

鉄代謝ホルモン「ヘプシジン」の 急性心筋梗塞における動態

東 村 益 孝

新潟大学大学院医歯学総合研究科血液学分野

(主任：相澤義房教授)

Serum Level of Hepcidins 25 and 20 after Myocardial Infarction

Masutaka HIGASHIMURA

Division of Hematology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Yoshifusa Aizawa)

要 旨

ヘプシジン (Hepc) は最近発見された小ペプチドホルモンで、現在までのところ鉄代謝を制御する唯一のマスター因子とされている。過剰の Hepc はその受容体であるフェロポルチンを介して消化管からの鉄吸収を阻害するとともに、血中および組織中の鉄を組織マクロファージに収容することで鉄回転を休止させる。Hepc は肝から恒常的に産生・分泌され、炎症に呼応して IL-6 依存性に分泌の亢進が起こることで慢性貧血の主な原因となり、また他の原因による貧血・低酸素血症では Hepc の分泌抑制が起こることで鉄回転が亢進し赤血球造血が促進される。有効な抗 Hepc 抗体の入手は困難であり、また ELISA 等の従来法による Hepc の測定は報告はない。われわれはプロテオミクス法による Hepc の半定量法を樹立して報告した。またラット心筋炎モデルを用いて、炎症反応性に心筋細胞から Hepc が産生されることを示した。これは既知の内分泌的 Hepc 分泌以外に、心局所における Hepc のパラクリン・システムが存在することを示唆する。そこで急性心筋梗塞患者 13 例で Hepc の血中濃度を測定することにより、実臨床での Hepc の心臓での産生における虚血応答性を検討した。採血は入院時およびその後の 2 週間において行い、Hepc の 2 種のアイソフォームである Hepc25 と Hepc20 を SELDI 法により半定量し、CPK、IL-6 等の血中濃度や、心筋梗塞からの経過時間との関連を調べた。肝における Hepc 分泌とは逆に、心筋梗塞後には虚血性の Hepc 血中濃度上昇が見られ、IL-6 濃度と相関しなかった。Hepc20 濃度は 4 日目に低下が見られた。一方の活性型アイソフォームである Hepc25 の上昇は 1 週間程度続いた。入院時の Hepc25 濃度とエリスロポエチン血中濃度の間には正の相関があり、また経過中の CPK-MB の最高値と 4 日目の Hepc25 値の間に正の相関が見られ、Hepc25 の心筋虚血に対する応答であると推測された。また 7 日目と 14 日目の測定値では、Hepc25 とヘマトクリット値の間に正の相関が見られた。心筋梗塞後の 1 週間においては

Reprint requests to: Masutaka HIGASHIMURA
First Department of Internal Medicine
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学医学部第一内科学教室 東村 益 孝

心における Hcpc の分泌が、また第2週目では肝における Hcpc の分泌が大きく影響していると推測された。心筋梗塞後早期の Hcpc の分泌は、虚血心での過剰の鉄を減少されることでフェントン反応による ROS 生成を抑制し、心筋保護的に作用するパラクリン・システムを形成している可能性が推測された。

キーワード：ヘプシジン、鉄代謝、心筋梗塞、エリスロポエチン、プロテオミクス

緒 言

エリスロポエチン (EPO) は腎から貧血/低酸素血症応答性に分泌される造血因子で、血流を介して骨髄での赤血球造血を亢進させる内分泌物質であり、腎性貧血の治療に用いられている。近年、EPO 産生および EPO 受容体 (EPOR) の発現が心血管系および中枢神経にも存在することが分かり、これら虚血に脆弱な臓器において EPO のパラクリン・システムが存在することが明らかとなった¹⁾²⁾。造血系の赤血球系前駆細胞および赤芽球においては、EPO の存在下に EPOR がホモ二量体を形成するのに対し、他の臓器では EPOR とサイトカイン受容体共通ベータ鎖 (CD131) のヘテロ二量体が形成され³⁾、いずれの場合にも Jak/stat 経路を介して細胞生存因子として作用する。

