

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

感染病態班

C型肝炎ウイルス (HCV) 持続感染における
血清Adiponectin値の意義

分担研究者 林 純 九州大学病院 総合診療部(感染環境医学) 教授

研究要旨 低 Adiponectin 血症はインスリン抵抗性と関わり、HCV 持続感染においてインスリン抵抗性の頻度は高率である。HCV 感染における血清 Adiponectin 値の意義を、HCV マーカーおよび耐糖能異常との関連から検討した。HCV 感染 81 例を対象とし、血清 Adiponectin 値 (ELISA)、HCV RNA 量、HCV 型、ALT 値、gGTP 値、空腹時の血糖 (PG)・インスリン値、HbA1c などとともに、クッキー負荷試験 (553 kcal) を行い、1 および 2 時間の PG・IRI 推移を測定した。肝病理の活動性・線維化・脂肪化についても評価した。81 例中、HOMA-IR 2.5 以上 24 例 (29.6%)、負荷試験による糖尿病型 7 例 (8.6%)、耐糖能異常 (IGT) 30 例 (37.0%) を認めた。血清 Adiponectin 値は、これら異常例と非異常例の間で差を認めなかった。血清 Adiponectin 値は、男性 (4.64 μ g/mL) で女性 (8.93 μ g/mL) に比べ有意に低値で、BMI、空腹時 PG、インスリン、HbA1c、HOMA-IRI、ALT、gGTP、HCV 遺伝子型、肝病理組織との相関はなかったが、年齢と有意な正の相関 ($r=0.251$)、負荷試験によるインスリン面積 ($r=-0.364$) および HCV RNA 量 ($r=-0.301$) と有意な負の相関を認めた。多変量解析による血清 Adiponectin 値と関わる有意な独立因子は、年齢 (Odds 0.1413/年)、男性 (-4.5756/女性)、空腹時インスリン (mg/dL) (-0.2702)、血清 HCV RNA 量 (kIU/mL) (-0.0009) であった。HCV 感染における Adiponectin は HCV 感染と関連しインスリン抵抗性を惹起している可能性が示唆された。

研究協力者

古庄憲浩 九州大学病院 総合診療部
澤山泰典 九州大学病院 総合診療部
村田昌之 九州大学病院 総合診療部
前田晋至 九州大学病院 総合診療部
武岡宏明 九州大学病院 総合診療部
豊田一弘 九州大学病院 総合診療部
大西八郎 九州大学病院 総合診療部

A. 目的

C型肝炎ウイルス(HCV)持続感染によりC型慢性肝炎は引き起こされ、緩徐に進行して肝硬変、肝癌に至る。一方、HCV持続感染により、クリオグロブリン血症、慢性甲状腺炎、膜性増殖性糸球体腎炎、口腔扁平苔癬などの肝外病変も生じうる。

肝外病変のなかでも糖尿病つまり耐糖能異常は、疫学、臨床、基礎研究においてHCV持続感染との関連が解明されており、その原因として、HCV感染に伴うインスリン抵抗性の増大

が指摘されている。

血清 Adiponectin は、collectin family に属する 244 アミノ酸よりなる脂肪関連蛋白のひとつであり、内臓脂肪蓄積などの中心性肥満や Body Mass Index (BMI)の増加、インスリン抵抗性の増大に反比例して低下することが知られ、その低下は動脈硬化の促進因子といわれている。一般に、女性は男性に比べ Adiponectin 値が高値であり、加齢による腎機能低下とともに Adiponectin は上昇することも報告されている。

今回、HCV 持続感染における耐糖能異常を調査しつつ、インスリン抵抗性を評価し、血清 Adiponectin 値との関連について検討した。

B. 方法

対象は、当科において2005年1月から同年12月までの間に、ペグインターフェロン α 2b・リバビリン併用療法を導入する前に、肝生検を施行したC型慢性肝炎81例で、男性 36例、女性 45

例、平均年齢 56.9±11.1才である。

飲酒によるアルコール性肝障害や肥満による非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の影響を排除し、HCV感染による直接的な関与と耐糖能、インスリン抵抗性との関連を評価するために、常時飲酒(日本酒換算2合/日以上)例やBMI 28以上の肥満例は、対象から除外した。なお、全例とも空腹時血糖は126 mg/dl未満で、いままでに耐糖能異常の指摘を受けたことはなく、降圧薬、血糖降下薬、抗高脂血症薬の内服歴のある例は除外した。

81例中、HCV 1型 64例、2型 17例で、肝病理組織学的に、線維化はF0 9例、F1 33例、F2 15例、F4 9例で、活動性はA0 0例、A1 28例、A2 36例、A3 17例で、脂肪化は、なし 48例、軽度 20例、中程度 11例、高度 2例であった。

血清HCV RNA量(kIU/ml)はアンプリコアPCR法(COBAS v2.0®, Roche Diagnostics Systems)で測定した。

耐糖能異常の評価には、ミールテスト(糖質 75g、脂質 24g、たんぱく質 6gを含む8.5本の553 kcalのクッキー、ABILIT社、大阪)による食事負荷試験を用いた。著者らは既に、本試験

が実際の食生活を反映し、高インスリン血症、耐糖能異常、糖尿病のみならず、食後高脂血症を検出するために脂肪を負荷し、生活習慣病に関与する要因を明らかにすることができることを報告している(J Atheroscler Thromb 2005)。

クッキーはお茶または水を飲用し10-15分以内で摂取し、50%摂取の時点を負荷スタートとした。負荷前および負荷後60、120分後に採血し、血糖、インスリン値を測定し、その血中値より下の部分と時間との間の面積を計算した(図1)

HOMA-IR (mg/dl・μU/ml) (空腹時血糖 X 空腹時インスリン÷405)、インスリン面積 AUC-IR (μU/ml・hr)、AUC-IR X 血糖面積 AUC-PG (mg/ml・hr)、により評価した。

血清Adiponectin値(μg/ml)は、高分子量フォームをELISA法(Human Adiponectin ELISA Kit®, 大塚製薬、東京)にて測定した。

本研究の遂行にあたっては患者のプライバシーを厳守し、患者に不利益が生じないよう細心の注意を払った。各患者にインフォームドコンセントを行ない、書面での同意を得、九州大学倫理委員会の承認を得た。

