

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591749

研究課題名(和文) マイクロPIXEによるインターフェロン及びリバビリン併用患者の貧血の解明

研究課題名(英文) Analysis of anemia associated with patients treated by interferon and ribavirin

研究代表者

長嶺 竹明 (Nagamine, Takeaki)

群馬大学・保健学研究科・教授

研究者番号：90180520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：C型慢性肝炎の特効薬として、インターフェロン+リバビリン(2剤療法)およびインターフェロン+リバビリン+テラプレビル(3剤療法)が導入され、著効率が飛躍的に向上しが、貧血の副作用も高頻度に出現する。我々は、2剤併用療法、3剤併用療法の貧血解明のため、患者赤血球中元素の変動を、大気マイクロPIXEで測定した。その結果、赤血球のCl, S, Kは健常者では辺縁に分布し、ドーナツ様を呈していた。これらの元素は、インターフェロン単独治療症例では、斑状の集簇を認めた。2剤療法、3剤療法では斑状構造が崩れることから、2剤療法、3剤療法に合併する貧血と元素分布の異常との関連性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Since interferon + ribavirin (2 agent therapy) and interferon + ribavirin + telaprevir (3 agent therapy) are introduced as a specific therapy for chronic hepatitis C, the sustained viral response was markedly increased; whereas drug-induced anemia was frequently complicated. We elucidated the pathogenesis of this anemia using in-air microPIXE. In healthy control, the rods of Cl, S, and K were distributed over the peripheral area of erythrocytes, so-called the donut-like appearance. These elements tended to aggregate partially and distribute patchily on the erythrocytes obtained from patients received the interferon mono-therapy. The patchily aggregation of each element became indistinct on the erythrocytes from patients received 2 or 3 agent therapy. The findings suggest that the disturbance of elemental distribution may participate into the anemia complicated with 2 or 3 agent therapy.

研究分野：消化器病

キーワード：大気マイクロPIXE 赤血球 C型慢性肝炎

1. 研究開始当初の背景

(1) C型肝炎ウイルスに感染すると高率に慢性化し、20～30年かけて肝硬変へ進展する。肝硬変は年率5～6%の割合で肝細胞癌を発生する。C型慢性肝炎の特効薬としてペグインターフェロン+リバビリン(2剤併用療法)およびペグインターフェロン+リバビリン+テラプレビル(3剤併用療法)が導入され、著効率は飛躍的に向上した。一方、色々な副作用も出現するが、とりわけ貧血が高頻度に出現する。貧血の主な原因薬剤はリバビリンであるが、重症貧血は併用療法の治療効果を左右することから、その対策が急務とされている。

(2) 肝硬変や肝臓癌では種々な血液疾患を合併するが、肝性貧血もその一つである。肝性貧血の原因として、脾機能亢進、葉酸欠乏、溶血、栄養失調などが挙げられている。また肝硬変では赤血球膜の構成成分である、コレステロール、リン脂質、レシチンの変化で溶血を来すとされている。肝硬変の赤血球は形態学的変化を来すことも知られている。しかしながら肝性貧血の病態は未だ十分には解明されていない。

2. 研究の目的

(1) C型慢性肝炎の併用療法において、貧血を生じる主な薬剤はリバビリンである。その機序として、赤血球内にリバビリンが入ってリン酸化を受け、リバビリン三リン酸が蓄積することによって溶血性貧血をきたす。赤血球には核がなく脱リン酸化が起こらない。そのためリバビリン三リン酸が蓄積することによって溶血をきたす。C型慢性肝炎における2剤併用療法、3剤併用療法に合併する貧血の更なる病態解明のため、赤血球の元素分布の変動を測定する。

(2) 肝硬変ではアンモニア、アミノ酸など多くの代謝異常を生じるが、亜鉛、銅などの元素の代謝も障害される。このような元素代謝の異常と肝性貧血との関連性を検討するため、赤血球の元素分布の変動を測定する。

3. 研究の方法

(1) C型慢性肝炎患者のうち、ペグインターフェロン単独療法4例、2剤併用療法4例、3剤併用療法4例、および健常者4例の末梢静脈から採血し、赤血球を分離後、当教室で確立したPIXE測定用赤血球試料を作成した(図1)。

赤血球中元素分布は原子力研究機構高崎量子応用研究所の大気マイクロPIXE装置で測定した。

(2) C型肝炎ウイルス陽性の慢性肝炎5例、肝硬変5例、および健常者3例の末梢静脈から採血し、マイクロPIXE用赤血球試料を作成した(図1)。赤血球中元素分布は原

