原 著

胃切除後大球性貧血症例における vitamin B12結合蛋白測定の意義

横浜市立大学第1外科

野村 勝俊 野口 芳一 大島 貴 吉川 貴己
福沢 邦康 牧野 達郎 円谷 彰 松本 昭彦

胃切除後, vitamin B12 (以下, Vit. B12) や葉酸欠乏による巨赤芽球性貧血の出現は広く知られているが, 両者とも正常でありながら大球性貧血を呈する症例も少なくない。これら Vit. B12, 葉酸欠乏だけでは説明し得ない大球性貧血の原因の一部を明らかにするために, 胃切除後における Vit. B12 結合蛋白の変化につき検討した。対象の胃切除症例151例中105例に貧血が認められ, うち35例は大球性貧血を呈した。大球性貧血症例中結合蛋白量を測定し得た15例において結合蛋白総量はコントロールに比し増加しており, この傾向は血中 B12濃度の正常な症例においても認められた。また Vit. B12 を組織中に移行させ得る唯一の蛋白である transcobalamin II (以下, Tc II) は胃切除群において変化を認めなかったが, Vit. B12と結合している holo-Tc II は減少する傾向にあった。これらの結果から胃切除後に血中濃度には反映されなくとも, 体内の Vit. B12欠乏が進行している可能性が考えられた。

Key words: post-gastrectomy, anemia, transcobalamin II

はじめに

胃切除後, 長期経過中に vitamin B12 (Vit. B12) や葉酸の欠乏により巨赤芽球性貧血が出現する事は広く知られているが, 一般的にそのスクリーニングとしてはまず末梢血液像検査が行われている。血液像により大球性高色素性貧血が認められると, 次いで血中 Vit. B12および葉酸値の測定が行われるが, 大球性貧血症例中両者ともに正常値である例も少なくない。これらの症例についてはこれまでいわれてきた Vit. B12あるいは葉酸の吸収障害からだけでは貧血の原因は説明できない。

近年, Vit. B12結合蛋白中, 血中 Vit. B12を細胞内に移送しえるのは唯一 transcobalamin II (Tc II) であること¹⁾, また Tc II の異常が貧血の出現に関与している可能性が報告されている²⁾。今回, Tc II をはじめとする Vit. B12結合蛋白の変化と胃切除後の貧血出現との関係を検討した。

対象および方法

横浜市立大学第1外科および関連施設において胃癌のため胃全摘術または胃亜全摘術を施行し, 1993年4

月より1994年4月までに外来通院中の患者のうち再発を認めない151例(男女比100:51, 胃全摘術54例, 胃亜全摘術97例, 手術時平均年齢 59.6 ± 11.2 歳, 術後経過期間平均 50.4 ± 45.8 か月)について, 末梢血液像より貧血の有無および貧血の種類を検討した。ついで151例中, 1994年1月以降に採血した67例(手術時平均年齢 61.4 ± 12.0 歳)については血中 Vit. B12, 葉酸濃度および Vit. B12結合蛋白総量(TBBC)を測定, 健常者コントロールと比較した。コントロール群は健常者 volunteer 5名であり胃切除後対象症例との間に性, 年齢において有意な差を認めなかった。Vit. B12および葉酸は化学発光免疫測定法³⁾により測定, また transcobalamin I, II および III の総和である TBBC は radio assay, dextran coated charcoal 法⁴⁾により測定した Vit. B12不飽和結合能と血中 Vit. B12濃度をもって表した。

血中 Tc II 量は Vu らの方法に準じ microfine glass を用い測定した²⁾。詳細は以下のごとくである。血液は外来通院時に採血, 速やかに血清を遠心分離し -20°C にて測定まで保存。4g の 325mesh microfine glass (MFG) powder を1N 塩酸50ml にて3回, 蒸留水50ml にて1回, pH 7.4の phosphate buffered saline (PBS) 50ml にて1回洗浄した後, pH 7.4の PBS 20ml に懸

