

腎疾患に伴う貧血の成因と治療

新潟大学医学部第二内科学教室（主任：荒川正昭教授） 大野 康彦

The anemia associated with renal diseases: It's mechanism and treatment

Yasuhico OHNO

Department of Medicine (II), Niigata University School of Medicine

(Director: Prof. Masaaki ARAKAWA)

腎疾患，ことに慢性腎不全に伴随する貧血は古くから知られ，その成因については，腎臓の排泄機能と内分泌機能の両面から研究され，部分的には解明されつつある^{1) 2) 3)}。しかし，維持血液透析により貧血が修飾されることも明らかになり^{4) 5)}，この貧血の病態は極めて複雑である。

本稿では，慢性腎不全に伴随する貧血の成因および治療法について，著者自身の実験成績も含めて，論述する。

1. 貧血の性状

腎疾患に伴随する貧血は血中尿素またはクレアチニン濃度の上昇と共に進行し，腎機能では GFR が正常の 30% 前後になると貧血が出現する。また，腎疾患の性質そのものと貧血の度合には関連はないが，嚢胞腎の場合には貧血の程度が弱いことは有名である⁶⁾。貧血は一般に正色素性正球性貧血で，時に Burr cell や Helmet cell の出現をみることがある。網赤血球は正常かやや多い。骨髓所見は正形成ないしは低形成性と様々で，赤芽球系細胞がやや多い。しかし，顆粒球系や巨核球系は一般には障害されない。

2. 貧血の成因

この貧血は排泄機能と内分泌機能の両機能障害により惹き起される二次性貧血である。現在までにその成因として報告されている因子には，① 腎からの Erythro-

poietin (以下 Epo. と略す) 産生の比較的減少^{6) 7)}，② ヘモグロビン合成と赤芽球系前駆細胞 (以下 CFU-E および BFU-E と略す) に対する抑制因子^{8) 9) 10)}，③ 赤血球寿命の短縮，即ち溶血¹¹⁾，④ 維持血液透析による失血，即ち鉄欠乏状態および葉酸の瀦出¹²⁾ などがある。本稿ではこれらのうち①と②について概説する。

1) 腎不全における血中 Epo. について

腎性 Epo. の産生部位は *in vivo* および *in vitro* の成績により，腎の mesangial cell から直接産生されることが明らかになりつつある^{13) 14)}。慢性腎不全の赤血球産生の障害において最も重要な因子は，腎の内分泌機能の一つである Epo. の分泌障害である。慢性腎不全患者の血中 Epo. を二種類の方法で測定した。まず，多血マウスを用いた測定結果によると，血中 Epo. 活性は全く証明しえなかった，このことは，Epo. が産生されているが，その量が極めて少く，多血マウスによる測定方法での感度以下のため測定しえないか，または，赤血球産生の抑制因子の存在が示唆される。一方，radioimmunoassay を用いる測定結果によると，全例の Epo. が正常人 (即ち貧血のない場合) より高値であった¹⁵⁾。しかし，この高値の血中 Epo. 濃度は，慢性腎不全と同程度の貧血を示す鉄欠乏性貧血患者のそれよりも著しく低値である。

以上の結果より，慢性腎不全では強い hypoxia に反応し，障害された腎または腎外性 Epo.¹⁶⁾ 産生部位

から Epo. が産生され、赤血球造血を維持していると思われる。また、Epo. の多血マウスによる測定結果と radioimmunoassay による測定結果の矛盾は、慢性腎不全患者では腎の排泄機能障害により、多くの toxins が蓄積され、そのなかに赤血球造血を抑制する物質が存在すること³⁾を強く示唆している。

2) 男性(蛋白同化)ホルモンによる赤血球造血と腎外性 Epo. の産性について

慢性腎不全においては、血中 Epo. が存在し、弱いながらも赤血球造血は確実に営まれている。このことは、腎性⁶⁾または腎外性 Epo.¹⁶⁾の産生が行われていることを意味する。腎外性 Epo. 産生部位の刺激により、Epo. 産生がさらに増加するか否かを検討することは、