われわれは EPO の心血管系保護作用の臨床応用として、医師主導型臨床研究「心筋梗塞の急性期患者に対するエポエチンベータ投与による心機能改善効果に関する研究 (EPO/AMI Study)」を計画し、新潟大学医学部倫理委員会の承認 (受付番号 410, 平成 17 年 12 月 26 日承認) および新潟大学医歯学総合病院 医薬品・医療器械等臨床研究審査委員会 (IRB) の承認 (整理番号 NH17-025, 平成 18 年 2 月 8 日承認) のもとに臨床試験を開始した。また本研究は新潟大学を中核とした多施設共同研究で、日本大学内科学教室・昭和大学第3内科学教室・獨協医科大学内科学教室および新潟こばり病院が、各施設の委員会の承認のもとに参加した。本研究の付随研究の1つとして、ヘプシジン (Hcpc) の動態解析を目的とした後方視的観察研究を行った。

肝・心・脾は、特に過剰組織鉄に対して脆弱な

臓器であり、輸血依存性患者でしばしばヘモクロマトーシスを合併する。Hcpc は体内鉄代謝の最上流に位置する key conductor であり⁴⁾、肝臓から分泌され、十二指腸上皮および組織マクロファージに発現しているフェロポルチン 1 (Fpn/IREG1/Slc40a1/MTP1) を減少させることで細胞外鉄を低下させる⁵⁾⁶⁾。Hcpc の突然変異は若年性ヘモクロマトーシスの原因の1つである⁷⁾。心における Hcpc の役割は不明であるが、心における Hcpc の発現が低酸素や炎症によって高まるという報告がある⁸⁾。過剰な組織鉄は主にフェントン反応を介して ROS (reactive oxygen species) の生成を誘導し、組織細胞の障害の原因となるため、障害を受けた心組織においては、虚血や炎症によって障害を受け、あるいは死滅した細胞から組織に放出された過剰鉄の毒性から生存心筋を保護するために Hcpc/Fpn システムが存在することは十分に予測される。そこでわれわれは、EPO/AMI Study 登録患者の匿名化とともに保存された血清を用いて、Hcpc の動態の観察をおこなった。

対象と方法

1. 患者と測定サンプル

2006年7月から2007年2月の間に登録された連続した13例(男性11,女性2,年齢37-75才,中央値63才)について解析した。患者背景を表1に示す。患者登録の条件は、心電図でのST上昇を伴った急性心筋梗塞で、発症後24時間以内に入院し、冠動脈造影により一枝に限局した有意な冠動脈狭窄があり、ステント術によるPCIが成功した患者とした。多枝病変を有する患者、肺水腫を認めた患者、心原性ショックを呈した患者、中等度以上の腎障害(血清クレアチニン値>2.0

表 1 患者背景

項目	(単位)	
年齢	(歳)	62.4 ± 11.1
性別		男性 11/女性 2
高血圧		7/13 (53.8%)
高脂血症		4/13 (30.8%)
糖尿病		2/13 (15.4%)
症状から検査までの時間	(時間)	2.8 ± 3.0
責任病変		LAD 7/Cx 2/RCA 4
CPK 最高値	(IU/L)	3859.5 ± 2035.3
CPK-MB 最高値	(ng/mL)	410.0 ± 256.8

LAD: 左冠動脈前下降枝、Cx: 左冠動脈回旋枝、RCA: 右冠動脈、
CPK: creatine phosphokinase、CPK-MB: creatine phosphokinase myocardial band

mg/dl) を有する患者、肝障害 (血清ビリルビン値 > 3.0 mg/dl)、明らかな感染症を合併した患者、末期の疾患や癌を有する患者を除外することで、比較的均一な母集団を得ることとした。臨床研究計画に従い、患者から文書による説明と同意を得たのち、封筒法により、EPO 投与群 (6 例) と EPO 非投与群 (7 例) に無作為に割り付けられた。EPO 投与は、12,000 国際単位のエポエチンベータを 100ml の生理食塩液で希釈し、1 時間かけて 1 回のみ静脈内点滴投与した。非投与群には、EPO を含まない生理食塩液の点滴を行った。血液サンプルを、入院時およびその 4・7・14 日後に採取し、ルーチンの測定を行って余った血清を -80℃ に保存し、後日まとめて Hcpc, IL-6, EPO 等の測定に用いた。保存血清の量が十分でなかったため、鉄代謝の指標となる血清鉄やフェリチンの解析はできなかった。

