

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K16961

研究課題名（和文）ビタミンB6欠乏患者のピリドキサルリン酸を用いたAST、ALT測定の有用性

研究課題名（英文）Usefulness of AST and ALT measurement using pyridoxal phosphate in patients with vitamin B6 deficiency.

研究代表者

出居 真由美（Idei, Mayumi）

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：40596623

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本邦のAST、ALT測定は、主にピリドキサルリン酸（PALP）非添加のJSCC法で測定する。本研究は、ビタミンB6欠乏患者におけるPALPを添加した測定系（IFCC法）によるAST、ALT測定の有用性を検討した。IFCC法のAST測定は、測定結果が安定しなかったため、ALTについて検討した。ビタミンB6低値ではALT低値の割合が高く、IFCC法測定値のJSCC法からの増加率は、ALT低値群はControl群と比較し有意に高いことから、ALT低値例においてPALP添加による測定法の有用性が示された。本研究の対象においては、肝障害の評価に大きく影響を与える程度ではなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AST、ALTの測定は、国際臨床化学連合の勧告法（IFCC法）ではPALPを添加し測定されるが、国際的にはPALPを添加することは統一されていない。本邦では、PALP非添加のJSCC標準化準拠法（JSCC法）で測定することが一般的であり、ビタミンB6欠乏状態では、AST、ALTが見かけ上低値となり、肝障害を過小評価する可能性がある。本研究により、ビタミンB6低値ではALT低値の割合が高く、ALT低値例において、IFCC法測定の有用性が示された。

研究成果の概要（英文）：AST and ALT activities are widely measured using the JSCC methods without addition of pyridoxal phosphate (PALP) in Japan. This study investigated the usefulness of AST and ALT measurement using the IFCC method with addition of PALP in patients with vitamin B6 deficiency. The measurement of AST using the IFCC method was unstable, therefore, ALT was investigated. Patients with low vitamin B6 levels had a higher rate of low ALT activities, and the ALT increase rate ((IFCC-JSCC)/JSCC) was significantly higher in the low ALT group than in control group. This suggests the usefulness of ALT measurement using the IFCC method with addition of PALP in patients with low ALT activities. In this study, the increase in ALT activities measured by the IFCC method did not significantly affect the assessment of liver damage.

研究分野：臨床検査

キーワード：トランスアミナーゼ ビタミンB6 ピリドキサルリン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

トランスアミナーゼ (AST < aspartate aminotransferase >、ALT < alanine aminotransferase >) は肝障害のマーカーとして用いられ、特に ALT はウイルス性肝炎の治療適応の評価に重要である。トランスアミナーゼは、ビタミン B6 の活性型であるピリドキサルリン酸を補酵素とし、ピリドキサルリン酸と結合し酵素活性を示すホロ型と、ピリドキサルリン酸と結合せず酵素活性を示さないアポ型が存在する。ビタミン B6 が欠乏すると、ホロ型が減少し、アポ型が相対的に増加する。ビタミン B6 欠乏の原因として、摂取不足、吸収障害、妊娠、透析、薬剤性 (イソニアジド、ヒドララジン、ペニシラミンなど) などがある。また、高齢者において、ピリドキサルリン酸が年齢とともに減少するという報告がある (Br J Nutr 81:191-201, 1999)。

トランスアミナーゼ測定において、国際臨床化学連合の勧告法 (IFCC 法) ではピリドキサルリン酸添加の測定系で測定するためホロ型とアポ型が測定される (Clin Chem Lab Med 40(7):718-24, 2002、Clin Chem Lab Med 40(7):725-33, 2002)。しかし、ピリドキサルリン酸の添加により試薬の安定性が低下することなどから、国際的にはトランスアミナーゼの測定にピリドキサルリン酸を添加することは統一されておらず、本邦では、ピリドキサルリン酸非添加の JSCC 標準化準拠法 (JSCC 法) で測定することが一般的である (臨床化学 18(4):231-249, 1989、臨床化学 18(4):250-254, 1989、臨床病理 64(5):544-549, 2016)。現行法の JSCC 法では、ホロ型のみ測定されるため、ビタミン B6 欠乏状態では、トランスアミナーゼが見かけ上低値となり、肝障害を過小評価する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究は、ビタミン B6 欠乏患者におけるピリドキサルリン酸を添加した測定系 (IFCC 法) によるトランスアミナーゼ測定の有用性を明らかにするため、以下の 3 点について検証することを目的とした。

- (1) 現行法 (JSCC 法) とピリドキサルリン酸を添加した測定系 (IFCC 法) によるトランスアミナーゼ値の比較
- (2) ビタミン B6 濃度と JSCC 法及び IFCC 法によるトランスアミナーゼ値の関係
- (3) JSCC 法及び IFCC 法によるトランスアミナーゼ値と肝障害の程度の比較