慢性腎不全に伴う貧血の治療に有用である。

ここでは蛋白同化ホルモンの *in vivo* および *in vitro* における erythropoiesis について述べる。

まず、*in vivo* において、多血マウスに種々の量の testosterone (以下 T と略す)、5 α -dihydrotestosterone (以下 5 α -DHT と略す)および 5 β -dihydrotestosterone (以下 5 β -DHT と略す)を筋注射し、*in vivo* での赤血球造血を検討した(図1)。その結果、5 α -DHT の赤血球造血作用が最も強く、5 β -DHT には *in vivo* の赤血球造血作用はほとんどなく、T は両者の中間であった。この蛋白同化ホルモンや男性ホルモンの赤血球造血作用については、主として Epo. 産生を介して行われることが明らかにされている。

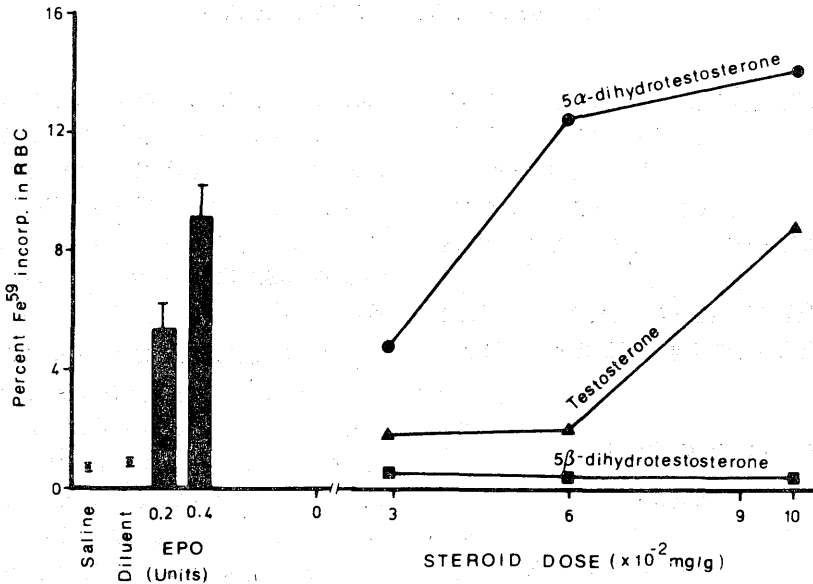


Fig. 1. Effects of testosterone, 5 α -dihydrotestosterone and 5 β -dihydrotestosterone on radioactive iron incorporation in red cells of exhypoxic polycythemic mice. Lines at the top of each bar represent SEM. (From Fisher et al: Blood cells 1: 573. Springer-Verlag, 1975)

この3種のホルモンの *in vitro* における赤血球造血作用を赤芽球前駆細胞への作用から検討した。添加するホルモンの濃度が 10^{-9} から 10^{-5} モル/ml の間で、Epo. 存在下における CFU-E の colony 形成増強作用を調べた結果によると、5 β -DHT に最も強い作用を認め、T にはわずかな作用のみ、5 α -DHT にはその作用は全く存在しなかった(図2)。BFU-E への作用も同

様であるが、5 α -DHT にもわずかに増強作用が認められた¹⁸⁾。この colony および burst 形成増強作用は、赤芽球前駆細胞への直接作用により、Epo. の存在下において赤血球造血を強めるものと思われる。以上の様に、蛋白同化ホルモンの *in vivo* と *in vitro* における赤血球造血作用には、Epo. を産生する作用と Epo. の作用を直接必要としないで、赤芽球前駆細胞に直接作用

