

만성 신질환 환자에서 혈청 Hpcidin 농도와 철대사 지표의 상관성 평가

Hepcidin Level and Iron Parameters in Patients with Chronic Kidney Disease

서자영* · 송영희^{1,2*} · 박미정¹ · 김문진¹ · 서일혜¹ · 안정열¹ · 김경희¹ · 정지훈¹ · 정우경³ · 박필환¹

Ja Young Seo, M.D.¹, Young Hee Song, M.D.^{1,2}, Mi-Jung Park, M.D.¹, Moon Jin Kim, M.D.¹, Yiel-Hea Seo, M.D.¹, Jeong-Yeal Ahn, M.D.¹, Kyung-Hee Kim, M.D.¹, Ji-Hun Jeong, M.D.¹, Wookyung Chung, M.D.³, Pil-Whan Park, M.D.¹

가천대학교 길병원 진단검사의학과¹, 성민병원 진단검사의학과², 가천대학교 길병원 신장내과³

Department of Laboratory Medicine¹, Gachon University Gil Medical Center, Incheon; Department of Laboratory Medicine², SungMin Hospital, Incheon; Division of Nephrology, Department of Internal Medicine³, Gachon University Gil Medical Center, Incheon, Korea

Background: Hepcidin, a key regulator of iron homeostasis, is associated with iron metabolism imbalance in patients with chronic kidney disease (CKD). However, serum hepcidin level in anemic patients with CKD presents a contradictory picture. We investigated the relationship between serum hepcidin-25 level and iron parameters in patients with CKD.

Methods: We defined and categorized patients with CKD according to the Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) guidelines. We analyzed the relationship between serum hepcidin-25 level and iron parameters [serum iron, total iron-binding capacity (TIBC), unbound iron-binding capacity (UIBC), transferrin saturation, and ferritin levels] according to the CKD stage and clinical and laboratory characteristics.

Results: Hb level, TIBC, and UIBC decreased and ferritin level increased ($P_{trend} < 0.001$) (stage 1-2, 28; stage 3, 40; stage 4, 36; stage 5, 42) as the CKD stage progressed. Serum hepcidin-25 level showed no significant trend with the progressing CKD stage [stage 1-2, 13.7 (3.7-25.0) ng/mL; stage 3, 14.0 (0.8-26.5) ng/mL; stage 4, 13.9 (2.0-32.1) ng/mL; stage 5, 13.8 (0.5-42.4) ng/mL; $P_{trend} = 0.618$]. No significant relationship was noted between serum hepcidin-25 level and kidney function parameters, Hb levels, or iron parameters ($P > 0.05$).

Conclusions: Serum hepcidin-25 level was not found to be associated with iron parameters or clinical status of CKD patients in our study. Determination of hepcidin-25 levels may not provide more information than conventional iron parameters in monitoring iron metabolism in CKD patients. However, further studies are needed to establish the clinical utility of hepcidin measurement in CKD patients.

Key Words: Hepcidin-25, Chronic kidney disease, Anemia, Iron metabolism

서론

Hepcidin (hepatic bactericidal protein)은 체내 철 균형 유지에 중추적 작용을 하는 펩타이드 호르몬이다[1]. Hepcidin은 *Hamp*

Corresponding author: Pil-Whan Park

Department of Laboratory Medicine, Gachon University Gil Medical Center,
21 Namdongdae-ro 774beon-gil, Namdong-gu, Incheon 405-760, Korea
Tel: +82-32-460-3834, Fax: +82-32-460-3415, E-mail: pwpark@gilhospital.com

Received: October 21, 2014

Revision received: December 24, 2014

Accepted: January 27, 2015

*These authors contributed equally to the study.

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2015, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

유전자(MIM *606464)에 의해 만들어지며, 간세포에서 84개의 아미노산으로 구성된 preprohepcidin의 형태로 합성된 후 효소 절단 작용을 통해 60개의 아미노산으로 구성된 prohepcidin을 거쳐 최종적으로 생화학적 활성을 가지는 hepcidin-25가 된다[2].

Hepcidin은 대식세포와 십이지장세포의 세포막 철운반체인 ferroportin에 결합하여 세포 내 철이 혈청으로 이동하는 것을 차단함으로써 철대사를 조절한다[3]. Hepcidin 발현은 체내 철 농도와 적혈구 조혈 요구량에 의해 조절되는데, 철 농도가 높아지면 hepcidin 발현이 증가되고, 빈혈과 저산소증 상태에서는 hepcidin 발현이 감소된다[3, 4]. 철결핍성 빈혈은 hepcidin이 감소하는 대표적인 질환이다. 감염과 염증은 hepcidin 발현을 증가시키며, 특히 interleukin-6 (IL-6)와 tumor necrosis factor α (TNF- α)와 같은 염증성 사이토카인은 강력한 hepcidin 발현 촉진 인자로 알려져 있다[5]. 따라서 감염이나 염증 등에 의해 hepcidin이 과발현되는 상황에서 생체 내 철 가용성이 낮아지는 것이 만성 질환에 의한 빈혈의

기전으로 제시되었다.

