

## 微量元素からみた非アルコール性脂肪性肝疾患での血清フェリチンの意義

柿坂啓介<sup>1</sup>、佐々木登希夫<sup>1</sup>、米澤美希<sup>1</sup>、秋山剛広<sup>1</sup>、岡田洋平<sup>1</sup>、藤原裕大<sup>1</sup>、  
佐藤寛毅<sup>1</sup>、阿部珠美<sup>1</sup>、鈴木悠地<sup>1</sup>、吉田雄一<sup>1</sup>、及川隆喜<sup>1</sup>、  
黒田英克<sup>1</sup>、宮坂昭生<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>、滝川康裕<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学内科学講座消化器内科肝臓分野  
020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

<sup>2</sup>岩手医科大学医歯薬総合研究所高エネルギー医学研究部門  
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

### 1 はじめに

生体内で Fe はヘモグロビンに利用されるほか、ミトコンドリアのチトクロームやリボヌクレオチドリダクダーゼに利用され、欠くことのできない微量元素である<sup>1</sup>。一方で、肝臓が鉄過剰状態となるとフェントン反応によってヒドロキシルラジカルが出現し、酸化ストレスが生じる<sup>2</sup>。C型肝炎患者において、血清フェリチンを指標とした瀉血療法が、トランスアミナーゼ値を改善させることが知られている<sup>3,4</sup>。これは、肝内の鉄過剰状態を緩和し、ヒドロキシルラジカルの産生が低下することによると推定されている。また、非アルコール性脂肪性肝疾患の重症度は血清フェリチンによく相関することや、急性肝障害で血清フェリチンが上昇することが知られている<sup>5</sup>。しかし、非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) で瀉血の有用性は証明されていない<sup>6,7</sup>。一方で NAFLD の罹患人口の増加や NAFLD のうち炎症や線維化を呈する非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis : NASH) が非アルコール性脂肪肝 (Non-alcoholic fatty liver: NAFL) と比べて肝臓・肝硬変へ進展しやすいことを考慮すると、非アルコール性脂肪性肝疾患の病態を理解し、治療戦略を構築することは急務である。NAFLD の病勢に相関する血清フェリチンが肝内のどの微量元素を反映しているのかを評価し NAFLD の病態を明らかにすることを目的とした。

### 2 研究方法

2016/6-2017/7 に肝生検を施行された NAFLD 患者 34 名 (対照 HCV 患者 10 名) を対象に、肝生検サンプルの一部を用いて肝組織中微量元素を PIXE 法で測定した。統計方法は血清フェリチンと各検査値の相関は Spearman's correlation で検定した。本研究は岩手医科大学医学部倫理委員会で、その妥当性・倫理性について審査され承認を得ている (倫理承認番号: H28-112)。また仁科記念サイクロトロンセンターとの共同研究計画として行った。

### 3 結果

#### 3.1 患者背景

平均年齢 58.7 歳、男性 15 名であった。AST 33 U/L、ALT 44 U/L、 $\gamma$ GT 62 U/L であった。HOMA-IR 2.2、HOMA- $\beta$ 85.9 であった (表 1)。

表 1. 患者背景

	Total (n=34)		
	Mean		SD
Age	58.7		2.3
Sex (M:F)	15	:	19
NAFL:NASH	10	:	24
ferritin	201.7	±	199.9
Alb	4.2	±	0.4
Cre	0.8	±	0.4
AST	33.9	±	18.8
ALT	44.7	±	32.1
$\gamma$ GT	62.2	±	81.8
T-Bil	1.0	±	1.0
Hb	13.5	±	1.6
Plt	198.3	±	56.6
PT-INR	1.03	±	0.14
HbA1C	5.8	±	0.6
BS	103.4	±	19.5
IRI	8.2	±	3.4
HOMA-IR	2.2	±	1.2
HOMA- $\beta$	85.9	±	48.4

#### 3.2 肝内微量元素

慢性 C 型肝炎 10 名を対象に肝内微量元素を比較検討した。Mo が NAFLD 群で有意に低値であった (1.0 vs. 2.2 ppm) が、そのほかに有意差を認めなかった (表 2)。

表 2. NAFLD の肝内微量元素 (C 型慢性肝炎と比較して)