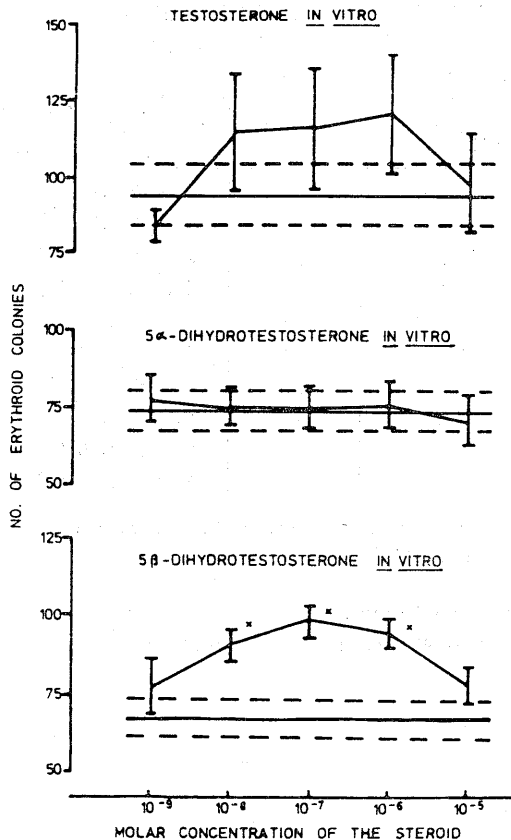


Fig. 2. Effects of testosterone, 5 α -dihydrotestosterone and 5 β -dihydrotestosterone on erythroid colony formation. Vertical lines indicate mean \pm SEM of control.

*: Significantly different from control ($p < 0.01$).

I: SEM.

(From Fisher et al. In vitro aspect of erythropoiesis. Springer-Verlag, 1978)

する2つの別々な機序が存在する。このことは蛋白同化ホルモンの臨床的利用の選択において、興味深い点である。

つぎに、蛋白同化ホルモンの腎外性 Epo. の産生について述べる。前述した如く、蛋白同化ホルモンの赤血球造血への作用のうち、一部は Epo. の産生を刺激して造血を増強する。蛋白同化ホルモンが無腎状態において、Epo. を産生させうるか否かを検討するため、両腎摘出家兎を作製した。この無腎家兎に 25mg/kg の蛋白同化ホルモンを筋注し、さらに hypoxia を惹き起す目的

で、20ml/kg の瀉血 (Hct. は20%前後になる) を行い、4日間腹膜灌流を行ってから、肝、脾、脳および筋を無菌的に採取した。Gordon らの方法¹⁹⁾ に準じて、light mitochondrial fraction (LMF と略す) を抽出し、各臓器の Epo. 活性を多血マウスを用いて測定した。その結果を表1に示した。対照群では、肝にわずかな Epo. 活性を証明した。瀉血を行った群では、肝と脾に Epo. 活性を認め、さらに蛋白同化ホルモンを投与した群では、肝にさらに強い Epo. 活性を認めた。このことは、無腎動物においては、透析中であっても、腎外性 Epo. は肝より産生されるが、強い hypoxia をおこすと、それに反応して、肝と脾より産生される。さらに、蛋白同化ホルモンにより肝での Epo. 産生が一層強められることを示唆している。最近では、腎外性 Epo. の産生場所として、肝の RES 系、即ち phagocytic mononuclear cell が最も有力視されている^{16) 20)}。

以上より、蛋白同化ホルモン(男性ホルモン)は赤芽球前駆細胞への直接作用、および無腎状態でも hypoxia という条件下で腎外性 Epo. の産生増加を惹起し、この2つの作用の協同により、慢性腎不全における赤血球造血を刺激することが期待出来る。

3) 慢性腎不全における赤血球造血抑制因子について

腎不全に伴う貧血の成因の一部が赤血球造血の抑制因子によることが報告されている^{1) 8) 10)}。慢性腎不全の血中 Epo. の頃で述べた様に、*in vivo* において尿毒症血清のなかには赤血球造血を抑制する何んらかの因子が存在することを示唆している。その存在を明らかにするため、5/6腎摘出家兎を作製し、以下の実験を行った。一方、sham operation を行った家兎を対照とした。この5/6腎摘出家兎は術後35日目までに2群に分かれた。即ち、術後血清尿素が急激に上昇し、そのまま持続し、貧血の出現する A 群と、術後血清尿素が急速に上昇し、漸次下降し、貧血が出現してくる B 群から成る。これらの2群について、血中 Epo. 活性を多血マウスで測定した。Saline control および sham operation 家兎と比較すると、A および B 群の血清には共に Epo. 活性を認めない。しかし、A 群の骨髓中の CFU-E を plasma clot 法で検討すると、sham control と比較して、有意に colony 形成が増加していた。一方、B 群では、colony 形成が減少し、14および35日目の colony 形成は有意に減少を示した。この B 群の colony 形成の減少が Epo. の産生減少のみによるか否かを明らか