만성 신질환 환자에서 발생하는 빈혈은 전신적 염증 상태에 따른 hepcidin 발현 증가와 그에 따른 철 가용성의 감소, 신실효 소실로 인한 적혈구조혈인자(erythropoietin, EPO) 생성 감소 등이 주된 기전으로 생각된다. Niihata와 Uehata 등은 투석을 받지 않는 만성 신질환 환자에서 hepcidin 농도는 혈색소 수치와 음의 상관 관계를 보이며, 혈청 hepcidin 농도가 빈혈 발생의 주요한 예측 인자임을 보고하였다[6, 7]. 만성 신질환 환자의 빈혈 치료는 적혈구생성자극제(erythropoiesis stimulating agent, ESA)와 경구 또는 정맥용 철분 제제를 통한 철분 보충으로 이루어진다. 그러나 일부 환자는 충분한 철분 보충에도 불구하고 ESA 치료에 저항성을 보이는데, hepcidin 농도 증가에 의해 저장철의 가용성 감소가 그 기전으로 추정되고 있다[8-10]. ESA 치료의 효과를 최대화하기 위해서는 환자의 철대사 상태에 대한 감시가 필수적이다. 철대사 상태를 평가하기 위해 혈청철, 페리틴, 트랜스페린 포화도 등의 지표가 사용되고 있으나, 이러한 지표들은 만성 신질환 환자에서 저장철과 실제로 적혈구 조혈에 사용될 수 있는 가용철의 상태를 정확하게 반영하지 못하는 제한점이 있다. 따라서 만성 신질환 환자에서 철대사를 조절하는 호르몬인 hepcidin 측정의 중요성이 강조되고 있다.

본 연구에서는 한국인 만성 신질환 환자를 대상으로 혈청 hepcidin-25 농도와 철대사 지표들과의 상관성을 분석함으로써 기존 문헌의 보고와 비교하고, 혈청 hepcidin 농도 측정의 임상적 유용성을 검토하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자 및 검체

본 연구에서 만성 신질환의 정의와 단계는 National Kidney Foundation의 Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI)의 가이드라인을 따랐다[11, 12]. 만성 신질환은 원인과 무관하게 신장 손상 또는 신기능 저하가 3개월 이상 지속되는 상태로 정의되었다. 신장 손상 여부는 조직 검사나 요침사 검사상 이상 소견 또는 알부민 배설 증가 등으로 판정하였다. 신기능 저하는 사구체 여과율 추정치(estimated glomerular filtration rate, eGFR)의 감소로 판정하였으며, eGFR은 Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) 공식을 이용하여 계산하였다[13].

2014년 1월부터 2월까지 길병원 신장내과, 내분비내과, 류마티스내과에 내원한 외래 환자를 대상으로 외래 당일 측정된 혈청 크레아티닌 농도와 소변 검사 결과, 전혈구검사 결과 및 기타 혈청 화학 검사 결과를 조사하여 대상 환자를 모집하였다. 만성 신질환이 의심되는 환자에 대해서는 의무 기록과 조직 검사 소견을 검색하여 신질환의 원인과 신장 손상의 조직학적 증거를 확인하였다. 만성

신질환으로 확인된 환자는 당일의 혈청 크레아티닌 결과로 eGFR을 계산하여 병기를 결정하였다. 추가 검사를 위해 외래 당일 크레아티닌을 측정된 혈청의 잔여 검체를 초저온 냉동고에서 -70°C에 보관하였다. 또한, 만성 신질환의 각 단계별로 최소 30명 이상의 잔여 혈청 검체를 확보하고, 대조군으로 사용하기 위해 혈청 크레아티닌 농도, 전혈구검사, 소변검사 결과가 모두 정상 범위에 있는 건강 검진 수진자 30명의 검체를 수집하였다. 본 연구는 가천대학교 길병원의 기관윤리사무국에 의해 승인되었다.

2. 철대사 지표와 혈청 hepcidin-25 농도 측정

냉동 보관된 잔여 혈청 검체를 이용하여 혈청철, 총철결합능, 페리틴 농도를 측정하였다. 혈청철, 총철결합능은 ADVIA 2400 자동 화학분석기(Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., NY, USA)로 측정하였으며, 불포화철결합능은 총철결합능에서 혈청철 농도를 뺀 값으로, 트랜스페린 포화도는 혈청철 농도를 총철결합능으로 나눈 후 100을 곱하여 계산하였다. 페리틴은 ADVIA Centaur CP (Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., NY, USA)를 이용하여 측정하였다.

혈청 hepcidin-25 농도는 Human Heparin-25 (HEPC25) ELISA Kit (MyBioSource, San Diego, CA, USA)를 이용하여 측정하였으며, 검출 한계는 552 pg/mL, 분석 범위는 10-4,000 pg/mL였다. 환자 검체는 검체 희석액을 이용하여 40배수로 희석하였으며, 자동 효소면역검사장비인 CODA (Bio-Rad Laboratories, CA, USA)를 이용하여 제조사 지침에 따라 시행하였다.

3. 통계 분석

대상 환자군의 특성은 표준 기술 통계를 통해 제시되었다. 연속 변수의 비교에는 Mann-Whitney U test를 이용하였고, 빈도 변수의 비교에는 chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용하였다. 연속 변수는 정규분포를 하는 경우에는 평균(표준편차)으로, 비정규 분포의 경우에는 중앙값(범위)으로 제시하였고, *P*값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 만성 신질환 단계별 검사 지표의 추세를 확인하기 위해 Jonckheere-Terpstra trend test와 Cochran-Armitage test를 시행하였고, STATA Trial version 13 (STATA Corp, College Station, TX, USA)을 이용하였다. 그 외에 다른 변수의 분석에는 MedCalc statistical software, version 11.5.1 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium)을 사용하였다.

