

血液透析患者における鉄欠乏の指標としての網状赤血球ヘモグロビン量, 低色素赤血球比率, 血清トランスフェリンレセプター/血清鉄比の有用性

長谷川みどり*¹ 川村奈穂子 小出滋久 村瀬正光 浅野慎介
鳥羽貴子*² 久志本浩子*¹ 村上和隆 富田 亮 長谷川 寛
鹿野昌彦 水野雅夫*³ 船橋直樹*⁴ 川島司郎*² 杉山 敏*¹

Evaluation of reticulocyte hemoglobin content, percentage of hypochromic red blood cells, and ratio of serum transferrin receptor level/serum iron level as markers of iron-deficiency erythropoiesis in patients undergoing hemodialysis

Midori HASEGAWA*¹, Nahoko KAWAMURA, Sige-hisa KOIDE, Masamitsu MURASE, Sinsuke ASANO, Takako TOBA*², Hiroko KUSHIMOTO*¹, Kazutaka MURAKAMI, Makoto TOMITA, Hiroshi HASEGAWA, Masahiko SHIKANO, Masao MIZUNO*³, Naoki FUNAHASHI*⁴, Shiro KAWASHIMA*², and Satoshi SUGIYAMA*¹

*¹Department of Nephrology, Fujita Health University School of Medicine, *²Showa Hospital, *³Mizuno Clinic, *⁴Toyota Memorial Hospital, Aichi, Japan

Reticulocyte hemoglobin content (CHr), percentage of hypochromic red blood cells (%HRC, level of serum transferrin receptor (sTfR), and sTfR/serum iron ratio (sTfR/Fe) were measured in 132 hemodialysis patients. On univariate analysis, CHr was positively correlated with serum amyloid A (SAA) and negatively correlated with Kt/V. %HRC showed a positive correlation with the recombinant human erythropoietin (rHuEPO) dosage. The dependency of each iron-status index on 5 variables, SAA, sTfR, TS, KtN, and dose of rHuEPO administered, was determined by stepwise multiple regression analysis. CHr was influenced only by TS, while %HRC, sTfR and sTfR/Fe were influenced by both log_rHuEPO dosage and TS.

Patients whose hemoglobin concentration increased by more than 1 g/dl following iron supplementation were defined as Iron-Responders, and the remaining patients were defined as Iron-Nonresponders. Fifteen out of 20 patients responded to 10 consecutive intravenous administrations of 80 mg of saccharated ferric oxide at each dialysis session, while five did not. The baseline CHr was significantly lower in Iron-Responders than Iron-Nonresponders. The baseline %HRC, sTfR, and sTfR/Fe were significantly higher in Iron-Responders than Iron-Nonresponders.

The baseline CHr, %HRC, and sTfR/Fe were correlated with the degree of change in Hb concentration at 4 weeks of iron supplementation. The absolute change in CHr at 2 weeks of iron supplementation was positively correlated with the absolute change in Hb concentration over the first 4 weeks.

Conclusion : (1) In assessing the iron metabolic status of dialysis patients, CHr, %HRC, and sTfR/Fe were unique indices compared with the ordinary indices, particularly in diagnosing the functional iron deficiency state. (2) CHr was a valuable marker of iron deficiency anemia and could predict the degree of increase in Hb level following iron supplementation. (3) The %HRC and sTfR/Fe seemed to reflect both erythropoiesis induced by rHuEPO and the iron supply to erythropoietic cells.

Jpn J Nephrol 2002 ; 44 : 453-463.

Key words : reticulocyte hemoglobin content, percentage of hypochromic red blood cells, serum transferrin receptor level/serum iron ratio, iron deficiency anemia

緒言

血液透析患者の鉄欠乏の診断として、血清鉄値は日内変動が激しく日差変動もあることから、従来よりトランスフェリン飽和率(transferrin saturation: TS)と血清フェリチン(serum ferritin: sFt)が用いられてきた。しかし、トランスフェリンは低栄養や肝障害で低値となり、sFtは炎症や悪性腫瘍がある病態では高値となるため、TS、sFtいずれの指標も鉄欠乏状態を正確に反映しないことがある。最近、赤血球、鉄代謝の動態をみる方法として低色素性赤血球比率(percentage of hypochromic red blood cells: %HRC)¹⁻³⁾、網状赤血球ヘモグロビン含量(reticulocyte hemoglobin content: CHr)の測定法が開発され³⁻⁶⁾、鉄欠乏の指標として注目されている。一方、血清トランスフェリンレセプター(serum transferrin receptor: sTfR)はトランスフェリンレセプターの発現量およびトランスフェリンの取込量とよく相関し、鉄代謝の有効な指標となることが知られており⁷⁾、単位血清鉄との比率(sTfR/血清鉄: sTfR/Fe)でみることにより、骨髄赤血球前駆細胞レベルでの鉄欠乏度を反映する可能性が報告されている⁸⁾。

本研究では、維持血液透析患者を対象としてCHr、%HRC、sTfR、sTfR/Fe(これらを新規指標と表現する)を測定し、従来の鉄指標や背景因子との関連、新規指標を規定する因子について検討した。また、鉄剤投与における貧血改善程度と新規指標の変動を観察し、その臨床的意義を検討した。

対象と方法

1. 血液透析患者における新規指標(CHr, %HRC, sTfR, sTfR/Fe)

対象は血液透析導入後3カ月以上経過した患者で、過去1カ月以上にわたり鉄剤投与を受けていない recombinant human erythropoietin(rHuEPO)非投与14例およびrHuEPO投与118例の計132例(男性38例、女性94例、平均年齢64歳、平均透析期間63カ月、原疾患は慢性糸球体腎炎54例、糖尿病性腎症29例、腎硬化症27例、急速進行性糸球体腎炎7例、ループス腎炎4例、慢性腎盂腎炎2例、多発性嚢胞腎4例、その他5例)であった。悪性腫瘍例、臨床的に明らかな感染症併発例、明らかな出血性疾患の合併例、肝機能障害、栄養状態不良患者は除いた。貧血のない健常者45例(男性25例、女性20例)を対照とした。

最初に新規指標と背景因子の関連を検討し、さらに、新

規指標への寄与因子を従来の指標(TSまたはsFt)、rHuEPO投与量、炎症指標としての血清アミロイドA(serum amyloid A: SAA)、透析効率(Kt/V)の計4因子について検討した。

