博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏　　名	鈴木　友康
学　　位	博士（医学）
学位記番号	新大院博（医）第597号
学位授与の日付	平成26年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Inappropriate expression of hepcidin by liver congestion contributes to anemia and relative iron deficiency （肝うっ血による不適切なヘプシジンの発現は貧血及び相対的鉄欠乏の一因となる）
論文審査委員	主査　教授　　土田　正則 副査　准教授　野本　実 副査　教授　　南野　徹

博士論文の要旨

（背景と目的）心不全では、重症になるにつれて高頻度に貧血を合併し、貧血は予後規定因子となることが知られている。その成因として、様々な機序が考えられているが、相対的鉄欠乏がその一因であることが示唆されている。近年、ヘプシジンは、鉄代謝の中心的役割を演じるホルモンとして注目されている。ヘプシジンは主に肝臓で合成され、鉄の輸送体であるフェロポルチン１の発現を抑制し、腸管からの鉄の吸収や貯蔵鉄の血中への放出を阻害し、血清鉄を減少させることが知られている。炎症で産生されるIL-6や鉄濃度に依存するBMP-6によってヘプシジンの発現は誘導され血清鉄は減少するが、一方、貧血や鉄欠乏時にはヘプシジンの発現は著明に抑制され、血清鉄は増加し骨髄への鉄の移動が促進される。ヘプシジンは、様々な疾患で貧血や鉄過剰に関与することが解明されつつあるが、心不全の貧血とヘプシジンの関与はほとんどわかっていない。ところで、心不全患者における最も典型的な肝臓の組織所見は肝うっ血である。よって、肝うっ血によってヘプシジンの発現が影響をうけ、心不全の貧血を引き起こす可能性が想定されるが、今までにそれらについては全く検討されていない。申請者はラットの肝うっ血モデルを作成し、慢性心不全でしばしばみられる肝うっ血による貧血発症の可能性およびその特徴、ヘプシジンとの関わりとその発現の機序について検討した。

（方法）ラットの肝静脈と合流直後の下大静脈を狭窄させ肝うっ血モデルを作成し、4 日後、7 日後、28 日後、42 日後、84 日後に検血、血清鉄、ヘプシジン血中濃度などを測定し、同時に肝臓のヘプシジンやその誘導因子であるIL-6、BMP-6の遺伝子発現を定量的RT-PCRにて測定し、肝臓、脾臓、骨髄の病理所見と併せて、瀉血、溶血による貧血モデルと比較検討した。また肝臓からの培養細胞およびToll様受容体4（TLR4）ノックアウトマウスからのMφの培養細胞を用い、ヘプシジン発現の機序についても検討した。

（結果）瀉血、溶血モデルでは、貧血に伴い急激な肝臓のヘプシジンの発現抑制がみられ、血清鉄やトランスフェリン飽和度の低下はみられなかった。一方、肝うっ血モデルではSham手術と比較し、常に貧血が高度でトランスフェリン飽和度が低く、それにもかかわらずヘプシジンの発現低下がみられず、慢性期には小球性低色素性貧血がみられた。肝うっ血モデルでは、肝臓および脾臓で鉄染色陽性のヘモジデリン

を蓄積した細胞がみられたが、骨髄ではほとんどみられず、以上のことから、うっ血モデルの肝臓では、貧血や鉄欠乏時に本来みられるべきヘプシジンの低下がおこらず、不適切なヘプシジンの発現亢進による鉄の利用障害が貧血の成因となりうることが考えられた。ヘプシジンの不適切な過剰発現の機序としては、一つは肝細胞内の鉄濃度の亢進によるBMP-6の発現亢進、もう一つは、IL-6の発現亢進が考えられた。IL-6の発現亢進の機序であるが、肝臓から培養したMφ、線維芽細胞にヘモグロビンを直接添加するとIL-6は発現が亢進し、TLR4ノックアウトマウスの培養Mφでは、その反応が抑えられることから、肝臓内のクッパー細胞や星細胞のヘモグロビンやヘムによるTLR4を介したIL-6の発現亢進の機序が想定された

（考察）今回の研究の結果、肝うっ血時には不適切なヘプシジン発現のため肝臓や脾臓からの骨髄への鉄の移行が抑制され、鉄の利用障害がおこり、相対的鉄欠乏の持続により慢性的な貧血が引き起こされることが考えられた。心不全に合併する貧血には様々な要因が考えられるが、このような要因も重要ではないかと考えられる。重症な貧血がある慢性心不全症例のヘプシジン血中濃度の解釈であるが、明らかな上昇がなくとも、本来みられるべき減少がない場合には、不適切な過剰発現を考えるべきではないかと我々は考えている。臨床的な高度肝うっ血は、肺高血圧や重症三尖弁閉鎖不全などの右心不全症例で認められ、今までは静脈圧の上昇による消化管出血や溶血が原因と考えられていた。しかし、申請者らは、肝うっ血によるヘプシジンの不適切な発現が、このような症例の貧血や相対的鉄欠乏の一因ではないかと考えている。

（結論）心不全で貧血を合併することはよく知られているが、肝うっ血によりBMP-6、IL-6が肝臓で発現が亢進し、本来みられるべきペプシジンの低下を抑制するために貧血、相対的鉄欠乏が引き起こされる可能性が考えられた。

審査結果の要旨

心不全では高頻度に貧血を合併することが知られている。ヘプシジンは主に肝臓で合成され、鉄の輸送体であるフェロポルチン１の発現を抑制し、腸管からの鉄の吸収や貯蔵鉄の血中への放出を阻害し、血清鉄を減少させる。申請者はラットの肝うっ血モデルを作成し、慢性心不全でしばしばみられる肝うっ血による貧血発症の可能性およびその特徴、ヘプシジンとの関わりとその発現の機序について検討した。

肝うっ血モデルでは貧血が高度でトランスフェリン飽和度が低く、それにもかかわらずヘプシジンの発現低下がみられず、慢性期には小球性低色素性貧血がみられた。肝臓では、貧血や鉄欠乏時に本来みられるべきヘプシジンの低下がおこらず、不適切なヘプシジン発現のため肝臓や脾臓からの骨髄への鉄の移行が抑制され、鉄の利用障害がおこり、相対的鉄欠乏の持続により慢性的な貧血が引き起こされると考察している。ヘプシジンの不適切な過剰発現の機序としては、肝細胞内の鉄濃度の亢進によるBMP-6の発現亢進、IL-6の発現亢進があることを培養実験で証明した。これまで心不全の貧血とヘプシジンの関与はほとんどわかっていなかったが、肝うっ血による不適切なヘプシジンの発現が貧血及び相対的鉄欠乏の一因となる可能性を示しており、この点で学位論文としての価値を認める。