

保存期慢性腎臓病および腹膜透析患者での網赤血球ヘモグロビン等量 (reticulocyte hemoglobin equivalent: RET-He) 測定の臨床的有用性

江口 垂 弥 土 谷 健 塚田三佐緒 新田 孝 作

Clinical usefulness of reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) in patients at the pre-dialysis stage and in patients on peritoneal dialysis

Aya EGUCHI, Ken TSUCHIYA, Misao TSUKADA, and Kousaku NITTA

Department of Medicine, Kidney Center, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

要 旨

背 景：慢性腎臓病患者の貧血を診断・治療する際、鉄の充足状態の評価は重要であり、従来、その指標にトランスフェリン飽和率(TSAT)やフェリチンが用いられてきた。また、新たに産生された赤血球の鉄含量をフローサイトメトリーの原理で測定し、より鉄欠乏状態を的確に把握しうる網赤血球ヘモグロビン含量(CHr)があるが、定量には特定の機器を要する。最近、汎用機器にソフトウェア処理を行い網赤血球ヘモグロビン等量(reticulocyte hemoglobin equivalent: RET-He)を簡便に測定でき、われわれは血液透析(HD)患者での有用性を報告した。今回、RET-Heを保存期慢性腎臓病(ND)、腹膜透析(PD)患者で測定しその有用性を検討した。

方 法：ND患者84例とPD患者19例を対象にRET-Heとフェリチン、TSATを測定し、PD患者にてヘプシジンとの関連や赤血球造血因子刺激製剤(ESA)の変更に伴うRET-Heの変化を検討した。鉄欠乏の診断はTSAT 20%未満、フェリチン 100 ng/mL以下とした。

結 果：平均RET-HeはND患者32.0 pg、PD患者32.5 pgで、両群でTSATと良好な相関がみられたが、フェリチンとの相関はなかった。Receiver operating characteristic(ROC)曲線によるカットオフ値は、ND患者31.0 pg、PD患者32.7 pgであり、HD患者と同様であった。ヘプシジン濃度の中央値は49.8 ng/mLで、フェリチンやCRPと相関を認めた。PD患者でESA製剤を変更・増量したところ、RET-HeはTSATやフェリチンに比して速やかに反応を示した。

結 論：RET-Heは赤血球レベルでの鉄欠乏の状態を把握できる新しい鋭敏な指標であり、特定の測定機器を必要とせず、より簡便で速やかに測定が可能な点からも臨床的に有用と考えた。

Background : Evaluation of the iron status of patients with renal anemia provides information essential to prescribing adequate rHuEPO therapy. Cellular iron status can be determined by the recently available method of measuring the reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He). We previously showed that RET-He values were correlated with conventional parameters and with a direct marker of the reticulocyte hemoglobin (CHr) content of hemodialysis patients. We attempted to utilize the measurements of RET-He levels of non-dialyzed patients and the iron status of peritoneal dialysis (PD) patients.

Methods : Iron deficiency was defined on the basis of the TSAT (<20 %) and ferritin (<100 ng/mL) levels. RET-He levels and conventional red blood cell parameters were measured with a Sysmex XE-2100 automated blood cell counter. CHr was measured with an ADVIA120 autoanalyzer. The serum hepcidin levels of PD patients were measured by mass-spectrometry.

Results : The mean RET-He value was 32.0 pg in the non-dialysis group and 32.5 pg in the PD group, and a correlation was found between the RET-He and TSAT values, but not the ferritin values in both groups. The serum hepcidin level was 49.8 pg in the PD group and there was a positive correlation between their hepcidin and ferritin values. Receiver operating characteristic analysis yielded a cut-off value of RET-He in the non-dialysis group (31.0 pg) and the PD group (32.7 pg). The RET-He values of PD patients who were switched from epoetin beta to darbepoetin alfa responded more rapidly than TSAT or ferritin values.

Conclusion : RET-He is a new parameter, whose values are equivalent to CHr, and can be easily measured with a widely available and popular blood cell counter. Reticulocyte hemoglobin is an indispensable marker of iron status for chronic kidney disease patients. Moreover, reticulocyte hemoglobin is likely to provide useful information regarding the need for iron supplementation in patients being treated with an ESA.

Jpn J Nephrol 2010 ; 52 : 132-140.

Key words : erythropoietin, ferritin, functional iron deficiency, hepcidin, renal anemia

緒 言

2004年に、血液透析(hemodialysis: HD)患者を対象として、腎性貧血のガイドラインが日本透析医学会より示された。また透析患者に対して、従来の遺伝子組換えヒトエリスロポエチン(recombinant human erythropoietin: rHuEPO)に加え、2007年7月にはダルベポエチンアルファの臨床応用が可能となったことで、従来のrHuEPO不応性貧血についても貧血の改善が示されている。赤血球造血刺激因子(erythropoiesis stimulating agent: ESA)製剤や鉄剤の投与で慢性腎臓病(chronic kidney disease: CKD)患者の貧血をコントロールすることによって、CKD患者に合併の多い慢性心不全や心合併症、腎機能自体の改善およびQOLの改善が期待される^{1~4)}。

