

研究

C型慢性肝疾患患者における 微量金属代謝について

香川大学医学部附属病院総合診療部 樋本尚志

要 約

C型慢性肝疾患患者における微量金属代謝の臨床的意義について亜鉛を中心に検討した。まず、血清亜鉛値と肝組織との関連を見ると、血清亜鉛値は肝線維化の進行に伴って低下していた。一方、肝脂肪化の進展に伴って血清亜鉛値は低下する傾向にあった。また、血清亜鉛値が低下すると肝組織における活動性は上昇する傾向にあった。次に、C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛値と他の微量元素または鉄との関連について検討すると、血清亜鉛値はセレン値との間に有意な正の相関がみられ、逆にフェリチン値との間には負の相関が認められた。亜鉛と銅の間には、有意な相関は得られなかった。C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛値とインスリン抵抗性との関連をみると、血清亜鉛値の低下に伴ってインスリン抵抗性が出現することが明らかとなった。最後に、C型慢性肝疾患患者に亜鉛錯体である polaprezinc を投与したところ、血清フェリチン値の低下を介して血清トランスアミナーゼ値が有意に低下した。

はじめに

肝硬変患者で亜鉛が欠乏することは以前より知られている¹⁾。肝性脳症の治療に亜鉛の補充が有効であったり²⁾、C型慢性肝炎患者のインターフェロン療法の効果を高めたり³⁾など肝疾患における亜鉛の有効性が明らかとなっている。

一方、亜鉛は血糖の恒常性に重要な役割を果たしている⁴⁾。また、C型肝炎ウイルスの持続感染によってインスリン抵抗性、肝脂肪化、鉄過剰状態および脂質異常症といった代謝異常をしばしば惹起する^{5,6)}。今回、C型慢性肝疾患患者におけるこれらの代謝異常と亜鉛との関連、あるいは亜鉛と他の微量元素との関連を中心に検討したので報告する。

1. 対象と方法

対象は糖尿病を合併していないC型慢性肝疾患（慢性肝炎および肝硬変）患者である。対象患者における血清中の微量元素として亜鉛（Zn）、銅（Cu）およびセレン（Se）値を測定した。また、肝組織における鉄貯蔵の血清マーカーとしてフェリチン値を、線維化の血清マーカーとしてヒアルロン酸とIV型コラーゲン7Sをそれぞれ測定した。肝組織における活動性の指標として血清ALT値を測定した。インスリン抵抗性の指標としては、homeostasis model for assessment of insulin resistance（HOMA-IR）値を算出した。一方、肝組織における staging は新犬山分類⁷⁾によって、肝脂肪化の程度は Brunt らの分類⁸⁾によってそれぞれ評価した。また、肝組織における酸化ストレスのマーカーとして8-hydroxy 2'-deoxyguanosine（8-OHdG）の発現を免疫組織

化学法によって軽度 (mild), 中等度 (moderate) および高度 (severe) の3段階に半定量評価した⁹⁾.

2. 結果

a. 肝組織と血清亜鉛値との関連

1) 肝線維化と血清亜鉛値との関連

C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛値は、肝組織における線維化が高度になるに従って低下しており、F1とF4の間で有意差を認めた(図1).

2) 肝脂肪化と血清亜鉛値との関連

C型慢性肝疾患患者における肝脂肪化が grade 0 から grade 2 へと進行するに従って血清亜鉛値

は徐々に低下する傾向がみられた(図2).

3) 肝組織における活動性と血清亜鉛値との関連

C型慢性肝疾患患者における血清ALT値が上昇するに従って血清亜鉛値は低下する傾向がみられた(図3).

4) 肝組織における8-OHdGの発現と血清亜鉛値との関連

血清亜鉛値が $65 \mu\text{g}/\text{dl}$ 未満と $65 \mu\text{g}/\text{dl}$ 以上の2群に分類して肝組織における8-OHdGの発現を比較した. 血清亜鉛値が $65 \mu\text{g}/\text{dl}$ 未満の症例の方が肝細胞における8-OHdGの発現は強い傾向にあった(図4, 表1).