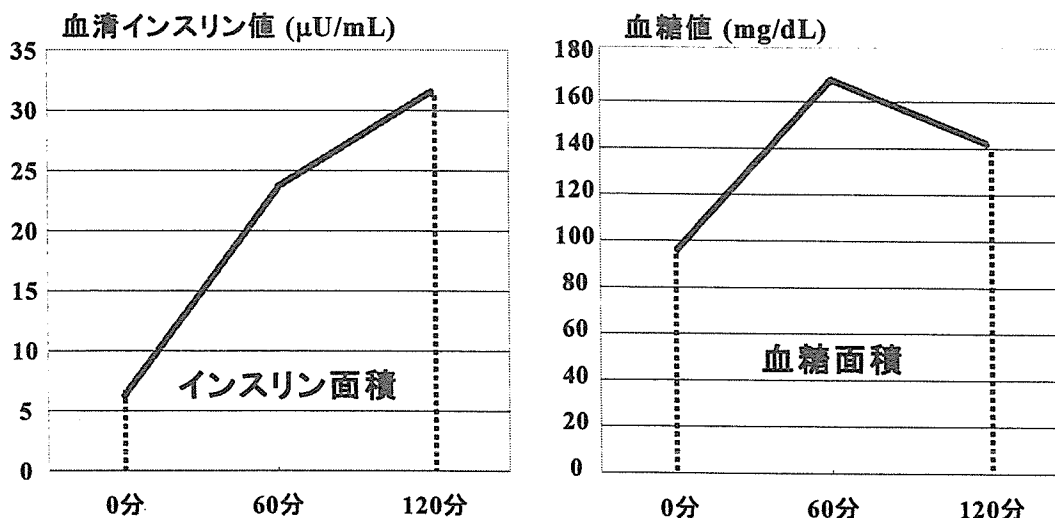


図1. ミールテスト負荷前後のインスリン値、血糖値による面積測定の場合

統計学的有意差を $P < 0.05$ とした。

C. 結果

(1) 耐糖能異常率

対象81例のうち、WHO分類による糖尿病型は7例(8.6%)、糖尿病でない耐糖能異常は30例(37.0%)であった。

(2) 負荷前のインスリン抵抗性 (HOMA-IR)

HOMA-IR異常(> 2.5)を有する24例は、正常(< 2.5) 57例と比べ、BMI ($25.6 \pm 0.6 \text{ kg/m}^2$ vs. $22.7 \pm 0.4 \text{ kg/m}^2$)、2時間値血糖($167.5 \pm 14.3 \text{ mg/dl}$ vs. $133.6 \pm 4.4 \text{ mg/dl}$)、AUC-IR ($115.3 \pm 9.9 \mu\text{U/ml}\cdot\text{hr}$ vs. $75.6 \pm 3.8 \mu\text{U/ml}\cdot\text{hr}$)、中性脂肪($130.3 \pm 10.7 \text{ mg/dl}$ vs. $89.1 \pm 4.8 \text{ mg/dl}$)、gGTP ($57.5 \pm 7.2 \text{ IU/l}$ vs. $39.2 \pm 3.9 \text{ IU/l}$)が有意に高値で、F3-F4 (50% vs. 12%)およびA2-A3 (79.2% vs. 42.1%)が有意に高率であった。HOMA-IR > 2.5 例の血清Adiponectin値 $6.20 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$ は、 < 2.5 例の $7.37 \pm 0.62 \mu\text{g/ml}$ に比べ低値であったが、有意差はなかった。

(3) 負荷後インスリン抵抗性(AUC-IR)と血清Adiponectin値

平均血清Adiponectin値($\mu\text{g/ml}$)において、男性4.6は女性8.9に比べ、AUC-I > 110 (5.7)は < 110 (8.1)に比べ、HDL < 40 (4.3)は > 40 (7.9)に比べ有意に低値で、HCV RNA量 < 100 、

100- < 1000 、 > 1000 と高量に従い、10.5、8.7、5.9と有意に低下した。血清Adiponectin値との相関については、年齢(才) ($r = 0.251$)と正の、HCV RNA量(kIU/ml) ($r = -0.301$)と負の、HDL (mg/dl) ($r = 0.270$)と正の、AUC-IR ($(\mu\text{U/ml}\cdot\text{hr})$) ($r = -0.364$)と負の、有意な関連を認めた。

(4) Adiponectin値、AUC-IR、HCV RNA量の関係

血清Adiponectin値は、AUC-IRおよびHCV RNA量が増加するに従い有意に低値となった($r = -0.220$ および $r = -0.364$)(図2および図3)。なお、HCV RNA量は、AUC-IRが増加するに従い高値となった($r = 0.261$)。

(5) 血清Adiponectin値に関わる因子

多変量解析により、男性(-4.5756/女性)、年齢(Odds 0.1413/年)、空腹時インスリン値(-0.2702)が正の、HCV RNA量(-0.0009)が負の独立関連因子であった。

D. 考察

C型慢性肝炎患者において、非肥満で、食前血糖が正常であっても耐糖能異常を45.6%に認め、食後過血糖のパターンであった。

HOMA-IRは、食前血糖と食前インスリン値から計算されたもので、インスリン抵抗性の指標

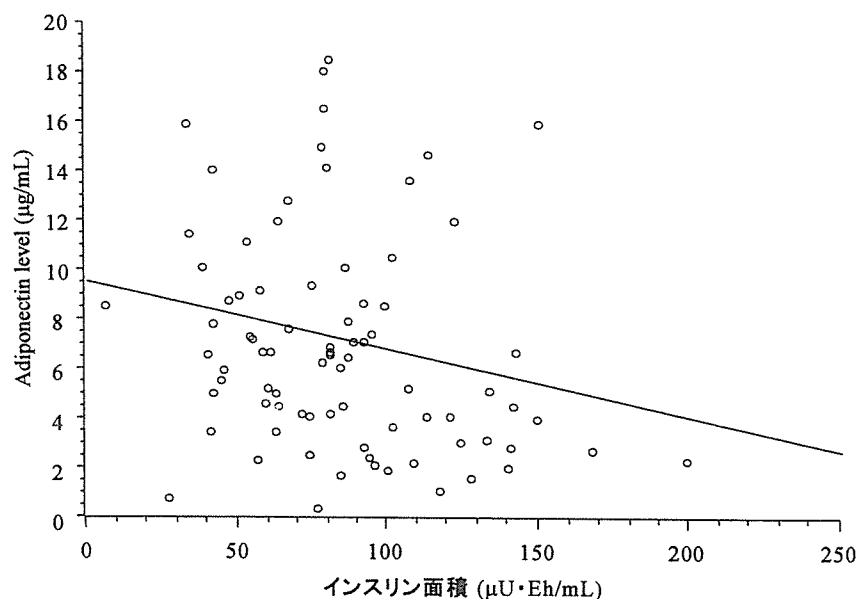


図2. 血清Adiponectin値とインスリン面積の相関

としてひろく使われている。本研究により、HOMA-IRは肝病理組織進展例で増悪したが、肝脂肪化との関連は認めなかった。また、HOMA-IRとAdiponectin値との関連も認めなかった。これらの結果は、本研究対象において肥満例や常用飲酒例を除外したことや高度肝脂肪化例が少数例であったからかもしれない。