Table 1 Erythropoiesis-stimulating activity of the light mitochondrial fractions from the liver, spleen, brain and muscle of peritoneally dialyzed anephric rabbits followed by bleeding and/or androgen treatment.#

Group	Source	Treatment	Bilateral nephrectomy	Hypoxia	% ⁵⁹ Fe incorporation in red blood cells (mean ± SEM*)
Control	Liver	Sesame oil	no	no	1.60 ± 0.72 (3)**
	Spleen	Sesame oil	no	no	1.23 ± 0.05 (3)
Hypoxia	Liver	Sesame oil	yes	yes	2.51 ± 0.56 (5)
	Spleen	Sesame oil	yes	yes	1.79 ± 0.52 (5)
Hypoxia and Androgen	Liver	Androgen††	yes	yes	3.77 ± 1.08 (5)
	Spleen	Androgen	yes	yes	1.07 ± 0.14 (4)
	Brain	Androgen	yes	yes	1.14 ± 0.18 (3)
	Muscle	Androgen	yes	yes	0.93 ± 0.33 (3)
Normal rabbit serum, 1ml. Saline, 2ml.					1.20 ± 0.30 (4)
					1.32 ± 0.23 (3)

#: Equal volume of light mitochondrial fraction and EDTA-water dialyzed normal rabbit serum was incubated for 60 minutes at 37°C.

*: SEM; Standard error of means.

** (): Number of assayed mouse (Exhypoxic polycythemic).

Androgen††: Total amount of 25mg of Methenolone enantate was given by 3 injections.

にするために、5/6腎摘出家兎血清を毎週無菌的に採取し、正常家兎骨髄中の CFU-E および BFU-E に及ぼす影響を検討した。各週の血清は Epo. の存在下において、CFU-E の colony 形成を抑制した。しかし、より幼若で、burst promoting activity を必要とする BFU-E からの burst colony 形成に対しては対照血清と同様に影響を与えなかった。このことは BFU-E には作用しないが、CFU-E に直接作用する物質が腎不全家兎血清中存在することを示唆している。また、uremic toxins と考えられているクレアチニン、グアニジンおよびその誘導体の CFU-E への効果を見ると、いずれの物質も CFU-E の colony 形成を抑制しなかった。一方、顆粒球・マクロファージの前駆細胞である CFU-GM への5/6腎摘出家兎血清の効果を見ると、CFU-GM の colony 形成をわずかに減少させたものの有意な抑制効果を認めなかった。

以上の様に、実験動物では erythropoiesis を特異的に抑制する因子が存在するが、ヒトの慢性腎不全においても、血中 Epo. は正常人よりも高値であるにもかかわらず(同程度の貧血患者のそれよりも著しく低い)、貧血の程度は著しく強い。この成因として、赤血球造血抑制因子の存在が報告されている。この抑制因子の有無を検討するため、慢性腎不全(非血液透析例)の血清を用いて、CFU-E への効果を検討したところ、正常血清と

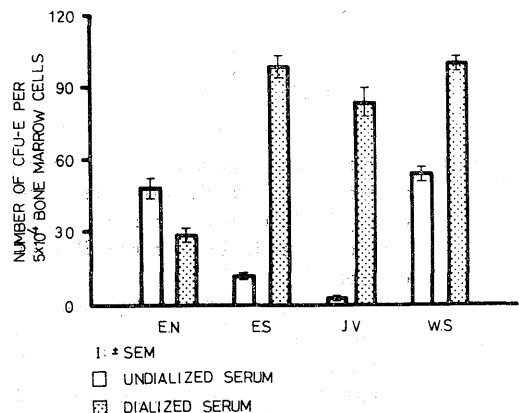


Fig. 3. Effects on erythroid colony-forming cells with undialyzed and dialyzed sera from 4 anemic uremic patients. Hemodialysis was performed for 16 weeks (3 times a week). I: SEM.