ESA製剤による赤血球新生の亢進により、貯蔵鉄の減少に加えて、骨髄への貯蔵鉄の輸送が間に合わない、いわゆる機能性鉄欠乏が生じると報告されている⁵⁾。鉄欠乏の基準として、わが国の腎性貧血ガイドラインでは、ESA製剤療法時における鉄補充療法の開始を、血清フェリチン100 ng/mL以下およびトランスフェリン飽和度(transferrin saturation: TSAT)20%以下としている^{5,6)}。しかし機能性鉄欠乏の場合は、従来の鉄やフェリチンの指標が正常にもかかわらず、ESA製剤抵抗性の低色素性赤血球を生じることがある。一方、鉄剤投与により鉄過剰が生じると酸化ストレスの亢進や白血球機能低下による易感染性も報告されており、鉄剤の投与には慎重を要する²⁾。そのため、臨床の場において改めて鉄の充足状態を示す指標の重要性が指摘されている。従来の鉄充足には上記のような指標が用いられてきたが、最近になって赤血球のヘモグロビン含量を直接的な鉄状態の指標とするようになってきた。特に、網赤血球という産生されたばかりの幼若赤血球の値が、赤血

球の新生状態での鉄充足状態を表わすとされている。この網赤血球ヘモグロビン含量を直接的な鉄指標とする概念が確立しつつある。末梢血中の網赤血球を選択的に特定し、そのヘモグロビン量をフローサイトメトリーの原理を応用して新たに産生された網赤血球のヘモグロビン含量を測定する、網赤血球ヘモグロビン含量(content of reticulocyte hemoglobin: CHr)が臨床的に用いられている⁸⁾。K-DOQI(Kidney-Dialysis Outcomes Quality Initiative)の腎性貧血ガイドラインでは、CHr 32.2 pg未満を鉄欠乏と定義している⁹⁾。CHr測定の最大の問題点は、測定のために特異的な血算算定器が必要なことであり、その普及の大きな妨げとなっていた。最近、従来型の算定器にソフトウェアをインストールすることにより、CHrと同様のパラメータである網赤血球ヘモグロビン等量(reticulocyte hemoglobin content: RET-He)がより簡易に測定できるようになった¹⁰⁾。これまでにわれわれは、HD患者においてRET-HeとCHrの相関性や鉄欠乏評価としての臨床的有用性を報告してきた¹¹⁾。鉄欠乏の指標基準の多くはHD患者において報告されてきたが、2008年の日本透析医学会のガイドラインでは、保存期慢性腎臓病(non dialysis: ND)患者および腹膜透析(peritoneal dialysis: PD)患者も含まれるようになった¹²⁾。NDとPD患者の場合、ダイアライザーの残血などによる鉄喪失はないものの、多くの患者でESA製剤を使用し鉄需要が亢進していること、食事療法による鉄の摂取不足の状態は変わらないと考えられる。

本研究では、まだ明らかとなっていないPD患者におけるRET-HeとCHrの相関性や、NDとPD患者の貧血でのRET-Heの動態、およびその臨床的有用性について検討したので報告する。

Table 1. Profile and data from non-dialysis CKD patients

	Total	Stage 3	Stage 4	Stage 5
Number	84	29	21	34
Cr (mg/dL)	3.0±2.2	1.2±0.3	2.2±0.6	5.2±1.9
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	24.0±15.4	42.3±7.4	22.8±5.1**	9.1±3.5**
Sex F/M	37/47	14/15	8/13	15/19
DM n(%)	9(10.7)	3(10.3)	2(9.5)	4(11.8)
Age (year)	64.6±16.7	63.9±17.6	68.0±19.0	63.1±14.6
Anemia n(%)	28(33.3)	3(10.3)	7(33.3)	18(52.9)
Iron deficiency n(%)	13(15.5)	4(13.8)	2(9.5)	7(20.1)
rHuEPO use n(%)	39(46.4)	3(10.3)	9(42.9)	27(79.4)
Monthly rHuEPO dose (U/M)	6,393±8,063	931±3,116	5,143±6,916	11,824±8,288**
Oral iron use n(%)	8(9.5)	1(3.4)	3(14.3)	4(11.8)
Daily iron dose (mg/day)	7.1±23.5	3.4±18.6	9.5±25.6	8.8±26.0
TP (g/dL)	6.7±0.5	6.7±0.5	6.7±0.6	6.7±0.5
CRP (mg/dL)	0.24±0.36	0.12±0.13	0.40±0.60*	0.26±0.28
Hb (g/dL)	11.3±2.0	12.8±1.9	11.4±1.9*	10.0±1.1**
Ht (%)	34.6±5.6	38.4±5.3	35.1±5.4*	30.9±3.4**
MCV (fl)	93.7±5.2	92.9±4.4	94.2±6.5	94.0±5.1
Fe (μg/dL)	75.7±27.6	81.8±25.6	74.3±27.6	71.4±29.0
TIBC (μg/dL)	273.5±45.7	289.3±32.4	273.4±52.7	259.8±48.1*
TSAT (%)	28.1±11.3	28.6±9.5	27.4±9.0	28.2±13.9
Ferritin (ng/mL)	138.6±100.5	110.1±68.2	126.6±80.9	170.8±125.4
RET-He (pg)	31.9±3.2	33.0±2.4	32.1±2.9	30.8±3.5*

(*p<0.05 vs stage 3, **p<0.01 vs stage 3)

Cr : creatinine, eGFR : estimated glomerular filtration rate, DM : diabetes mellitus, TP : total protein, CRP : C-reactive protein, TSAT : transferrin saturation, TIBC : total iron binding capacity, RET-He : reticulocyte hemoglobin equivalent

eGFR (mL/min/1.73 m²) was calculated by $194 \times Cr^{-1.094} \times Age^{-0.287}$ (Female, $\times 0.739$).