<1996年5月8日受理>別刷請求先: 野村 勝俊
〒236 横浜市金沢区福浦3-9 横浜市立大学医学部第1外科

濁し4℃にて保存。Tc II測定時、懸濁液1ml(MFG 200 mg)に患者血清を加え、rocker-mixerにて20分間攪拌す。15,000rpm, 10分間遠沈の上、上清中のVit. B12およびVit. B12不飽和結合能を測定した。Tc IIはVit. B12と結合しているもの、結合していないものともMFGに吸着させるため、上清中のVit. B12はTc IおよびIIIに結合したVit. B12を、またVit. B12と不飽和結合能の和はTc IおよびIIIの総量を表している。これらを全血清中のVit. B12, TBBC値より除すことによりVit. B12と結合しているTc II (holo-Tc II) およびTc II総量が求められる。

末梢血液像において、赤血球数が男性 $4.27 \times 10^6/\mu\text{l}$ 以下、女性 $3.76 \times 10^6/\mu\text{l}$ 以下または血色素量が男性13.5g/dl以下、女性11.3g/dl以下の症例を貧血症例とし、MCV値83未満を小球性、83以上100未満を正球性、100以上を大球性貧血とした。

結果の数値はいずれもMEAN $\pm$ SDであり、統計学的有意差検定は多群間の比較についてはKruskal-Wallis testを、2群間の比較についてはunpaired Wilcoxon testを用い行い、 $p < 0.05$ をもって統計学的に有意とした。

結 果

今回検討した胃切除後の151例中105例(69.5%)に貧血が認められ、内訳は小球性貧血が25例(16.6%)、正球性貧血45例(29.8%)、大球性貧血35例(23.2%)であった(Table 1)。貧血の有無および貧血のtypeは性別、手術術式、術後経過期間との関係はみられなかった。

Table 1 Anemia in gastrectomized patients

anemia(-) 46 cases(30.5%)	
anemia(+)150 cases(69.5%)	microcytic 25 cases(16.6%) normocytic 45 cases(29.8%) macrocytic 35 cases(32.1%)
total 151 cases	

対象151例中血中Vit. B12、葉酸、Vit. B12不飽和結合能を測定したのは67例であり、貧血を認めなかった例29例、小球性貧血症例4例、正球性貧血症例19例、大球性貧血症例15例であった。

血中Vit. B12濃度は正球性貧血群および大球性貧血群においてコントロール群に比べて低下していた。血中Vit. B12濃度とVit. B12不飽和結合能との和であるVit. B12総結合能(TBBC)は、貧血のない群および大球性貧血群においてコントロール群に比べて増加していたが、小球性貧血群と正球性貧血群においても増加している傾向にあった。また血中葉酸値については有意な変化はみられなかった(Table 2)。

次に大球性貧血を呈した各症例について血中Vit. B12, TBBCの値を検討した(Table 3)。測定15例中Vit. B12が正常値(>250pg/ml)以下を呈したのは5例のみで他の10例はVit. B12濃度は正常範囲内であった。TBBCはVit. B12値の低下している症例のみならず低下していない症例においてもコントロールに比べて有意に増加していた。

血中Tc II量は、コントロール群($228.8 \pm 185.5\text{pg/ml}$)に比べて大球性貧血群では $317.8 \pm 229.2\text{pg/ml}$ と減少を認めなかった。また大球性貧血症例以外の胃切除後症例においても $304.5 \pm 306.8\text{pg/ml}$ と減少していなかった(Fig. 1)。しかしVit. B12と結合しているHolo-Tc IIはコントロール群($138.6 \pm 109.7\text{pg/ml}$)に比べて、大球性貧血群において $49.6 \pm 130.5\text{pg/ml}$ と低下している傾向を認めた。またHolo-Tc IIは大球性貧血症例以外の胃切除後症例においても低下する傾向がみられた($38.1 \pm 119.6\text{pg/ml}$) (Fig. 2)。