比較して、より強い CFU-E の colony 形成を抑制した²⁾。また、同一患者において、血液透析導入前および導入後16週後における血清の CFU-E への効果を図3に示した。4例中3例において、血液透析後の血清が CFU-E の colony 形成を抑制する効果の減弱が認められた。つぎに、同一患者において、非血液透析血清およ

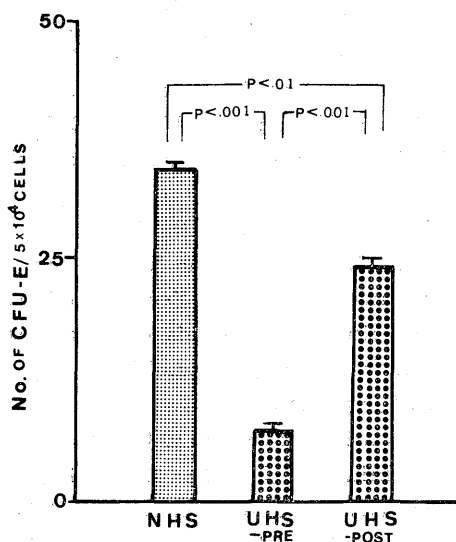


Fig. 4. Erythroid colony-forming units with serum fractions from a normal human subject and a patient before and after 16 weeks of hemodialysis.

NHS: Serum fraction (<1000 daltons) from a normal human subject.

UHS-PRE: Serum fraction (<1000 daltons) from an anemic uremic patient before hemodialysis.

UHS-POST: Serum fraction (<1000 daltons) from a same anemic uremic patient after 16 weeks hemodialysis (3 times per week). I: SEM.

び血液透析後16週後の血清を *in vitro* で、AMICON膜を用いて限外濾過を行い、1000 daltons 以下の濾液を得た。この濾液の CFU-E への効果について、正常人血清の濾液と比較すると、慢性腎不全患者血清の濾液中には、CFU-E の colony 形成を抑制する物質が存在し(図4)、これは血液透析により透析されると思われる。ヒトにおいても *in vitro* erythropoiesis を抑制する因子が存在し、その一部は分子量が 1000 daltons 以下の低分子の物質と思われる²¹⁾。最近、非透析慢性腎不全患者の血清中に蓄積する polyamine の一種の spermine などが赤血球造血を抑制するとの報告がなされた²²⁾が、この物質と前述の抑制因子が同一か否かは明らかでない。

以上述べたごとく、実験動物やヒトの成績より、慢性腎不全患者では血中に赤血球造血を抑制する物質があり、貧血の成因の一部に関与しているが、この物質は

① ヘム合成を抑制するもの、② CFU-E の colony 形成を抑制するもの、③ 分子量が 1000 daltons 以下の分子量のもの、などが考えられる。これらの物質が全て同一物質か否かについては現在では明らかでない。

3. 慢性腎不全に伴う貧血の治療

慢性腎不全に伴う貧血の治療には腎移植および Epo. の投与が最も効果的であることは疑い予知はない。特に Epo. の投与については、再生不良性貧血患者血清を大量に投与すると網赤血球分利が起り、貧血が改善することからも明らかである²³⁾。しかし、純化された Epo. を大量に入手することは困難であり、その使用はまだ実験的段階である²⁴⁾。一方、蛋白同化ホルモンおよび男性ホルモンには腎および腎外性 Epo. の産生を刺激する作用と赤芽球前駆細胞への直接作用があり、この作用は慢性腎不全に伴う貧血の改善に有効であると思われる。そこで、維持血液透析患者に蛋白同化ホルモン (methenolone enantate 200mg を週2回筋注) を15週にわたり使用し、使用前後における赤血球造血をヘモグロビン量、総赤血球量、網赤血球数、ferrokinetics (PID T/2 と % RCU) および血中 Epo. 活性などを検討した²⁵⁾。その結果、使用後の総赤血球量、ヘモグロビン量および網赤血球数は増加を示した。同時に血中 Epo. 活性は明らかに増加し、ferrokinetics の改善を伴っていた。