次に、現在広く利用されている National Kidney Foundation: Dialysis Outcomes Quality Initiative(DOQI)のガイドラインを参考に⁹⁾、TS 20%、sFt 100 ng/mlを指標として、rHuEPOを使用している118例の患者をA群: TS \geq 20%でかつsFt \geq 100 ng/ml、B群: TS \geq 20%でかつsFt<100 ng/ml、C群: TS<20%でかつsFt \geq 100 ng/ml、D群: TS<20%でかつsFt<100 ng/ml、の4群に分類し新規指標の分布を検討した。rHuEPO投与例の各群の内訳は、A群21例、B群43例、C群6例、D群48例であり、rHuEPO非投与例の内訳は、B群6例、C群1例、D群7例であった。

最後に透析患者における各鉄指標間の相関関係を検討した。

2. 測定方法

1) CHr, %HRC

CHrは赤血球を等容積球状化後、オキサシジン750により網状赤血球内RNAを染色し、このサンプルをフローサイトメトリーの原理を利用して、表面積、ヘモグロビン濃度、染色度合いを測定して算出した。%HRCはヘモグロビン濃度が28 g/dl以下の赤血球の百分率とした。CHr、%HRCはいずれも総合血液学検査装置 Advia 120(バイエル三共)を用いた。なお、検体測定は採血後3時間以内とした。CHrと%HRCの同時再現性を確認するため、健常者5例を対照として同一検体を10回連続測定した。

2) sTfR

sTfRはELISAキット(栄研化学)を使用した。測定に際しては、キット間の誤差を補正するため、常に同一検体を測定毎においてコントロールとした。

3) 血清鉄(Fe)、総鉄結合能(TIBC)、sFt、 β_2 microglobulin(β_2 MG)、SAA

FeとTIBCはNitroso-PSAP法、sFtはEIA法、 β_2 MGとSAAはラテックス凝集免疫法で各々測定した。

なお、以上の採血は週初めの透析開始前に施行した。

4) Kt/V

Kt/Vの測定は新里らの方法¹⁰⁾によった。

対象患者には検査の目的、内容、結果の処理などにつき説明し同意を得た。

3. 鉄剤投与前後の各指標の検討

透析患者の鉄欠乏の判断基準を鉄剤投与後にHbが1 g/

Table 1. Characteristics of HD and control subjects

Characteristic	Controls (n=45)		HD patients (n=132)
Age (Year)	37±17 (21~84)	*****	63±13 (38~81)
Sex (M : F)	25 : 20	*****	38 : 94
Dialysis duration (Month)			67±62 (3~251)
Hemoglobin (g/dl)	14.2±1.3 (12.1~16.4)	*****	9.7±1.2 (6.2~14.7)
Hematocrit (%)	42.9±4.0 (36.3~49.8)	*****	30.8±3.9 (21.4~46.3)
MCV (fl)	91.3±3.4 (84.5~102.3)	*****	95.8±6.1 (71.6~107.2)
MCH (pg)	30.1±1.4 (29.4~33.3)		29.9±2.3 (21.4~34.3)
MCHC (%)	32.8±1.6 (24.1~35.1)	*****	31.3±1.1 (27.2~34.1)
Fe (μg/dl)	107±40 (47~198)	*****	52±22 (11~143)
TIBC (μg/dl)	315±34 (239~391)	*****	250±53 (121~446)
Serum ferritin (ng/ml)	80±57 (11~200)	*	76±110 (4~681)
Transferrin saturation (%)	34.0±14.0 (15.6~64.6)	*****	21.8±9.8 (4.6~54.6)

The results are expressed as mean±standard deviation (range).

*p<0.05, *****p<0.0001, Mann-Whitney U test

dI 以上増加した状態と定義し、新規指標を検討した。対象は rHuEPO 使用血液透析患者とし、A 群を除く 97 例のうち同意が得られた患者 20 例とした。TS, sFt とともに高値である A 群への鉄剤投与は、現段階では鉄過剰を引き起こす可能性が否定できないため倫理的な問題から除外して、A 群を除く症例を対象にして鉄剤に対する反応をみた。

投与方法は、鉄剤 saccharated ferric oxide を使用して、透析毎(週 3 回)1 回 80 mg, 連続して 10 回, 合計 800 mg の経静脈的投与とした。なお、rHuEPO は鉄剤投与開始 4 週間後までは変更せず、それ以降は Hb が 10~11 g/dI となるように投与量を調節した。鉄剤に対する反応については、投与後に Hb が 1 g/dI 以上上昇した症例を鉄剤反応群、上昇しなかった症例を鉄剤無反応群とし、鉄剤投与前の両群間の鉄代謝指標の比較と鉄剤投与後の経時変化の比較、および各指標の変化量と Hb 増加量の相関を検討した。

4. 統計解析

結果は平均値±標準偏差と最小値、最大値で示した。CHr と %HRC の同時再現性評価には変動係数 (coefficient of variation : CV) を用いた。統計解析には StatView 4.5 (Abacus Concepts Inc., USA) を用い、2 群間の有意差の検定には Mann-Whitney U test, 多群間の有意差検定には Scheffe の F 検定、各変量の相関性の解析には Pearson の相関係数を用い、p<0.05 を有意とした。2 変量の相関性の解析に際して sFt は対数正規分布を示すため log 変換して統計処理を行った。寄与因子の検討には stepwise 重回帰分析を用いた。rHuEPO 投与量は log 変換し、投与量が 0 の場合は 1 として統計処理を行った。鉄剤投与前後の経時変化の検定には Friedman 検定を用い、有意差があっ

Table 2. New iron-indices of the HD and control subjects

Characteristic	Controls (n=45)		HD patients (n=132)
CHr (pg)	31.9±1.2 (28.7~34.8)		31.5±2.5 (22.7~35.8)
%HRC	1.7±1.2 (0.2~5.8)	*****	10.8±8.5 (1.4~53.7)
sTfR (ng/ml)	988±203 (558~1,290)	*****	1,860±660 (678~4,560)
sTfR/Fe	11±5 (4~27)	*****	52±48 (10~466)

The results are expressed as mean±standard deviation (range).