결 과

1. 대상 환자

만성 신질환 환자 총 146명이 연구에 포함되었으며, 만성 신질환의 단계별로는 1단계와 2단계를 합하여 28명, 3단계 40명, 4단계 36

명, 5단계 42명이었다. 1단계와 2단계의 경우 신질환의 진료를 목적으로 내원한 환자의 절대 수가 적었기 때문에 1단계와 2단계의 환자는 통합하여 분석하였다. 각 단계별 만성 신질환 환자군의 임상적 특징과 검사 소견은 Table 1에 기술되었다. 신질환 1, 2단계에서는 만성 사구체 신염 환자의 빈도가 높고, 단계가 높아질수록 만성 신질환의 주된 원인은 당뇨와 고혈압으로 나타났다. 만성 신질환 단계가 상승함에 따라 경구용 철분 제제와 ESA를 투약하는 환자의 비율이 증가하였다.

2. 혈액학적 검사 소견

1, 2단계 환자와 비교했을 때 3단계 이상의 만성 신질환 환자에서는 혈색소 수치가 유의하게 낮았다($P_{trend} < 0.001$). 만성 신질환 3단계와 4단계 환자의 혈색소 수치는 유의한 차이를 보였으나(12.1 g/dL vs. 11.3 g/dL, $P = 0.029$), 4단계와 5단계 사이에는 의미있는 차이가 관찰되지 않았다(11.3 g/dL vs. 11.0 g/dL, $P = 0.431$).

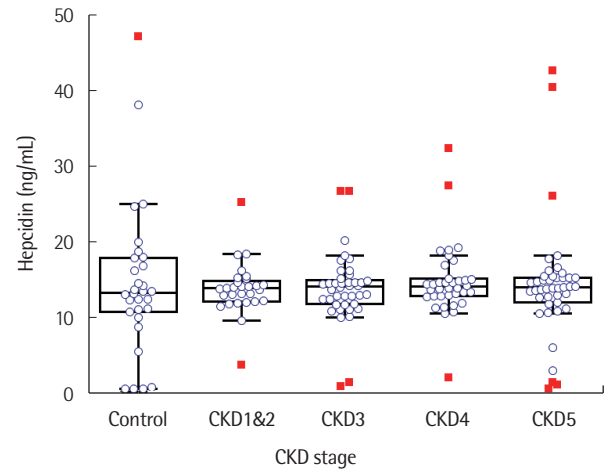


Fig. 1. Levels of serum hepcidin-25 in patients with chronic kidney disease and control population. CKD, chronic kidney disease.

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of 146 patients with chronic kidney disease

| | Stage 1-2 (n=28) | Stage 3 (n=40) | Stage 4 (n=36) | Stage 5 (n=42) | P_{trend} |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------|
| Age (yr) | 48.3 (14.1) | 58.5 (11.4) | 64.8 (11.5) | 56.7 (14.7) | 0.003 |
| Female (%) | 57.1 | 45 | 55.6 | 52.4 | 0.877 |
| Causes of CKD (%) | | | | | |
| Chronic GN | 60.7 | 27.5 | 11.1 | 7.3 | <0.001 |
| Diabetic nephropathy | 21.4 | 40 | 58.3 | 50 | <0.001 |
| Hypertension | 7.1 | 12.5 | 16.7 | 23.8 | 0.033 |
| Connective tissue disease | 3.6 | 7.5 | 0 | 7.1 | 0.798 |
| Polycystic kidney disease | 0 | 2.5 | 5.6 | 7.1 | 0.112 |
| Unknown | 7.1 | 10 | 5.6 | 2.4 | 0.399 |
| Other | 0 | 0 | 2.7 | 2.4 | 0.283 |
| Medication (%) | | | | | |
| ESA | 0 | 12 | 22.2 | 53.0 | <0.001 |
| Oral iron supplements | 7.1 | 25 | 41.7 | 64.3 | <0.001 |
| ACE inhibitor/ARB | 78.6 | 80 | 80.6 | 71.4 | <0.001 |
| Statins | 42.9 | 55 | 55.0 | 31.0 | 0.044 |
| Dialysis | | | | | |
| Hemodialysis | N/A | N/A | N/A | 11.9 | <0.001 |
| Peritoneal dialysis | N/A | N/A | N/A | 47.6 | |
| BUN (mg/dL) | 16.8 (4.4) | 29.8 (10.4) | 41.2 (13.1) | 60.5 (19.9) | <0.001 |
| Cr (mg/dL) | 0.9 (0.2) | 1.6 (0.3) | 2.7 (0.7) | 8.3 (4.3) | <0.001 |
| eGFR (mL/min/1.73m ²) | 87.4 (23.5) | 40.3 (9.2) | 21.6 (4.4) | 7.8 (4.1) | <0.001 |
| Hb (g/dL) | 14.0 (1.8) | 12.2 (1.9) | 11.2 (1.4) | 11.0 (1.4) | <0.001 |
| Iron (μg/dL) | 107.5 (48.8) | 86.6 (43.4) | 79.4 (31.0) | 91.2 (39.1) | 0.124 |
| TIBC (μg/dL) | 323.5 (36.1) | 306.8 (53.8) | 271.0 (47.8) | 256.9 (41.7) | <0.001 |
| UIBC (μg/dL) | 216.0 (45.6) | 220.3 (59.3) | 191.7 (48.7) | 165.7 (55.8) | <0.001 |
| TSAT (%) | 28.5 (11.8-65.0) | 24.4 (7.2-79.2) | 27.3 (12.0-79.9) | 33.6 (8.6-106.9) | 0.473 |
| Ferritin (ng/mL) | 73.4 (17.6-394.8) | 93.5 (7.7-1,387.6) | 97.8 (13.6-1,661.3) | 228.0 (21-1,044.8) | <0.001 |
| Hepcidin-25 (ng/mL) | 13.7 (3.7-25.0) | 14.0 (0.8-26.5) | 13.9 (2.0-32.1) | 13.8 (0.5-42.4) | 0.618 |

Abbreviations: CKD, chronic kidney disease; GN, glomerulonephritis; ESA, erythropoiesis stimulating agent; ACE, angiotensin converting enzyme; ARB, angiotensin receptor blocker; BUN, blood urea nitrogen; Cr, creatinine; eGFR, estimated glomerular filtration rate; Hb, hemoglobin; TIBC, total iron binding capacity; UIBC, unsaturated iron binding capacity; TSAT, transferrin saturation; N/A, not applicable.