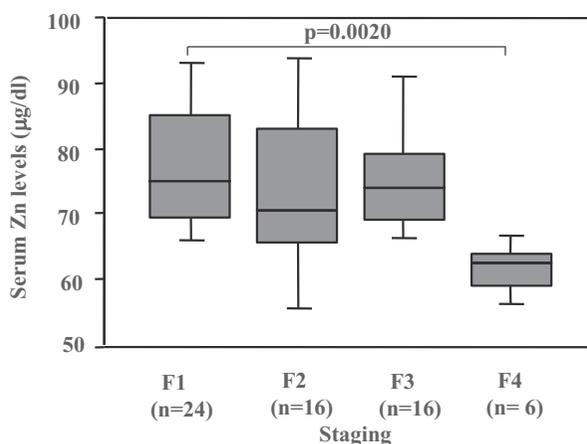


図1 血清亜鉛値と肝線維化との関連

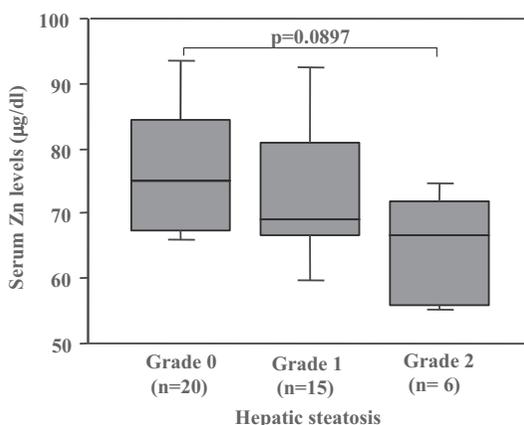


図2 血清亜鉛値と肝脂肪化との関連

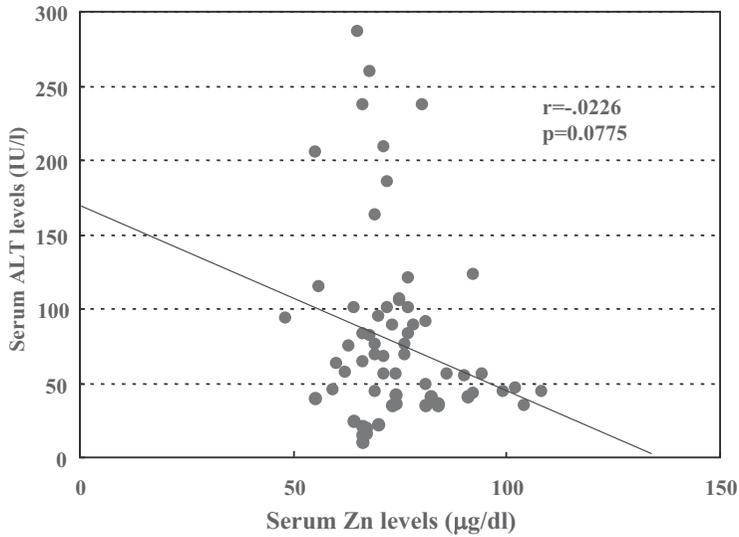
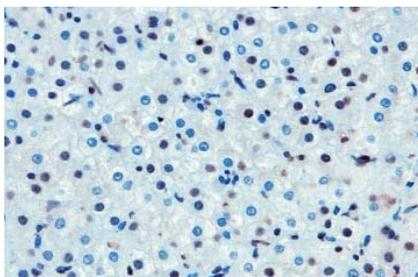
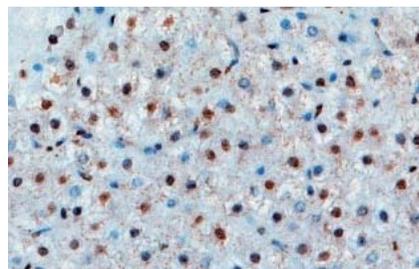


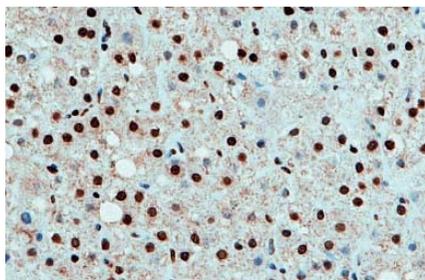
図 3 血清亜鉛値と ALT 値との関連



Mild (< 1/3 of hepatocytes)



Moderate (>1/3, <2/3 of hepatocytes)



Severe (>2/3 of hepatocytes)

図 4 肝組織における 8-OHdG の発現

表 1 亜鉛欠乏と酸化ストレスとの関連

Severity of 8-OHdG	Zn \geq 65 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (n = 38)	Zn < 65 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (n = 8)	p-value
Mild	6 (16%)	0 (0%)	N.S.
Moderate	13 (34%)	1 (12%)	N.S.
Severe	19 (50%)	7 (88%)	p = 0.0518

b. 血清亜鉛値とセレン、銅またはフェリチン値との相関

1) 血清亜鉛値とセレン値との関連

C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛値とセレン値との関連について検討すると、両者の間に有意な正の相関が得られた(図5)。なお、血清セレン値とアルブミン (Alb) 値との間にも有意な相関が認められた(図6)。