*****p<0.0001, Mann-Whitney U test

た場合、鉄剤投与前値と各時点での値を Bonferroni の不等式による修正を利用して Wilcoxon の符号順位検定を行い、有意確率が $\alpha/4=0.0125$ より小さい組み合わせを有意差ありとした。

結 果

1. CHr と %HRC の同時再現性、経時変化

健常者 5 例における 10 回連続測定 CV 値は、CHr 0.50±0.01 % (0.40~0.60 %), %HRC 1.00±0.70 % (0.40~2.00 %) であった。

2. 血液透析患者における CHr, %HRC, sTfR, sTfR/Fe

今回検討した血液透析患者 132 例と健常者の背景を Table 1 に示した。ヘモグロビン (hemoglobin : Hb), ヘマトクリット (hematocrit : Ht), 平均赤血球血色素濃度

Table 3. Characteristics and laboratory parameters of HD patients who were or were not receiving rHuEPO

Characteristic	rHuEPO (+) (n=118)		rHuEPO (-) (n=14)
Age (Year)	64 ± 13 (32~90)		63 ± 13 (38~81)
Dialysis duration (Month)	77 ± 74 (3~251)		82 ± 50 (13~192)
Hemoglobin (g/dl)	9.6 ± 1.1 (6.9~14.7)	***	10.6 ± 1.2 (8.0~12.1)
Hematocrit (%)	30.7 ± 3.6 (21.4~46.3)	***	34.6 ± 4.7 (24.6~42.7)
Serum ferritin (ng/ml)	79 ± 115 (4~681)		36 ± 34 (5~120)
Transferrin saturation (%)	22.3 ± 9.9 (6.4~54.6)		19.0 ± 8.2 (4.6~34.3)
CHr (pg)	31.6 ± 2.4 (22.9~35.8)		30.8 ± 3.3 (22.7~35.4)
%HRC (%)	10.1 ± 7.0 (1.4~52.4)		16.0 ± 16.0 (2.7~53.7)
sTfR (ng/ml)	1,803 ± 570 (678~400)		2,340 ± 1,090 (1,056~4,560)
sTfR/Fe	48 ± 33 (10~182)		81 ± 114 (23~446)

The results are expressed as mean ± standard deviation (range). ***p < 0.01, Mann-Whitney U test

Table 4. Correlation coefficients between iron-status indices and other factors

	Age (Year)	Duration of HD treatments	log rHuEPO	Serum amyloid A	Kt/V
CHr	-0.042	-0.044	0.086	-0.173*	-0.238***
%HRC	-0.042	0.105	-0.198*	0.033	0.099
sTfR	0.070	0.034	-0.158	0.132	0.066
sTfR/Fe	0.094	0.132	-0.170	0.243***	0.083

log rHuEPO : log of the dose of rHuEPO (U/week), *p < 0.05, ***p < 0.01

(mean corpuscular hemoglobin concentration : MCHC), Fe, TIBC, TS, sFt は健常者に比して血液透析患者で有意に低値であった。Table 2 に新規指標の結果を示した。CHr 以外の指標は血液透析患者で、健常者に比して有意に高値であった。

rHuEPO 非投与患者と rHuEPO 投与患者を比較すると、Hb と Ht は rHuEPO 非投与患者が有意に高値 (p < 0.01) を示したが、新規指標は両者に有意差はなかった (Table 3)。

血液透析患者について各新規指標と背景因子 (年齢、透析歴、rHuEPO 投与量、SAA、Kt/V) の関係を単回帰分析にて検討した。CHr は SAA、Kt/V と、%HRC は rHuEPO 投与量と、sTfR/Fe は SAA と有意に相関した (Table 4)。

新規指標と相関の認められた rHuEPO 投与量、SAA、Kt/V、および従来の鉄指標である TS、sFt の新規指標への寄与因子を、stepwise 重回帰分析により検討した。なお、TS と sFt は共線性があるため、いずれか一方で計算し、自由調整 R² がよいほうを用いた。CHr = 28.350 - 0.143 × TS (自由調整 R² = 0.311, p < 0.0001), %HRC = 24.404 - 1.946 × log (rHEPO 投与量) - 0.322 × TS (自由調整 R² = 0.162, p < 0.0001), sTfR/Fe = 144.229 - 8.912 × log (rHEPO 投与量) - 2.844 × TS (自由調整 R² = 0.344, p <

0.0001), sTfR = 2999.285 - 127.92 × log (rHEPO 投与量) - 31.803 × TS (自由調整 R² = 0.239, p < 0.0001) の結果であった。

次に新規指標と従来から用いられている鉄指標である TS、sFt との関係を見るために、rHuEPO 投与血液透析患者 118 例を「対象と方法」の項で述べたように DOQI のガイドラインを参考に 4 群に分けて検討した (Fig. 1)。群間比較では CHr は A 群、B 群、C 群間に差を認めず、D 群は A 群、B 群より有意に低値であった (p < 0.0001)。個々の測定値をみると、D 群においては 22.7~35.8 pg と広い範囲に分布がみられたが、28.1 pg 以下の患者は D 群以外にはみられなかった。透析患者の平均値 31.5 pg 以下を示す患者は D 群では 55 例中 39 例 (70.9%) であったが、A 群、B 群、C 群にもそれぞれ 19, 34.9, 33.3% 含まれた。%HRC は 4 群間に差がなかった。慢性腎不全患者の貧血治療のための欧州ガイドライン¹¹⁾の鉄欠乏の指標である %HRC が 10% 以上を示す患者は、D 群では 55 例中 30 例 (54.6%) と最も多くみられたが、A 群、B 群、C 群においてもそれぞれ 33.3, 37.2, 33.3% と約 1/3 の患者にみられた。sTfR は D 群が A 群、B 群より有意に高値であった。sTfR/Fe は C 群、D 群はそれぞれ A 群、B 群より高