2. Hcpc, IL-6 および EPO の測定

Hcpc25 および Hcpc20 の測定は既報の通り、SELDI-based ProteinChip System (CIPHERGEN

Biosystems, Fremont, CA) によるプロテオミクス法で半定量した⁹⁾。2192 m/z および 2789 m/z のピーク強度 (AU) をそれぞれ Hcpc20 および Hcpc25 とした。IL-6 の測定 (pg/ml) は、ELISA 法 (Quantikine HS, R&D Systems, Minneapolis, MN) によって行った。また EPO の測定 (mIU/ml) は同じく ELISA 法 (Roche, Basel, Switzerland) によって行った。

3. 統計解析

変数の相関関係は、Pearson の correlation coefficient と Fisher の Z-transformation test により検定した。結果は平均値と標準偏差で表し、差は $p < 0.05$ をもって有意とした。

結 果

1. 血中 Hcpc 濃度の変化

入院時の Hcpc 測定値と発症から採血までの時間の関係を図 1 に示す。発症から 3 時間以内に採血した患者の全例で Hcpc20 の上昇が見られたが、

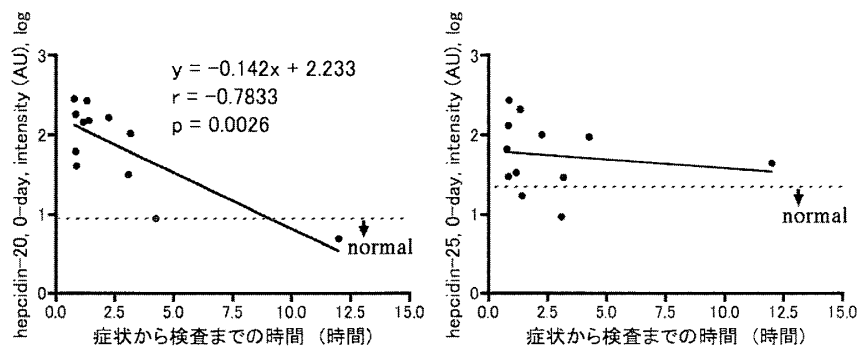


図 1 入院時のヘプシジン測定値と心筋梗塞から採血までの時間の関係

発症から 3 時間以内の症例では、全例でヘプシジン 20 値の上昇が見られたが、一部の症例ではヘプシジン 25 値の上昇が見られなかった。ヘプシジン 20 値と時間の間には強い負の相関が見られたが ($p < 0.01$)、ヘプシジン 25 値と時間の間には関連がなかった。ヘプシジン測定値 (AU) を Log で表記している。正常値：ヘプシジン 20 (< 9.3 AU) およびヘプシジン 25 (< 25.5 AU)。

Hepc25 は正常範囲内である症例が一部に見られた。測定値 (Log) と時間の関連を見ると、Hepc 20 値と時間の間に強い相関が見られ ($p < 0.01$)、Hepc20 が発症初期に上昇し、数時間単位で急速に低下することが示唆された。Hepc25 と時間の間には関連がなかった。また同時に測定した IL-6 値では、上昇例が 3 例しかなく、Hepc 測定値との相関も見られなかった。肝から分泌される Hepc は IL-6 依存性であり、血中 Hepc 値と IL-6 値がよく相関することから⁹⁾、心筋梗塞患者での Hepc は肝由来でない可能性が示唆される。入院後 14 日間の Hepc 測定値の推移を図 2 に示す。Hepc20 値は 4 日目まで有意な低下を認め、多くの症例が既に正常範囲内に達し (8/13 例)、その後も低下を続ける症例が多かった。これに対し Hepc25 値は 4 から 7 日目まで上昇する例と低下する例が混在しており、心筋障害により Hepc25 の誘導が起きていることが示唆される。