蛋白同化ホルモンの副作用である肝障害や男性化などは使用期間が短期間であったためか、わずかな症例に認められたが、その使用を中止するほどには至らなかった。

4. ま と め

腎疾患、特に慢性腎不全に伴う貧血の成因につき、血中 Epo., 赤芽球系前駆細胞、赤血球造血抑制因子、男性・蛋白同化ホルモンの赤血球造血作用および腎疾患に伴う貧血の治療について概説し、以下の結論を得た。

1. 慢性腎不全患者の血中 Epo. は、正常健康人のそれよりも高いが、同程度の貧血のある他の疾患々者のそれよりも極めて低い。

2. *In vivo* および *in vitro* の赤血球造血を抑制する物質が、慢性腎不全患者の血清にはいくつか存在するが、その中には分子量が 1000 daltons 以下のものが存在する。

3. *In vivo* および *in vitro* における男性・蛋白同

化ホルモンの赤血球造血作用は、腎外性 Epo. の産生を増強する。赤芽球前駆細胞にも直接作用する。慢性腎不全患者に随伴する貧血の治療には、男性・蛋白同化ホルモンの使用が極めて有効である。

稿を終えるにあたり、講演の期会を与えて下さいました新潟医学会、ならびに御指導御校閲を賜りました故木下康民名誉教授ならびに荒川正昭教授に感謝します。

参 考 文 献

- 1) **Fisher, J.W.:** Mechanism of the Anemia of Chronic Renal Failure. *Nephron* 25: 106~111, 1980.
- 2) **Summerfield, G.P. and Bellingham, A.J.:** The effects of therapeutic dialysis and renal transplantation on uraemic serum inhibitors of erythropoiesis in vitro. *Brit. J. Haematol.* 58: 295~304, 1984.
- 3) **Ohno, Y., Rege, A.B., Fisher, J.W. and Barona, J.:** Inhibitors of erythroid colony-forming cells (CFU-E and BFU-E) in sera of azotemic patients with anemia of renal disease. *J. Lab. Clin. Med.* 92: 916~923, 1978.
- 4) **Platts, M.M., Anastassiades, E., Sheriff, S., Smith, S., and Bartolo, D.C.C.:** Spleen size in chronic renal failure. *Brit. Med. J.* 289: 1415~1418, 1984.
- 5) **McGonigle, R.J.S. and Parsons, V.:** Alluminium-Induced Anemia in Haemodialysis Patients. *Nephron* 39: 1~9, 1985.
- 6) **Chandra, M., Miller, M.E., Garcia, J.F., Mossey, R.T. and McVicar, M.:** Serum Immuno-reactive Erythropoietin Levels in Patients with Polycystic Kidney Disease as Compared with Other Hemodialysis Patients. *Nephron* 39: 26~29, 1985.
- 7) **Lertora, J.J.L., Dragon, P.A., Rege, A.B., and Fisher, J.W.:** Studies on a radioimmunoassay for human erythropoietin. *J. Lab. Clin. Med.* 86: 140~151, 1975.
- 8) **Wallner, S.F., Vautrin, R.M., Kurnick, J.E. and Ward, H.P.:** The effect of serum from patients with chronic renal failure on erythroid colony growth in vitro. *J. Lab. Clin. Med.* 92: 370~375, 1978.
- 9) **Lindermann, R. and Laerum, O.D.:** Erythropoiesis Inhibiting Factor (s) (EIF). The Specificity and Toxicity of Urinary EIF studied in vivo and in vitro. *Scand J. Haematol.* 17: 293~299, 1976.
- 10) **Fisher, J.W., Modder, B.H., Foley, J.E., Ohno, Y. and Rege, A.B.:** The Role of Erythropoietin and Inhibitors of Erythropoiesis in the Mechanism of the Anemia of Renal Insufficiency. In Fisher, J.W. ed. *Kidney hormones.* vol. II, pp 551~570, 1977.
- 11) **Shaw, A.B.:** Haemolysis in Chronic Renal Failure. *Brit. Med. J.* 2: 213~216, 1967.
- 12) **Hampers, C.L., Streiff, R., Nathan, D.G., Snyder, D. and Merrill, J.P.:** Megaloblastic hematopoiesis in uremia and in patients on long-term hemodialysis. *New Engl. J. Med.*, 267: 551~554, 1967.
- 13) **Jelkmann, W., Kurtz, A. and Bauer, C.:** Extraction of Erythropoietin from Isolated Renal Glomeruli of Hypoxic Rats. *Exp. Hematol.* 11: 581~588, 1983.
- 14) **Katsuoka, Y., Beckman, B., George, W.J. and Fisher, J.W.:** Increased levels of erythropoietin in kidney extracts of rats treated with cobalt and hypoxia. *Am. J. Physiol.*, 244: F129~133, 1983.
- 15) **Rege, A.B., Brookins, J. and Fisher, J.W.:** A radioimmunoassay for erythropoietin: serum levels in normal human subjects and patients with hemopoietic disorders. *J. Lab. Clin. Med.*, 100: 829~843, 1982.
- 16) **Peschle, C., Marone, G., Genovese, A., Magli, C. and Condorelli, M.:** Hepatic Erythropoietin: Enhanced Production in Anephric Rats with Hyperplasia of Kupffer Cells. *Brit. J. Haematol.*, 32: 105~111, 1976.
- 17) **Fisher, J.W., Ohno, Y., Modder, B., Przala, F., Fink, G.D. and Gross, D.M.:** Pharmacological Agents and Erythroid Colony Formation: Effects of Beta-Adrenergic Agonists and Steroids. In Murphy, M.J.Jr.ed. *In Vitro Aspects of Erythropoiesis.*, pp. 103~117, 1978.