2) 血清亜鉛値と銅値との関連

対象患者数が少数であったため、C型慢性肝炎

患者と肝硬変患者の間で血清銅値を比較した。両群の間で血清銅値にほとんど差は見られなかった(図7a)。従って、C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛値と銅値との間には有意な相関は認められなかった(図7b)。

3) 血清亜鉛値とフェリチン値との関連

C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛値は、フェリチン値との間に緩やかな負の相関が認められた(図8)。なお、血清フェリチン値とALT値との間には極めて強い正の相関が得られた(図9)。

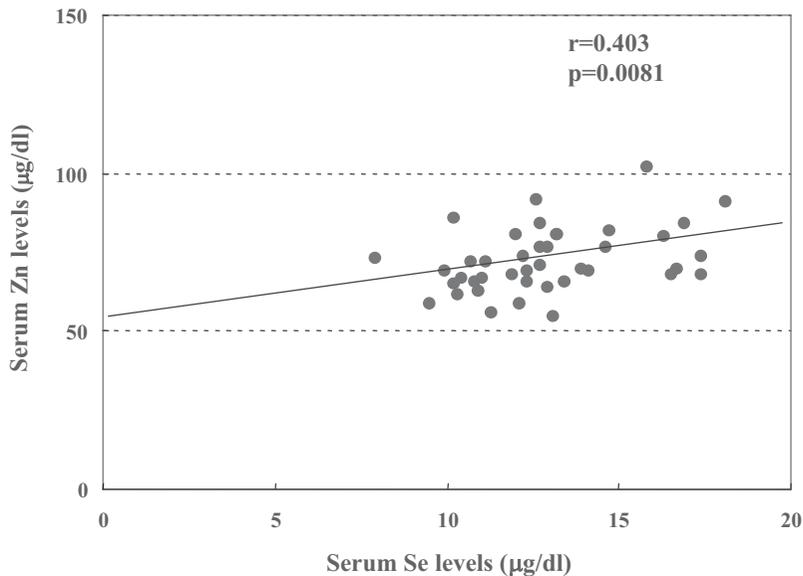


図5 血清亜鉛値とセレン値との関連

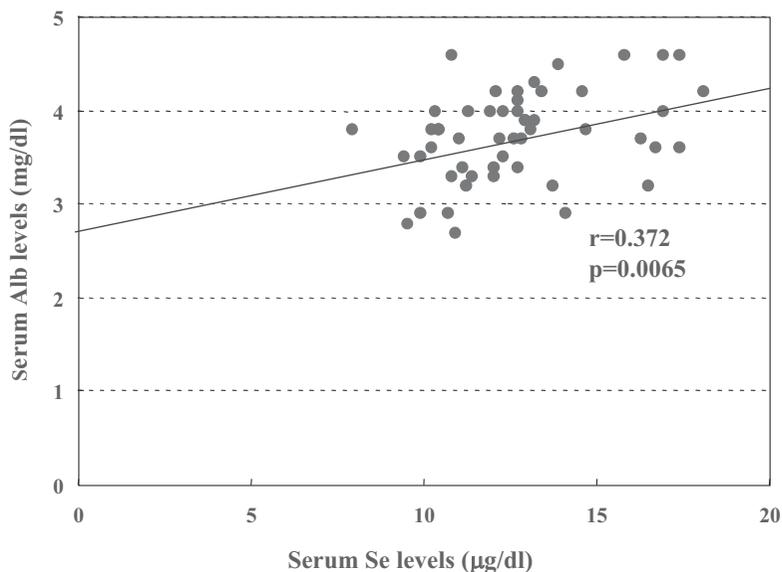


図6 血清セレンとアルブミン値との関連

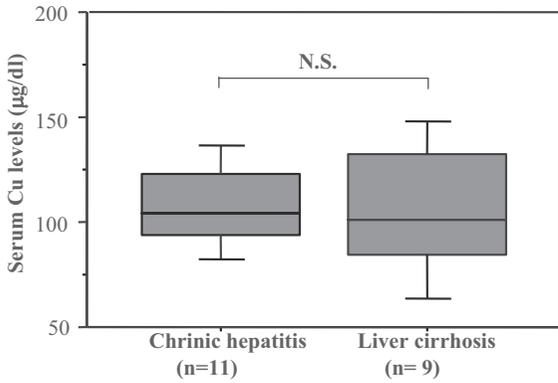