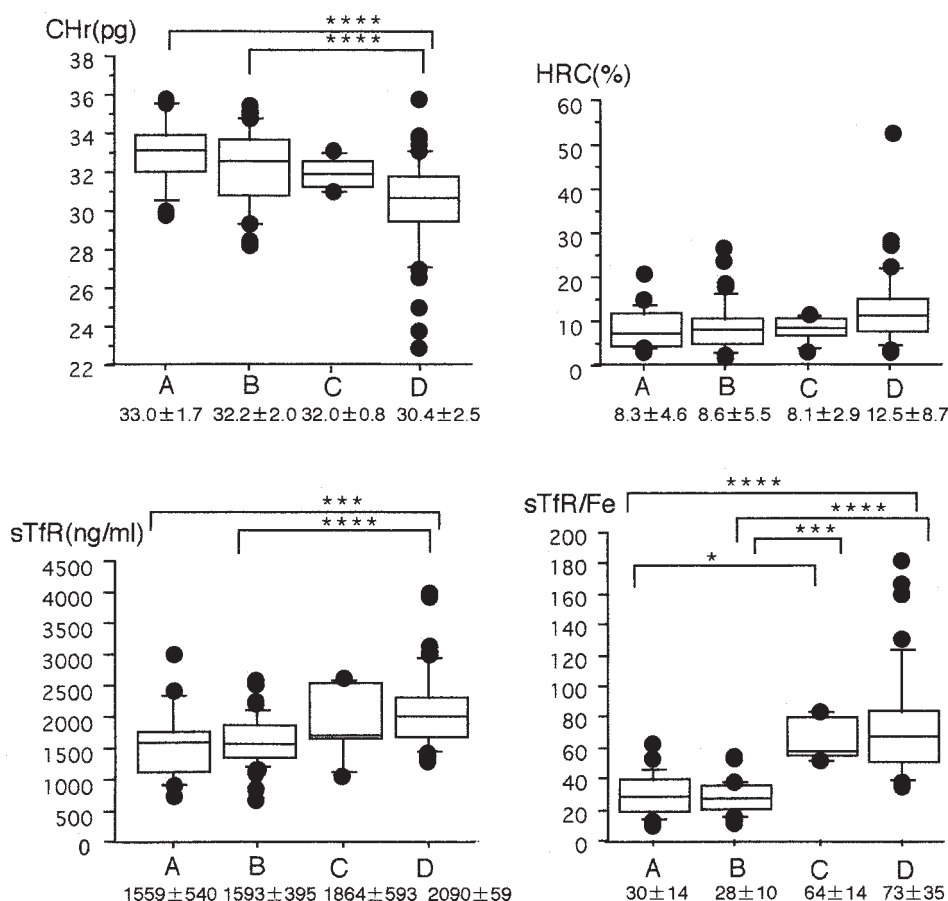


Fig. 1. Comparison of the reticulocyte hemoglobin content (CHr), percentage of hypochromic red blood cells (%HRC), serum transferrin receptor (sTfR) level, and sTfR/serum iron (sTfR/Fe) level in the 4 groups of hemodialysis patients on rHuEPO therapy

The hemodialysis patients on rHuEPO therapy were divided into 4 groups according to their transferrin saturation (TS) and serum ferritin (sFt) levels. The definitions of Groups A, B, C, and D are written in the Subjects and Methods. Median values are indicated with a horizontal bar. The vertical bars indicate the range from the 10th to 90th percentile and the horizontal boundaries of boxes represent the first and third quartiles. The values under each group name represent the mean \pm standard deviation in that group.

* $p < 0.05$, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$

値を示した。個々の測定値については、透析患者の平均値である 52 以上を示す患者は C 群では 5 例 (83.3%)、D 群では 40 例 (72.7%) であり、A 群 9.5%、B 群 24.7% に比べて多くみられた。

各鉄指標間の相関について 132 例を対象にして検討した結果を Table 5 に示した。CHr と %HRC は他のすべての指標との間に有意の相関があった。CHr と %HRC、%HRC と sTfR/Fe との間には各々相関係数 0.6 以上の強い相関を認めた。

3. 鉄剤投与前後の各指標の変化

対象とした 20 例の患者背景を Table 6 に示した。鉄剤

投与後に Hb が 1 g/dl 以上増加した鉄剤反応群は 15 例、上昇しなかった鉄剤無反応群は 5 例であった。鉄剤反応群において Hb が 1 g/dl 以上に増加した期間は 2~4 週であった。鉄剤投与前の患者背景と鉄代謝指標を Table 7 に示した。新規指標はいずれも両群間で有意差 ($p < 0.05$) を認め、CHr は鉄剤反応群で低値を、%HRC、sTfR、sTfR/Fe は鉄剤反応群で高値を示した。sFt と TS の前値は鉄剤反応群で低値を示す傾向にあったが有意差はなかった (sFt ; $p = 0.0546$, TS ; $p = 0.0736$)。

鉄剤投与後の新規指標の経時変化を Fig. 2 に示した。鉄剤反応群ではいずれの指標も Friedman 検定によって経時

Table 5. Correlation coefficients between each pair of iron-status indices before iron supplementation among the 132 hemodialysis patients

	CHR	%HRC	sTfR	sTfR/Fe	TS
%HRC	-0.636*****				
sTfR	-0.449*****	0.525*****			
sTfR/Fe	-0.597*****	0.626*****	0.728*****		
TS	0.557*****	-0.367*****	-0.457*****	0.574*****	
log sFt	0.399*****	-0.296*****	-0.253*****	-0.207	0.399*****

***** $p < 0.0001$, **** $p < 0.001$

Table 6. Baseline characteristics of HD patients receiving rHuEPO who were administered iron intravenously (n=20)

Characteristic	
Age (Year)	63 ± 9 (46~78)
Sex (M : F)	5 : 15
Dialysis duration (Month)	63 ± 69 (3~251)
Kt/V	1.34 ± 0.27 (0.94~1.88)
Serum amyloid A ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	4.9 ± 2.1 (2.5~10.4)
β_2 microglobulin (mg/l)	31.4 ± 5.1 (21.4~41.2)
rHuEPO dose (U/week)	4,613 ± 2,234 (750~9,000)
Hemoglobin (g/dl)	9.2 ± 0.6 (7.9~10.1)
Hematocrit (%)	29.4 ± 2.3 (24.3~33.2)
Serum ferritin (ng/ml)	23 ± 18 (4~65)
Transferrin saturation (%)	20.3 ± 8.9 (8.4~33.3)

The results are expressed as mean ± standard deviation (range).