(ppm)	NAFLD (n=34)			HCV (n=10)			p
	Mean		SD	Mean		SD	
Na	1898.9	±	2783.8	1001.5	±	1822.9	n. s.
Mg	141.1	±	111.1	97.7	±	82.7	n. s.
Al	50.5	±	58.6	23.6	±	19.7	n. s.
Si	71.3	±	77.7	40.9	±	67.2	n. s.
P	2817.2	±	2276.8	2192.0	±	1576.0	n. s.
S	1690.9	±	926.2	1494.9	±	944.9	n. s.
Cl	4077.6	±	4713.7	2640.5	±	4391.0	n. s.
K	3045.1	±	1765.9	3088.4	±	1558.9	n. s.
Ca	281.0	±	168.4	275.3	±	130.5	n. s.
Cr	20.4	±	26.9	25.7	±	28.5	n. s.
Mn	4.3	±	3.5	3.8	±	3.7	n. s.
Fe	536.0	±	344.9	405.0	±	208.7	n. s.
Co	0.4	±	0.9	0.7	±	1.0	n. s.
Ni	6.6	±	7.5	9.9	±	10.1	n. s.
Cu	17.2	±	10.3	14.5	±	11.9	n. s.
Zn	125.5	±	77.7	109.5	±	54.5	n. s.
Ga	0.4	±	0.7	0.9	±	1.1	n. s.
As	0.2	±	0.6	0.2	±	0.4	n. s.
Se	1.0	±	1.2	1.1	±	1.3	n. s.
Br	6.4	±	3.8	9.0	±	10.4	n. s.
Rb	7.6	±	6.1	8.6	±	6.6	n. s.
Sr	1.3	±	1.4	0.9	±	1.0	n. s.
Y	0.5	±	0.8	0.1	±	0.3	n. s.
Zr	1.6	±	2.6	3.1	±	3.3	n. s.
Nb	0.7	±	1.1	1.1	±	1.7	n. s.
<b>Mo</b>	<b>1.0</b>	<b>±</b>	<b>1.2</b>	<b>2.2</b>	<b>±</b>	<b>2.1</b>	<b>0.013</b>
I	482.6	±	458.9	297.7	±	289.2	n. s.
Hg	1.3	±	1.7	0.6	±	0.7	n. s.
Pb	1.2	±	2.0	1.9	±	2.5	n. s.

### 3.3 血清フェリチンと微量元素・血液検査結果の相関

血清フェリチンは Mg と正の相関、Ni と負の相関があった。血液検査結果では ALT、血中インスリン濃度 (IRI)、 $\gamma$ GT、AST、ALP で正の相関があった (表 3)。

表 3. 血清フェリチンと微量元素、血液検査結果

vs. Ferritin	r	p
Mg	0.513	0.002
Ni	-0.343	0.047
Mn	-0.324	0.062
Cr	-0.333	0.054
I	-0.332	0.055
Fe	0.248	0.158
ALT	0.468	0.005
IRI	0.46	0.014
gGTP	0.433	0.011
AST	0.418	0.014
ALP	0.353	0.04

### 3.4 病型別 Mg・Fe と血清フェリチン・血液検査結果の相関

病型により血清フェリチンと Fe が関係している可能性を考慮して検討したところ、NASH と Mg のみで正相関を認めた (表 4)。Mg からみた血液検査との相関を検討したところ血中インスリン濃度およびインスリン抵抗性の指標である HOMA-IR と正相関した (表 5)。Mg と血清フェリチンの相関が IRI や HOMA-IR との交絡による可能性を検討するために Mg を制御変数として血清フェリチンと IRI、HOMA-IR の相関を検討したが、相関関係はなく、血清フェリチンと Mg は独立した正相関であった (表 6)。

表 4. 病型別血清フェリチンと Fe、Mg

vs. Ferritin	NAFL (n=10)		NASH (n=24)	
	r	p	r	p
Mg	0.261	0.467	<b>0.641</b>	<b>0.001</b>
Fe	0.042	0.907	0.247	0.245

表 5. 病型別 Mg と血液検査結果

vs. Mg	NAFL (n=10)		NASH (n=24)	
	r	p	r	p
Ferritin	0.261	0.467	<b>0.641</b>	<b>0.001</b>
BS	-0.103	0.777	0.381	0.066
IRI	<b>0.772</b>	<b>0.009</b>	<b>0.590</b>	<b>0.002</b>
HOMA-IR	0.576	0.082	<b>0.577</b>	<b>0.003</b>

表 6. Mg を制御変数とした血清フェリチンと IRI、HOMA-IR の偏相関

Control variable Mg	NASH (n=24)			
	vs. Ferritin	r	p	
	IRI		0.083	0.707
	HOMA-IR		0.083	0.705

#### 4 考察

フェリチンは細胞内の鉄貯蔵に重要であるが、分泌機構は未だ不明な点が多い<sup>8,9</sup>。鉄、IL-1b、TNF-aにより培養上清中へのフェリチンが分泌されることは知られており、炎症による分泌機序が示唆されている<sup>9</sup>。実際、血清フェリチンは飲酒者で肝障害がほとんどない状態の肝内鉄濃度を反映するが、肝障害のある症例では肝内鉄濃度を反映しないとする報告がある<sup>10,11</sup>。今回の検討でも、血清フェリチンは肝内 Fe 濃度とは相関していなかった。