3. 철대사 지표와 혈청 hepcidin-25 농도의 상관 관계

단계별 만성 신질환 환자군에서 측정한 혈청철, 총철결합능, 불포화철결합능, 트랜스페린 포화도, 페리틴 결과는 Table 1에 제시되었다. 혈청철 농도는 각 환자군별로 유의한 차이를 보이지 않았으나, 총철결합능($P_{trend} < 0.001$)과 불포화철결합능($P_{trend} < 0.001$)은 만성 신질환의 단계가 상승할수록 감소하는 경향을 나타냈다. 트랜스페린 포화도는 만성 신질환의 단계에 따른 상승이나 감소 추세가 관찰되지 않았다. 페리틴 농도는 만성 신질환의 단계가 상승할수록 증가하는 추세를 보였다($P_{trend} < 0.001$). 그러나 혈청 hepci-

din-25 농도는 만성 신질환의 단계에 따른 유의한 차이가 관찰되지 않았다($P_{trend} = 0.618$, Table 1, Fig. 1). 또한, 만성 신질환의 각 단계 및 전체 환자군에서 신기능 지표, 혈색소, 철대사 지표와 hepcidin-25 농도 사이에 유의한 상관 관계는 관찰되지 않았다(Table 2, Fig. 2).

환자군의 임상적 특성에 따른 지표들의 상관 관계를 확인하기 위해 빈혈 유무, 혈청 페리틴 농도에 따라 환자군을 분류하여 분석을 시행하였다. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)의 가이드라인에 따라 남자에서 혈색소 수치 13.0 g/dL,

Table 2. Correlation of serum hepcidin-25 levels with biochemical variables in patients with chronic kidney disease

| | All patient group (n=146) | | CKD1&2 (n=28) | | CKD3 (n=40) | | CKD4 (n=36) | | CKD5 (n=42) | |
|----------|---------------------------|-------|---------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|
| | r | P | r | P | r | P | r | P | r | P |
| Cr | -0.014 | 0.863 | -0.013 | 0.949 | -0.140 | 0.388 | 0.102 | 0.553 | -0.072 | 0.651 |
| BUN | -0.067 | 0.431 | 0.187 | 0.340 | -0.204 | 0.129 | -0.273 | 0.107 | -0.093 | 0.558 |
| eGFR | -0.044 | 0.601 | -0.150 | 0.446 | 0.177 | 0.274 | -0.277 | 0.103 | 0.102 | 0.522 |
| Iron | -0.011 | 0.896 | 0.175 | 0.372 | -0.140 | 0.388 | -0.222 | 0.193 | 0.116 | 0.466 |
| TIBC | -0.063 | 0.447 | -0.059 | 0.765 | 0.053 | 0.746 | -0.179 | 0.297 | -0.037 | 0.819 |
| UIBC | -0.036 | 0.670 | -0.235 | 0.229 | 0.151 | 0.353 | -0.034 | 0.844 | -0.108 | 0.495 |
| TSAT | 0.021 | 0.803 | 0.207 | 0.290 | -0.154 | 0.343 | -0.135 | 0.433 | 0.101 | 0.524 |
| Ferritin | -0.085 | 0.307 | 0.017 | 0.933 | -0.337 | 0.034 | -0.008 | 0.966 | -0.053 | 0.741 |
| Hb | 0.068 | 0.414 | 0.199 | 0.310 | -0.075 | 0.644 | 0.091 | 0.596 | 0.262 | 0.093 |

Abbreviations: CKD, chronic kidney disease; Cr, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate; TIBC, total iron binding capacity; UIBC, unsaturated iron binding capacity; TSAT, transferrin saturation; Hb, hemoglobin.