血清Adiponectin値はAUC-IRやHCV RNA量と逆相関し、さらに、多変量解析によるAdiponectin値に寄与する独立因子は空腹時インスリン値やHCV RNA量であったことを考えると、HCV感染によるインスリン分泌過剰が血清Adiponectin値に影響を与えていることが示唆された。HCV感染モデルにて、HCVコア蛋白がインスリン抵抗性を惹起しているとの報告もあり、HCV感染による二次的な感染抗原による何らかの反応がC型慢性肝炎のインスリン抵抗に関与するのかもしれない。

今後、インターフェロン治療による効果とインスリン抵抗性との関連なども検討したい。

E. 結論

HCV持続感染における血清Adiponectin値は、インスリン分泌およびHCV RNA量と関連を認めた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamaji K, Nabeshima S, Murata M, Chong Y, Furusyo N, Ikematsu H, Hayashi J: Interferon- α/β upregulate IL-15 expression in vitro and in vivo: analysis in human hepatocellular carcinoma cell lines and in chronic hepatitis C patients during interferon- α/β treatment. *Cancer Immunol Immunother* 55:394-403,2006
2. Furusyo N, Takeoka H, Toyoda K, Murata M, Tanabe Y, Kajiwara E, Shimono J, Masumoto A, Maruyama T, Nomura H, Nakamuta M, Takahashi K, Shimoda S, Azuma K, Sakai H, Hayashi J: Long-term lamivudine treatment for chronic hepatitis B in Japanese patients: A project of Kyushu University Liver Disease Study. *World J Gastroenterol* 12(4):561-567,2006
3. Sawayama Y, Maeda S, Ohnishi H, Okada K, Hayashi J: Effect of Probuocol on Elderly Hypercholesterolemic Patients in the FAST study. *Fukuoka Acta Med* 97(1):15-24,2006
4. Murata M, Nabeshima S, Kikuchi K, Yamaji K, Furusyo N, Hayashi J: A comparison of the antitumor effects of interferon- α and β on human hepatocellular carcinoma cell lines. *Cytokine* 33:121-128,2006
5. Furusyo N, Katoh M, Tanabe Y, Kajiwara E, Maruyama T, Shimono J, Sakai H, Nakamuta M, Nomura H, Masumoto A, Shimoda S, Takahashi K, Azuma K, Hayashi J: Interferon alpha plus ribavirin combination treatment of Japanese chronic hepatitis C patients with HCV genotype 2: A project of the Kyushu University Liver Disease Study Group. *World J Gastroenterol* 12(5):784-790,2006
6. Bo Ahang, Maeda N, Okada K, Tatsukawa M, Sawayama Y, Matsunaga A, Kumagai K, Miura S, Nagao T, Hayashi J, Saku K: Association between fast-migrating low-density lipoprotein

- subfraction as characterized by capillary isotachopheresis and intima-media thickness of carotid artery. *Atherosclerosis* 187:205-212,2006
7. Fukiwake N, Furusyo N, Kubo N, Takeoka H, Toyoda K, Morita K, Shibata S, Nakahara T, Kido M, Hayashida S, Moroi Y, Urabe K, Hayashi J, Furue M: Incidence of atopic dermatitis in nursery school children-A follow-up study from 2001 to 2004, Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis study(KIDS). *Eur J Dermatol* 16(4):416-419,2006
8. Sawayama Y, Okada K, Maeda S, Ohnishi H, Furusyo N, Hayashi J: Both Hepatitis C Virus and Chlamydia Pnermoniae Infection are Related to the Progression of Carotid Atherosclerosis in Patients Undergoing Lipids Lowering Therapy. *Fukuoka Acta Med* 97(8):245-255,2006
9. Sawayama Y, Hamada M, Otaguro S, Maeda S, Ohnishi H, Taira Y, Hayashi J: The Impact of Peripheral Arterial Disease and Acute Ischemic Stroke *Fukuoka Acta Med* 97(10):293-301,2006
10. Hayashi J, Furusyo N, Takeoka H, Toyoda K, Kubo N, Etoh Y: Efficacy of Intravenous Glycyrrhizin for the Treatment of Chronic Hepatitis C:A Comparison of the Original and Generic Drugs. *Gen Med* 7(1):1-8,2006
- [総説]
1. 林 純
血液由来ウイルス感染症
- 日常外来で遭遇する感染症診療ガイド 123-132,2006
2. 林 純、古庄 憲浩
肝炎ウイルスマーカー
臨牀と研究 83(2) : 188-192,2006
3. 林 純、古庄 憲浩、村田 昌之
C 型慢性肝炎に対するインターフェロンβの意義
臨牀と研究 83(5) : 770-777,2006
4. 林 純、古庄 憲浩、村田 昌之、貝沼茂三郎 インターフェロンの副作用とその対策 臨牀と研究 83(9) : 1301-1305,2006
2. 学会発表
1. 澤山 泰典、他 : プライマリ・ケアにおける閉塞性動脈硬化症の対策-脳卒中発症予防の観点からの検討。 第 14 回日本総合診療医学会学術集会 2006、山口
2. 藤本 弥生 : Helicobacter Pylori(HP)感染の推移及び家族内感染についての調査 第 14 回日本総合診療医学会学術集会 2006、山口
3. 村田 昌之 : 一般住民における C 型肝炎ウイルス(HCV)感染自然経過の長期大規模疫学研究 第 14 回日本総合診療医学会学術集会 2006、山口
4. 豊田 一弘 : 狩猟者における E 型肝炎ウイルス(HEV)感染状況 第 14 回日本総合診療医学会学術集会 2006、山口
5. 古庄 憲浩 : 沖縄県石垣市保育園児における B 型肝炎ウイルス(HBV)持続感染の推移 - 25 年間の前向き追跡調査 - 第 80 回日本感染症学会総会 2006、東京