図 7a 慢性肝疾患における血清銅値

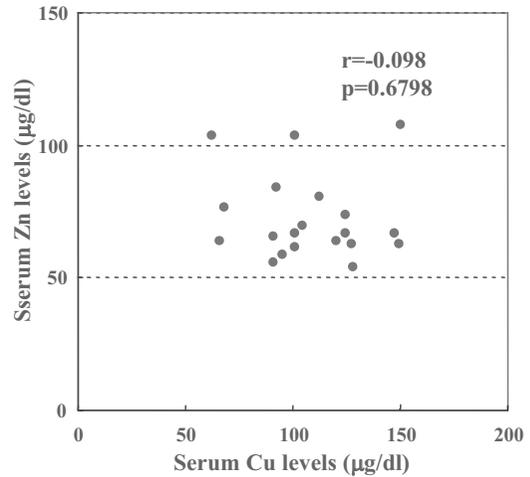


図 7b 血清亜鉛値と銅値との関連

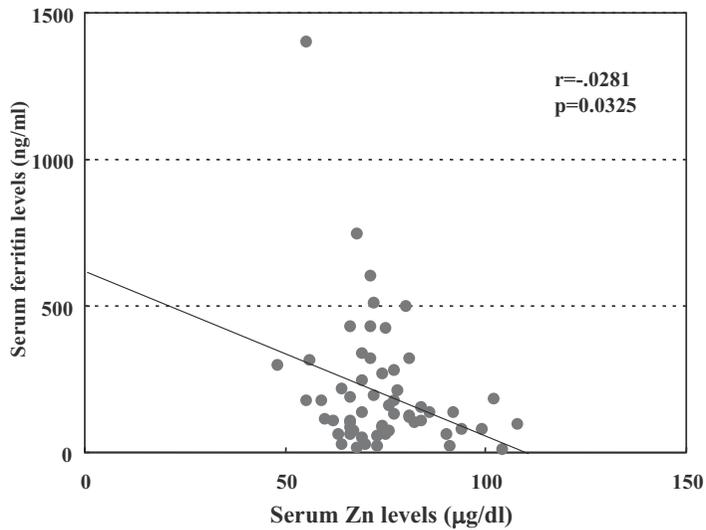


図 8 血清亜鉛値とフェリチン値との関連

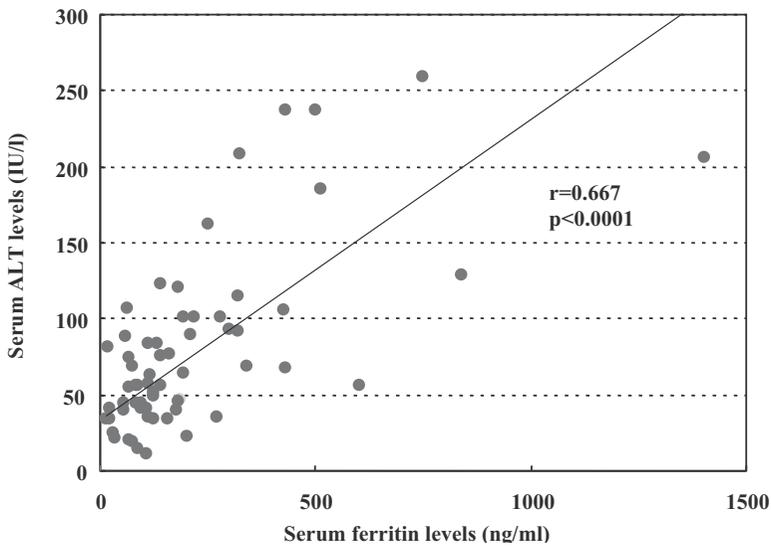


図 9 血清フェリチン値とALT値との関連

c. 血清亜鉛値とインスリン抵抗性

C型慢性肝疾患における血清亜鉛値とHOMA-IR値との関連をみると、両者の間で緩やかな負の相関がみられた(図10)。次に、血清フェリチン値とHOMA-IR値との間には、有意な正の相関を認めた(図11)。

d. 亜鉛補充に伴うパラメーターの変化

C型慢性肝疾患患者に処方されている肝底護剤やBCAA(分岐鎖アミノ酸)製剤および/または利尿剤はそのままにしてpolaprezinc 225mg(亜鉛換算51mg)を6ヶ月間上乘せし、臨床パラメーターの変化を調べた。まず、polaprezincの投与により血清亜鉛値は有意に上昇することを確認し