The laboratory parameters measured before iron supplementation was started, are shown.

Table 7. Comparison of baseline characteristics and laboratory parameters of patients whose hemoglobin level did or did not respond to iron supplementation

Characteristic	Responder (n=15)	Nonresponder (n=5)
Age (Year)	62 ± 9 (46~78)	64 ± 10 (52~74)
Sex (M : F)	3 : 12	2 : 3
Dialysis duration (Month)	77 ± 74 (3~251)	* 20 ± 25 (4~63)
Kt/V	1.35 ± 0.27 (0.94~1.88)	1.28 ± 0.30 (0.90~1.66)
Serum amyloid A ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	4.7 ± 2.0 (2.5~10.4)	5.4 ± 2.7 (2.5~8.2)
β_2 microglobulin (mg/l)	32.7 ± 5.3 (21.4~41.2)	27.5 ± 4.3 (22.9~32.2)
rHuEPO dose (U/week)	4,900 ± 1,834 (1,500~9,000)	3,750 ± 3,269 (750~9,000)
Hemoglobin (g/dl)	9.0 ± 0.6 (7.9~9.8)	9.6 ± 0.4 (9.1~10.1)
Hematocrit	29.0 ± 2.3 (24.3~31.8)	30.5 ± 2.3 (27.5~33.2)
Serum ferritin (ng/ml)	19 ± 17 (4~65)	34 ± 16 (12~53)
Transferrin saturation (%)	18.0 ± 7.1 (8.4~33.3)	27.2 ± 10.8 (10.9~39.7)
CHR (pg)	30.3 ± 2.3 (26.6~33.6)	* 32.9 ± 1.1 (32.1~34.7)
%HRC (%)	15.0 ± 8.2 (3.5~28.6)	* 5.7 ± 2.4 (2.8~8.8)
sTfR (ng/ml)	1,722 ± 430 (1,167~2,573)	* 1,306 ± 180 (1,068~1,441)
sTfR/Fe	37 ± 20 (17~87)	* 24 ± 19 (12~58)

The results are expressed as mean ± standard deviation (range).

The laboratory parameters measured before iron supplementation was started, are shown.

* $p < 0.05$, Mann-Whitney U test

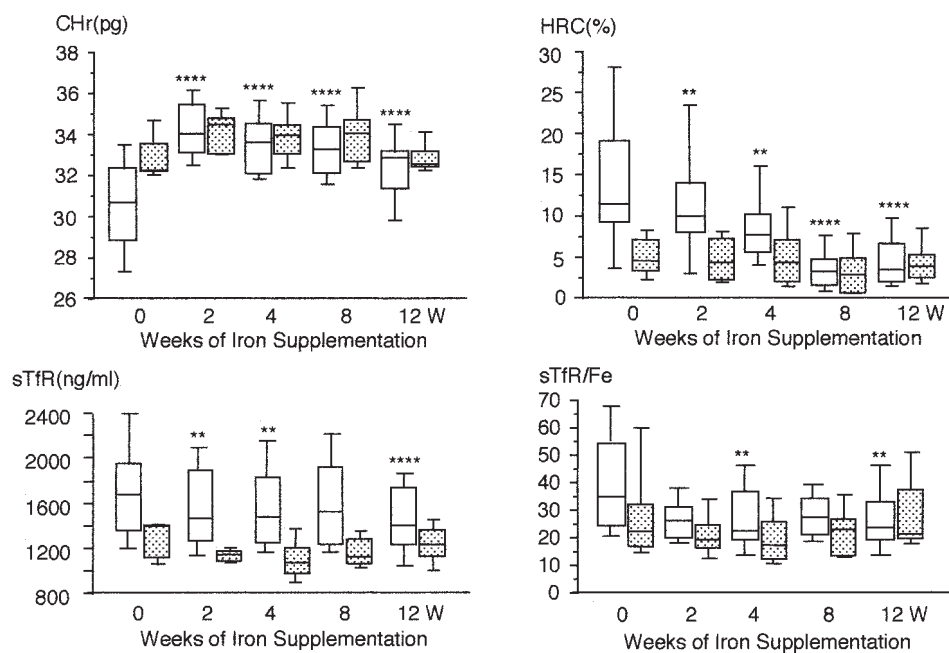


Fig. 2. Response of the CHr, %HRC, sTfR and sTfR/Fe in the Iron-Responders and Iron-Nonresponders over 12 weeks of iron supplementation

Median values are indicated with a horizontal bar. The vertical bars indicate the range from the 10th to 90th percentile, and the horizontal boundaries of boxes represent the first and third quartiles. Open bar, Iron-Responders (n=15); stippled bar, Iron-Nonresponders (n=5). Asterisks indicate a significant difference in comparison with the baseline level of the respective group at 0 week. **p<0.0125 vs. 0 w, ****p<0.001 vs. 0 w

変化に有意差を認めた (CHr; $p<0.0001$, %HRC; $p<0.0001$, sTfR/Fe; $p<0.05$, sTfR; $p<0.01$)。また、鉄剤投与前値と鉄剤投与後の各時点での値の比較を Wilcoxon の符号付順位検定により検討したところ、CHr, %HRC は 2, 4, 8, 12 週後いずれの時点でも鉄剤投与前値との間に有意差を認めた。sTfR は鉄剤投与前値と 2, 4, 12 週後、sTfR/Fe は鉄剤投与前値と 4, 12 週後で各々有意差を認めた。鉄剤無反応群の各指標の経時的変化を Friedman 検定したところ、CHr, %HRC, sTfR/Fe はいずれも有意な経時変化を示さなかったが、sTfR は有意な経時変化を示した ($p<0.05$)。Wilcoxon の符号付順位検定で鉄剤投与前値と鉄剤投与後の各時点で値を比較したが、いずれも有意差を認めなかった。

rHuEPO 投与量は鉄剤反応群で鉄剤投与前 $4,900 \pm 1,834$ U/週から 12 週後には $3,800 \pm 2,543$ U/週へと有意に減少した ($p<0.01$)。鉄剤無反応群は鉄剤投与前 $3,750 \pm 3,268$ U/週から 12 週後 $5,100 \pm 2,725$ U/週へと rHuEPO 投与量が増加したが有意ではなかった。