考 察

胃切除後長期経過中にはVit. B12の吸収障害を起こし巨赤芽球性貧血が出現することが知られている⁵⁾。この吸収障害の原因としては内因子欠乏、胃切除後の低酸、無酸に基づく場合、それに続発した腸管内細菌増殖に基づく場合⁶⁾、また小腸病変による吸収不良症

Table 2 Type of anemia and serum levels of Vit. B12, TBBC, and folic acid

type of anemia	case	Vit. B12 (pg/ml)	TBBC (pg/ml)	folic acid (ng/ml)
anemia(-)	29	568.4 ± 323.1	$2,079.0 \pm 535.2^*$	8.00 ± 3.20
microcytic anemia	4	550.3 ± 399.8	$1,994.0 \pm 287.7$	7.23 ± 1.90
normocytic anemia	19	$416.6 \pm 242.3^*$	$1,943.9 \pm 531.1$	8.47 ± 4.85
macrocytic anemia	15	$473.0 \pm 356.1^*$	$2,188.2 \pm 447.1^{**}$	8.62 ± 3.20
control	5	856.6 ± 195.1	$1,411.2 \pm 410.8$	6.04 ± 1.70

* $p < 0.05$ vs control ** $p < 0.01$ vs control

Table 3 Patients with macrocytic anemia

case	age	gendor	operation	duration after op.(Mo)	MCV (um3)	Vit. B12 (pg/ml)	TBBC (pg/ml)
Vit. B12<250 pg/ml							
1	46	M	T	25	101	130	1,922
2	75	M	T	29	106	205	1,678
3	81	F	T	40	101	114	2,576
4	48	M	T	97	101	59	1,929
5	74	M	T	141	113	102	1,846
						122.0±53.4*	
						1990.2±342.7	
Vit. B12<250pg/ml							
6	64	M	S	13	113	983	2,979
7	46	M	T	14	107	281	1,777
8	64	M	S	17	113	911	2,117
9	73	F	S	18	105	481	2,709
10	76	M	S	33	102	308	1,652
11	87	M	S	46	102	1,140	1,876
12	77	M	S	58	104	594	2,758
13	62	M	T	148	109	316	2,773
14	74	F	S	157	102	805	2,122
15	63	M	T	171	109	666	2,109
						648.5±305.5	
						2287.2±475.5*	
T : total gastrectomy							
S : subtotal gastrectomy						*p<0.01 vs control	

T: total gastrectomy

S: subtotal gastrectomy

Fig. 1 Serum level of transcobalamin II in controls, patients with macrocytic anemia, and other gastrectomized patients.

Fig. 2 Serum level of holo-Tc II, Tc II binding to Vit. B12, in controls, patients with macrocytic anemia, and other gastrectomized patients.

候群などが考えられる⁷⁾。胃の切除範囲が大きいかほど Vit. B12の吸収障害は高度となり⁸⁾⁹⁾、Vit. B12の貯蔵量が $500\mu\text{g}$ 以下のなると巨赤芽球性貧血が出現するといわれてきた¹⁰⁾。Vit. B12は内因子との複合体で、または内因子と関係なく吸収されることが知られ¹¹⁾、最近では胃切除後に内因子とともにあるいは単独で Vit.

B12が経口投与されることが多くなり巨赤芽球性貧血症例は減少している⁵⁾。

近年、胃切除後の貧血のスクリーニングとして末梢血液像を観察するのが一般的であると考えられるが¹²⁾、その際臨床症状が著明でない程度の大球性貧血症例に出会うことが少なくない。Kim らによれば胃切除後患者 17.6%に大球性貧血を認めたと報告している¹³⁾。今回

の検討においても23.1%の症例に大球性貧血を認めた。しかし唐沢ら¹²⁾によれば大球性貧血27例中血中 Vit. B12の低下している症例は23例であり、他の4例(14.8%)においては Vit. B12は正常であったとしている。我々の検討においても大球性貧血症例15例中 Vit. B12の低下していた症例は5例にしかすぎず、他の10例においては Vit. B12は正常範囲内であった。これら Vit. B12正常例については大球性変化の原因はいまだ明らかではない。