6. 古庄 憲浩：九州大学関連肝疾患研究会におけるペグ IFN α -2b・リバビリン併用療法 (Peg-IFN/RIB) の臨床成績 第 80 回日本感染症学会総会 2006、東京
7. 藤本 弥生：Helicobacter Pylori 感染と脂質代謝異常の検討 第 80 回日本感染症学会総会 2006、東京
8. 小川 栄一：免疫再構築症候群により、MAC 感染症の増悪を繰り返す AIDS の 1 例 第 80 回日本感染症学会総会 2006、東京
9. 武岡 宏明：C 型肝炎ウイルス (HCV)・成人 T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) 重複感染肝臓癌における HTLV-1 外被蛋白抗体 (抗 gp46-197 抗体) の推移 第 80 回日本感染症学会総会 2006、東京
10. 澤山 泰典：Effect on carotid atherosclerosis of levofloxacin plus probucol for chlamydia pneumoniae infection. 第 14 回 International Symposium on Atherosclerosis 平成 2006、イタリア
11. 前田 晋至：An association between risk factors of carotid atherosclerosis and the fatal events of patients undergoing maintenance hemodialysis. 第 14 回 International Symposium on Atherosclerosis 2006、イタリア
12. 大西 八郎：The prevalence and risk factors of asymptomatic arteriosclerosis obliterans in southwestern Japan. 第 14 回 International Symposium on Atherosclerosis 2006、イタリア
13. 前田 晋至：血液透析患者における血管系イベント発症及びその危険因子について検討 第 38 回日本動脈硬化学会総会 2006、東京
14. 大西八郎：一般住民における無症候性閉塞性動脈硬化症の疫学調査—Iki Arteriosclerosis Trial— 第 38 回日本動脈硬化学会総会 2006、東京
15. 古庄 憲浩：Inverse Correlation between Serum HCV RNA and Adiponectin Levels in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
16. 村田 昌之：A Comparison of the Antitumor Effect of Interferon- α and β on Human Hepatocellular Carcinoma Cell Lines Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
17. 豊田 一弘：Risk Factors for Hepatitis E Virus Infection: A Study of Wild Boar Hunters in Okinawa, Japan Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
18. 武岡 宏明：Atherosclerosis in healthy residents is not associated with hepatitis B virus or hepatitis C virus infection Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
19. 古庄 憲浩：ヘリコバクター・ピロリ (HP) 感染と耐糖能異常の関連について 第 76 回日本感染症学会西日本地方会総会 2006、岡山
20. 豊田 一弘：一般住民におけるヘリコバクター・ピロリ (HP) 感染の胃食道逆流症 (GERD) および逆流性食道炎への影響

第76回日本感染症学会西日本地方会
総会 2006、岡山

21. 武岡 宏明：一般住民における血液由来ウイルス持続感染の動脈硬化への影響 第76回日本感染症学会西日本地方会総会 2006、岡山
22. 古庄 憲浩：Circulating Adiponectin and Chronic hepatitis C Virus infection 第10回 Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Disease 2006、福岡
23. 豊田 一弘：Risk factors of Hepatitis E virus infection; A study of wild boar hunters in Okinawa, Japan. 第10回 Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Disease 2006、福岡

24. 武岡 宏明：Antibody to the human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) envelope protein Gp46 in patients co-infected with HCV and HTLV-1 第10回 Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Disease 2006、福岡

2. 学会発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

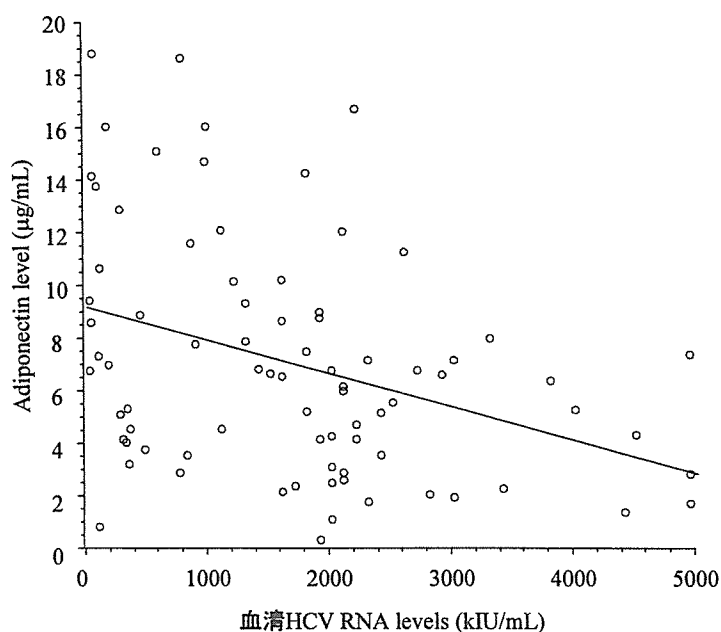


図3. 血清Adiponectin値とHCV RNA量の相関

感染環境医学 2006 年度

[発表論文]

1. Yamaji K, Nabeshima S, Murata M, Chong Y, Furusyo N, Ikematsu H, Hayashi J:
Interferon- α/β upregulate IL-15 expression in vitro and in vivo: analysis in human hepatocellular carcinoma cell lines and in chronic hepatitis C patients during interferon- α/β treatment.
Cancer Immunol Immunother 55:394-403,2006

2. Furusyo N, Takeoka H, Toyoda K, Murata M, Tanabe Y, Kajiwara E, Shimono J, Masumoto A, Maruyama T, Nomura H, Nakamura M, Takahashi K, Shimoda S, Azuma K, Sakai H, Hayashi J:
Long-term lamivudine treatment for chronic hepatitis B in Japanese patients: A project of Kyushu University Liver Disease Study.
World J Gastroenterol 12(4):561-567,2006

3. Sawayama Y, Maeda S, Ohnishi H, Okada K, Hayashi J:
Effect of Probucol on Elderly Hypercholesterolemic Patients in the FAST study.
Fukuoka Acta Med 97(1):15-24,2006

4. Murata M, Nabeshima S, Kikuchi K, Yamaji K, Furusyo N, Hayashi J:
A comparison of the antitumor effects of interferon- α and β on human hepatocellular carcinoma cell lines.
Cytokine 33:121-128,2006

5. Furusyo N, Katoh M, Tanabe Y, Kajiwara E, Maruyama T, Shimono J, Sakai H, Nakamura M, Nomura H, Masumoto A, Shimoda S, Takahashi K, Azuma K, Hayashi J:
Interferon alpha plus ribavirin combination treatment of Japanese chronic hepatitis C patients with HCV genotype 2: A project of the Kyushu University Liver Disease Study Group.
World J Gastroenterol 12(5):784-790,2006

6. Bo Ahang, Maeda N, Okada K, Tatsukawa M, Sawayama Y, Matsunaga A, Kumagai K, Miura S, Nagao T, Hayashi J, Saku K:
Association between fast-migrating low-density lipoprotein subfraction as characterized by capillary isotachopheresis and intima-media thickness of carotid artery.
Atherosclerosis 187:205-212,2006

7. Fukiwake N, Furusyo N, Kubo N, Takeoka H, Toyoda K, Morita K, Shibata S, Nakahara T, Kido M, Hayashida S, Moroi Y, Urabe K, Hayashi J, Furue M:
Incidence of atopic dermatitis in nursery school children-A follow-up study from 2001 to 2004,
Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis study(KIDS).
Eur J Dermatol 16(4):416-419,2006
8. Sawayama Y, Okada K, Maeda S, Ohnishi H, Furusyo N, Hayashi J:
Both Hepatitis C Virus and Chlamydia Pnermoniae Infection are Related to the Progression of
Carotid Atherosclerosis in Patients Undergoing Lipids Lowering Therapy.
Fukuoka Acta Med 97(8):245-255,2006
9. Sawayama Y, Hamada M, Otaguro S, Maeda S, Ohnishi H, Taira Y, Hayashi J:
The Impact of Peripheral Arterial Disease and Acute Ischemic Stroke
Fukuoka Acta Med 97(10):293-301,2006
10. Hayashi J,Furusyo N, Takeoka H,Toyoda K, Kubo N, Etoh Y:
Efficacy of Intravenous Glycyrrhizin for the Treatment of Chronic Hepatitis C:A Comparison of the
Original and Generic Drugs.
Gen Med 7(1):1-8,2006