2. 血中 Hepc 濃度と他の測定値の関係

各検査値と Hepc 測定値の相関を表 2 にまとめた。いずれの測定値においても、EPO 投与群と非投与群で差がなかった。図 3 に示すように、入院

時の Hepc25 値と、同時に採血したサンプルでの EPO 濃度の間には正の相関が見られた ($p < 0.05$)。肝から分泌される Hepc は貧血によって抑制され、鉄回転を高めることで赤血球造血を亢進させ、また腎からは貧血に呼応して EPO が分泌されるため、貧血においては Hepc と EPO は逆相関する。ところが今回の解析で対象とした患者には入院時に貧血を示した患者はおらず、Hepc25 と EPO の正の相関は貧血で説明できるものではない。一方、心筋梗塞患者では血中 EPO 濃度の上昇がおこることが知られており¹⁰⁾、今回観察された結果は心筋梗塞に対して心筋保護的に両者が分泌されたと考えるのが合理的であると推測される。図 4 に示すように、経過中の CPK-MB 最大値と入院 4 日後の Hepc25 値に正の相関が見られた ($p < 0.05$)。CPK-MB 最大値と心筋梗塞の範囲や程度の間には関係があることから、4 日後の Hepc25 値は心筋梗塞によって誘導された Hepc を反映している可能性がある。図 5 に示すとおり、7 日目および 14 日目の採血で Hepc25 値とヘマトクリット値の間に正の相関が見られた ($p < 0.05$)。入院後の医療行為等により貧血が出現し、ヘマトクリット値が徐々に低下していることと関

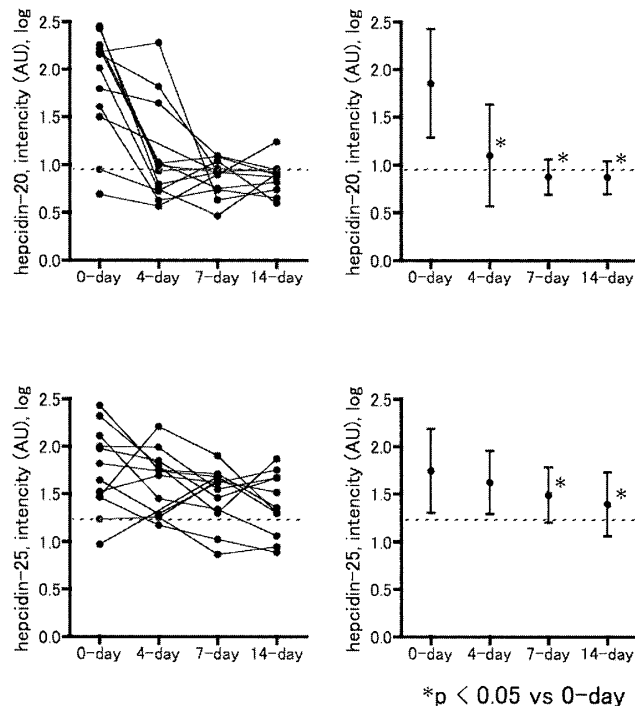


図2 入院後14日間のヘプシジン測定値の推移

ヘプシジン20値は多くの症例で4日目に低下が見られたが、ヘプシジン25値は4日目で低下している症例と上昇している症例があり、両ヘプシジンの体内動態の違いが示唆された。ヘプシジン測定値(AU)をLogで表記している。正常値：ヘプシジン20 (< 9.3 AU) およびヘプシジン25 (< 25.5 AU)。

連している可能性がある。肝からのHepcの分泌が貧血によって抑制されることから、7日目以降のHepcが肝に由来するとして矛盾しない結果である。

考 察

今回の解析から、急性心筋梗塞患者では発症初期のHepc20上昇と数日以内の低下が見られ、またHepc20に遅れてHepc25の上昇が1週間程度持続した。入院時のHepc25値は血中EPO濃度と正の相関を示し、入院4日後のHepc25値はCPK-MBの最大値と正の相関を示し、7および14日後のHepc25値はヘマトクリットと正の相関を示した。このことから、心筋梗塞患者における

血中Hepcの上昇には、急性期においては心筋虚血がかかわり、第2週目には貧血に呼応した肝での分泌制御がかかわっている可能性と、心筋梗塞では肝での分泌とは逆に虚血によってHepcの分泌が亢進する可能性が推測された。実際に我々がラットの実験的自己免疫性心筋炎モデルを用いて検討した結果では、心筋細胞それ自体がHepcを分泌することがわかった(投稿中)。一方、多数例の脳梗塞や脳出血の患者血液サンプルを測定した検討では、血中Hepc25の上昇は見られたがHepc20は全例で測定感度以下であった。中枢神経は心臓と同じく虚血に対して脆弱な臓器であるが、Hepcの代謝に違いがある可能性が示唆される(投稿準備中)。