末梢血液像と血中 Vit. B12値との差異については多くの原因が考えられる。手技上の問題点や従来の radiodilution assay kit の問題点などを指摘している報告もみられ¹⁴⁾、血中 Vit. B12値測定に対する問題が考えられると同時に、赤血球数、血色素量、MCV 値などの正常範囲の問題も存在すると考えられる。

今回の検討において測定された TBBC 値に関し興味ある結果を得た。Vit. B12結合蛋白には haptocorrin (transcobalamin I, III) と trans cobalamin II とがあることが知られているが¹⁵⁾、このうち haptocorrin には組織細胞への Vit. B12移送機能はなく貯蔵蛋白としての機能¹⁶⁾、Vit. B12同族体の処理作用¹⁷⁾などが報告されている。

Vit. B12結合蛋白は当モル比で Vit. B12と結合するため¹⁸⁾、Vit. B12濃度の低下している症例において不飽和の結合蛋白量 (UBBC) が増加し、なおかつ結合蛋白総量 (TBBC) が増加していることは Vit. B12の欠乏に対して反応性に結合蛋白が増加している可能性が考えられた。しかし今回の検討では Vit. B12正常例においても TBBC の増加が認められ、この結果は血中濃度には反映されない Vit. B12貯蔵量の減少や利用の障害を示しているのではないかと考えられた。

Vit. B12が利用されるべき組織細胞内に移送されるためには Tc II と結合されることが必要である¹⁾。近年この Tc II の異常が貧血の出現に関与していると報告され²⁾¹⁹⁾、今回の検討では Tc II および Vit. B12と結合している Holo-Tc II 量も測定した。Tc II 量は大球性貧血症例以外の胃切除後の症例ではコントロールに比べて低下していなかったが、大球性貧血症例においても、我々の予想に反し、低下はみられなかった。しかし、Holo-Tc II は大球性貧血症例においてコントロールに比べて減少傾向を認めた。またこの減少傾向は大球性貧血症例以外の胃切除症例においても認められ、大球性貧血の有無による差はなかった。Holo-Tc II は体内の Vit. B12バランスが負になると減少してくること

が報告されており²⁰⁾²¹⁾、Vit. B12結合蛋白総量の増加と合わせ考えると、胃切除後の貧血出現には血中 Vit. B12濃度には反映されない潜在的な Vit. B12の欠乏が関与している可能性が考えられた。また、今回測定時に貧血を認めなかった症例についても TBBC の増加と Holo-Tc II の減少を認めるものもあり、これらの結果は Vit. B12欠乏が進行している状態を表している可能性が考えられた。

文 献

- 1) 森下玲児：トランスコバラミン II 研究における最近の進歩。ビタミン 63：104—105, 1989
- 2) Vu T, Amin J, Ramos M et al: New assay for the rapid determination of plasma holotranscobalamin II levels: Preliminary evaluation in cancer patients. Am J Hematol 42: 202—211, 1993
- 3) 安田和人, 池田律子, 鈴木絹代：ビタミン B12/葉酸ラジオアッセイキットの検討。機器・試薬 10: 975—982, 1987
- 4) Gottlieb C, Lau KS, Wasserman LR et al: Rapid charcoal assay for intrinsic factor (IF), gastric juice unsaturated B12 binding capacity, antibody to IF, and serum unsaturated B12 binding capacity. Blood 25: 875—884, 1965
- 5) 畠山勝義, 武藤輝一：消化吸収障害および貧血, 消病セミナー 35: 51—62, 1989
- 6) Chesner IM, Montgomery RD: Small bowel contamination and vitamin B12 deficiency in the elderly. J Clin Gastroenterol 8: 447—450, 1986
- 7) 杉本正毅, 家崎貴文, 若林芳久ほか：抗内因子抗体の関与が疑われた胃切除後巨赤芽球性貧血の1例。臨血 31: 371—374, 1990
- 8) 右京成夫, 脇坂行一：術後の障害, I. 胃切除後の貧血。陣内傳之助, 村上忠重, 堀 哲郎 編。胃手術のすべて。下巻。金原出版, 東京, 1978, p827—837
- 9) 奈良井省吾：胃・十二指腸潰瘍に対する各種手術法のビタミン B12吸収に及ぼす影響。日外会誌 79: 299—313, 1978
- 10) 奥田邦雄, 内山幸信：ビタミン B12。日臨 38: 307—323, 1980
- 11) 奥田邦雄, 藤井輝美：ビタミンの吸収 4. ビタミン B12。奥田邦雄編。消化と吸収—その臨床。中外医学社, 東京, 1971, p100—103
- 12) 唐沢正光, 谷田部寛, 山内博正ほか：ビタミン B12 欠乏による巨赤芽球性貧血51症例の臨床病態。臨血 25: 1746—1753, 1984
- 13) Kim KC: Incidence of anemia based on morphological and clinical classifications. Korean