次に鉄剤投与前の新規指標と Hb 増加量との関係を検討した。鉄剤投与前の各指標と鉄剤投与 4 週後の Hb 増加量

の関係を見ると、%HRC ($r=0.748$, $p<0.0001$), CHr ($r=-0.717$, $p=0.0002$), sTfR/Fe ($r=-0.633$, $p=0.0021$) は各々有意に相関した (Fig. 3)。sTfR の前値は Hb 増加量と有意な相関はなかった。鉄剤投与 2 週後の新規指標の変化量と投与 4 週後の Hb 増加量の関係を見ると、CHr の変化量が Hb 増加量と強く相関し ($r=0.837$, $p<0.0001$)、sTfR/Fe の変化量も相関がみられた ($r=0.596$, $p=0.047$) (Fig. 4)。%HRC と sTfR の変化量は Hb 増加量と相関しなかった。

考 案

血液透析患者の鉄欠乏状態の評価には、利用鉄の状況を表すと考えられている TS と貯蔵鉄の状況を表すと考えられている sFt が用いられ、DOQI[®]のガイドラインでは 33~36% の Ht を維持するために、TS $\geq 20\%$, sFt ≥ 100 ng/ml となるように鉄剤を投与するように勧告されている。しかしながら、TS は鉄代謝が平衡状態にあるときにのみ信頼性があり、透析患者では rHuEPO による造血刺激や体外循環による失血などにより血清鉄は動揺性であるた

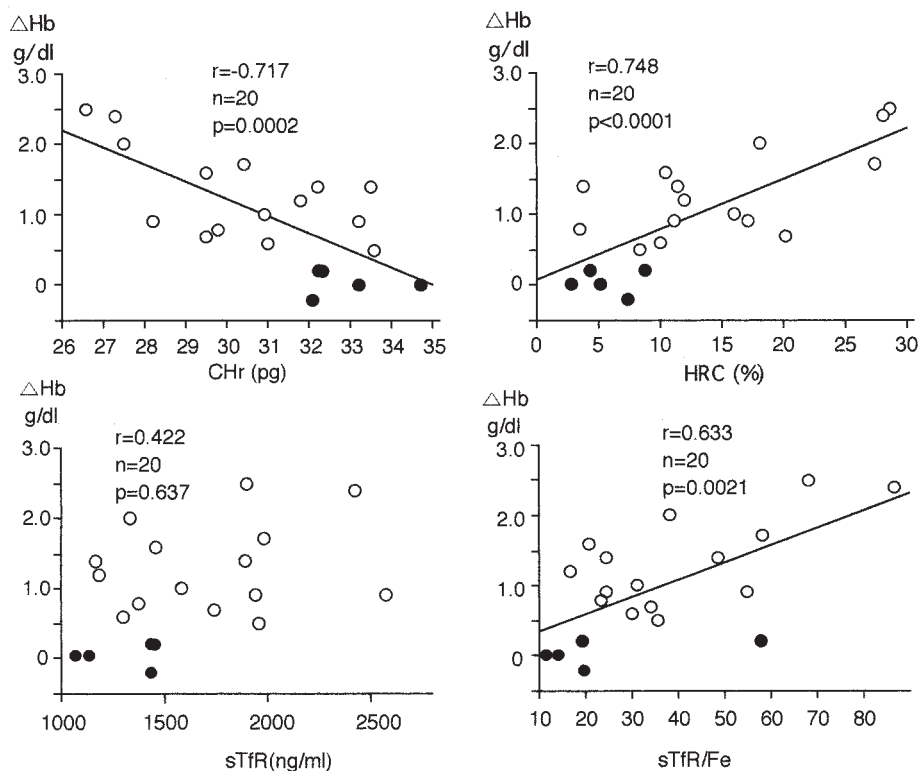


Fig. 3. Relationship between the degree of change in the Hb level over the first 4 weeks of iron supplementation and CHr, %HRC, sTfR and sTfR/Fe before iron supplementation

The degree of the increase in Hb level after 4 weeks of iron administration (Δ Hb) was most closely correlated with the %HRC prior to iron administration. The CHr prior to iron administration was negatively correlated with the Δ Hb. The sTfR/Fe was positively correlated with the Δ Hb. There was no correlation between the sTfR prior to iron administration and the Δ Hb. Open circles, Iron-Responders; filled circles, Iron-Nonresponders.

め、必ずしも鉄代謝が平衡状態にあるとはいえない¹²⁾。そのため、TS<20%であっても鉄剤に反応しない患者や33~36%のHtを維持するためにTS \geq 20%を必要とする機能的鉄欠乏状態の患者が存在する。一方、sTfは、体内貯蔵鉄を表すとともに急性期反応物質であるため、透析患者によくみられる急性ならびに慢性炎症に際し増加する。いずれの指標も鉄欠乏状態を反映しないことがあり、新しい鉄代謝指標が求められてきた。今回、CHr、%HRC、sTfR、sTfR/Feについてその臨床的意義ならびに有用性を検討した。

新規指標への寄与因子の検討で、%HRC、sTfR、sTfR/FeへはrHuEPO投与量も寄与因子の一つであった。%HRCに関して、Bovyら¹²⁾も同様にrHuEPO投与量が寄与因子であったとの結果を示している。また、Schaeferら¹¹⁾は、腎性貧血はhyporegenerative formの貧血であり、鉄需要はかなり少ないため、%HRCはrHuEPOを使用し

ていない透析患者では貯蔵鉄が少ないか、あるいはTSが低い場合でも概して正常値であることを指摘した。そして、一旦rHuEPO製剤により造血が著明に亢進すると、低色素の赤血球が数日以内に大量に放出され、%HRCは上昇すると報告した。このように、%HRCは骨髄での鉄供給と造血刺激の双方に影響されて変動すると考えられる。sTfRに関して、鉄欠乏時には血中のTfRが高値を示すことが明らかにされており、さらに細胞表面でTfRの発現が強い塩基赤血球から多染性-正染性赤血球の時期にTfRmRNAの増加とそれに一致した細胞外遊離によるsTfRの増加がみられることが報告されている⁷⁾。特に、エリスロポエチンに反応して分化、増殖していく過程で、sTfRの遊離が亢進すると考えられており、臨床的にはrHuEPO治療時には貧血の改善に先立って上昇することが報告されている¹³⁾。このように、sTfRは鉄欠乏のほかにも造血能も反映するので、rHuEPO投与量が寄与因子と