- 18) **Ohno, Y. and Fisher, J.W.:** Effects of androgens on burst forming units (BFU-E) in normal rabbit bone marrows. *Life science*, **22**: 2031~2036, 1978.
- 19) **Contor, L.N., Zanjani, E.D., Wong, K.K. and Gordon, A.S.:** The renal erythropoietic factor: K. Its subcellular distribution. *Pro. soc. Exp. biol. Med.*, **130**: 950~952, 1969.
- 20) **Paul, P., Weiss, T.L., Meagher, R.C. and Rothmann, S.A.:** De Novo synthesis of an erythropoietin-like molecule by isolated kupper cells. *Exp. Haemat.*, **11** (Supple): 56, 1983.
- 21) **Fisher, J.W., Ohno, Y., Barona, J., Martinez, M. and Rege, A.B.:** The Role of Serum Inhibitors of Erythroid Colony-Forming Cells in the Mechanism of the Anemia of Renal Insufficiency. In Murphy, M.J.Jr. ed. *In Vitro Aspects of Erythropoiesis.*, pp. 181~188, 1978.
- 22) **Radtke, H.W., Rege, A.B., LaMarche, M.B., Bartos, D., Bartos, F., Campbell, R.A. and Fisher, J.W.:** Identification of Spermine as an Inhibitor of Erythropoiesis in Patients with chronic Renal Failure. *J. Clin. Invest.*, **67**: 1623~1629, 1981.
- 23) **Essers, U., Müller, W. and Brunner, E.:** Zur Wirkung von Erythropoietin bei Gesunden und bei Patienten mit chronischer Urämie. *Klin. Wschr.*, **51**: 1005~1009, 1973.
- 24) **Van Stone, J.C. and Max, P.:** Effect of erythropoietin on anemia of peritoneally dialyzed anephric rats. *Kidney International*, **15**: 370~375, 1979.
- 25) 大野康彦, 森山美昭, 西野 勲, 斉藤秀晃, 木下康民: 腎性貧血の治療に関する研究 I. 血液透析患者の造血能におよぼす同化ステロイド大量投与について, *臨床血液*, **14**: 58~66, 1973.