Anemia was defined by a hemoglobin level of less than 10 g/dL.

Iron deficiency was defined by a TSAT of less than 20 % or serum ferritin level of less than 100 ng/mL.

対象と方法

1. 対象患者

当科の外来に通院している ND 患者のうち、CKD ステージ 3~5 の 84 例と PD 患者の 19 例である。明らかな出血性疾患、慢性感染症および悪性腫瘍などの鉄代謝のパラメータに影響を与える疾患を有する患者は対象外とした。ND 患者において、腎性貧血は一般的に eGFR ≤ 60 mL/min/1.73 m² で生じるとされているため¹³⁾、CKD ステージ 3 以上の患者を対象とした。PD 患者 19 例のうち 11 例は観察途中で ESA 製剤をエポエチンベータからダルベポエチンアルファに変更し、変更前後の鉄代謝の推移を検討した。また PD 患者では、最近測定が可能になった鉄吸収の制御蛋白である血清ヘプシジン濃度を測定し、鉄動態との関連を検討した。

2. 貧血、鉄欠乏の定義

貧血はヘモグロビン (hemoglobin : Hb) ≤ 10 g/dL と定義し、鉄欠乏の指標は日本透析医学会のガイドラインに従い、TSAT 20 % 以下もしくは血清フェリチン値 100 ng/mL 以下として測定した¹²⁾。

3. 測定項目と測定法

採血は月 1 回の定期外来受診日に行い、静脈血を EDTA2Na 採血管でサンプリングしたものを末梢血球数算定に用いた。同時に採血して得られた血清は -80°C で凍結保存し、血清フェリチン、血清鉄 (Fe) およびトランスフェリンの測定に用いた。血清総蛋白 (total protein : TP)、アルブミン、c-reactive protein (CRP)、クレアチニン濃度や Fe、血清フェリチン、総鉄結合能およびトランスフェリン値を院内の自動分析装置で測定し、Fe および総鉄結合能の比で TSAT を算出した。RET-He は XE-2100 (シスメックス社)、CHr は ADVIA120 (Bayer 社) を用いて測定した。血清

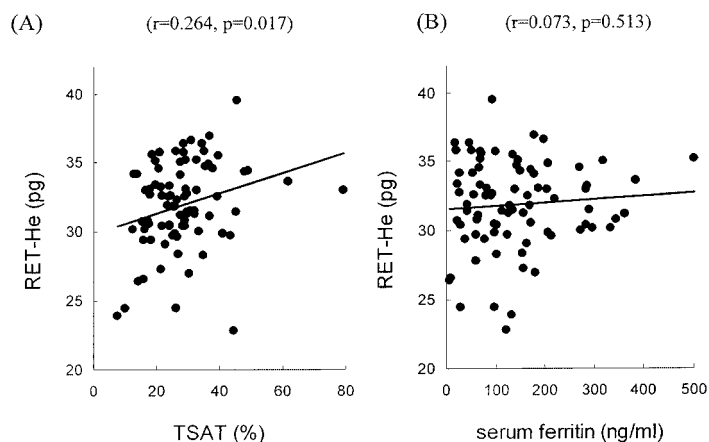


Fig. 1. Correlation between RET-He and each parameter in non-dialysis CKD patients

(A) TSAT, (B) serum ferritin

RET-He : reticulocyte hemoglobin equivalent, TSAT : transferrin saturation

ヘプシジン濃度は、サイファージェン社のプロテインチップリーダー PCS4000 により測定した(エムシープロット・バイオテクノロジー社)。

eGFR (estimated glomerular filtration rate) は日本腎臓学会が推奨する下記の式を用いて算出した。

$$\text{eGFR (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 194 \times \text{Cr}^{-1.094} \times \text{Age}^{-0.287}$$

(女性はこれに×0.739)

4. 患者説明と同意

血液採取に際しては、測定の内容、結果の処理と匿名化および統計的算出などの方法につき説明し、全患者からインフォームド・コンセントを得た。本研究の内容は、ヘルシンキ宣言に基づき、院内の倫理委員会の承諾を得て施行した。

5. 統計解析

結果は平均値±標準偏差で示した。統計計算処理は、Dr SPSS II ソフトウェア (SPSS 社) を用いて、Pearson 相関係数, ROC (Receiver Operating Characteristic Curve) 解析を実施した。群間の有意差検定は、一元配置分散分析 (Oneway ANOVA), post-hoc Bonferroni を用いて施行し、 $p < 0.05$ を有意水準とした。