Mg は生体内で 5 番目に多い元素とされ、細胞内では K に次いで 2 番目の元素である。細胞内ではミトコンドリア、小胞体、核に多く分布すると報告されている<sup>12</sup>。細胞内 Mg は糖に関連した細胞内シグナルのメッセンジャーとしての役割が知られている。グルカゴンやエピネフリンの作用で細胞外に放出され、バソプレシンやインスリンの作用で放出が抑制されると報告されている<sup>12</sup>。前述のようにグルコース消費とインスリンシグナルに Mg が必要であるとされる。一方で血清フェリチンはインスリン抵抗性と正相関することが知られている<sup>13</sup>。本研究で血清フェリチンと肝内 Mg 濃度の相関が明らかとなっており、血清フェリチンとインスリン抵抗性の関連を示す新たな結果であった。しかし、その機序や病態への関与は明らかではなく、今後の研究の課題である。

#### 参考文献

1. Ali V, Nozaki T. Iron-sulphur clusters, their biosynthesis, and biological functions in protozoan parasites. *Adv Parasitol.* 2013;83:1-92.

2. Fujita N, Miyachi H, Tanaka H, et al. Iron overload is associated with hepatic oxidative damage to DNA in nonalcoholic steatohepatitis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:424-432.
3. Hayashi H, Takikawa T, Nishimura N, Yano M, Isomura T, Sakamoto N. Improvement of serum aminotransferase levels after phlebotomy in patients with chronic active hepatitis C and excess hepatic iron. *Am J Gastroenterol.* 1994;89:986-988.
4. Yano M, Hayashi H, Wakusawa S, et al. Long term effects of phlebotomy on biochemical and histological parameters of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:133-137.
5. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, et al. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2012;55:77-85.
6. Beaton MD, Chakrabarti S, Levstik M, Speechley M, Marotta P, Adams P. Phase II clinical trial of phlebotomy for non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;37:720-729.
7. Adams LA, Crawford DH, Stuart K, et al. The impact of phlebotomy in nonalcoholic fatty liver disease: A prospective, randomized, controlled trial. *Hepatology.* 2015;61:1555-1564.
8. Wesselius LJ, Nelson ME, Skikne BS. Increased release of ferritin and iron by iron-loaded alveolar macrophages in cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:690-695.
9. Tran TN, Eubanks SK, Schaffer KJ, Zhou CY, Linder MC. Secretion of ferritin by rat hepatoma cells and its regulation by inflammatory cytokines and iron. *Blood.* 1997;90:4979-4986.
10. Olthof AW, Sijens PE, Kreeftenberg HG, et al. Correlation between serum ferritin levels and liver iron concentration determined by MR imaging: impact of hematologic disease and inflammation. *Magn Reson Imaging.* 2007;25:228-231.
11. Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. Ferritin in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2007;6:457-463.
12. Takaya J, Higashino H, Kobayashi Y. Intracellular magnesium and insulin resistance. *Magnes Res.* 2004;17:126-136.
13. Wrede CE, Buettner R, Bollheimer LC, Scholmerich J, Palitzsch KD, Hellerbrand C. Association between serum ferritin and the insulin resistance syndrome in a representative population. *Eur J Endocrinol.* 2006;154:333-340.

## Serum ferritin was associated with intrahepatic magnesium level in patients with non-alcoholic fatty liver disease

Keisuke Kakisaka<sup>1</sup>, Tokio Sasaki<sup>1</sup>, Miki Yonezawa<sup>1</sup>, Takehiro Akiyama<sup>1</sup>,  
Yohei Okada<sup>1</sup>, Yudai Fujiwara<sup>1</sup>, Hiroki Sato<sup>1</sup>, Tamami Abe<sup>1</sup>, Yuji Suzuki<sup>1</sup>,  
Yuichi Yoshida<sup>1</sup>, Takayoshi Oikawa<sup>1</sup>, Hidekatsu Kuroda<sup>1</sup>, Akio Miyasaka<sup>1</sup>,  
Koichiro Sera<sup>2</sup> and Yasuhiro Takikawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Hepatology, Department of Internal Medicine, Iwate Medical University  
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

<sup>2</sup>Department of High Energy Medical Research, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

### Abstract

The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has strikingly increased. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) shows progression of liver fibrosis in NAFLD. Serum ferritin level was associated with disease severity of NAFLD and insulin resistance. Although iron overload induced elevation of liver enzyme through increase oxidative stress, phlebotomy did not normalize liver enzyme in the NAFLD patients with hyperferritinemia. We evaluated intrahepatic trace elements using Particle-induced X-ray emission (PIXE) analysis and confirmed relationship among serum ferritin level and these elements in the NAFLD patients.