図6にシグナル配列を含まないHepc前駆体の

表2 各検査値とヘプシジン測定値の相関

変数	Hepcidin-20, 0-day		Hepcidin-25, 0-day	
	相関	有意確率	相関	有意確率
CPK, 0-day	-0.3234	0.3052	-0.1469	0.6487
EPO, 0-day	-0.1572	0.6255	0.6743	0.0162 *
Ht, 0-day	-0.3371	0.2840	0.1163	0.7190
IL-6, 0-day	-0.4989	0.1183	0.3463	0.2968
Max-CPK	-0.1162	0.7192	0.1989	0.5354
Max-CPK-MB	-0.1055	0.7441	0.2569	0.4202
Ngal, 0-day	0.0192	0.9527	-0.3751	0.2295
症状から検査までの時間	-0.7833	0.0026 *	-0.1636	0.6115
<hr/>				
	Hepcidin-20, 4-day		Hepcidin-25, 4-day	
	相関	有意確率	相関	有意確率
EPO, 4-day	-0.1661	0.6059	0.1101	0.7334
Ht, 4-day	-0.0332	0.9183	0.5456	0.0666
IL-6, 4-day	-0.1253	0.7481	0.1501	0.6999
Max-CPK	0.0409	0.8995	0.5019	0.0964
Max-CPK-MB	-0.0730	0.8217	0.6429	0.0241 *
Ngal, 4-day	0.1732	0.6106	0.3377	0.3097
症状から検査までの時間	-0.4058	0.1906	-0.4289	0.1642
<hr/>				
	Hepcidin-20, 7-day		Hepcidin-25, 7-day	
	相関	有意確率	相関	有意確率
CPK, 7-day	0.3263	0.3005	0.1146	0.7228
EPO, 7-day	-0.2841	0.3709	-0.0729	0.8218
Ht, 7-day	0.5533	0.0620	0.6480	0.0227 *
IL-6, 7-day	-0.2677	0.4002	0.2260	0.4799
Max-CPK	0.4853	0.0928	0.2319	0.4459
Max-CPK-MB	0.5295	0.0627	0.2446	0.4206
Ngal, 7-day	-0.2170	0.4765	0.0381	0.9016
症状から検査までの時間	0.1155	0.7071	0.0829	0.7877
<hr/>				
	Hepcidin-20, 14-day		Hepcidin-25, 14-day	
	相関	有意確率	相関	有意確率
CPK, 14-day	-0.4325	0.1840	-0.0068	0.9841
EPO, 14-day	-0.3953	0.2582	-0.3380	0.3395
Ht, 14-day	0.5691	0.1098	0.7240	0.0274 *
IL-6, 14-day	-0.2185	0.5443	0.1310	0.7183
Max-CPK	0.1165	0.7330	0.2478	0.4626
Max-CPK-MB	-0.0812	0.8123	0.3454	0.2981
Ngal, 14-day	-0.0334	0.9270	0.4752	0.1651
症状から検査までの時間	0.6112	0.0457	0.4188	0.1998

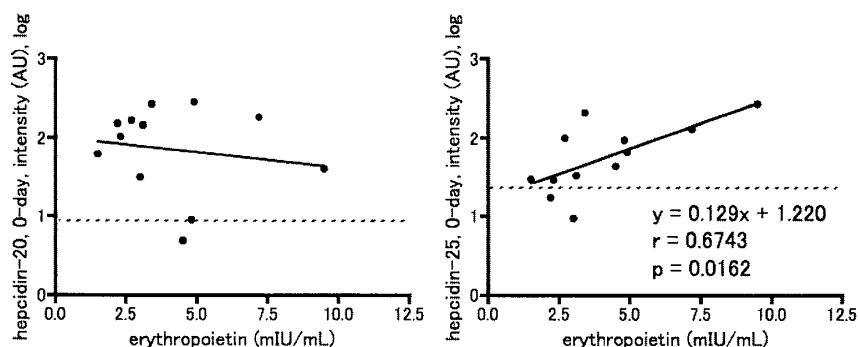


図3 入院時のヘプシジン測定値と血中エリスロポエチン値の関係

入院時（エリスロポエチン投与前）の血中エリスロポエチン値とヘプシジン 25 値の間に正の相関が見られたが（ $p < 0.05$ ），ヘプシジン 20 値との間には相関がなかった。ヘプシジン測定値（AU）を Log で表記している。正常値：ヘプシジン 20（ < 9.3 AU），ヘプシジン 25（ < 25.5 AU）およびエリスロポエチン値（ < 29 mIU/mL）。