結 果

1. ND 患者における RET-He の測定値

1) ND 患者の背景

Table 1 に CKD ステージ 3~5 の患者背景を示す。対象患者 84 例 (男性 47 例, 女性 37 例) で比較検討を行った。

Table 2. Profile and data from PD patients

Number	19
Sex F/M	5/14
DM n(%)	3(15.8)
Age(year)	48.6±10.7
Duration of PD(M)	37.2±31.2
BUN(mg/dL)	56.0±15.8
Cr(mg/dL)	11.6±3.9
TP(g/dL)	6.3±0.6
CRP(mg/dL)	0.12±0.12
Kt/V	1.8±0.3
Weekly CCr	64.8±24.5
Urine volume(mL/day)	591.1±725.1
Anemia n(%)	12(63.2)
Iron deficiency n(%)	1(5.3)
ESA use n(%)	19(100)
I-Epoetin beta n(%)	8(42.1)
I-Epoetin beta(U/month)	17,833±7310
I-Dalbepoetin alfa n(%)	11(57.9)
I-Dalbepoetin alfa(μg/M)	88.2±61.1
Oral iron use n(%)	5(26.3)
Daily iron dose(mg/day)	18.4±34.2
Hb(g/dL)	9.8±1.0
Ht(%)	29.9±2.8
Fe(μg/dL)	84.3±25.7
TIBC(μg/dL)	260.2±46.5
TSAT(%)	32.6±9.3
Ferritin(ng/mL)	197.8±107.1
RET-He(pg/mL)	32.6±2.3
Hepcidin-25(ng/mL)	49.8±52.9

PD : peritoneal dialysis, BUN : blood urea nitrogen, CCr : creatinine clearance, ESA : erythropoiesis stimulating agent, I : intravenous, RET-He : reticulocyte hemoglobin equivalent, TIBC : total iron binding capacity, TSAT : transferrin saturation

Anemia was defined by a hemoglobin level of less than 10 g/dL.

平均年齢は 64.6±16.7 歳である。すべての症例は少なくとも過去 1 カ月間に輸血を受けていなかった。原疾患は慢性糸球体腎炎 45 例, 糖尿病 9 例, 多発性嚢胞腎 8 例, 腎硬化症 11 例, 間質性腎炎 3 例および不明 8 例であった。rHuEPO 使用患者は 39 例で, 平均使用量は 6,393±8,063 U/月であった。鉄剤使用患者は 8 例で, 全例経口投与であった。それぞれの CKD ステージで年齢や TP 値に有意差はなく, CRP はステージ 4 にて 0.4 mg/dL とステージ 3 に比較して高値であった。

CKD ステージごとの貧血レベルと鉄欠乏の指標では, Hb 値とヘマトクリット (Ht) 値は腎障害が進行すると有意に低下を認め(ステージ 3 に対してステージ 4 では Hb 値

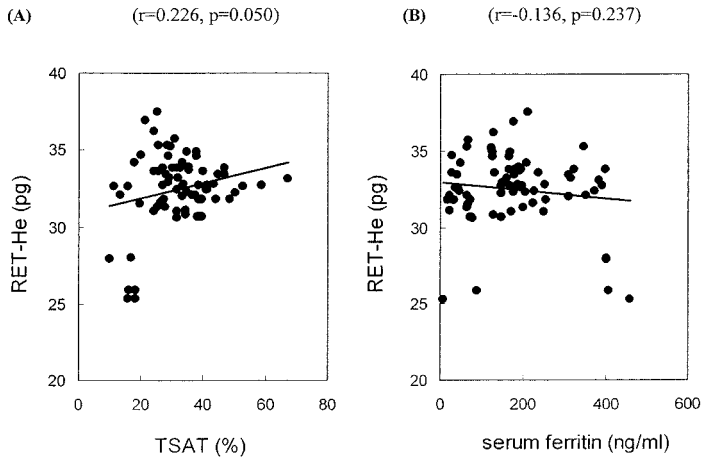


Fig. 2. Correlation between RET-He and each parameter in PD CKD patients

(A) TSAT, (B) serum ferritin

RET-He : reticulocyte hemoglobin equivalent, TSAT : transferrin saturation

と Ht 値の有意差はそれぞれ $p=0.042$, $p=0.010$, ステージ 5 ではいずれも $p<0.01$), それに対して ESA 製剤の使用量は有意に多かった(ステージ 5 で $p<0.01$)。また, 鉄代謝の従来指標として, TSAT と血清フェリチン値は各ステージで有意差を認めなかったが, RET-He はステージ 3 に比しステージ 5 で低値であった($p=0.016$)。

2) ND 患者における測定値と相関性

ステージ 3~5 において, 鉄欠乏の指標とした TSAT および血清フェリチン値と RET-He との相関を Fig. 1 に示す。RET-He と TSAT の間に正の相関を認め, TSAT 低値側で相関性が強くなることが確認された(全データ $r=0.264$, $p=0.017$, $n=82$, $TSAT<20(\%)$: $r=0.662$, $p=0.002$, $n=19$)。一方, 血清フェリチン値と RET-He との間に有意な相関を認めなかった($r=0.073$, $p=0.513$)。