[総説]

1. 林 純
血液由来ウイルス感染症
日常外来で遭遇する感染症診療ガイド 123-132,2006
2. 林 純、古庄 憲浩
肝炎ウイルスマーカー
臨牀と研究 83(2) : 188-192,2006
3. 林 純、古庄 憲浩、村田 昌之
C型慢性肝炎に対するインターフェロンβの意義
臨牀と研究 83(5) : 770-777,2006

4. 林 純、古庄 憲浩、村田 昌之、貝沼 茂三郎
インターフェロンの副作用とその対策
臨牀と研究 83(9) : 1301-1305,2006

[学会発表]

1. 澤山 泰典、他：プライマリ・ケアにおける閉塞性動脈硬化症の対策-脳卒中発症予防の観点からの検討。 第14回日本総合診療医学会学術集会 平成18年3月、山口
2. 藤本 弥生：Helicobacter Pylori (HP) 感染の推移及び家族内感染についての調査
第14回日本総合診療医学会学術集会 平成18年3月、山口
3. 村田 昌之：一般住民におけるC型肝炎ウイルス(HCV)感染自然経過の長期大規模疫学研究
第14回日本総合診療医学会学術集会 平成18年3月、山口
4. 豊田 一弘：狩猟者におけるE型肝炎ウイルス(HEV)感染状況
第14回日本総合診療医学会学術集会 平成18年3月、山口
5. 古庄 憲浩：沖縄県石垣市保育園児におけるB型肝炎ウイルス(HBV)持続感染の推移
- 25年間の前向き追跡調査 - 第80回日本感染症学会総会 平成18年4月、東京
6. 古庄 憲浩：九州大学関連肝疾患研究会におけるペグ IFN α -2b・リバビリン併用療法
(Peg-IFN/RIB)の臨床成績 第80回日本感染症学会総会 平成18年4月、東京
7. 藤本 弥生：Helicobacter Pylori 感染と脂質代謝異常の検討
第80回日本感染症学会総会 平成18年4月、東京
8. 小川 栄一：免疫再構築症候群により、MAC感染症の増悪を繰り返すAIDSの1例
第80回日本感染症学会総会 平成18年4月、東京
9. 武岡 宏明：C型肝炎ウイルス(HCV)・成人T細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)重複感染
肝臓癌におけるHTLV-1外被蛋白抗体(抗gp46-197抗体)の推移
第80回日本感染症学会総会 平成18年4月、東京

10. 澤山 泰典 : Effect on carotid atherosclerosis of levofloxacin plus probucol for chlamydia pneumoniae infection. 第 14 回 International Symposium on Atherosclerosis 平成 18 年 6 月、イタリア
11. 前田 晋至 : An association between risk factors of carotid atherosclerosis and the fatal events of patients undergoing maintenance hemodialysis. 第 14 回 International Symposium on Atherosclerosis 平成 18 年 6 月、イタリア
12. 大西 八郎 : The prevalence and risk factors of asymptomatic arteriosclerosis obliterans in southwestern Japan. 第 14 回 International Symposium on Atherosclerosis 平成 18 年 6 月、イタリア
13. 前田 晋至 : 血液透析患者における血管系イベント発症及びその危険因子について検討 第 38 回日本動脈硬化学会総会 平成 18 年 7 月、東京
14. 大西八郎 : 一般住民における無症候性閉塞性動脈硬化症の疫学調査—Iki Arteriosclerosis Trial— 第 38 回日本動脈硬化学会総会 平成 18 年 7 月、東京
15. 古庄 憲浩 : Inverse Correlation between Serum HCV RNA and Adiponectin Levels in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
16. 村田 昌之 : A Comparison of the Antitumor Effect of Interferon- α and β on Human Hepatocellular Carcinoma Cell Lines Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
17. 豊田 一弘 : Risk Factors for Hepatitis E Virus Infection: A Study of Wild Boar Hunters in Okinawa, Japan Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
18. 武岡 宏明 : Atherosclerosis in healthy residents is not associated with hepatitis B virus or hepatitis C virus infection Prague Hepatology Meeting 2006 Sep 2006、Prague
19. 古庄 憲浩 : ヘリコバクター・ピロリ(HP)感染と耐糖能異常の関連について 第 76 回日本感染症学会西日本地方会総会 平成 18 年 11 月、岡山

20. 豊田 一弘：一般住民におけるヘリコバクター・ピロリ(HP)感染の胃食道逆流症(GERD)および逆流性食道炎への影響
第76回日本感染症学会西日本地方会総会 平成18年11月、岡山
21. 武岡 宏明：一般住民における血液由来ウイルス持続感染の動脈硬化への影響
第76回日本感染症学会西日本地方会総会 平成18年11月、岡山
22. 古庄 憲浩：Circulating Adiponectin and Chronic hepatitis C Virus infection
第10回 Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Disease
平成18年12月、福岡
23. 豊田 一弘：Risk factors of Hepatitis E virus infection; A study of wild boar hunters in Okinawa, Japan.
第10回 Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Disease
平成18年12月、福岡
24. 武岡 宏明：Antibody to the human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) envelope protein Gp46 in patients co-infected with HCV and HTLV-1
第10回 Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Disease
平成18年12月、福岡

研究テーマ：C型慢性肝疾患における脂質由来低分子化合物の酸化ストレスマーカーとしての意義

分担研究者：今井康陽 市立池田病院 副院長

研究要旨：C型慢性肝疾患において肝炎の進展、発癌に酸化ストレスの関与が示唆されている。我々は、生体中で豊富に存在するリノール酸およびそのエステル体さらにコレステロールから脂質過酸化によって生成する過酸化物を網羅的にアルコール体へ還元し、加水分解することによってヒドロキシリノール酸（total hydroxyoctadecadienoic acid、total HODE）およびヒドロキシコレステロール（total 7-OHCh）として総合的に測定する技術を開発し、酸化ストレスマーカーとしての意義をC型慢性肝疾患において検討してきた。今回症例数を増やした上でC型慢性肝炎例(CH)、肝硬変例(LC)、健常人において血漿および赤血球膜のtotal HODE、total HODEの幾何異性体比(ZE/EE比)、8-iso-PGF₂αおよびtotal 7-OHChの網羅的測定、抗酸化物質の測定(α, γ-tocopherol、ascorbic acid)を行った。またC型慢性肝疾患症例に対して瀉血療法を行い、瀉血前後における血漿total HODE、フェリチン、ALT、チオレドキシンの推移を検討した。血漿total HODE、赤血球膜total HODE、total 7-OHCh、8-iso-PGF₂αともに健常人に対して、CH、LCにおいていずれも有意に高値であった。血漿、赤血球膜total HODEとも血漿、赤血球膜ZE/EE比と負の相関を示したことから、C型肝炎における脂質過酸化にfree radicalの関与が示唆された。また、血漿total HODEとVI型collagen 7S、ASTの間に有意な正の相関が認められ、酸化ストレスと肝線維化、炎症との関連性が示唆された。瀉血療法によってフェリチン、ALT、チオレドキシんとともに血漿total HODEが低下する傾向が認められ、抗酸化療法における酸化ストレス改善の評価に血漿total HODEの測定が有用であると考えられた。