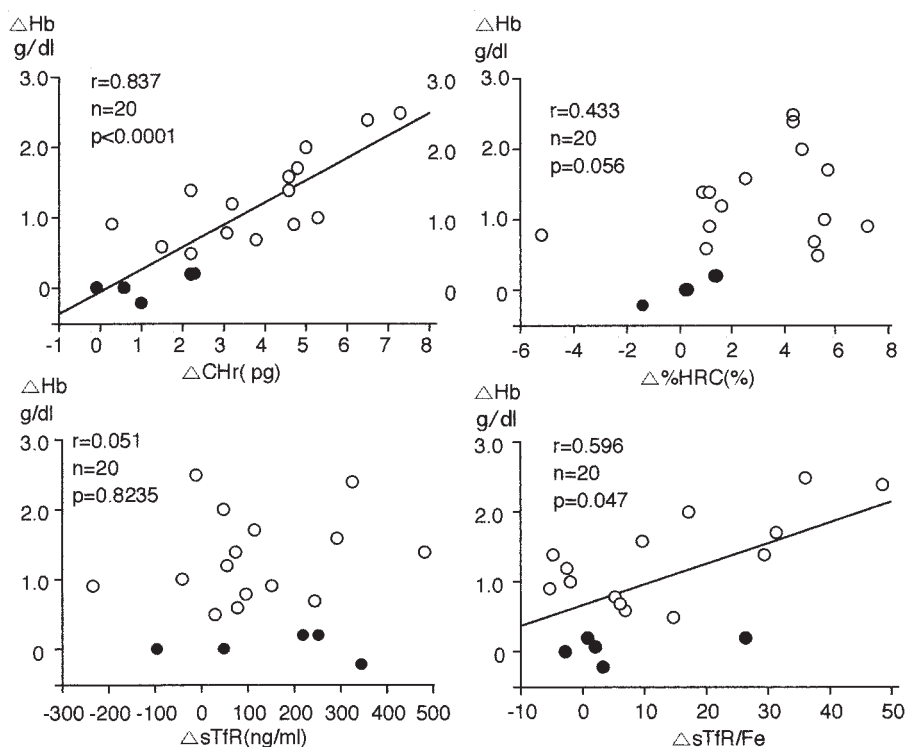


Fig. 4. Relationship between the degree of change in the Hb level over the first 4 weeks of iron supplementation and the degree of changes in the CHr, %HRC, sTfR/Fe, or sTfR over the first 2 weeks of iron supplementation

There was a positive correlation between the degree of the increase in CHr at 2 weeks and the degree of the increase in Hb level at 4 weeks after starting iron administration (Δ Hb). The degree of the increase in sTfR/Fe at 2 weeks was also correlated with Δ Hb. There was no correlation between the degree of the increase in %HRC at 2 weeks and Δ Hb nor between the degree of the increase in sTfR at 2 weeks and Δ Hb.

Open circles, Iron-Responders ; filled circles, Iron-Nonresponders.

なったものと考えられた。

rHuEPO 製剤投与に伴う CHr の変動について、健常者では、rHuEPO 投与後 CHr が低下し、中止後 CHr は前値に戻るとの報告¹⁴⁾はあるが、透析患者でのまとまった報告はない。今回の検討では、CHr は rHuEPO 投与量とは単回帰で相関がなく、重回帰でも寄与因子とはならなかった。Cullen ら¹⁵⁾は、rHuEPO 製剤使用に伴う機能的鉄欠乏の指標として、CHr より %HRC のほうが優れている症例があると報告しているが、CHr と %HRC の寄与因子の差がそのような症例が生じる一つの原因かもしれない。他方、CHr は単回帰による検討で SAA と有意に相関した。炎症併発時には貯蔵鉄があってもこれを利用できない機能的鉄欠乏状態となることが報告されており¹⁶⁾、矛盾しない結果が得られた。sTfR/Fe も SAA と単回帰で相関があり、同様に炎症に伴う機能的鉄欠乏を表しているものと考えられた。今回は臨床的に明らかな感染症を併発している

患者は除外してあり、CHr と sTfR/Fe が潜在的な炎症に影響されている可能性がうかがわれた。

CHr と Kt/V の逆相関の理由は不明である。Kt/V は lean body mass や上腕筋周囲と逆相関があり、Kt/V が高い症例では蛋白摂取量が少なく、栄養状態を悪化させている場合があることが報告されており¹⁷⁾、CHr が低下を示す理由の一つと考えた。

今回、DOQI のガイドラインを参考にして透析患者を 4 群に分けて、新規指標と従来より使用されている指標である TS および sFt との相対評価を行った。その結果、これら新規指標は従来の指標とは視点の異なる鉄代謝指標であることが示された。具体的には、従来の指標のみでは利用鉄と貯蔵鉄が十分あると思われる A 群において CHr が低値を、%HRC、sTfR、sTfR/Fe が高値を示す例がある一方、利用鉄、貯蔵鉄が不足していると考えられる D 群において CHr が高値を、%HRC、sTfR、sTfR/Fe が低値を

示す例があることが明らかとなった。新規指標により貧血の原因として機能的鉄欠乏や未知の病態が透析患者に存在している可能性が想定され、それらの患者の抽出にも意義ある検査と思われた。

これまで透析患者の鉄欠乏状態や鉄剤投与に対する反応性の有無を判断する明確な基準はなく、今回、鉄剤投与により Hb が上昇する症例を鉄欠乏状態と判断し、新規指標の有用性を検討した。鉄剤反応群と無反応群の比較では、従来の指標である TS, sFt は両群間に有意差を認めなかったが、CHr, %HRC, sTfR, sTfR/Fe は有意差を認め、新規指標は鉄欠乏の状態をよく反映していると考えられた。