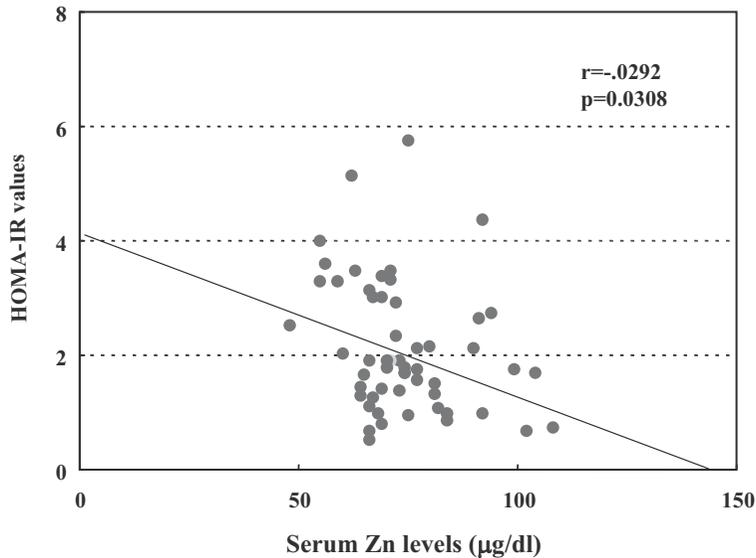


図10 血清亜鉛値とインスリン抵抗性との関連

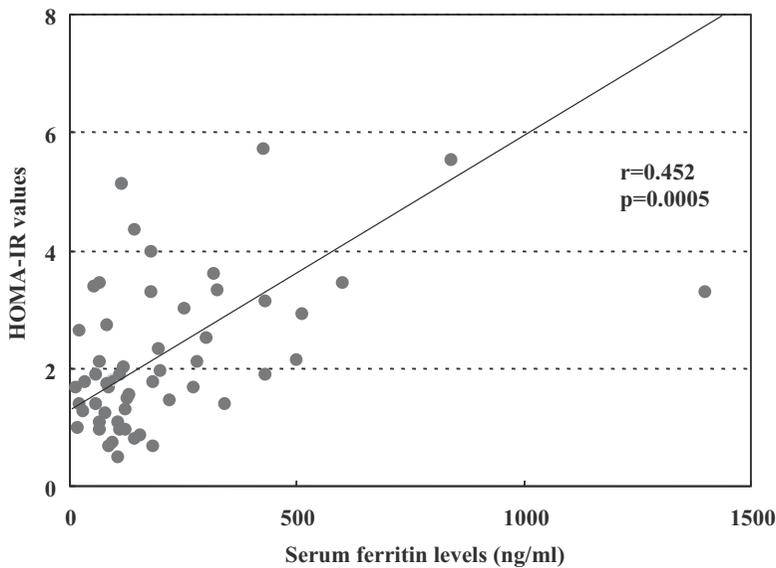


図11 血清フェリチン値とインスリン抵抗性との関連

た (64 ± 15 vs $78 \pm 26 \mu\text{g/dl}$, $p = 0.0156$). polaprezinc 投与 6 ヶ月後の血清 AST および ALT 値は有意に低下し, 逆に ALP 値は有意に上昇した. しかしながら, 末梢血や HCV-RNA 量については有意な変動がみられなかった (表 2). なお, 血清 ALT 値の低下は, polaprezinc 投与開始 2 ヶ月の時点から有意に低下しており, 4 か月後にはさらに低下していた (図 12).

次に, polaprezinc 投与による血清銅およびフェ

リチン値の変動について検討した. polaprezinc 投与によって血清銅値の有意な変動はみられなかった (図 13a) が, 血清フェリチン値は有意に低下していた (図 13b). また, 肝線維化マーカーである 4 型コラーゲン 7S 値は低下する傾向にあった (図 14a) が, ヒアルロン酸値は polaprezinc 投与前後で有意な変化はみられなかった (図 14b).

表 2 polaprezinc 投与後の末梢血および血液生化学検査

	Before	6 Mo	p-value
AST (IU/l)	92 ± 33	63 ± 23	$p = 0.0004$
ALT (IU/l)	106 ± 43	65 ± 32	$p = 0.0002$
Alb (g/dl)	3.6 ± 0.6	3.6 ± 0.7	N.S.
ChE (IU/l)	230 ± 101	221 ± 95	N.S.
T-Bil (mg/dl)	0.9 ± 0.4	0.9 ± 0.3	N.S.
ALP (U/l)	305 ± 117	337 ± 118	$p = 0.0020$
γ -GTP (IU/l)	78 ± 76	60 ± 63	N.S.
LDH (U/l)	282 ± 109	270 ± 94	N.S.
PT (%)	81 ± 19	82 ± 18	N.S.
WBC ($\times 10^3$ cells/ μ l)	45 ± 15	45 ± 15	N.S.
Hb (g/dl)	13.3 ± 1.7	13.0 ± 1.7	N.S.
Plt ($\times 10^4$ cells/ μ l)	12.6 ± 6.3	12.9 ± 6.3	N.S.
HCV-RNA (KIU/ml)	888 ± 833	800 ± 449	N.S.