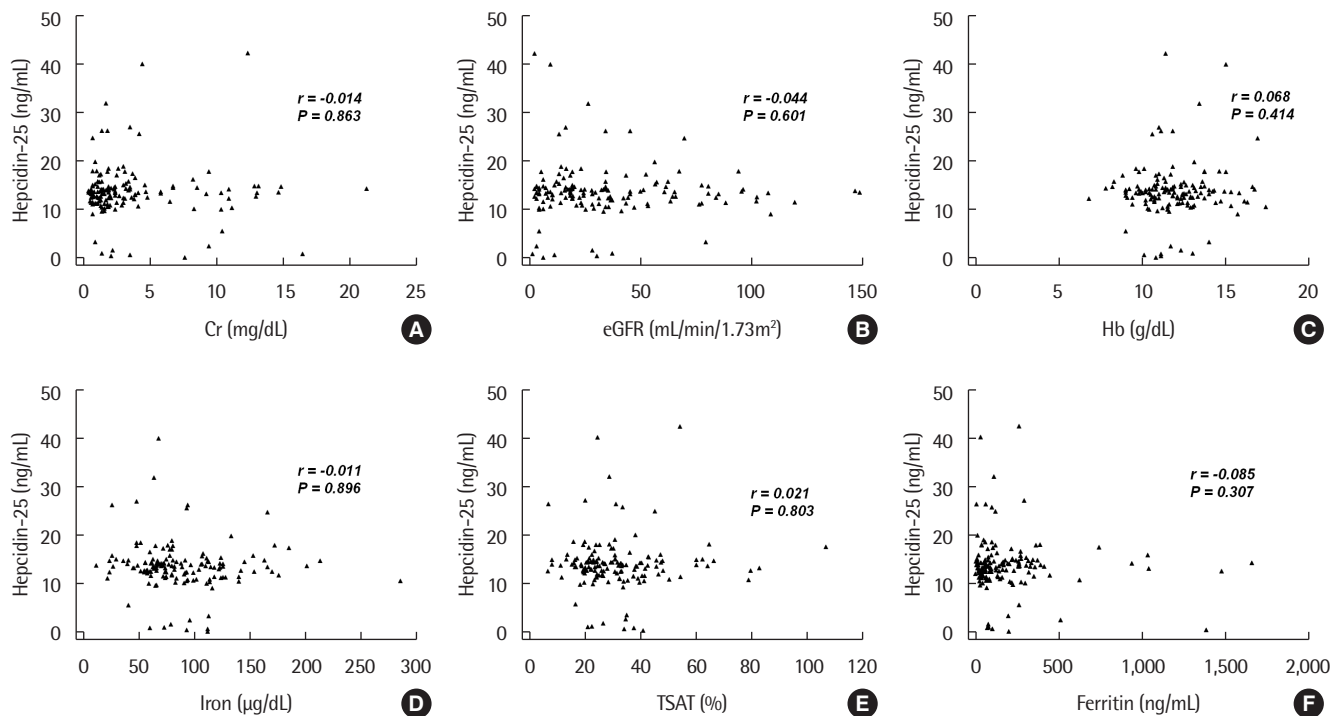


Fig. 2. Relationship between the levels of serum hepcidin-25 and creatinine (A), eGFR (B), hemoglobin (C), iron (D), transferrin saturation (E), and ferritin (F) in patients with chronic kidney disease.

여자에서 12.0 g/dL 미만인 경우 빈혈로 진단하였다[14]. 페리틴 농도는 KDOQI 가이드라인에서 투석을 받지 않는 만성 신질환 환자가 유지하도록 권고하는 100 ng/mL를 기준으로, 저페리틴 농도군과 고페리틴 농도군으로 분류하였다[11].

KDIGO 가이드라인 기준으로 빈혈 환자는 총 92명이었다. 빈혈 환자는 대부분 만성 신질환 4기와 5기에 분포하였으며, 이에 따라 두 군에서 혈청 크레아티닌, 혈액요소질소, eGFR의 유의한 차이를 보였다. 혈청 철($P=0.011$)과 총철결합능($P<0.001$)은 빈혈 환자군에서 유의하게 낮았으며, 페리틴 농도($P=0.008$)는 빈혈 환자군에서 더 높게 나타나 만성 질환에 의한 빈혈에 합당한 소견이었다. 그러나 빈혈 환자군과 혈액소 수치이 정상인 환자군 사이에 혈청 hepcidin-25 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았다(14.0 ng/mL vs. 13.6 ng/mL, $P=0.665$).

혈청 페리틴 농도 100 ng/mL를 기준으로 환자군을 분류했을 때, 혈액소 수치는 고페리틴 농도군에서 유의하게 낮은 결과를 나타냈으며(11.4 g/dL vs. 12.6 g/dL, $P<0.001$), hepcidin-25 농도는 고페리틴 농도군에서 약간 더 높았지만, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다(14.1 ng/mL vs. 13.6 ng/mL, $P=0.177$). 고페리틴 농도군과 저페리틴 농도군 모두에서 철대사 지표와 혈청 hepcidin-25 농도 사이에 유의한 상관 관계는 관찰되지 않았다.

투석을 받는 환자군에서는 받지 않는 환자군에 비해 혈액소 수치가 더 낮았다(11.0 g/dL vs. 12.1 g/dL, $P=0.006$). 혈청 철 농도는 두 그룹 간에 유의한 차이가 없었지만(93 µg/dL vs. 80 µg/dL, $P=0.801$), 혈청 페리틴 농도는 투석을 받는 환자군에서 유의하게 상승되어 있었다(226.2 ng/mL vs. 94.1 ng/mL, $P=0.001$). 그러나 혈청 hepcidin-25 농도는 두 그룹 간 유의한 차이를 보이지 않았다(13.8 ng/mL vs. 13.9 ng/mL, $P=0.636$).

ESA를 투약받는 환자군은 그렇지 않은 환자군에 비해 혈액소 수치가 더 낮았다(10.6 g/dL vs. 12.4 g/dL, $P<0.001$). 혈청 페리틴 농도는 ESA를 투약받는 환자에서 더 높았으나(174.9 ng/mL vs. 95.7 ng/mL, $P=0.024$), 혈청 hepcidin-25 농도는 ESA 투약에 따른 유의한 차이를 보이지 않았다(13.8 ng/mL vs. 13.8 ng/mL, $P=0.876$).

고 찰

본 연구에서는 한국인 만성 신질환 환자군의 혈액에서 효소면역법으로 hepcidin-25 농도를 측정하여 철대사 지표와의 상관성을 조사하였다. 연구 결과 혈청 hepcidin-25 농도와 철대사 지표 사이에는 만성 신질환의 단계 및 환자군의 특성에 따른 유의한 상관 관계가 관찰되지 않았다. 기존 문헌에서 철대사 지표 중 페리틴 농도는 혈청 hepcidin-25와 양의 상관 관계를 나타내는 것으로 보고

되었으나, 본 연구에 포함된 환자군에서는 이와 같은 상관성을 확인할 수 없었다[6, 7, 15-20].