子力研究機構高崎量子応用研究所の大気マイクロPIXE装置で測定した。なお、本研究は、群馬大学附属病院の倫理審査委員会の承認を得て行った。

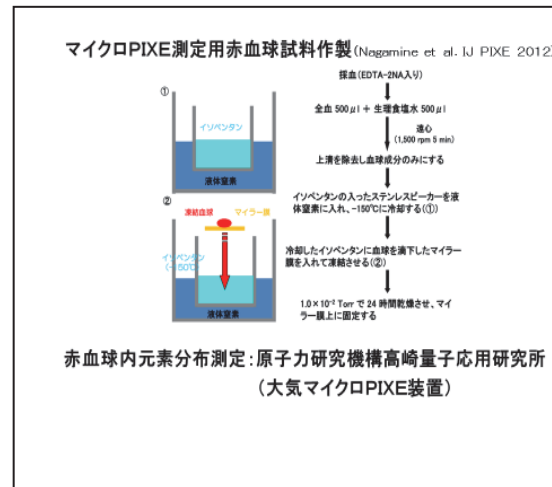


図1. マイクロPIXE用赤血球試料作製法

4. 研究成果

(1) 赤血球の Cl, S, K は健常者では辺縁に分布し、中心部には分布を認めない、いわゆるドーナツ様の分布を認めた。

ペグインターフェロン単独療法症例では、Cl, S, K は斑状の集簇を認めた。2剤併用療法、3剤併用療法症例では、Cl, S, K の斑状の集簇は崩れる傾向にあった。赤血球の Fe は健常者ではクローバー状に分布した。ペグインターフェロン単独療法、2剤併用療法、3剤併用療法症例の赤血球中 Fe は健常者と同様に分布した。

以上の所見から、Cl, S, K の分布の変動は2剤併用療法、3剤併用療法に合併する貧血との関連が示唆された。また、Fe の代謝は2剤併用療法、3剤併用療法の貧血とは関連しないことが推察された。

(2) 赤血球から得られたX線スペクトラを図2に示す。健常者および肝臓病症例の赤血球ではFeのピークが突出して検出された。Naは肝硬変では検出されたが、慢性肝炎や健常者では検出されなかった。その他の元素は肝硬変、慢性肝炎、健常者間で同様なパターンを示した。

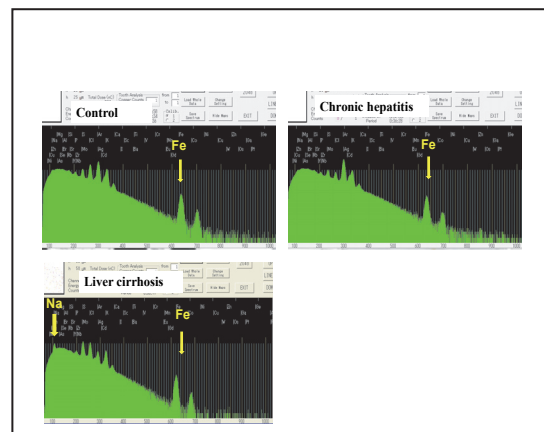


図2 赤血球のX線スペクトラ

赤血球の元素分布を図3に示した。慢性肝炎と健常者では、S, Cl, Kは赤血球の形態(いわゆるドーナツ様構造)に一致して分布した。肝硬変では変形赤血球の出現を認めたが、慢性肝炎や健常者では認めなかった。Kは肝硬変では小結節を形成したが、慢性肝炎、健常者では結節形成を認めなかった。Clは肝硬変の赤血球全体にびまん性に分布し、その結果ドーナツ様構造は消失した。PとSは健常者、慢性肝炎、肝硬変ともに小顆粒状に分布した。Caは小顆粒状に分布し、肝硬変では部分的に凝集する傾向を認めた。Feは3~4個の小結節に分かれて分布し、健常者、慢性肝炎、肝硬変間で大きな差異を認めなかった。

