

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 4 月 22 日現在

機関番号：36403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07850

研究課題名(和文)ヘモグロビンA1cに対する赤血球加齢変化の影響とその回避策

研究課題名(英文)Erythrocyte mean age affects HbA1c: estimation with erythrocyte creatine

研究代表者

奥宮 敏可 (Okumiya, Toshika)

高知学園大学・健康科学部・教授

研究者番号：50284435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヘモグロビンA1c(HbA1c)は、糖尿病患者の血糖コントロールの指標としてあるいは診断の指標として臨床で広く利用されている。しかし、HbA1cは赤血球寿命が短縮するとHbA1c含有量の少ない若いが増えHbA1cが偽低値をとることが知られている。赤血球内クレアチン(EC)は古い赤血球よりも若い赤血球に多く含まれその差は20～30倍である。したがって、ECは平均赤血球寿命あるいは造血能の指標として考えられている。申請者らは、ECを指標としてHbA1cへの赤血球寿命の影響ならびに血液透析患者の造血能の評価が行えることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HbA1cは糖尿病の診断にも利用される重要な指標である。しかし、HbA1cの値は赤血球寿命が120日であることを前提としており、軽微でも持続的な溶血があると偽低値となります。特に健診などで偽低値がでると本来精査が必要な患者がそのまま正常と判断されてしまう。そのような症例においてはECを測定すれば代償性貧血を捉えることができ、グリコアルブミン(GA)などで再評価できる。これにより初期の糖尿病や糖尿病の予備軍を見落とすことなく検出することができ、国民の健康維持に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Erythrocytes creatine (EC) reflects mean age of erythrocytes. We examined the effect of mean age of erythrocytes on hemoglobin A1c (HbA1c) by measuring EC. Elevation of EC causes a decrease in HbA1c level but not glycosylated albumin or 1,5-anhydroglucitol level. Erythropoiesis stimulating agent (ESA) in patients with end-stage renal disease is usually assessed by erythrocyte, hemoglobin and hematocrit, but these indices do not provide information of the rapid change in erythropoietic activity. When 8 variables including ESA dose and EC were used in the multivariate logistic analysis, EC levels emerged the most important variable associate with increase in hemoglobin.

研究分野：臨床化学

キーワード：赤血球内クレアチン 平均赤血球寿命 ヘモグロビンA1c 溶血 造血能 血液透析 腎性貧血

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヘモグロビン A1c(HbA1c)は血糖コントロールの指標として広く用いられているが、赤血球寿命が短縮する溶血性貧血などの様々な疾患や病態で偽低値を示すことが知られている。しかし、貧血を認めない代償性溶血の場合にも HbA1c は偽低値を示す。網赤血球やハプトグロビンなどの従来の溶血指標が陽性であれば、溶血の存在の把握が可能であるが、これらの溶血指標は感度が充分でないため、HbA1c が低値を示す例の中にこれらの検査が陽性を示さない溶血(代償性貧血)例が存在することが最近明らかになった。アイソトープを用いた赤血球寿命測定は高感度で測定精度も高いが、患者への負担や検査自体が煩雑であるため日常検査には適さないことから現在では実施されていない。1998年、我々は赤血球内のクレアチン含有量を測定することで、1回の採血で溶血や失血に伴う造血亢進による循環赤血球の平均生存日数(平均加齢)の低下を評価できる方法を確立した。赤血球内クレアチン(EC)を測定することにより、軽微であるが持続的な溶血を高感度に検出することが可能である。今回は、ECを測定し、HbA1cへの溶血による赤血球の平均加齢の低下の影響を解析するとともに、EC測定値を基準とした正しいHbA1c値の評価方法の確立を目的としている。本研究成果により、ECにもとづくHbA1cの評価基準が策定されれば、糖尿病患者の血糖コントロールのみならず、多くの健常者を対象とした健診などにおける糖尿病予備軍の見落としを防ぐことが可能となり、国民の健康維持に大きく貢献するものと考えている。

2. 研究の目的

現在、健診等で HbA1c の検査を行う場合は、院外で採血を行い医療機関に持ち帰り酵素法で HbA1c を測定することが行われている。この院外採血検体を用いて測定した HbA1c は低値傾向を示すことが知られている。この現象を明確とともに EC を用いて平均赤血球寿命の変化を観察する。また、EC を用いて平均赤血球寿命を算出する式を構築する。EC は軽微でも持続的な溶血の検出が可能な指標である。この特性を利用して代償性貧血を合併する糖尿病患者の HbA1c の偽低値を検出する。

一方、EC は平均赤血球寿命の指標であるだけでなく、造血能を反映する指標としても捉えることができる。骨髄で造血が亢進すると循環赤血球内に若い赤血球が増える。若い赤血球は多くのクレアチンを含んでいることから EC が高値を示す。この現象を利用して、持続透析患者に対するエリスロポエチンを含む造血促進剤(ESA)の効果を評価する。

3. 研究の方法

血液検体の保存の HbA1c への影響に関しては、健常成人(男性：女性)の全血を用い、冷蔵(4℃)ならびに室温で 24 時間保存し、保存前後の HbA1c と EC を測定した。透析患者における造血能の評価においては透析患者はヘモグロビン 10 mg/dL 未満ならびに 10 mg/dL 以上の 2 群に分けて 3 か月間の期間中の EC を含む各種造血指標を観察した。ESA と EC の相関性についても検討を行った。