N.S., not significant

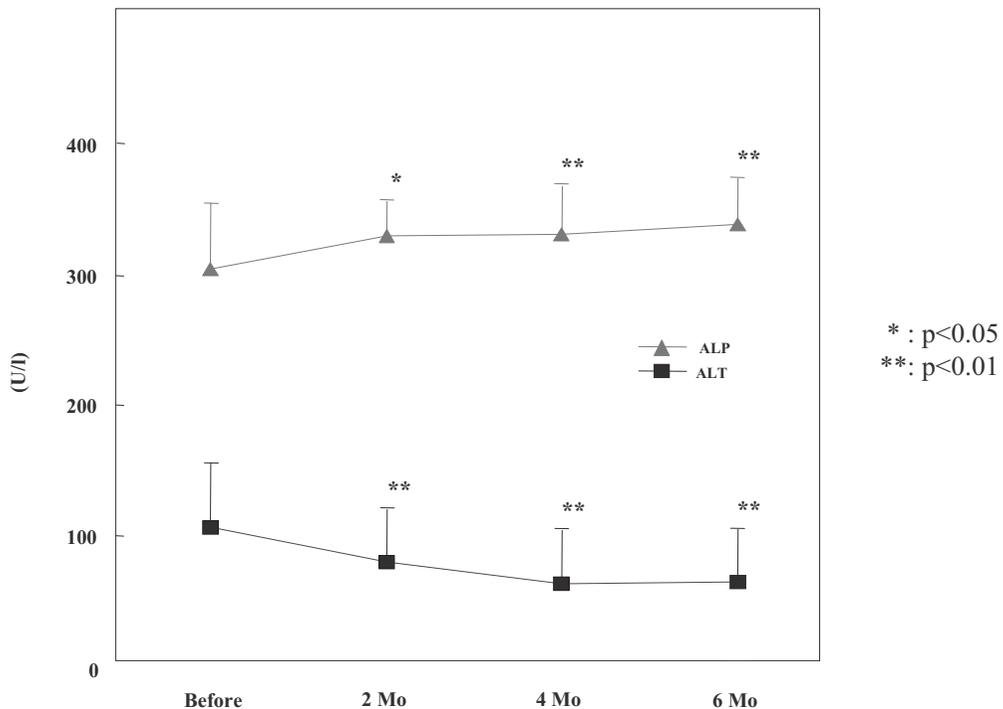


図 12 polaprezinc 投与後の ALT および ALP 値の変化

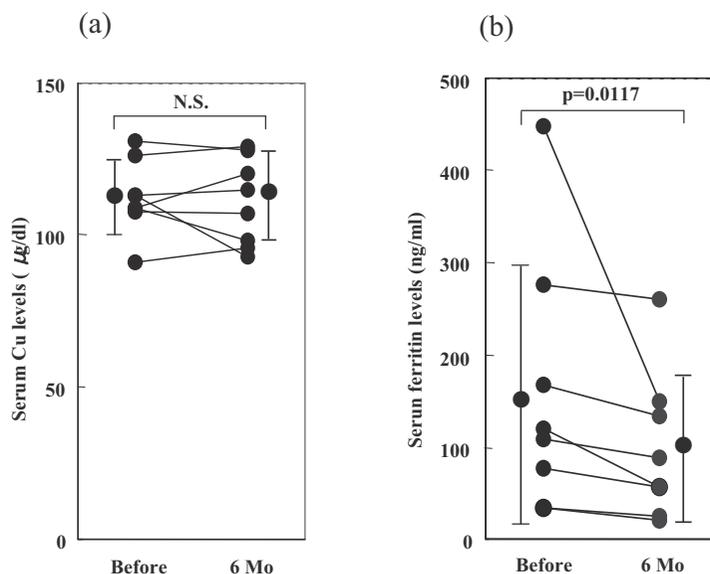


図 13 polaprezinc 投与後の血清銅およびフェリチン値の変化

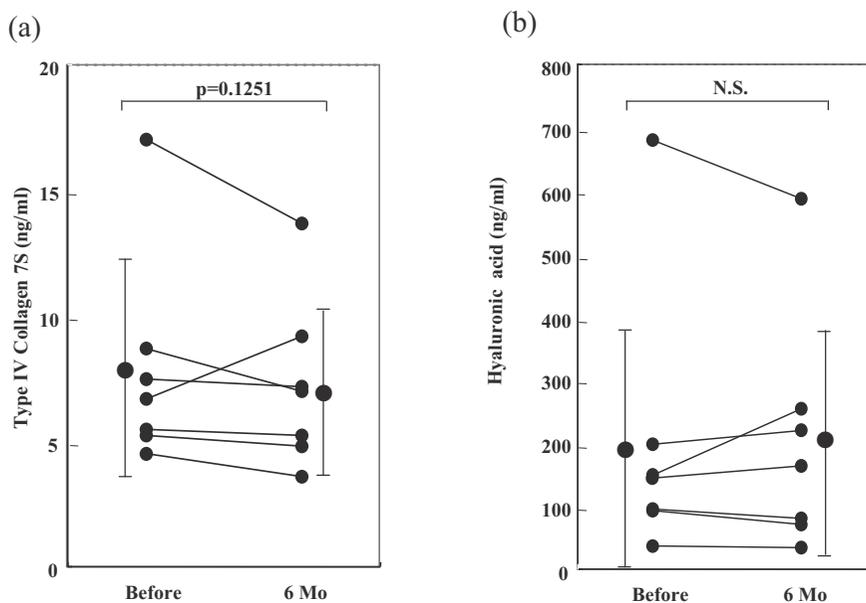


図 14 polaprezinc 投与後の肝線維化マーカーの変化

3. 考察

今回の検討でも、血清亜鉛値の低下に伴い肝線維化が亢進することを確認した。これは、血清亜鉛値の低下に伴って collagenase 活性が低下することやコラーゲン合成酵素である prolyl hydroxylase 活性が亢進することに起因するもの

と思われた¹⁰⁾。なお、肝硬変患者で血清亜鉛値が低下する原因としては、亜鉛の担体であるアルブミンの合成が低下すること、尿中への亜鉛の排泄が促進されることなどが考えられている¹¹⁾。

次に、肝脂肪化が進展するのに伴って血清亜鉛値が低下する傾向にあった。Mikhailらは血清亜鉛値と肝脂肪化との関連を検討しているが、

HDL-Chol の低下によって肝脂肪化が促進されたのではないかと推測している¹²⁾。また、亜鉛欠乏によってインスリン抵抗性が惹起され、その結果として肝脂肪化が促進された可能性もある¹³⁾。さらには、亜鉛欠乏によって鉄過剰状態になり、その結果 lipid peroxidation が活性化されて肝脂肪化が進展したとも考えられる¹⁴⁾。

今回の検討で、C型慢性肝疾患患者における血清亜鉛とセレン値とは有意に正の相関を示すことが明らかとなった。この機序としては、血清セレン値が低下することによって肝におけるアルブミンの合成能が低下し、その結果として血清亜鉛値が低下すると推測した¹⁵⁾。なお、血清亜鉛と銅値との間には有意な相関がみられなかった。Pramoolsinsapらは、慢性肝炎と肝硬変患者との間で血清銅値に差がみられなかったが、肝細胞癌に進展して血清銅値が有意に上昇することを明らかにしており、我々の見解と一致していた¹⁶⁾。