各ステージでの RET-He および鉄指標を比較したとこ

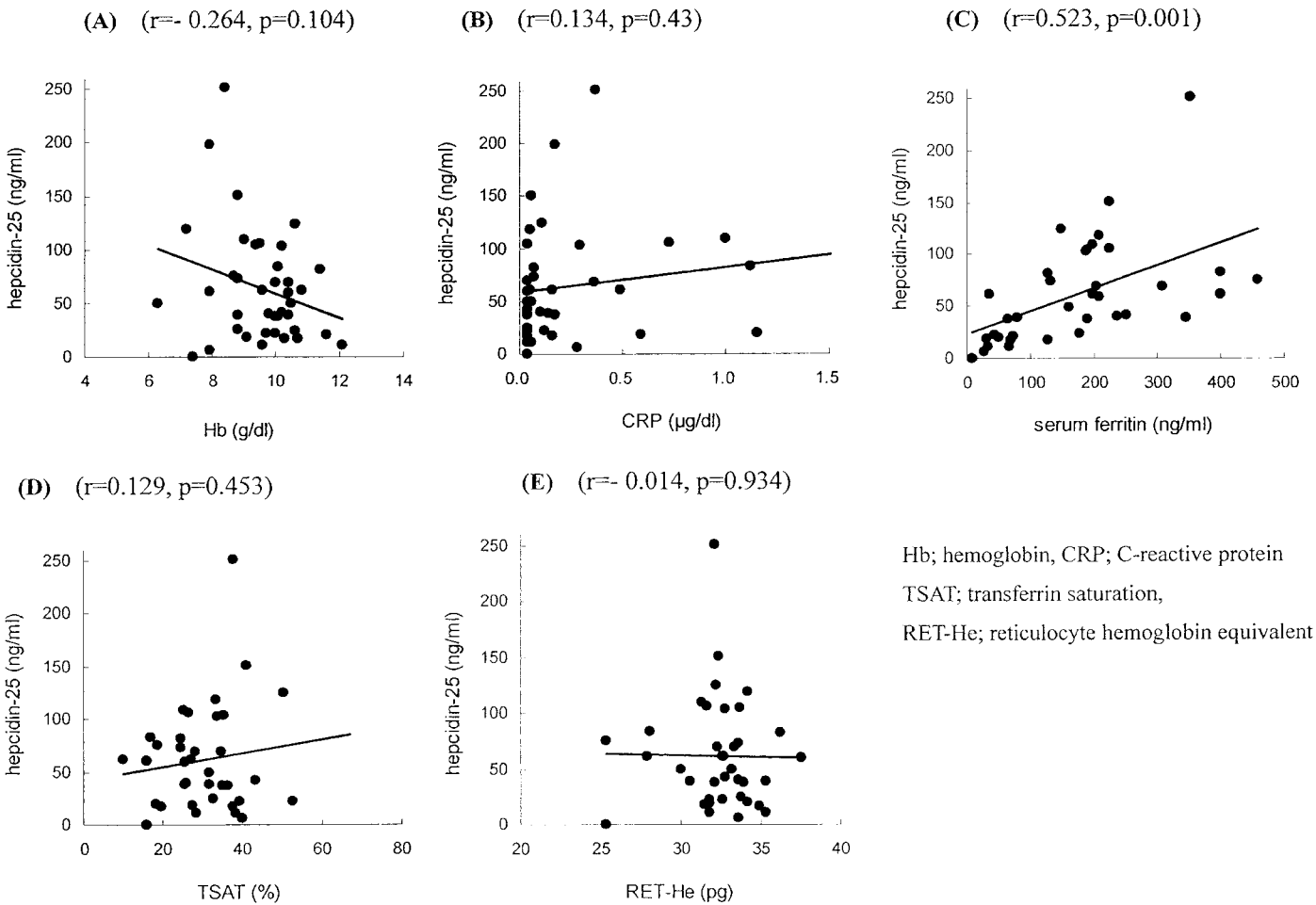


Fig. 3. Correlation between hepcidin 25 and each parameter in PD CKD patients

(A) Hb, (B) CRP, (C) serum ferritin, (D) TSAT, (E) RET-He

Hb; hemoglobin, CRP; C-reactive protein
TSAT; transferrin saturation,
RET-He; reticulocyte hemoglobin equivalent

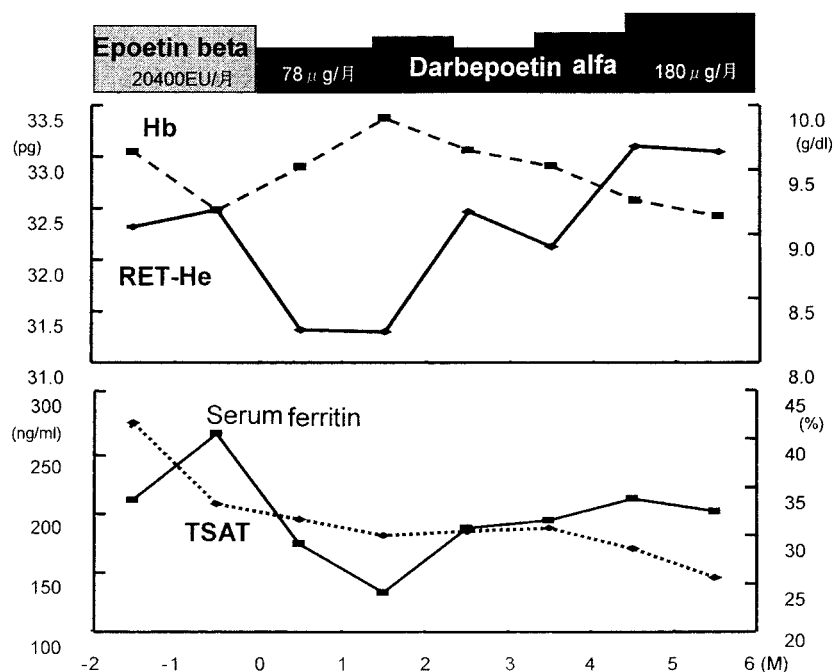


Fig. 4. Changes in Hb, RET-He, and other iron parameters after switching from epoetin beta to darbepoetin alpha

