疾患の発症について1年間経過観察を行った。

4. 研究成果

(1) フラタキシンの高度低下による病態

慢性腎臓病患者におけるフラタキシンの著明低下の予測

慢性腎臓病患者の中でもフラタキシンの明らかな低下が予測される患者を選択する方法として、まず血清フェリチン値が高値(200 ng/ml 以上)を指標として対象患者を選択した。対象患者におけるフラタキシン発現が、対照とする腎臓病患者(血清フェリチン値が 100 - 150 ng/ml)と比較して、フラタキシンが明らかに低下していることを確認した。

対象の腎臓病患者において、フラタキシン低下と酸化ストレスとの関連

白血球におけるミトコンドリア内のフラタキシンが低下している状態について、関連が予測される3つの病態を評価した：血清ヘプシジンレベル、GSH/GSSG 比、酸化ストレスマーカー (8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン、advanced oxidation protein products、マロンジアルデヒド)。これらの結果からフラタキシンの低下が、鉄代謝異常や抗酸化能の低下、酸化ストレスの亢進と関連を検討した。対象の腎臓病患者数は目標 100 名であったが、現時点で 52 名である。

(2) 治療によるフラタキシンの回復と合併症の進展予防

エリスロポエチンを用いた治療による、フラタキシン発現の回復と酸化ストレスの軽減の確認と合併症への効果

対象患者において、貧血治療としてエリスロポエチン製剤の投与を開始し、6 か月後に

フラタキシンを含む鉄代謝や酸化ストレス関連の指標を測定して、治療によるフラタキシン回復を確認するとともに、鉄代謝異常の正常化、抗酸化能の回復、酸化ストレスの減弱を確認した。これらの結果から、治療によるフラタキシンの回復による、酸化ストレスの軽減を介する合併症の発症・進展に対する抑制効果を検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

○第61回日本透析医学会学術総会シンポジウム 2016年6月大阪

兵庫医科大学 内科学 腎・透析科 蓮池 由起子 . 鉄補充療法～ガイドライン改訂～ .

○第59回日本腎臓学会学術総会 2016年6月横浜

兵庫医科大学病院 内科学 腎・透析科 稲永 淳一, 蓮池 由起子, 中川 真理, 山川 朋, 和田 龍也, 増本 三和, 水崎 浩輔, 海邊 正治, 木田 有利, 名波 正義, 倉賀野 隆裕, 中西 健 . 慢性腎臓病患者における血清ヘプシジン値の検討 .

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：中西 健

ローマ字氏名：(NAKANISHI, takeshi)

所属研究機関名：兵庫医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 70217769

(2) 研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。