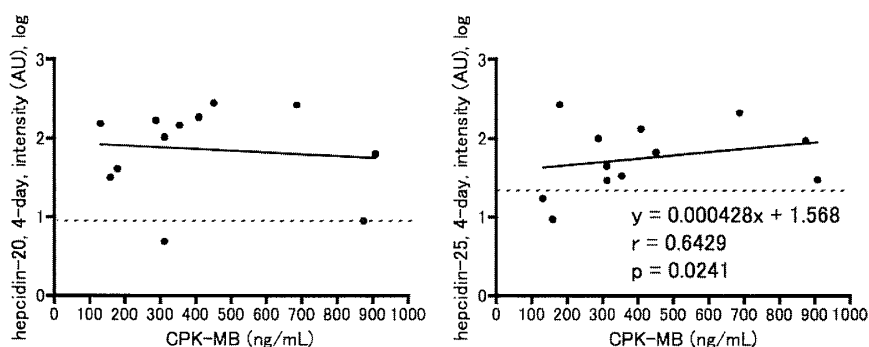


図4 入院4日後のヘプシジン測定値と全経過中のCPK-MB最高値の関係

全経過中のCPK-MB最高値と入院4日後のヘプシジン 25 値の間に弱い正の相関が見られたが（ $p < 0.05$ ），ヘプシジン 20 値との間には相関がなかった。ヘプシジン測定値（AU）を Log で表記している。正常値：ヘプシジン 20（ < 9.3 AU），ヘプシジン 25（ < 25.5 AU）およびCPK-MB値（ < 25 IU/L）。

ペプチド配列を示す。プロペプチドと Hpc25 の間に Rx5 の配列があり、この直後でセリンプロテアーゼによって切断され、Hpc25 に成熟することが推測されるが、プロペプチドの配列がインスリンの C-ペプチドと類似性が高いことから、この切断酵素が Furin であることが予測される。Hpc20 は N 末端のアミノ酸が Hpc25 より 5 つ

短く、Fpn に対する作用を持たない。このことから Hpc20 は、超急性期に組織で活性化されるなんらかの切断酵素に巻き込まれて一時的に生成された副産物であることが推測される。したがって、臓器侵襲の初期に Hpc20 が上昇し、その後に虚血応答性に Hpc25 が誘導される可能性があり、今回の研究で観察された結果をよく説明できる。