빈혈은 만성 신질환 환자에서 신기능의 소실에 따라 발생하는 합병증이다. 본 연구의 환자군에서도 만성 신질환의 단계가 상승할수록 혈액소 수치가 감소하는 양상을 나타내었다($P_{trend}<0.001$). 1980년대 후반에 투석을 받는 환자에서 ESA가 빈혈의 표준 치료로 도입되기 전에는 빈번한 수혈과 철분 제제 치료에 의한 철의 과부하와, 그에 따른 부작용이 만성 신질환 환자의 빈혈 치료에 주요한 장애물이었다[21]. 철의 과부하는 간기능 장애, 심혈관 질환, 피부의 변화 등 여러 합병증을 야기하므로, 만성 신질환 환자에서는 혈액소 수치와 철대사 지표의 정기적인 추적 관찰이 매우 중요하다. KDIGO에서는 만성 신질환 3기 환자는 적어도 1년에 1회, 4기와 투석을 받지 않는 5기 환자의 경우 1년에 2회, 혈액 투석 또는 복막 투석을 받는 5기 환자는 3개월마다 빈혈에 대해 평가하고, 전혈구검사, 망상적혈구 수, 혈청 페리틴 농도, 트랜스페린 포화도, 비타민 B12와 엽산 농도를 측정하도록 권고하고 있다[14].

ESA의 도입은 만성 신질환 환자의 빈혈 치료를 획기적으로 개선시켰으나, ESA 치료에 대한 저항성은 여전히 해결해야 할 과제로 남아 있다. ESA에 대한 저항성은 ESA 투약에 따라 골수에서 조혈에 필요한 철의 요구량이 증가하지만 철의 공급이 요구량에 미치지 못하는 철분제한 조혈작용에 의해 발생한다[22]. 이러한 현상은 저장철이 절대적으로 부족하거나, 저장철은 충분하지만 철 가용성이 감소된 기능적 철결핍 상태가 원인이 된다. 전자의 경우 철분 제제 보충 치료를 통해 ESA 저항성을 극복할 수 있으나, 후자의 경우 철분 보충은 철 과부하를 야기할 우려가 있다. 그러나 트랜스페린 포화도나 페리틴 농도만으로는 적혈구 조혈에 필요한 가용성 철을 반영하지 못하므로 이를 통해 체내 철 가용성을 파악하고 철분 치료에 대한 반응성을 예측하기에는 한계가 있었다. 이러한 제한점을 극복하기 위해 철대사를 조절하는 호르몬인 hepcidin 측정의 중요성이 부각되고 있다. 특히 만성 신질환에 의한 빈혈은 전신적 염증 상태에 따른 hepcidin의 과발현과 신기능 저하에 따른 hepcidin 배설 감소가 중요한 기전으로 생각되므로, 혈청 hepcidin 농도와 혈액소, 철대사 지표, 신기능 지표와의 상관성에 대한 연구가 이어지고 있다.

혈청 hepcidin-25 농도와 GFR의 상관성에 대한 기존 연구들은 측정 방법과 대상 환자수에 따라 상충되는 결과를 보였다. Ashby 등은 만성 신질환 환자 44명에서 방사면역측정법으로 hepcidin-25를 측정하여 eGFR과 상관 관계가 있다고 보고하였다[23]. Zaritsky 등은 성인 만성 신질환 환자 32명에서 효소면역법으로 측정한 hepcidin-25 농도와 eGFR이 음의 상관 관계에 있는 것을 보였다[24]. 그러나 질량분석기를 이용하여 hepcidin-25 농도를 측정한 Peters, Uehata 등의 연구에서는 hepcidin-25와 eGFR 사이에 유의

한 상관 관계가 없다고 하였다[7, 16]. 본 연구에서는 효소면역법으로 hepcidin-25 농도를 측정하였으며, eGFR을 비롯한 신기능 지표와 철대사 지표, 혈색소 농도와 hepcidin-25 농도 간 유의한 상관 관계는 찾을 수 없었다. 현재까지 hepcidin 측정의 표준 검사법은 없는 상태이며, 질량분석법, 효소면역법, 방사면역측정법 등이 사용되고 있으나, 검사법에 따라 hepcidin 농도 측정값에 큰 차이를 나타낸다. Kroot 등은 hepcidin 측정 방법 간 비교 평가를 위해 International Round Robin을 시행하였고, 그 결과 검사 방법별로 최대 17배까지 결과값의 차이를 보였다[25]. 모든 방법 중 효소면역법으로 측정한 결과값이 가장 높았고, 편차도 컸다. 이러한 차이는 검사 방법간 사용하는 칼리브레이터가 다르고 $\alpha 2$ -마크로글로불린이나 알부민 결합에 의한 것으로 추정되며, 특히 면역학적 검사법의 경우 hepcidin의 동종체인 hepcidin-20, hepcidin-22 등에 의한 교차 반응이 측정값을 상승시키는 한 원인으로 제시되고 있다[25, 26].

본 연구 결과가 기존 문헌의 보고와 차이를 보인 이유로 hepcidin 농도의 일중 변동을 생각해 볼 수 있다. 문헌에 의하면, hepcidin 농도는 오전에 낮고 오후에는 증가하는 주간리듬을 나타낸다[27-31]. 일중 변화뿐 아니라 일간 변이도 매우 크다. Ford 등[32]은 혈액투석을 받고 있는 만성 신질환 환자 28명에서 6주 동안 hepcidin 농도를 측정하였고, 그 결과 해당 기간 동안 hepcidin 농도의 개인내 변이는 12-85%에 달하였으며, C-반응단백 농도와 밀접한 연관성이 있다고 보고하였다. 이러한 연구 결과로부터 Ford 등은 단기간에 측정한 hepcidin 농도를 근거로 철대사 상태를 평가하지 않도록 해야 한다고 주장하였다. 본 연구에서는 채혈 시간이 일정하지 않은 검체를 이용하여 hepcidin 농도를 측정하였고, C-반응단백 등 염증 상태에 대한 평가가 이루어지지 않았기 때문에 염증이나 hepcidin의 일중 변동 및 일간 변동에 의한 영향을 배제할 수 없었다.