RET-He : reticulocyte hemoglobin equivalent, TSAT : transferrin saturation

Table 3. Cut off value of RET-He and CHr for diagnosing iron deficiency

		Mean*	Cut-off	Sensitivity	Specificity
PD	RET-He (pg)	32.5±2.3	32.7	80.0	56.0
	CHr (pg)	34.0±1.8	33.8	60.0	64.0
ND	RET-He	32.0±3.2	31.0	54.0	70.0
HD	RET-He	32.3±4.0	33.0	74.3	66.1
	CHr	32.1±2.6	32.2	74.3	69.2

*No significant differences among PD, HD and ND

PD : peritoneal dialysis, ND : non-dialysis, HD : hemodialysis, RET-He : reticulocyte hemoglobin equivalent, CHr : content of reticulocyte hemoglobin

ろ, TSAT および血清フェリチン値は各ステージでの差異を認めなかったが, RET-He はステージ 5 で有意に低値であった (Table 1)。

2. PD 患者における RET-He の測定値との相関性

1) PD 患者の背景

Table 2 に対象患者の観察開始時の背景と臨床的特徴を示す。PD 患者では患者年齢が若く, Hb 値や Ht 値などの貧血の程度が強い傾向がみられた。鉄の指標は, TSAT や血清フェリチン値が ND 患者よりも高い傾向が認められた。

2) PD 患者における測定値と相関性 (Fig. 2)

19 例延べ 85 検体 (相関の検討は 76 検体で行った) で, RET-He と貧血, 各鉄代謝の指標との相関性を検討した。RET-He は, TSAT と正の相関傾向を認め ($r=0.226$, $p=0.050$, $n=76$), ND 患者と同様に TSAT 低値側で相関性が強くなることが確認された (TSAT<40(%) : $r=0.283$, $p=0.027$, $n=73$, TSAT<30(%) : $r=0.528$, $p=0.002$, $n=32$)。血清フェリチン値とは弱い負の相関傾向を認めたが有意ではなかった ($r=-0.136$, $p=0.237$, $n=76$)。

3) 血清ヘプシジンレベルと各指標の相関 (Fig. 3)

血清ヘプシジン 25 濃度と各鉄代謝の指標との相関性を

検討した。PD 患者での血清ヘプシジン値の中央値は 49.8 ± 52.9 ng/mL であった。血清ヘプシジン値は Hb 値と負の相関傾向を示し ($r = -0.264$, $p = 0.104$, $n = 39$)、血清フェリチン値とは有意に正の相関を認めたが ($r = 0.523$, $p = 0.001$, $n = 36$)、TSAT および RET-He、CRP との相関性は認めなかった。

4) ESA 製剤投与量増加に伴う鉄指標の変動 (Fig. 4)

ESA 製剤の増量に伴い機能性鉄欠乏が生じることが知られている。そのときの鉄指標の変動を検討するため、ダルベポエチンアルファに変更した 11 例 (エポエチンベータを継続した群に比べ、エポエチンベータ低反応性の貧血を示し、Hb 値は低い傾向であった) の変更前後の Hb 値と鉄代謝指標の変動を観察した。平均 20,400 EU/月のエポエチンベータを投与中に貧血の進行 (Hb 9.1 g/dL) を認め、ダルベポエチンアルファを平均 $78 \mu\text{g}$ /月投与に切り替えを行った。観察期間中鉄剤の投与量に変更はなかった。ダルベポエチンアルファ変更直後から Hb 値は上昇したが、より多いダルベポエチンアルファの投与量を必要とした。RET-He は、ダルベポエチンアルファへ変更 1 カ月後には速やかに低下を認め、3 カ月後より RET-He は上昇した。TSAT はダルベポエチンアルファ変更後に低下したが、変更 2 カ月後には RET-He に比し反応は緩徐であった。血清フェリチン値はダルベポエチンアルファ変更時は TSAT と同様の変化を示したが、ダルベポエチンアルファ継続後は徐々に低下した。

3. 鉄欠乏検出のカットオフ値

RET-He の鉄欠乏検出能の評価のため、日本透析医学会のガイドラインを基に ROC 解析を行った。RET-He での鉄欠乏のカットオフ値は、ND 患者で 31.0 pg、PD 患者では 32.7 pg であった。この結果は、これまでにわれわれが報告した HD 患者でのカットオフ値 33.1 pg と同じレベルであった。これまで報告した CHr のカットオフ値とともに、RET-He の結果を Table 3 にまとめた。

考 察

従来は、鉄欠乏の指標として、血清鉄、血清フェリチンおよび TSAT などが汎用されてきた。最近では、低色素性血球の全血球数に占める割合をみた %HYPO¹⁴⁾ や、主に骨髄中の赤芽球細胞上にあり、細胞の鉄含量によりその発現が調節されるトランスフェリン受容体 (TfR) の可溶性タイプの血中濃度なども新しい指標とされている¹⁵⁾。