3. 研究の方法

JSCC 法で血清 AST 値、血清 ALT 値が基準範囲以下の成人患者を対象とした。

検査が終了した血液サンプルの残余検体を 80 に凍結保存し、IFCC 法で AST、ALT 測定を行った。ビタミン B6 は、ELISA 法または HPLC 法を用いて測定を行った。HPLC 法では、ビタミン B6 としてピリドキサル、ピリドキサミン、ピリドキシンを測定した。統計解析には、HPLC 法で測定したビタミン B6 濃度を用いた。ビタミン B6 低値は、HPLC 法による測定で、ピリドキサル濃度が男性 6.0 ng/mL 以下、女性 4.0 ng/mL 以下、ピリドキサミン濃度が 0.2 ng/mL 以下、ピリドキシン濃度が 3.0 ng/mL 以下、の全てを満たす場合と定義した。患者背景、日常検査項目、肝障害に関するデータは、診療録を用いて調査した。

統計解析について、IFCC 法と JSCC 法のトランスアミナーゼ値の 2 群比較は対応のある t 検定を用いた。その他の 2 群比較は、カテゴリカルデータについてはカイ二乗検定、連続変数については、Student-T test または Welch's t-test を用いた。p < 0.05 を統計学的有意差ありとした。

4. 研究成果

- (1) 現行法 (JSCC 法) とピリドキサルリン酸を添加した測定系 (IFCC 法) によるトランスアミナーゼ値の比較

IFCC 法によるトランスアミナーゼの測定について

AST および ALT の測定について、理論上は、IFCC 法による測定では、アポ型とホロ型を測定するが、JSCC 法による測定ではホロ型のみ測定するため、JSCC 法と比較して IFCC 法による測定では、AST および ALT の測定値は高値となる。

AST 測定において、JSCC 法の AST 平均値は 20.0 ± 5.1 U/L、IFCC 法の AST 平均値は、 17.9 ± 5.8 U/L であり、IFCC 法が JSCC 法と比較し有意に低値であった (p < 0.01)。JSCC 法から測定値が増加した例が 14%、不変が 7%、減少が 79%であった。また、IFCC 法の AST 測定値について、補正值を用いた場合においても、測定値が増加した例が 66%、不変が 18%、減少が 16%であった。一方、ALT 測定については、全例で IFCC 法の ALT 測定値が JSCC 法の ALT 測定値より高値であった。

以上の結果より、IFCC 法の AST 測定について、測定結果が安定しなかったことから、以下、ALT について主に検討した。

ALT 測定における JSCC 法と IFCC 法の測定値の比較

ALT の平均値は、JSCC 法は 15.0 ± 5.2 U/L、IFCC 法は、 25.1 ± 6.4 U/L であった。JSCC 法と IFCC 法の ALT 値は強い正相関を認めた ($r=0.94$, $p<0.01$)。

IFCC 法の測定値は JSCC 法より有意に高値であり (図 1)、IFCC 法は JSCC 法の平均 1.7 倍の値であった。また、IFCC 法による JSCC 法からの ALT 値の増加率 ($(\text{IFCC 法}-\text{JSCC 法})/\text{JSCC 法} \times 100$) は平均 75% であった。

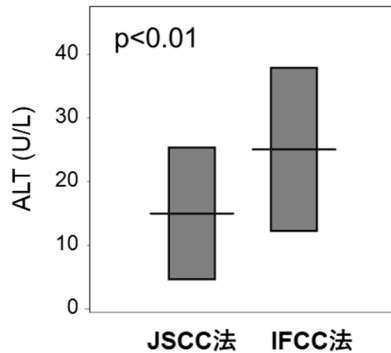


図 1 ALT 値の JSCC 法と IFCC 法の比較

箱上端：平均 + 2SD
箱下端：平均 - 2SD

(2) ビタミン B6 濃度と JSCC 法及び IFCC 法によるトランスアミナーゼ値の関係

ビタミン B6 低値では、JSCC 法で ALT 低値 ($\text{ALT} < 10$ U/L) の割合が有意に高かった ($p < 0.01$)。ビタミン B6 濃度 (ピリドキサル濃度) と JSCC 法の ALT 値及び IFCC 法の ALT 値の相関は認められなかった。ALT 低値群 (JSCC 法の ALT 10 U/L 未満) と Control 群 (JSCC 法で ALT 10 U/L 以上 30 U/L 以下) で比較すると、ビタミン B6 濃度は、ALT 低値群で 6.8 ± 7.7 ng/mL、Control 群で 19.3 ± 51.2 ng/mL であり、ALT 低値群で有意に低値であった ($p < 0.01$)。