본 연구에서는 만성 신질환 단계가 상승할수록 빈혈의 발생이 증가하며, 혈색소 수치가 정상인 환자군에 비하여 빈혈 환자군에서 저장철인 페리틴 농도는 더 높은 것을 확인할 수 있다(85.5 ng/mL vs. 169.9 ng/mL, $P=0.008$). 이러한 결과는 철분 제제 보충 치료에 의한 것으로 생각할 수 있으며, 만성 신질환 환자에서는 상대적으로 저장철이 충분함에도 불구하고 적혈구 조혈이 효과적으로 이루어지지 않는 것을 확인할 수 있다. 따라서 기존 문헌에서 주장하는 바와 같이 페리틴이나 트랜스페린 포화도는 철대사 및 적혈구 조혈 상태를 효과적으로 반영하는 지표가 아님을 알 수 있다. 본 연구에서는 이를 보완하기 위해 철대사 호르몬인 hepcidin을 측정하여 만성 신질환 환자의 빈혈 치료에 있어 그 임상적 유용성을 연구하고자 하였으나 혈청 hepcidin-25 농도와 신기능 지표, 철대사 지표, 혈색소 수치 사이에 유의한 상관 관계를 찾을 수 없었으며, 단계별 신질환 환자군에서 hepcidin-25 농도의 유의한 차이

또한 관찰되지 않았다. 이러한 결과의 원인으로는 상대적으로 연구에 포함된 만성 신질환 단계별 환자수가 적은 점, hepcidin 측정에 사용한 검체의 채혈 시간이 일정하지 않았던 점, 효소면역법으로 hepcidin-25 농도를 측정하여 hepcidin의 동종체인 hepcidin-22, hepcidin-20에 의한 교차 반응을 배제할 수 없었던 점, C-반응단백 등 염증 상태에 대한 평가가 이루어지지 않았던 점 등을 생각해 볼 수 있다. 그러나 이러한 제한점은 임상 의료 현장에서 빈번하게 발생하는 문제들로서, hepcidin 측정을 임상 검사로 도입하기 위해서는 몇 가지 조건이 필요하다. 우선 hepcidin 측정 검사법의 표준화가 이루어져야 한다. 질량분석법으로 hepcidin-25와 hepcidin의 동종체를 동시에 측정하는 것이 가장 이상적이지만, 일반 검사실에서는 질량분석기를 활용하는 검사 환경 구축이 어려우므로, 규격화된 표준 물질을 도입함으로써 이러한 문제를 개선할 수 있을 것이다. 채혈 전 변수에 대한 통제도 필요하다. Heparin 농도는 정상적으로 일중 변동을 나타내고 식사에 의한 철 흡수에도 관련있기 때문에 채혈 시간과 채혈 전 변수에 의한 영향을 최소화해야 한다. 또한 일간 변동이 크기 때문에 1회성으로 측정한 결과로 철대사 상태를 평가하지 않아야 하며, 치료 후 농도를 추적 관찰하면서 변화를 확인해야 한다. 마지막으로 염증에 의한 영향을 고려해야 한다.

결론적으로 본 연구에서는 만성 신질환 환자에서 단일 시점에서 측정한 혈청 hepcidin-25 농도와 철대사 지표 사이에 의미있는 연관성을 확인할 수 없었다. 만성 신질환 환자에서 hepcidin 측정의 임상적 유용성을 규명하기 위해서는 표준화된 검사법을 이용하고 채혈 전 변수를 최소화하며, 반복 측정을 통해 빈혈 치료에 따른 농도 변화 여부를 추적 관찰해야 할 것이다.

요 약

배경: Heparin은 철대사를 조절하는 호르몬으로서, 만성 신질환 환자에서 철대사 불균형과 관련된 것으로 알려져 있다. 그러나 빈혈을 동반한 만성 신질환 환자에서 혈청 hepcidin 농도는 모순된 결과를 보였다. 본 연구에서 저자들은 만성 신질환 환자를 대상으로 hepcidin의 활성형인 hepcidin-25를 측정하여 기존 철대사 지표와의 상관성을 평가하였다.

방법: Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) 가이드라인에 따라 만성 신질환 환자를 선별하고 병기를 분류하였다. 대상 환자의 혈청 검체를 이용하여 hepcidin-25 농도를 측정하고, 만성 신질환 단계 및 환자군의 임상적, 검사실적 특성에 따라 hepcidin-25 농도와 철대사 지표(혈청철, 총철결합능, 불포화결합능, 트랜스페린 포화도, 페리틴 농도)와의 상관성을 분석하였다.

결과: 총 146명의 만성 신질환 환자가 연구에 포함되었으며, 단계

별로는 1, 2단계를 더하여 28명, 3단계 40명, 4단계 36명, 5단계 42명이었다. 전체 환자군에서 혈색소 수치, 총철결합능, 불포화철결합능은 만성 신질환 단계가 상승할수록 감소하는 추세를 나타냈다($P_{trend} < 0.001$). 혈청 hepcidin-25 농도는 신질환의 단계에 따른 유의한 차이를 보이지 않았다[1, 2단계, 13.7 (3.7-25.0) ng/mL; 3단계, 14.0 (0.8-26.5) ng/mL; 4단계, 13.9 (2.0-32.1) ng/mL; 5단계, 13.8 (0.5-42.4) ng/mL; $P_{trend} = 0.618$]. 또한 hepcidin-25 농도와 신기능 지표, 철대사 지표, 혈색소 수치 간에도 유의한 상관 관계는 관찰되지 않았다($P > 0.05$).