網赤血球のヘモグロビン含量は、産生直後の赤血球への

鉄供給状態を示す直接的な指標として注目され、迅速かつ簡便な検査値として注目されつつある¹⁶⁾。網赤血球は末梢血中に約 1 日存在する幼若赤血球で、産生されて間もない赤血球のヘモグロビン濃度を知るためにまず CHr が報告され、その意義はほぼ確立されている⁸⁾。以前は網赤血球の正確な測定が困難であったが、最近、幼若赤血球内に残る RNA 成分を色素染色することにより、フローサイトメトリーを用いて選択的に同定することが可能となった¹⁷⁾。その結果、網赤血球のヘモグロビン含量が測定可能となり、血色素が減少した赤血球の産生が容易に判別されうようになった¹⁸⁾。その鋭敏な反応性が機能的鉄欠乏の指標となることが指摘されており、われわれも HD 患者および ND 患者での有用性を報告した^{19,20)}。

しかし臨床上的の問題点は、その測定に特異的な血球分析装置による網赤血球の測定が必要なことである。この問題を解決するために、汎用の血球分析装置 (XE-2100, シスメックス社) でも同様のパラメータである、RET-He の測定のためのソフトウェアが開発され、網赤血球ヘモグロビン含量の測定が一般の施設でも得られるようになった¹¹⁾。本装置もフローサイトメトリーの原理を用いた血算定器であり、対象細胞が赤血球である場合には、その容積とヘモグロビン濃度を反映した情報が得られ、RET-He が算出されることになる^{21~24)}。

一方、2008 年版の CKD 患者における腎性貧血治療のガイドライン (JSDT 2008) では、ND 患者および PD 患者の貧血治療ガイドが明確にされ、その鉄評価と補充療法についても記載された。われわれは HD 患者での RET-He の有用性と CHr との相関性などについて報告したが¹¹⁾、ND 患者および PD 患者では不明であったため、今回の検討を行った。

腎性貧血は、一般的に $\text{eGFR} \leq 60 \text{ mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$ で生じるとされている¹³⁾。今回の ND 患者でも、ステージの進行とともに Hb 値と Ht 値の有意な低下が認められているが、鉄指標としての RET-He は、ステージ 5 での低下以外は有意な変化は観察されなかった。RET-He が低下したのは、この時期の rHuEPO 投与量が増加しており、赤血球産生に対する鉄供給が不足した状況と考えられた。この RET-He の変化は、血清フェリチン値や TSAT に有意差がみられなかったことと対照的で、鉄欠乏の発生に対して RET-He の鋭敏さが示された結果と考えられる (Table 1)。また、現在の投与方法や投与量では、Hb 10 g/dL または Ht 31 %前後が到達した平均値と考えられた。RET-He と従来の鉄指標との相関では、TSAT との間に有意差が認められ、TSAT 値が

低い領域で相関が高く、RET-He が鉄不足の状況に鋭敏であることを反映していると考えられた。血清フェリチン値とは相関がなく、ND 患者では血清フェリチン値のバラツキによるものと推定された。

一方、PD 患者では平均 Hb 値や Ht 値がやや低めで、それぞれ 9.8 g/dL, 29.9% であった。鉄指標は低下せず、RET-He も 32.6 pg でむしろやや高値であり、ESA 製剤投与量が不足した傾向であることが示唆された。また、RET-He と TSAT との相関が認められたが、血清フェリチン値は変動が大きく、相関は認められなかった。これは、われわれの HD 患者での検討¹⁰⁾の結果と異なり、PD 患者での血清フェリチンとの関連について、その原因を検討するためさらに血清ヘプシジン値を測定した。

ヘプシジンは鉄制御因子として肝臓より分泌されることが報告され、その遺伝子構造の決定とともに血清レベルの測定も可能になった^{25,26)}。今回の検討では、PD 患者の血清ヘプシジン値は 49.8 ng/mL であった。最近の報告によると、健常人で 10.8 ng/mL, HD 患者の透析前値で 68.7 ng/mL であった²⁸⁾。ヘプシジンは炎症制御蛋白とされるが、必ずしも CRP 反応とは相関がみられず、鉄の指標では血清フェリチン値のみと相関があり、TSAT や RET-He とは相関がみられなかった。このため、直接的な鉄供給のレベルにヘプシジンは関与していないと推測された。

さらに PD 患者において、エポエチンベータからダルベポエチンアルファに変更した症例での RET-He の反応性を観察した。ESA 製剤の変更に伴い RET-He の低下が生じたが、この変化は TSAT の変化に先立って観察され、血清フェリチン値は緩徐に低下していた。長期作用の ESA 製剤の作用により造血効果が高まり、鉄の相対的な欠乏が生じた結果として、RET-He が鋭敏に反応したものと考えられた (Fig. 4)。

最後に、従来の報告および今回の研究で得られた CKD 患者における RET-He のカットオフ値を CHr の値も併記して Table 3 にまとめた。これらの結果から、31~33 pg 前後で鉄欠乏を指摘できる値と考えられた。

まとめ

外来通院の CKD 患者において、その迅速性および鋭敏性などから、RET-He の測定は他の鉄代謝マーカーに比べ実際の鉄動態のモニタリングに有用であると考えられた。CHr や RET-He から推測される網赤血球レベルでのヘモグロビン含量は、赤血球の産生レベルでの鉄の不足を示して

おり、その充足のためには鉄の供給が必要な状態であると推測される²⁸⁾。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、XE-2100 の設置と測定に協力をいただいた臨床検査部の新川康文氏および田村孝子氏、データ処理にご協力をいただいた Sysmex 社の浜口行雄氏、小国振一郎氏に深謝致します。