- Med J 7 : 633—, 1962
- 14) 近藤春樹, 柿沼宏明, 金沢正一郎ほか: 巨赤芽球性貧血における各種検査法の検討. 臨血 30 : 36—44, 1989
 - 15) Gimsing P, Nexø E: Cobalamin-binding capacity of haptocorrin and trans-cobalamin: age-correlated reference intervals and values from patients. Clin Chem 35 : 1447—1451, 1989
 - 16) England JM, Down MC, Wise IJ et al: The transport of endogenous vitamin B12 in normal human serum. Clin Sci Mol Med 51 : 47—52, 1976
 - 17) Allen RH: Human vitamin B12 transport proteins. Prog Hematol 9 : 57—84, 1975
 - 18) Jacob E, Baker SJ, Herbert V: Vitamin B12-binding proteins. Physiol Rev 60 : 918—960, 1980
 - 19) Haurani FI, Hall CA, Rubin R: Megaloblastic anemia as a result of an abnormal transcobalamin II. J Clin Invest 64 : 1253—1259, 1979
 - 20) Herzlich B, Herbert V: Depletion of serum holotranscobalamin II. An early sign of negative vitamin B12 balance. Lab Invest 58 : 332—337, 1988
 - 21) Herbert V, Fong W, Gulle V et al: Low holotranscobalamin II is the earliest serum marker for subnormal vitamin B12 absorption in patients with AIDS. Am J Hematol 34 : 132—139, 1990

Vitamin B12 Binding Protein in Gastrectomized Patients with Macrocytic Anemia

Katsutoshi Nomura, Yoshikazu Noguchi, Takashi Oshima, Takaki Yoshikawa,
Kuniyasu Fukuzawa, Tatsuo Makino, Akira Tsuburaya
and Akihiko Matsumoto

First Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine

It is well known that deficiency of vitamin B12 or folic acid results in megaloblastic anemia in post-gastrectomized patients. However, there are some patients who exhibit macrocytic anemia in spite of normal levels of both vitamin B12 and folic acid. This study was conducted to investigate the relationship between the occurrence of anemia and changes in the levels of vitamin B12 binding protein in gastrectomized patients. Anemia was seen in 105 of 151 post-gastrectomized patients and macrocytic anemia was observed in 35 of the 105 patients. Serum levels of vitamin B12-binding protein in the patients with macrocytic anemia were higher than those of normal volunteer controls. This increase was seen even in the patients with normal levels of vitamin B12. Transcobalamin II, the only protein that can transport vitamin B12 into the tissues from the serum, was not decreased, however, the serum levels of holotranscobalamin II, a form of transcobalamin II binding to vitamin B12, was decreased in gastrectomized patients. These results may suggest that functional deficiency of vitamin B12 might be present in the gastrectomized patients even with normal serum levels of vitamin B12.

Reprint requests: Katsutoshi Nomura First Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine
JAPAN