研究協力者：

市立池田病院 内科医長 澤井良之
産業技術総合研究所 ヒューマンスト
レスシグナル研究センター

研究チーム長 吉田康一

研究員 斉藤芳郎

センター長 二木鋭雄

A. 研究目的

C 型慢性肝疾患において近年、線維化の進展や肝発癌の病態に酸化ストレスの密接な関与が報告されている。したがって、酸化ストレスマーカーが従来の肝機能検査に加えて重要となっており、良質な定量性に優れた酸化ストレスマーカーの開発が期待されている。

我々は、生体中で豊富に存在するリノール酸およびそのエステル体さらにコレステロールから脂質過酸化によって生成する過酸化物を網羅的にアルコール体へ還元し、加水分解することによってヒドロキシリノール酸 (total hydroxyoctadecadienoic acid, total HODE) およびヒドロキシコレステロール (total 7-OHCh) として総合的に測定する技術を開発し、酸化ストレスマーカーとしての意義を C 型慢性肝炎(CH)、肝硬変(LC)において検討してきた。今回症例数を増やし、本手法の酸化ストレスマーカーとしての意義を C 型慢性肝疾患において検討した。

また、近年 C 型慢性肝疾患に対して、鉄によるラジカルを介した肝細胞障害を改善するため、瀉血療法が行われている。今回 C 型慢性肝疾患に対して瀉血療法を行い、total HODE の推移を検討した。

B. 研究方法

生体サンプル中のリン脂質、コレステロールエステル、トリグリセリド、遊離脂肪酸を化学的に還元および加水分解し、全てアルコール体である HODE にした上で (total HODE)、TMS 化後、GC/MS 分析によって測定を行った (Yoshida Y et al: Free Rad Res 2004; 38: 787-794)。同時に

8-isoPGF₂α の測定も行った。HODE の幾何異性体は ZE 体、EE 体に分けられるが、ZE 体は酵素的な酸化、ラジカル酸化により生成されるのに対し、EE 体は主にラジカル酸化により生成される。そこで、幾何異性体の比、ZE,EE 比を測定することにより過酸化反応の性質を検討した。コレステロールの脂質過酸化物も同様に還元、水酸化することにより total 7-OHCh として測定した。

C 型慢性肝炎 47 例、C 型肝硬変 31 例、健常人 42 例を対象とした。血漿および赤血球膜の total HODE、total HODE の幾何異性体比 (ZE/ EE 比)、8-iso-PGF₂α および total 7-OHCh の網羅的測定、抗酸化物質 (α, γ-tocopherol, ascorbic acid) の測定を行い、T-Bil, Plt, AST, ALT, 血中フェリチン, ヒアルロン酸, IV 型 collagen 7S との相関も検討した。

上記のうち一部の症例に対して瀉血療法を行い、瀉血前後における血漿 total HODE、チオレドキシン、フェリチン、ALT の推移を検討した。

C. 研究結果

1) 血漿 total HODE は C 型肝炎例において 305 ± 143 nM で、健常人 224 ± 74 nM に対して有意に高値を示した。C 型慢性肝炎例 (CH)、C 型肝硬変例 (LC) においてそれぞれ 281 ± 118 、 341 ± 170 nM でいずれも健常人に比し有意に高値であった (図 1)。赤血球膜 total HODE も C 型肝炎例において 2509 ± 1252 nmol/l-packed cell と、健常人 1976 ± 1049 nmol/l-packed cell に対し有意に高値であった。CH、LC それぞ

れ 2301 ± 1241 、 2824 ± 1220 nmol/l-packed cell で、健常人に比し高値を示した。total 7-OHCh も健常人 200 ± 116 nM に比し、C型肝炎例で 321 ± 152 nM と有意に高値を示した。

また血漿 8-iso-PGF 2α においても、健常人 0.61 ± 0.42 nM に対して、C型肝炎例で 1.08 ± 0.92 nM と有意に高値を示した。CH、LC において 1.02 ± 0.83 、 1.18 ± 1.05 nM といずれも健常人に比し有意に高値であった。

以上の結果より、C型慢性肝疾患における酸化ストレスの亢進状態が示唆された。

2) C型慢性肝疾患患者において、図 2 に示すように血漿 total HODE は血漿 ZE/EE 比と負の相関を示した。赤血球膜 total HODE も同様に赤血球 ZE/EE 比と負の相関を示し、ラジカル酸化反応が亢進していることが示唆された。

3) 血漿 total HODE と AST、ALT に正の相関が認められた。また、IV型 collagen 7S、ヒアルロン酸と血漿 total HODE の間にも正の相関が認められ酸化ストレスと炎症、線維化との関連性が示唆された (図 3)。

4) 血漿、赤血球膜の α -tocopherol、 γ -tocopherol、アスコルビン酸は、健常人に対して、C型慢性肝疾患例で有意に低値を示した (表 1)。