以上の成績から、慢性肝疾患の進行に伴い、赤血球中K, Clは凝集傾向を認め、ドーナツ構造は不明瞭化することから、細胞膜の変化を生じることが推察された。

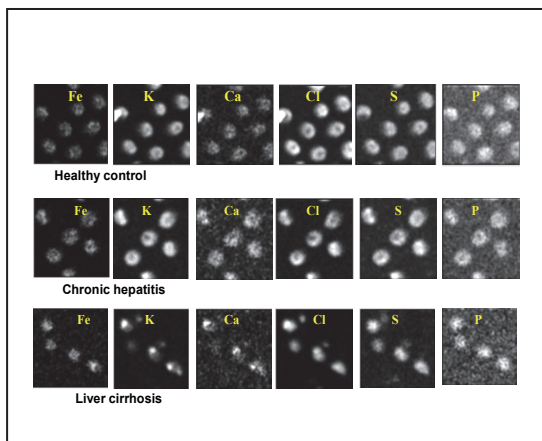


図3. 赤血球の元素分布

つぎに、慢性肝炎、肝硬変および健常者の赤血球中元素濃度を表1に示す。元素濃度の測定は岩手医科大学サイクロトロンセンターのPIXE装置で行った。

赤血球中元素分析成績													
	K	Ca	Tl	Fe	Na	Mg	P	S	Cl	Cu	Zn	Br	Rb
健常者	418	5.17	0.26	236	18.4	3.78	42.3	203	323	0.26	3.30	0.12	1.0
C型慢性肝炎	402	6.86	1.18	148	17.6	3.14	43.6	168	309	0.21	2.53	0.07	0.47
肝硬変	389	3.59	0.21	134	18.7	3.57	42.6	209	302	0.69	1.75	0.07	0.5

単位(μg/10⁹細胞数)

Mn 健常者 1/2 C型肝炎 2/3 肝硬変 2/2
 Ni 健常者 2/2 C型肝炎 0/3 肝硬変 0/2

表1 赤血球元素分析

慢性肝炎、肝硬変では健常者に比べ Mn の

増加、Niの減少を認めた。肝硬変では慢性肝炎、健常者に比べ Cuの増加、Znの減少を認めた。

以上の成績から、慢性肝疾患の進展によって、増加する元素、減少する元素が明らかとなった。今後は元素代謝の異常と、肝性貧血の病態との関連性の詳細な検討が必要である。

引用文献

- ① T. Sakai, M. Oikawa, T. Sato, T. Nagamine, H. D. Moon, K. Nakazato, K. Suzuki. New in-air micro-PIXE for biological applications. Nuc Instr and Meth B 231, 2005, 112-116
- ② Niederau C, Lange S, Heintges T, Erhard A, Buschkamp M, Hurter D, Nawrocki M, Kruska L, Hensel F, Petry W, Haussinger D. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large, prospective cohort study. Hepatology 28, 1998, 1687-1695

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Takeaki Nagamine, Tetushiro Kasamatsu, Kazuhiro Murakami, Masashi Kohka, Takahiro Satoh, Tomihiro Kamiya, Shoko Goto, Koichiro Sera. Elemental analysis of erythrocytes in patients with chronic liver disease positive for hepatitis C virus. In J PIXE (in press), 査読あり
- ② Takeaki Nagamine, Yoshiharu Tokita, Hiroki Kikuchi, Taito Akutsu, Satoru Tomioka, Toshihiro Kamiya, Takahiro Satoh, Masashi Kohka. Establishment of erythrocyte samples for in-air micro-PIXE analysis and its application to erythrocytes in hemodialysis patients. Int J PIXE, 22, 2012, 249-258, 査読有

[学会発表] (計6件)

- ① 長嶺竹明、大気マイクロ PIXE による慢性肝疾患の赤血球内元素分布の解析、30回PIXEシンポジウム、2014年10月22日、盛岡市
- ② 長嶺竹明、インターフェロンと亜鉛・メタ

ロチオネイン、第7回近畿亜鉛栄養治療研究会：2014年8月3日、大阪

③富岡 智、C型慢性肝炎のインターフェロン+リバビリン併用に合併する貧血の解明—大気マイクロPIXEを使用して、第328回日本消化器病学会関東地方会例会、2014年2月22日、東京

④富岡 智、マイクロPIXEによる赤血球元素分析の臨床応用、29回PIXEシンポジウム、2013年11月15日、敦賀

⑤富岡 智、大気マイクロPIXEによる貧血の病態解明—C型慢性肝炎患者のインターフェロン治療における検討、28回PIXEシンポジウム、2012年11月18日、東京

⑥富岡 智、マイクロPIXEによる赤血球元素分析の臨床応用、第8回高崎量子応用研究シンポジウム、2013年10月11日、高崎

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長嶺 竹明 (NAGAMINE Takeaki)

群馬大学・大学院保険学研究科・教授

研究者番号：90180520

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：