亜鉛欠乏によってインスリン抵抗性が生じる機序について、以下のように仮説をたてた。すなわち、C型肝炎ウイルスによる持続感染によって酸化ストレスが誘導され、それを消去すべく亜鉛が消費される。酸化ストレスの亢進によって鉄過剰状態になり、インスリン抵抗性が誘導されるというものである¹⁷⁾。この鉄過剰状態によって肝組織における炎症が引き起こされるものと思われた¹⁸⁾ (図15)。

Insulin resistance-associated hepatic iron

overload という概念は既に確立されている¹⁹⁾。鉄が過剰になるとインスリンの肝臓での extraction や代謝が低下し、末梢での高インスリン血症が引き起こされる。また、鉄過剰状態によって酸化した遊離脂肪酸が増加し、インスリンの主たる作用部位である骨格筋における糖利用が減少することによってインスリン抵抗性が出現する²⁰⁾。

我々は亜鉛錯体である polaprezinc の投与によって血清 ALT 値が有意に低下することを明らかにした。polaprezinc 投与により血清フェリチン値が有意に低下したことから、肝組織における鉄過剰状態が緩和されることによって肝組織における活動性が低下したものと推測された²¹⁾。また、polaprezinc 225mg を半年投与しても銅とは拮抗しないことも明らかになった。また、polaprezinc の末梢血中における血球の膜保護作用や抗ウイルス効果は示されなかった。なお、polaprezinc 投与により ALP 値が有意に上昇したのは亜鉛が ALP の活性中心であることに由来するものと思われた。

以上より、亜鉛欠乏によってC型慢性肝疾患患者における代謝異常が惹起されることが示唆された。Adachiらは2型糖尿病モデルに亜鉛錯体を投与することによってインスリン抵抗性が改善することを報告しており²²⁾、今後は、亜鉛補充によるインスリン抵抗性や肝脂肪化の改善について検討することが課題と思われた。

