

論 文 内 容 要 旨

題目 The uremic toxin indoxyl sulfate interferes with iron metabolism by regulating hepcidin in chronic kidney disease

(尿毒素物質インドキシル硫酸はヘプシジン制御を介して慢性腎臓病における鉄代謝を障害する)

著者 Hirofumi Hamano, Yasumasa Ikeda, Hiroaki Watanabe, Yuya Horinouchi, Yuki Izawa-Ishizawa, Masaki Imanishi, Yoshito Zamami, Kenshi Takechi, Licht Miyamoto, Keisuke Ishizawa, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki
平成29年発行 Nephrology Dialysis Transplantation に掲載予定

内容要旨

慢性腎臓病(CKD)において腎性貧血が生じるが、その原因として、エリスロポエチン産生低下に加えて、生体内鉄代謝異常による鉄利用障害がある。ヘプシジンは肝臓由来ホルモンであり、鉄排出輸送体フェロポルチン発現の制御を行うことで生体内鉄代謝を調節する重要な因子である。CKDではヘプシジンの血中濃度が増加していることが報告されており、CKDにおける生体内鉄代謝異常への関与が示唆される。一方、CKDは進行に伴って尿毒素が蓄積する。尿毒素はCKDを更に悪化させること、心血管臓器障害の原因となることが明らかにされているが、生体内鉄代謝への関与については不明である。本研究では、CKDにおける尿毒素蓄積が生体内鉄代謝機構に関与するか、ヘプシジン制御の観点から解析した。

実験には、培養肝細胞 HepG2 を用いた *in vitro* 解析とアデニン誘導性 CKD モデルマウスおよび尿毒素物質インドキシル硫酸(IS)投与マウスを用いた *in vivo* 解析を行った。*in vitro* 解析では、IS とヘプシジンの関与を調べるため、HepG2 に IS で刺激を行いヘプシジン発現変化とその機序について検討した。加えて、アデニン誘導性 CKD マウスモデルを作成して、コントロール群と、CKD マウスを尿毒素吸着薬 AST-120 を投与した群としていない群の3群に分け、尿毒素蓄積がヘプシジンの発現および鉄代謝変化に与える影響について検討を行った。加えて、IS をマウスに直接投与してヘプシジン発現を調べた。

HepG2 への IS 刺激は濃度依存性にヘプシジン発現を増加させ、培養上清へのヘプシジン分泌も増加させた。また、IS の受容体である芳香族炭化水素受容体(AhR)の阻害または抗酸化薬 tempol によって IS 刺激によるヘプシジン発現増

様式 (8)

加は抑制された。CKD マウスでは、肝臓ヘプシジン発現ならびに血中ヘプシジン濃度は増加しており、鉄排出輸送体フェロポルチン発現は十二指腸において減少し、脾臓において増加を認めた。また、CKD マウスでは、脾臓と骨格筋の鉄蓄積が増加しており、血中フェリチンは増加、血清鉄は減少していた。AST-120 投与によって、CKD マウスにおける上記の鉄代謝変化は是正され、加えて貧血も軽度であるが回復した。IS を直接投与したマウスにおいても、肝臓ヘプシジン発現ならびに血中ヘプシジン濃度は増加を認めた。

本研究結果から、尿毒素蓄積は AhR および酸化ストレスを介してヘプシジン産生を増加させ、CKD における生体内鉄代謝恒常性の破綻に関与しており、尿毒素除去は、ヘプシジン増加を抑制して、鉄利用障害是正を介した貧血改善に寄与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1345 号	氏名	濱野 裕章
審査委員	主査 香美 祥二 副査 赤池 雅史 副査 安倍 正博		

題目 The uremic toxin indoxyl sulfate interferes with iron metabolism by regulating hepcidin in chronic kidney disease
(尿毒物質インドキシル硫酸はヘプシジン制御を介して慢性腎臓病における鉄代謝を障害する)

著者 Hirofumi Hamano, Yasumasa Ikeda, Hiroaki Watanabe, Yuya Horinouchi, Yuki Izawa-Ishizawa, Masaki Imanishi, Yoshito Zamami, Kenshi Takechi, Licht Miyamoto, Keisuke Ishizawa, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki
平成 29 年発行 Nephrology Dialysis Transplantation に掲載予定
(主任教授 玉置俊晃)

要旨 慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease:CKD)においては腎性貧血を生じるが、その原因として、エリスロポエチン産生低下に加え、生体内鉄代謝異常による鉄利用障害がある。ヘプシジンは肝臓由来ホルモンであり、鉄排出輸送体フェロポルチン発現の制御を行うことで生体内鉄代謝を調節する重要な因子である。尿毒は CKD を更に悪化させること、心血管臓器障害の原因となることが明らかにされているが、生体内鉄代謝への関与については不明である。本研究では、CKD における尿毒蓄積が生体内鉄代謝機構に関与するか、ヘプシジン制御の観点から解析した。実験には、培養肝細胞 HepG2 を用いた *in vitro* 解析とアデニン誘導性 CKD モデルマウスおよび尿毒物質インドキシル硫酸 (IS) 投与マウス

を用いた *in vivo* 解析を行っている。得られた結果は、以下のごとくである。

1) HepG2 細胞への IS 刺激は濃度依存的にヘプシジン発現を増加させ、培養上清へのヘプシジン分泌も増加させた。

2) IS の受容体である芳香族炭化水素受容体 (Aryl Hydrocarbon Receptor: AhR) の阻害または抗酸化薬テンポールによって IS 刺激によるヘプシジン発現増加は抑制された。

3) CKD マウスでは、肝臓ヘプシジン発現が約 4 倍、ならびに血中ヘプシジン濃度は約 20 倍に増加した。鉄排出輸送体フェロポルチン発現は十二指腸において減少し、脾臓において増加を認めた。また、CKD マウスでは、脾臓と骨格筋の鉄蓄積が増加しており、血中フェリチンは増加、血清鉄は減少していた。

4) 尿毒素吸着薬 AST-120 投与によって、CKD マウスにおける上記の鉄代謝変化は是正され、加えて貧血も軽度であるが有意に回復した。IS を直接投与したマウスにおいても、肝臓ヘプシジン発現ならびに血中ヘプシジン濃度は増加を認めた。

以上の結果より、尿毒素蓄積は AhR および酸化ストレスを介してヘプシジン産生を増加させ、CKD における生体内鉄代謝恒常性の破綻に参与していることが示唆された。本研究の成果は腎性貧血治療法開発に新しい方向性を示すものであり、学位授与に値すると判定した。