결론: 본 연구에서는 만성 신질환 환자의 혈청 hepcidin-25 농도와 철대사 지표 및 임상 상태와의 연관성을 확인할 수 없었다. 만성 신질환 환자의 철대사 상태를 평가하는 데 있어 hepcidin-25 농도 측정은 기존의 철대사 지표 측정과 비교하여 추가적인 정보를 제공하지 못하는 것으로 생각된다. 만성 신질환 환자에서 hepcidin 측정의 임상적 유용성을 확인하기 위해서는 추가 연구가 필요할 것이다.

REFERENCES

- Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-8.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001;276:7806-10.
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004;306:2090-3.
- Pigeon C, Ilyin G, Coursaud B, Leroy P, Turlin B, Brissot P, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001;276:7811-9.
- Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003;101:2461-3.
- Niihata K, Tomosugi N, Uehata T, Shoji T, Mitsumoto K, Shimizu M, et al. Serum hepcidin-25 levels predict the progression of renal anemia in patients with non-dialysis chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:4378-85; discussion 84-5.
- Uehata T, Tomosugi N, Shoji T, Sakaguchi Y, Suzuki A, Kaneko T, et al. Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27:1076-83.
- Costa E, Swinkels DW, Laarakkers CM, Rocha-Pereira P, Rocha S, Reis F, et al. Hepcidin serum levels and resistance to recombinant human erythropoietin therapy in haemodialysis patients. *Acta Haematol* 2009;122:226-9.
- Swinkels DW and Wetzels JF. Hepcidin: a new tool in the management of anaemia in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:2450-3.
- van der Putten K, Jie KE, van den Broek D, Kraaijenhagen RJ, Laarakkers C, Swinkels DW, et al. Hepcidin-25 is a marker of the response rather than resistance to exogenous erythropoietin in chronic kidney disease/chronic heart failure patients. *Eur J Heart Fail* 2010;12:943-50.
- K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39:S1-266.
- Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003;139:137-47.
- Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006;145:247-54.
- KDIGO clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2012;2:279-335.
- Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009;75:976-81.
- Peters HP, Laarakkers CM, Swinkels DW, Wetzels JF. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:848-53.
- Tessitore N, Girelli D, Campostrini N, Bedogna V, Pietro Solero G, Castagna A, et al. Hepcidin is not useful as a biomarker for iron needs in haemodialysis patients on maintenance erythropoiesis-stimulating agents. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:3996-4002.
- van der Weerd NC, Grooteman MP, Bots ML, van den Dorpel MA, den Hoedt CH, Mazairac AH, et al. Hepcidin-25 in chronic hemodialysis patients is related to residual kidney function and not to treatment with erythropoiesis stimulating agents. *PLoS One* 2012;7:e39783.
- Weiss G, Theurl I, Eder S, Koppelstaetter C, Kurz K, Sonnweber T, et al. Serum hepcidin concentration in chronic haemodialysis patients: associations and effects of dialysis, iron and erythropoietin therapy. *Eur J Clin Invest* 2009;39:883-90.
- Kuragano T, Shimonaka Y, Kida A, Furuta M, Nanami M, Otaki Y, et

- al. Determinants of hepcidin in patients on maintenance hemodialysis: role of inflammation. *Am J Nephrol* 2010;31:534-40.
21. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med* 1987;316:73-8.
22. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood* 2010;116:4754-61.
23. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010;95:505-8.
24. Zaritsky J, Young B, Wang HJ, Westerman M, Olbina G, Nemeth E, et al. Hepcidin--a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1051-6.
25. Kroot JJ, Kemna EH, Bansal SS, Busbridge M, Campostrini N, Girelli D, et al. Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica* 2009;94:1748-52.
26. Peslova G, Petrak J, Kuzelova K, Hrdy I, Halada P, Kuchel PW, et al. Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha-2-macroglobulin in blood. *Blood* 2009;113:6225-36.
27. Kemna EH, Tjalsma H, Podust VN, Swinkels DW. Mass spectrometry-based hepcidin measurements in serum and urine: analytical aspects and clinical implications. *Clin Chem* 2007;53:620-8.
28. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008;112:4292-7.
29. Kroot JJ, Hendriks JC, Laarakkers CM, Klaver SM, Kemna EH, Tjalsma H, et al. (Pre)analytical imprecision, between-subject variability, and daily variations in serum and urine hepcidin: implications for clinical studies. *Anal Biochem* 2009;389:124-9.
30. Troutt JS, Rudling M, Persson L, Stahle L, Angelin B, Butterfield AM, et al. Circulating human hepcidin-25 concentrations display a diurnal rhythm, increase with prolonged fasting, and are reduced by growth hormone administration. *Clin Chem* 2012;58:1225-32.
31. Schaap CC, Hendriks JC, Kortman GA, Klaver SM, Kroot JJ, Laarakkers CM, et al. Diurnal rhythm rather than dietary iron mediates daily hepcidin variations. *Clin Chem* 2013;59:527-35.
32. Ford BA, Eby CS, Scott MG, Coyne DW. Intra-individual variability in serum hepcidin precludes its use as a marker of iron status in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2010;78:769-73.