5) 2 症例において瀉血療法前後において血漿 total HODE、チオレドキシンの測定を行った。2週に一度 200~400ml の瀉血

を行うことにより、フェリチン、ALT、チオレドキシンの低下とともに血漿 total HODE が低下する傾向を認めた (図 4-1, 2)。

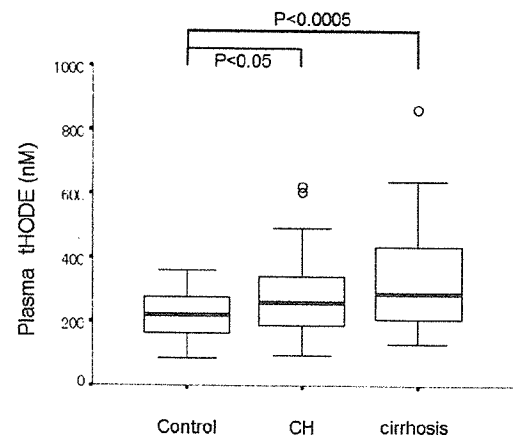


図 1. 血漿 total HODE 濃度

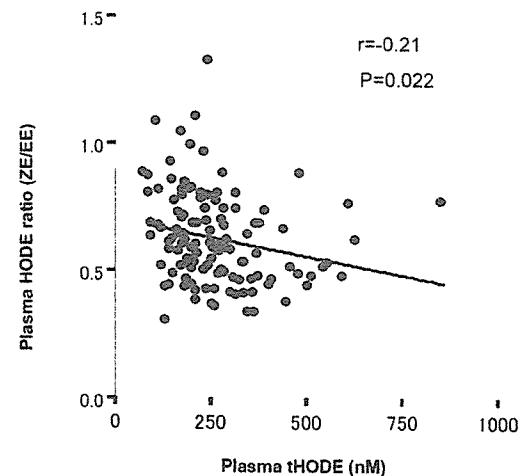


図 2. 血漿 total HODE と、total HODE の幾何異性体比(ZE/EE 比)との相関

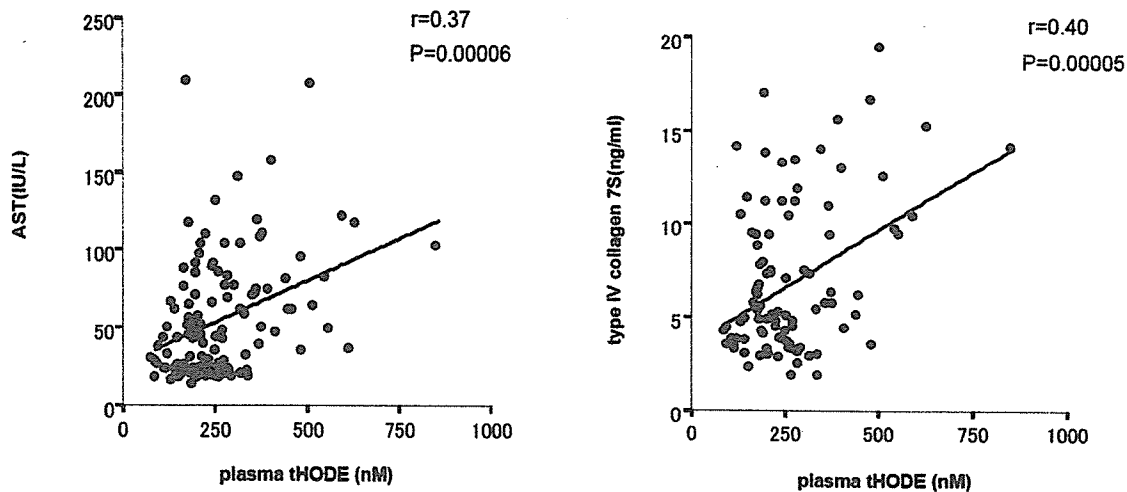


図 3. 血漿 total HODE と AST, IV 型コラーゲン 7S の相関

表 1. 健常人、C 型肝炎例における血漿、赤血球膜状の各種抗酸化物質濃度

	Control group (n=42)	HCV group		
		total (n=78)	chronic hepatitis (n=47)	cirrhosis (n=31)
Plasma (μM)				
α -tocopherol	24.2 \pm 8.96	18.2 \pm 6.96*	16.9 \pm 5.45*	20.1 \pm 8.46
γ -tocopherol	2.56 \pm 1.52	1.63 \pm 1.02*	1.65 \pm 0.95*	1.61 \pm 1.14*
ascorbic acid	40.2 \pm 19.2	33.9 \pm 17.8*	34.1 \pm 16.1	33.7 \pm 20.2
Erythrocytes ($\mu\text{mol/L}$-packed cell)				
α -tocopherol	2.38 \pm 0.85	1.53 \pm 0.79*	1.52 \pm 0.71*	1.53 \pm 0.91*
γ -tocopherol	0.44 \pm 0.49	0.23 \pm 0.16*	0.24 \pm 0.15*	0.22 \pm 0.16*

*; p<0.05 against controls

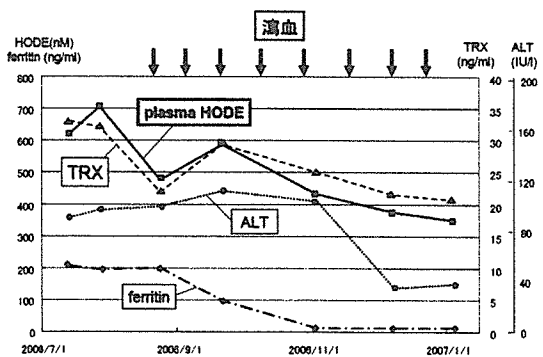


図 4-1. 瀉血症例 1

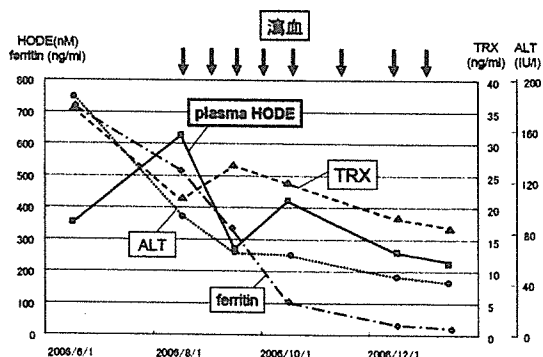


図 4-2. 瀉血症例 2

D 考察

C 型慢性肝疾患において肝炎の進展や発癌に酸化ストレスの関与が報告され、良質な、定量性に優れた酸化ストレスマーカーの開発が期待されている。

現状で測定可能である酸化ストレスマーカーとしては、活性酸素により修飾された物質 (8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG; 4-hydroxy-2 nonenal, HNE; malondialdehyde, MDA)、8-iso-Prostaglandin F₂α、チオレドキシンなどがあげられる。

我々は新たな酸化ストレスマーカーとして、生体の体液、組織中より total HODE、total 7-OHCh を測定する方法を開発し、生体に多く存在するリノール酸やコレステロールからの過酸化物をすべてアルコール体とし網羅的に定量することが可能となった。同時に 8-iso-PGF₂α を測定することが可能である。その結果、total HODE、total 7-OHCh は血漿中、赤血球膜中ともに 8-iso-PGF₂α よりも 100~1000 倍の高濃度に存在することが明らかとなった。さらに今回の測定方法では total HODE の幾何異性体比 (ZE/EE 比) の検討より、その酸化過程 (ラジカル酸化か酵素的酸化か) の類推も可能である。以上の点より total HODE、total 7-OHCh は 8-iso-PGF₂α より高感度な酸化ストレスマーカーであると考えられる。