本研究の一部は、腎性貧血研究会の助成によった。なお、本研究の一部は第 53 回日本透析医学会総会(神戸, 2008 年)および米国腎臓学会(Philadelphia, 2008 年)において発表した。

文 献

1. Silverberg DS, Wexler D, Blum M, Iaina A, Sheps D, Keren G, Schwartz D. Erythropoietin in heart failure. *Semin Nephrol* 2005; 25: 397-403.
2. 加藤明彦. 鉄剤. *臨牀透析* 2003; 19: 427-434.
3. Boelaert JR, Daneels RF, Schurgers ML, Matthys EG, Gordts BZ, Van Landuyt HW. Iron overload in haemodialysis patients increases the risk of bacteraemia: A prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 130-134.
4. Druke TB, Locatelli F, Clyne N, Eckardt K, Macdougall IC, Tsakiris D, Burger H, Scherhag A. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med* 2006; 355: 2071-2084.
5. Van Wyck DB, Stivelman JC, Rutz J, Kirlin LF, Katz MA, Ogden DA. Iron status in patients receiving erythropoietin for dialysis-associated anemia. *Kidney Int* 1989; 35: 712-716.
6. Macdougall IC. Poor response to erythropoietin should be fully investigated and treated. *Br Med J* 1995; 310: 1424-1425.
7. Hoen B, Kessler M, Hestin D, Mayeux D. Risk factors for bacterial infections in chronic hemodialysis adult patients: A multicentre prospective survey. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 377-381.
8. Brugnara C, Hipp MJ, Irving PJ, Lathrop H, Lee PA, Minchello EM, Winkelman J. Automated reticulocyte counting and measurement of reticulocyte cellular indices: evaluation of the Miles H*3 blood analyzer. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 623-632.
9. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(5 Suppl 3): S11-S145.
10. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol* 2006; 28: 303-308.
11. 三和奈穂子, 土谷 健, 木全直樹, 浜口行雄, 新田孝作, 秋葉 隆. 透析患者における Reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) 測定の臨床的有用性. *透析会誌* 2008; 41: 437-444.
12. 2008 年版日本透析医学会. 慢性腎臓病患者における腎性貧

- 血治療のガイドライン. 透析会誌 2008 ; 41 : 661-716.
13. Cullen P, Soffker J, Hopfl M, Bremer C, Schlaghecken R, Mehrens T, Assmann G, Schaefer RM. Hypochromic red cells and reticulocyte haemoglobin content as markers of iron-deficient erythropoiesis in patients undergoing chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999 ; 14 : 659-665.
 14. Hsu CY, McCulloch CE, Curhan GC. Epidemiology of anemia associated with chronic renal insufficiency among adults in the United States : results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 504-510.
 15. Starklint J, Bech JN, Aagaard O, Pedersen EB. Hypochromic reticulocytes, hypochromic erythrocytes and p-transferrin receptors in diagnosing iron-deficient erythropoiesis. *Scand J Lab Invest* 2004 ; 64 : 691-702.
 16. Daschner M, Mehls O, Schaefer F. Soluble transferrin receptor is correlated with erythropoietin sensitivity in dialysis patients. *Clin Nephrol* 1999 ; 52 : 246-252.
 17. Fishbane S, Galgano C, Langley RC Jr, Ganfield W, Maesaka JK. Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997 ; 52 : 217-222.
 18. Van Hove L, Goossens W, Van Duppen V, Verwilghen R. Reticulocyte count using thiazole orange. A flow cytometry method. *Clin Lab Haematol* 1990 ; 12 : 287-299.
 19. 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 : 912-922.
 20. Tsuchiya K, Okano H, Teramura M, Iwamoto Y, Yamashita N, Suda A, Shimada K, Nihei H, Ando M. Content of reticulocyte hemoglobin is a reliable tool for determining iron deficiency in dialysis patients. *Clin Nephrol* 2003 ; 59 : 115-123.
 21. 齊藤まどか, 土谷 健, 安藤 稔, 秋葉 隆, 二瓶 宏. 保存期腎不全患者の貧血. 網赤血球ヘモグロビン含量 (CHr)による鉄動態の評価. *日腎会誌* 2003 ; 45 : 430-438.
 22. Tycko DH, Metz MH, Epstein EA, Grinbaum A. Flowcytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration. *Appl Opt* 1985 ; 24 : 1355.
 23. Briggs C, Rogers R, Thompson B, Machin SJ. New red cell parameters on the sysmex XE-2100 as potential markers of functional iron deficiency. *Infus Ther Transfus Med* 2001 ; 28 : 256-262.
 24. Kickler TS, Borowitz MJ, Thompson RE, Charintranont N, Law R. Ret-Y a measure of reticulocyte size : a sensitive indicator of iron deficiency anemia. *Clin Lab Haematol* 2004 ; 26 : 423-427.
 25. Thomas L, Franck S, Messinger M, Linssen J, Marcus Thomé M, Thomas C. Reticulocyte hemoglobin measurement—comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med* 2005 ; 43 : 1193-1202.
 26. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002 ; 110 : 1037-1044.
 27. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, Ishikawa I. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood* 2006 ; 108 : 1381-1387.
 28. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, Taube DH, Bloom SR, Tam FW, Chapman RS, Maxwell PH, Choi P. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009 ; 75 : 976-981.
 29. Wish JB. Assessing iron status : beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006 ; (Suppl 1) : S4-S8.