IFCC 法による JSCC 法からの ALT 値の増加率 ($(\text{IFCC 法}-\text{JSCC 法})/\text{JSCC 法} \times 100$) は、ALT 低値群が Control 群より有意に高く、Control 群の約 2 倍だった (図 2)。

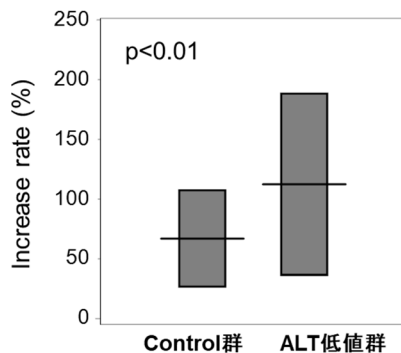


図 2 IFCC 法による JSCC 法からの ALT 値の増加率の比較

箱上端：平均 + 2SD
箱下端：平均 - 2SD

アポ型由来の活性値の割合 ($(\text{IFCC 法}-\text{JSCC 法})/\text{IFCC 法} \times 100$) は、Control 群 $39 \pm 7\%$ 、ALT 低値群 $52 \pm 9\%$ で、ALT 低値群が Control 群より有意に高値であった ($p < 0.01$)。また、ホ口型 / アポ型比は、Control 群で 1.6 ± 0.5 、ALT 低値群で 1.0 ± 0.4 であり、Control 群は ALT 低値群より有意に高値であった ($p < 0.01$)。

(3) JSCC 法及び IFCC 法によるトランスアミナーゼ値と肝障害の程度の比較

JSCC 法の AST 及び ALT 基準範囲以下の肝障害患者を対象に検討を行った。肝障害患者においても、ALT の測定値は IFCC 法が JSCC 法より有意に高値であった ($p < 0.01$)。IFCC 法は JSCC 法の平均 1.9 倍の値であった。また、IFCC 法による JSCC 法からの ALT 値の増加率 ($(\text{IFCC 法}-\text{JSCC 法})/\text{JSCC 法} \times 100$) は平均 88% であった。ビタミン B6 低値では、JSCC 法で ALT 低値の割合が高かった。

IFCC 法で ALT 31 U/L 以上となった例が約 20% あったが、肝障害の評価に大きく影響を与える程度ではなく、治療方針の変更はなかった。

以上の (1) ~ (3) の結果より、ビタミン B6 低値例では、ピリドキサルリン酸非添加の現行法 (JSCC 法) における ALT 低値の割合が高く、JSCC 法の ALT 低値例においてピリドキサルリン酸添加による測定法 (IFCC 法) の有用性が示された。本研究の対象においては、肝障害の評価に大きく影響を与える程度ではなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 出居真由美, 山本剛正, 田中君枝, 山谷琴子, 箕輪健太郎, 中田純一郎, 松山秀二郎, 堀口園子, 脇田満, 平山哲, 三宅一徳, 三井田孝
2. 発表標題 血清ビタミンB6 濃度低値と関連する因子の検討
3. 学会等名 第62回日本臨床化学学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 出居真由美, 山本剛正, 堀敦詞, 田中君枝, 脇田満, 平山哲, 山谷琴子, 上野剛, 箕輪健太郎, 中田純一郎, 松山秀二郎, 三宅一徳, 三井田孝
2. 発表標題 Alanine aminotransferase(ALT)とビタミンB6濃度の関連
3. 学会等名 第68回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 出居真由美, 上野剛, 西岡笑子, 牧野真太郎, 平山哲, 一色美和, 堀内裕紀, 三宅一徳, 三井田孝
2. 発表標題 妊婦におけるJSCC法とIFCC法によるトランスアミナーゼ活性値の比較
3. 学会等名 第59回日本臨床化学学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Idei M, Hamada C, Tabe Y, Abe M, Miyake M, Hino M, Miida T
2. 発表標題 ERC/mesothelin is associated with peritoneal deterioration in peritoneal dialysis patients
3. 学会等名 The 9th Asia Pacific Chapter Meeting of International Society for Peritoneal Dialysis (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka M, Ishibashi Y, Hamasaki Y, Kamijo Y, Idei M, Nishi T, Takeda M, Nonaka H, Nakagawa J, Atsumi K, Matsumoto A, Yamakawa H, Tomita Y, Nangaku M, Mise N
2. 発表標題 A cross-sectional study on health-related quality of life with combined dialysis compared to hemodialysis and peritoneal dialysis
3. 学会等名 The 9th Asia Pacific Chapter Meeting of International Society for Peritoneal Dialysis (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------