4. 研究成果

まず、申請者らは健診等で採血した血液検体が医療施設まで運ばれて測定された値の方が病院外来で採血した血液検体よりも HbA1c 値が低値となることを報告した。これは輸送中に生じる溶血が原因ではないかと考え *in vitro* で実験を行った。冷蔵 4℃ で軽く浸透し 24 時間保存した場合、明らかに溶血が起こり、HbA1c は低値を示した。冷蔵保存の場合、補体の活性化等の影響で溶血が亢進する可能性も考えられることから、室温保存の条件でも同様の現象が観察されるか検討したところ、冷蔵保存と同様に HbA1c は低下した。この時の EC は何れも 24 時間保存した方が高値を示した。これらのことから血液検体を 24 時間保存すると、より脆弱な古い赤血球が破壊され相対的に若い赤血球の比率が

増すことが示唆された。HbA1c を大量に含む古い赤血球が選択的に破壊されることにより HbA1c が低下したものと考えられた。これらの実験成果は健診などで採血された血液検体と外来にて採血された血液検体で HbA1c に差がでることの傍証となるものと思われた。

骨髄での造血動態の亢進に伴い循環血中に若い赤血球が増えると EC が増加する。したがって、EC は骨髄の造血能の指標としても捉えることができる。透析患者では腎性貧血の是正のためにエリスロポエチンが投与されている。このエリスロポエチンに対する反応性を評価することで骨髄での造血能の評価をすることが可能であると考ええる。各種透析患者を対象として EC を測定し、骨髄での造血能の評価を行った。

これまでは溶血性疾患の HbA1c への赤血球寿命変動の影響を中心に検討を行ってきた。その結果、軽微な溶血でも EC は変動し HbA1c は高値をとることが明らかとなった。そこで、貧血に至らない代償性貧血の症例を対象に、その病態と赤血球崩壊との関連性を解析した。また、その過程で EC を用いて平均赤血球寿命を求める数理モデル式を開発した。その式により赤血球の平均寿命($t_{1/2}$)を求める方法を確立した。EC より求めた平均赤血球寿命(M_{RBC})は、 M_{RBC} (days) = 65.83 - 22.84 × log_e EC (μmol/g Hb) であり、この計算式より求めた標準基準値は 49.1 ~ 66.8 days であった。この式を用いて代償性貧血 2 例(網状赤血球、ハプトグロビン、間接ビリルビンなどの溶血指標が正常でヘモグロビンが 10g/dL 以上)の平均赤血球寿命を計測したところ 41.6、48.4 days と何れも基準値を下回った。

末期腎疾患における貧血はエリスロポエチン合成障害が主な原因と考えられている。エリスロポエチン合成促進剤(ESA)は血液透析患者の貧血の改善に使用される。この ESA の効果は赤血球数やヘモグロビン、ヘマトクリットにより評価されるが、これらの指標によりエリスロポエチン活性の急速な変化を観察することはできない。EC は平均赤血球寿命の指標であるが、若い赤血球ほど大量のクレアチンを含むことから骨髄での造血能の指標としても利用することができる。そこで血液透析患者における ESA の効果を EC により評価できるか否か検討した。83 例の血液透析患者を対象として 3 か月を研究期間とした。ESA 投与と EC はヘモグロビン 10g/dL 未満の 27 例の患者の方がヘモグロビン 10g/dL 以上の 56 例の患者よりも有意な上昇傾向を示した。ESA 投与と EC の間には緩やかな相関性が認められた。37 例の患者においてヘモグロビンの有意な上昇(0.1g/dL)が認められた。8 種類の指標(ESA 投与量、エリスロポエチン抵抗性、CRP、パラサイロイドホルモン、鉄剤投与、貧血の有無、網状赤血球数、EC)を多変量解析したところ、EC が最も重要な指標でありヘモグロビンの増加と関連することが示された。EC は骨髄での造血能を反省する有用な指標であり、血液透析患者の貧血改善を評価できるものと思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ohki Hayashi, Seishi Nakamura, Tetsuro Sugiura, Shun Hasegawa, Yoshiaki Tsuka, Nobuyuki Takahashi, Sanae Kikuchi, Koichiro Matsumura, Toshika Okumiya, Masato Baden and Ichiro Shiojima	4. 巻 24
2. 論文標題 Diagnostic accuracy and clinical usefulness of erythrocyte creatine content to predict the improvement of anaemia in patients receiving maintenance haemodialysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Nephrology	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12882-022-03055-4	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 該当する

1. 著者名 Masashi Kameyama, Toshika Okumiya, Shinji Tokuhira, Yoshihisa Matsumura, Hirotaka Matsui, Yasuhiro Ono, Tsuyoshi Iwasaka, Kazuyuki Hiratani, Masafumi Koga	4. 巻 13
2. 論文標題 Estimation of the hemoglobin glycation rate constant.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 986
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80024-7	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 Masashi Kameyama, Masafumi Koga and Toshika Okumiya	4. 巻 12
2. 論文標題 A novel method for calculating mean erythrocyte age using erythrocyte creatine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Aging	6. 最初と最後の頁 8702-8709
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kameyama M, Okumiya T, Tokuhira S, Matsumura Y, Matsui H, Ono Y, Iwasaka T, Hiratani K, Koga M.	4. 巻 13
2. 論文標題 Estimation of the hemoglobin glycation rate constant.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80024-7.	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------