鉄剤投与時、貧血の改善程度をあらかじめ予測することは、急速な Hb 上昇による高血圧、血栓症の予防に重要である。CHr は、鉄剤投与前および2週間後増加量ともに、4週間後の Hb 増加量とよく相関した。CHr の経時的測定により、鉄剤投与後の Hb 上昇速度の予測や rHuEPO 投与量削減の判断が可能であり、CHr は鉄剤開始時期および鉄剤投与量を決める指標として有効であることが示唆された。鉄剤投与後の変化に関して、鉄剤 500 mg を経静脈的投与後 CHr は 48 時間以内に上昇し、96 時間で最大となるとの報告⁶⁾もあり、CHr は鉄剤投与後速やかに変動して鉄剤投与後の鉄供給の変化をより早く正確に反映するものと思われる。

%HRC に関しては、鉄剤投与前値は4週間後の Hb 増加量と最も相関がよく、鉄剤開始前の指標としては最もよく鉄欠乏を反映しているといえる。%HRC の2週間後変化量と4週間後の Hb 増加量は相関しなかったが、これは %HRC が骨髄での鉄の供給と造血刺激の両者によって影響されることによると考えられた。

再現性の検討で、CV 値が CHr は 0.50 ± 0.01 %, %HRC は 1.00 ± 0.70 % であり、CHr のほうがより優れていた。Tessitore ら¹⁸⁾も、同一検体の2日後の検討で、CHr の CV 値は 0.78 ± 0.51 % であったのに比し、%HRC の CV 値は 6.20 ± 4.21 % であり、CHr のほうが %HRC に比して変動が少ないことを報告している。%HRC は採血後時間が経過すると細胞容量が変化して Hb 濃度に影響を与えるため、個々の症例での検体処理には注意が必要である¹⁸⁾。

sTfR について、sTfR/Fe とすることで、鉄剤投与前値および鉄剤投与2週間後の変化量が4週間後の Hb 増加量と相関した。sTfR 単独ではいずれも相関がなく、鉄欠乏の指標としては、sTfR/Fe として評価するほうが、より有用であると考えられた。

結 果

1) CHr, %HRC, sTfR/Fe は TS, sFt とは視点の異なる鉄代謝指標であり、TS と sFt に基づいた鉄欠乏の分類では診断できない機能的鉄欠乏のような鉄代謝病態の判定に有用である。

2) CHr は鉄剤開始時のみならず、鉄剤投与経過中の Hb 増加量および rHuEPO 削減の指標として有用であり、再現性にも優れた指標である。

3) %HRC と sTfR/Fe は rHuEPO 投与量にも影響され、造血刺激と骨髄での鉄供給の両者を反映する指標であると考えられた。

文 献

- Schaefer RM, Bahner U. Iron metabolism in rhEPO-treated hemodialysis patients. *Clinical Nephrol* 2001; 53(Suppl) : S65-8.
- Braun J, Lindner K, Schreiber M, Heidler RA, Horl WH. Percentage of hypochromic red blood cells as predictor of erythropoietic and iron response after i.v. iron supplementation in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12 : 1173-81.
- Schaefer RM, Schaefer L. Hypochromic red blood cells and reticulocytes. *Kidney Int* 1999; 69(Suppl) : S44-8.
- Fishbane S, Galgano C, Langley RC, Canfield W, Maesaka JK. Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997; 52 : 217-22.
- Bhandari S, Norfolk D, Brown A, Turney J. Evaluation of RBC ferritin and reticulocyte measurements in monitoring response to intravenous iron therapy. *Am J Kidney Dis* 1997; 30 : 814-21.
- Mittman N, Sreedhara R, Mushnick R, Chattopadhyay J, Zelmanovic D, Vaseghi M, Avram MM. Reticulocyte hemoglobin content predicts functional iron deficiency in hemodialysis patients receiving rHuEPO. *Am J Kidney Dis* 1997; 30 : 912-22.
- 高後 裕. I. 鉄代謝, 最近のトピックス 2. 細胞レベルの鉄代謝と血清トランスフェリンレセプター. *日常診療と血液* 1996; 6 : 23-8.
- 新津洋一郎, 加藤淳二. II. 診断と治療の実際 1. 鉄欠乏性貧血. *日内会誌* 1999; 88 : 17-21.
- National Kidney Foundation. DOQI(Dialysis Outcome Quality Initiative) Clinical Practice Guidelines—Anemia of Chronic Renal Failure. *Am J Kidney Dis* 1997; 30(Suppl 3) : 192-240.
- Shinzato T, Nakai S, Fujita Y, Takai I, Morita H, Nakane H, Maeda K. Determination of Kt/V and protein catabolic rate using pre- and post-dialysis blood urea nitrogen con-

- centration. *Nephron* 1994 ; 67 : 280-90.
11. Working party for European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. Guideline 8 : Administration of supplemental iron. *Nephrol Dial Transplant* 1999 ; 14 : (Suppl 5) : 17-8.
 12. Bovy C, Tsobo C, Crapanzano L, Rorive G, Beguin Y, Albert A, Paulus JM. Factors determining the percentage of hypochromic red blood cells in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999 ; 56 : 1113-9.
 13. 水口 隆, 小林博人, 水口 潤, 川島 周, 松崎泰之, 小坂昌明. 血液透析患者の血清トランスフェリンレセプターの検討. *腎と透析* 1995 ; 6 : 893-7.
 14. Brugnara C, Colella GM, Cremins J, Langley RC, Schneider TJ, Rutherford CJ, Goldberg MA. Effect of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects : development of decreased reticulocyte hemoglobin content and iron-deficiency erythropoiesis. *J Lab Clin Med* 1994 ; 123 : 660-7.
 15. Cullen P, Soffker J, Horpfl M, Bremer C, Schlaghecken R, Meherens T, Assmann G, Schaefer RM. Hypochromic red blood cells and reticulocyte haemoglobin content as markers of iron-deficient erythropoiesis in patients undergoing chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999 ; 14 : 659-65.
 16. Barany P, Divino FJC, Bergstrom J. High C-reactive protein as strong predictor of resistance to erythropoietin in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997 ; 29 : 565-8.
 17. 石崎 允. 血液透析患者における urea kinetic modeling. *臨牀透析* 2001 ; 17 : 35-43.
 18. Tessitore N, Solero PG, Lippi G, Bassi A, Faccini GB, Bedogna V, Gammara L, Brocco G, Restivo G, Bernich P, Lupo A, Maschio G. The role of iron status markers in predict in response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2000 ; 16 : 1416-23.