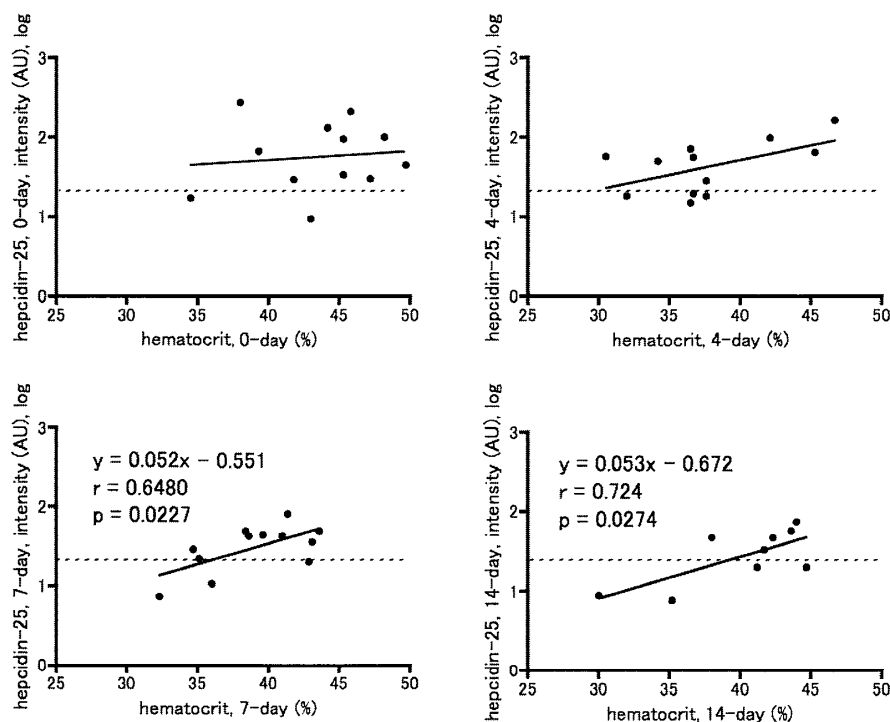


図5 入院中の各採血時におけるヘプシジン測定値とヘマトクリット値の関係

入院時および入院4, 7, 14日後のヘプシジン測定値とヘマトクリット値の関係を示す。入院後4日目までは両測定値間の相関は見られなかったが7, 14日後にはそれぞれ弱い相関が観察された ($p < 0.05$)。正常値：ヘプシジン 20 (< 9.3 AU) およびヘプシジン 25 (< 25.5 AU)。

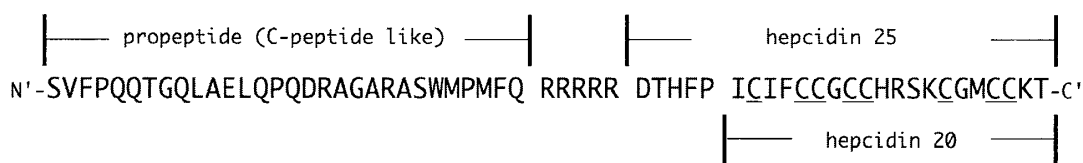


図6 ヘプシジンのペプチド配列

プロペプチドの配列は、インスリンのC-ペプチドと類似性が高い。Rx5はセリンプロテアーゼによって切断をうける配列である。Hepc20はHepc25よりN末端側のアミノ酸が5つ短い。8つのCによって4つのジスルフィド結合を形成し、とても小さく折りたたまれる。

Hepcは主に炎症や鉄の過剰に呼応して肝からの分泌が亢進する。Hepcの上昇は慢性炎症性疾患に合併する慢性貧血の原因とされ¹¹⁾¹²⁾、Hepcの発現は貧血・低酸素血症・炎症による影響を受ける¹³⁾。IL-6はHepcの産生を誘導し¹⁴⁾¹⁵⁾、実

際に Castleman 病の患者では治療目的で抗 IL-6 抗体の投与を受けた後に血中 Hepc 値の低下が観察された¹⁶⁾。今回の観察では Hepc 値が IL-6 値の影響を受けておらず、Hepc の少なくとも一部が心に由来する可能性が示唆される。

Hepc25はHepcの活性型アイソフォームで、高い生物活性を示し⁵⁾¹⁷⁾、鉄代謝を負に制御する小ペプチドホルモンである。したがって急性心筋梗塞後の数日間で観察されたHepc25の上昇は、心筋虚血に対する応答であると推測される。一方、初期に上昇し早期に低下したHepc20の生成の機序に関する報告はない。VEGFやFGF-2などの血管増殖因子の多くは恒常的に産生細胞から分泌され、細胞外マトリクスに蓄えられる。組織pHの急激な低下などの刺激ですみやかに生物活性を現し、臓器虚血に対しての迅速な対応を可能にしている。Hepcの代謝についてはほとんど分かっていないが、もしHepc前駆対が同じように細胞外マトリクスに蓄えられる性質のものであれば、組織障害の超急性期に活性化するマトリクスメタロプロテアーゼ等の何らかのペプチド分解酵素に巻き込まれて、Hepc20が一過性に生成されることの説明が可能であり、その酵素は心臓で発現し、かつ中枢神経にはないものであろう。もしそうであれば、図1から推測されるHepc20の半減期は数時間である。