また、血漿、赤血球膜中の total HODE、total 7-OHCh、8-iso-PGF₂α はいずれも健常人に対して C 型慢性肝疾患で有意に高値を示し、C 型慢性肝疾患における高酸化ストレス状態が示唆された。total HODE の幾何異性体比 (ZE/EE 比) は血漿、赤血球

膜において total HODE と負の相関を示し、C 型慢性肝疾患においてラジカル酸化 (非生理的酸化) 反応が亢進していることが示唆された。

抗酸化物質である α-tocopherol、γ-tocopherol、アスコルビン酸などの測定では、いずれも健常人に比し C 型肝炎患者において低値であった。これら抗酸化物質の低下も C 型慢性肝疾患における高酸化ストレス状態に関与していると考えられた。

C 型肝炎では鉄の過剰蓄積がみられることが多く、鉄過剰状態は酸素の存在下においてフリーラジカルを産生し、肝障害の原因の一つとなっている。最近、肝細胞内の鉄によるラジカルを介した肝細胞障害の改善を目的として、瀉血療法が行われている。本研究においても瀉血療法によってフェリチンの低下に伴う ALT の改善が認められた。また肝機能の改善に伴い、チオレドキシンとともに血漿 total HODE が低下する傾向が認められ、抗酸化療法による酸化ストレス改善の評価に血漿 total HODE の測定が有用であると考えられた。

E. 結論

total HODE、total 7-OHCh の網羅的分析の結果、C 型慢性肝疾患における酸化ストレスの亢進が示された。また、抗酸化療法における酸化ストレス改善の評価に血漿 total HODE の測定が有用であると考えられた。

F. 論文発表

- 1) 今井康陽、田中英夫、田村信司、林紀夫
C 型肝炎治療による発癌抑止効果
カレントセラピー 2006;24(8):35

- 2) 林紀夫、今井康陽、八橋弘
発癌進展抑止を目指したインターフェロン治療の選択肢—在宅自己注射をいかに使用するか—
診断と治療 2006;94(4):687-696.
- 3) 今井康陽、村上桌道、堀雅敏、福田和人、澤井良之、小来田幸世、黒川正典、徳永仰、中村仁信. SPIO 造影 MRI からみた早期肝癌の診断 消化器画像 2006;8(5):579-583
- 4) 野田修造、今井康陽、稲田正巳、藪内以和夫、作田茂、白井康博、田村信司. C 型慢性肝炎に対するインターフェロンβ 6ヶ月投与の有効性に関する検討. 医学と薬学 2007;57:207-213.
- 5) Yoshida Y, Saito Y, Hayakawa M, Habuchi Y, Imai Y, Sawai Y, Niki E. Levels of lipid peroxidation in human plasma and erythrocytes: Comparison between Fatty Acids and Cholesterol. Lipids in press

G. 学会発表

- 1) 第 92 回日本消化器病学会総会
澤井良之、今井康陽、吉田康一
シンポジウム 1 消化器疾患における酸化ストレスと counterstrategy
C 型肝炎における新しい酸化ストレスマーカーとしてのヒドロキシリノール酸の分析の意義
- 2) 第 92 回日本消化器病学会総会
今井康陽、福田和人、黒川正典
パネルディスカッション 2 早期肝細胞癌の画像による診断基準に迫る
早期肝細胞癌における CTHA、CTAP からみた血流動態と SPIO 造影 MRI の造影効果
- 3) 第 92 回日本消化器病学会総会
今井康陽、田村信司、林紀夫
ワークショップ 6 炎症と発癌
C 型肝炎におけるインターフェロンによる発癌抑制と長期予後
- 4) 第 92 回日本消化器病学会総会

- 笠原彰紀、喜田恵治、富田栄一、豊田成司、今井康陽、熊田博光
肝硬変を対象とした遺伝子組み換え人血清アルブミン製剤 GB-1057 の有効性、安全性に関する多施設共同研究—繰り返し投与試験
- 5) 第 42 回日本肝臓学会総会
澤井良之、今井康陽、吉田康一、斉藤芳郎、福田和人、小来田幸世、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典、二本鋭雄
ワークショップ 3 酸化ストレスと肝疾患
C 型肝炎における新しい酸化ストレスマーカーとしての脂質由来低分子化合物 (ヒドロキシリノール酸、ヒドロキシコレステロール) の網羅的分析
- 6) 第 42 回日本肝臓学会総会
今井康陽、田中英夫、田村信司、木曾真一、藪内以和夫、稲田正巳、北田学利、白井健郎、林紀夫
C 型肝炎コホートにおける肝細胞癌および非ホジキンリンパ腫の standardized incidence ratio(SIR)に関する検討
- 7) 第 42 回日本肝臓学会総会
小来田幸世、今井康陽、福田和人、澤井良之、柳川和範、加藤元彦、上ノ山直人、向井章、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典、
C 型慢性肝炎に対する PEG-IFNα2b/Ribavirin 併用療法の early virological response に関する検討
- 8) 第 84 回日本消化器病学会近畿地方会
土井喜宣、藪内以和夫、今井康陽
シンポジウム 2 II 肝疾患：内科と外科の接点
B 型肝炎硬変合併肝細胞癌の肝切除時におけるラミブジン使用の経験
- 9) 第 84 回日本消化器病学会近畿地方会
小来田幸世、今井康陽、福田和人、澤井良之、加藤元彦、柳川和範、松

本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典

C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN α 2b/Ribavirin 併用療法の early virological response に関する検討

10) 第 85 回日本消化器病学会近畿地方会

久保和毅、澤井良之、今井康陽、福田和人、小来田幸世、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典

B 型肝硬変における lamivudine 耐性株に対する adefovir dipivoxil の有効性に関する検討

11) 第 10 回日本肝臓学会大会 (DDW2006)

澤井良之、今井康陽、吉田康一
ワークショップ 5 肝疾患における酸化ストレス

C 型肝炎における新しい酸化ストレスマーカーとしての脂質由来低分子化合物の網羅的解析と Selenoprotein P を含めた各種抗酸化物質の測定

12) 第 10 回日本肝臓学会大会 (DDW2006)

福田和人、今井康陽、澤井良之
原因不明の肝細胞癌の臨床病理学的検討

13) 第 10 回日本肝臓学会大会 (DDW2006)

小来田幸世、今井康陽、福田和人、澤井良之、上ノ山直人、向井章、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典

C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN α 2b/Ribavirin 併用療法の 12 週 HCV RNA 陰性化について

14) 第 10 回日本肝臓学会大会 (DDW2006)

土井喜宣、藪内以和夫、今井康陽、澤井良之、福田和人、小来田幸世、有吉隆久、西林宏之、黒川正典

B 型肝硬変合併肝細胞癌の根治的治療時におけるラミブジンの使用経験

H. 知的所有権の所得状況

特許番号 PCT/JP2004/018645

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表