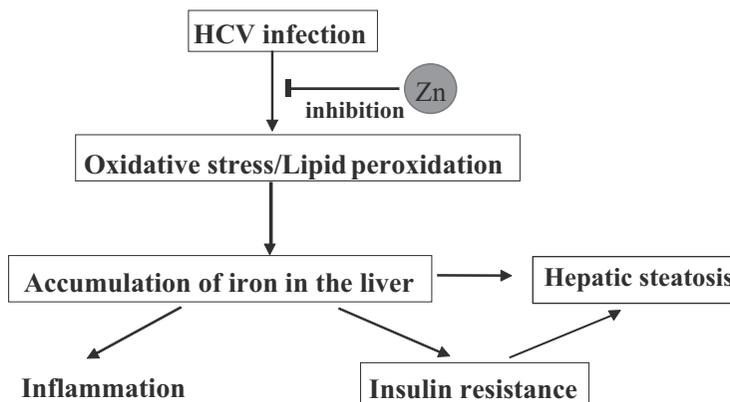


図15 亜鉛欠乏に起因するインスリン抵抗性の機序 (仮説)

◆文 献

- 1) Vallee BL, Wacker WEC, Bartholomay AF, et al : Zinc metabolism in hepatic dysfunction. I. Serum zinc concentration in Laennec's cirrhosis and their validation by sequential analysis. *N Eng J Med* 255 : 403-408, 1956
- 2) Katayama K : Ammonia metabolism and hepatic encephalopathy. *Hepato Res* 30 : S71-78, 2004
- 3) Takagi H, Nagamine T, Abe T, et al : Zinc supplementation enhances the response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 8 : 367-371, 2001
- 4) Chausmer AB : Zinc, insulin and diabetes. *J Am Coll Nutr* 17 : 109-115, 1998
- 5) Koike K : Hepatitis C as a metabolic disease : implication for the pathogenesis of NASH. *Hepato Res* 33 : 145-150, 2005
- 6) Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, et al : Iron overload and cofactors with special references to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance. *World J Gastroenterol* 13 : 4699-4706, 2007
- 7) Ichida F, Tsuji T, Omata M, et al : New Inuyama classification : new criteria for histological assessment of chronic hepatitis in Japan. *Int Hepato Commun* 6 : 112-119, 1996
- 8) Brunt EM, Janney CG, DiBisceglie AM, et al : Nonalcoholic steatohepatitis : a proposal for grading and staging in the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 94 : 2467-2474, 1999
- 9) Himoto T, Yoneyama H, Kurokohchi K, et al : Clinical relevance of antibodies to cardiolipin in chronic hepatitis C. *J Clin Lab Anal*, in press
- 10) Gimenez A, Pares A, Alie S, et al : Fibrogenic and collagenolytic activity in carbon-tetrachloride-injured rats : beneficial effects of zinc administration. *J Hepato* 21 : 292-298, 1994
- 11) Stamoulis I, Kouraklis G, Theocharis S : Zinc and liver : an active interaction. *Dig Dis Sci* 52 : 1595-1612, 2007
- 12) Mikhail TH, Nicola WG, Ibrahim KHM, et al : Abnormal zinc and copper metabolism in hepatic steatosis. *Boll Chim Farm* 135 : 591-597, 1996
- 13) Fartoux L, Poujol-Robert A, Guechot J, et al : Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 54 : 1003-1008, 2005
- 14) Farinati F, Cardin R, De Maria N, et al : Iron strage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J Hepato* 22 : 449-456, 1995
- 15) Himoto T, Yoneyama H, Kurokohchi K, et al : Selenium deficiency is associated with insulin resistance in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Nutr Res* 31 : 829-835, 2011
- 16) Pramoolsinsap C, Promvanit N, Komindr S, et al : Serum trace metals in chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma in Thailand. *J Gastroenterol* 29 : 610-615, 1994
- 17) Himoto T, Yoneyama H, Deguchi A, et al : Insulin resistance derived from zinc deficiency in non-diabetic patients with chronic hepatitis C. *Exp Ther Med* 1 : 707-711, 2010
- 18) Takikawa T, Hayashi H, Nishimura N, et al : Correlation between serum levels of alanine aminotransferase and ferritin in male blood donors with antibody to hepatitis C virus. *J Gastroenterol* 29 : 593-597, 1994
- 19) Mendler MH, Turlin B, Moirand R, et al : Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 117 : 1155-1163, 1999
- 20) Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W : Cross-Talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes* 51 : 2348-2354, 2002
- 21) Himoto T, Hosomi N, Nakai S, et al : Efficacy of zinc administration in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Scand J Gastroenterol* 42 : 1078-1087, 2007
- 22) Adachi Y, Yoshida J, Kodera Y, et al : Oral administration of zinc complex improves type 2 diabetes and metabolic syndromes. *Biochem Biophys Res Commun* 351 : 165-170, 2006