HepcはFpnのinternalizationを介して、細胞外から余剰の鉄を取り除く。全身の低酸素血症は肝からのHepc分泌を減少させるが、逆に心筋虚血ではHepcの誘導が見られた。Fpnは十二指腸上皮の血管側、肝のKupffer細胞、腎の糸球体と近位尿細管、および心筋の紡錘状細胞に発現している¹⁸⁾。興味深いことに、高度の低酸素に暴露されたヒトの骨格筋では、Fpnの発現上昇とともに細胞内鉄・L-フェリチンおよびトランスフェリン受容体1の並行的な減少が観察された¹⁹⁾。彼らによれば、虚血におちいった骨格筋は生存のために細胞内鉄濃度を保とうとすると予測したのに、逆の結果であったと考察している。もし心筋が低酸素に呼応して骨格筋と同じ振る舞いをするのなら、心臓の網内系細胞がHepcの標的であろうか？いずれにせよ過剰の鉄はROSを誘導し、心筋障害に対する感受性を高めるであろうから²⁰⁾、Hepcは心筋を虚血等の障害から保護する作用があると思われる。

謝 辞

本研究においてご指導を賜りました第一内科学教室講師 鳥羽健先生、同助教 加藤公則先生、金沢医科大学付置研究所教授 友杉直久先生、および昭和大学藤が丘病院 鈴木洋先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) Tramontano AF, Muniyappa R, Black AD, Blendea MC, Cohen I, Deng L, Sowers JR, Cutaita MV and El-Sherif N: Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 308: 990-994, 2003.
- 2) Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, Itri LM and Cerami A: Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 97: 10526-10531, 2000.
- 3) Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, Sfacteria A, Ghezzi P, Fratelli M, Latini R, Xie QW, Smart J, Su-Rick CJ, Pobre E, Diaz D, Gomez D, Hand C, Coleman T and Cerami A: Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 14907-14912, 2004.
- 4) Ganz T: Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 102: 783-788, 2003.
- 5) Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D and Ganz T: Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*. 106: 2196-2199, 2005.
- 6) Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC and Zon LI: Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 403: 776-781, 2000.
- 7) Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D and

- Camaschella C: Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 33: 21 - 22, 2003.
- 8) Merle U, Fein E, Gehrke SG, Stremmel W and Kulaksiz H: The iron regulatory peptide hepcidin is expressed in the heart and regulated by hypoxia and inflammation. *Endocrinology* 148: 2663 - 2668, 2007.
- 9) Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H and Ishikawa I: Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood* 108: 1381 - 1387, 2006.
- 10) Ferrario M, Massa M, Rosti V, Campanelli R, Ferlini M, Marinoni B, De Ferrari GM, Meli V, De Amici M, Repetto A, Verri A, Bramucci E and Tavazzi L: Early haemoglobin - independent increase of plasma erythropoietin levels in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 28: 1805 - 1813, 2007.
- 11) Weiss G and Goodnough LT: Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 352: 1011 - 1023, 2005.
- 12) Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A and Ganz T: Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute - phase protein. *Blood* 101: 2461 - 2463, 2003.
- 13) Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A and Vaulont S: The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 110: 1037 - 1044, 2002.
- 14) Andrews NC: Anemia of inflammation: the cytokine - hepcidin link. *J Clin Invest* 113: 1251 - 1253, 2004.
- 15) Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK and Ganz T: IL - 6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 113: 1271 - 1276, 2004.
- 16) Kawabata H, Tomosugi N, Kanda J, Tanaka Y, Yoshizaki K and Uchiyama T: Anti - interleukin 6 receptor antibody tocilizumab reduces the level of serum hepcidin in patients with multicentric Castleman's disease. *Haematologica* 92: 857 - 865, 2007.
- 17) Park CH, Valore EV, Waring AJ and Ganz T: Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 276: 7806 - 7810, 2001.
- 18) Abboud S and Haile DJ: A novel mammalian iron - regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 275: 19906 - 19912, 2000.
- 19) Robach P, Cairo G, Gelfi C, Bernuzzi F, Pilegaard H, Viganò A, Santambrogio P, Cerretelli P, Calbet JA, Moutereau S and Lundby C: Strong iron demand during hypoxia - induced erythropoiesis is associated with down - regulation of iron - related proteins and myoglobin in human skeletal muscle. *Blood* 109: 4724 - 4731, 2007.
- 20) Turoczy T, Jun L, Cordis G, Morris JE, Maulik N, Stevens RG and Das DK: HFE mutation and dietary iron content interact to increase ischemia/ reperfusion injury of the heart in mice. *Circ Res* 92: 1240 - 1246, 2003.

(平成19年12月19日受付)