

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等緊急克服研究事業）

肝発癌抑制を視野に入れた肝硬変の栄養ガイドラインの作成に関する総合的検討

平成20年度 分担研究報告書

肝硬変の鉄代謝異常 —非トランスフェリン結合鉄の測定—

分担研究者 高後 裕

旭川医科大学 内科学講座消化器・血液腫瘍制御内科学分野 教授

研究要旨：慢性肝疾患においてしばしば肝内鉄過剰蓄積が認められ、酸化ストレスを増強し、炎症、線維化、肝発癌に関与している。しかし、肝硬変の鉄過剰症の実態は明らかではなく、また、それを明らかにするためには細胞毒性の強い非トランスフェリン結合鉄（non-transferrin-bound iron: NTBI）に対する高感度な測定系が必要と考えられる。今回、我々はmetal-free high performance liquid chromatography system (HPLC) を用いて高感度なNTBI測定系を確立し、肝硬変症例で検討した。

共同研究者

大竹 孝明 旭川医科大学内科学講座消化器・
血液腫瘍制御内科学分野 講師

A. 研究目的

鉄は生体にとって必須の金属栄養素であるが、過剰状態になると肝障害、心不全、糖尿病などの臓器障害を引き起こす。C型肝炎、アルコール性肝障害、非アルコール性脂肪性肝炎などの慢性肝疾患においても肝内鉄過剰蓄積が認められ、肝細胞内の過剰な不安定自由鉄が酸化ストレスを増強し、炎症、線維化、肝発癌に関与しているが、これらの病態に対して瀉血療法や鉄制限食がALT改善、発癌抑制効果をあげている。

慢性肝疾患の終末像である肝硬変の栄養ガイドラインの作成において酸化ストレスの原因となる鉄代謝異常の改善が重要であるが、肝硬変症における鉄過剰症の実態は明らかでない。また、細胞毒性の強い非トランスフェリン結合鉄（non-transferrin-bound iron: NTBI）の測定系も臨床応用できるものがない。

本研究では肝硬変患者の鉄代謝異常を把握するために、軽度から中等度の血清NTBI上昇が検出可能な鋭敏で安定な測定系の確立を目的とし、Metal-free HPLCシステムを用いて肝硬変症の血清NTBI値を測定した。

B. 研究方法

対象：2006年11月から2008年8月までに旭川医科大学病院に入院した肝硬変症例14名と健康ボランティア8名の血清を用いた。

Metal-free HPLCシステムを用いた高感度NTBI測定：まず血清中のapo-transferrinをコバルトでブロックした後、NTBIをキレート剤NTAで捕捉し、限外濾過でtransferrin、ferritinを分離後、さらに高親和性鉄キレート剤CP22で置換する。その後、Metal-free HPLCでFe-3 (CP22)を分離し、Fe-3 (CP22)の吸光度を測定し、標準曲線から鉄イオン濃度を算出する。

倫理面への配慮として、個人を特定可能な名前、ID番号、カルテ番号とは無関係に設定した「患者匿名化ID」を運用し、個人情報漏洩防止を行った。

C. 研究結果

肝硬変症例14名の臨床像は男性12名、女性2名。平均年齢は70±12(41-84)歳。成因はB型肝炎ウイルス起因が4名、C型肝炎ウイルス起因が8名、アルコール性が1名、非B非C型が1名である。肝予備能の指標としてChild-Pughスコアが7.1±1.4(6-10)点であった。

肝硬変症例における血清鉄関連マーカーは血清フェリチン値が260.5±117.8(29.7-633.3)ng/mL、トランスフェリン飽和度が58.7±22.5(33.7-95)%で軽度から中等度の鉄過剰を認めた。

血清NTBI濃度は健常ボランティアが0.039±0.029 microMであるのに対し、肝硬変症例では0.28±0.25 microMで、有意に上昇していた(p=0.003)。

D. 考察

血清NTBI濃度測定に関してmetal-free HPLCを用いた定量システムを立ち上げ、これまで疑問視されていた低濃度領域の不安定性に関して、その問題点を明らかにし検出感度の向上を目指した。使用する蒸留水や試薬に混在する鉄によりベースラインが引き上げられ、不安定な測定系となっていることが判明した。そこで、Chelex 100やポリアミン系樹脂による除鉄処理を行い、バックグラウンドを低減させることに成功した。結果、健常人における血中NTBI値を信頼性の高い数値として定量、表記することが可能となった。

慢性肝疾患の終末像である肝硬変症例においても成因にかかわらず、血清フェリチン、トランスフェリン飽和度が高い傾向があり、軽度から中等度の鉄過剰症であることが示された。さらに血清NTBI濃度が有意に上昇していることが示され、肝硬変の鉄過剰症で細胞毒性の強いNTBIが増加している可能性が示された。

健常者および肝硬変症のような軽度から中等度の鉄過剰症の病態把握にmetal-free HPLCシ

ステムを用いた血清NTBI濃度測定は有用と考えられる。

E. 結論

- Metal-free HPLCシステムを用いて高感度に健常者と肝硬変患者血清中のNTBI濃度を測定が可能である。
- 肝硬変症では健常者に比べて空腹時において細胞毒性の高い血清NTBIが上昇している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 生田克哉, 鳥本悦宏, 高後裕: 鉄代謝と病態. 日本臨牀2008 Mar; 66(3):469-74
- 2) Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Torimoto Y, Kato J.; Dysregulation of systemic iron metabolism in alcoholic liver diseases. J Gastroenterol Hepatol. 2008 Mar;23 Suppl 1:S78-81.
- 3) Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J.; Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. Int J Hematol. 2008 Jul;88(1):7-15.
- 4) 生田克哉, 佐々木勝則, 鳥本悦宏, 高後裕: 生体内不安定鉄と鉄毒性と鉄キレート療法. 血液フロンティア2009 Feb; 19(2):31-39

2. 学会発表

- 1) Ikuta, K., Torimoto, Y., Hosok, T., Jimbo, J., Shindo, M., Sato, K., Ohtake, T., Sasaki, K., Kohgo, Y.: Changes of the Expressions of the Genes Involved in Iron Metabolism by the Iron Chelation Therapy in the Iron Overloaded Mouse Model. Session Type: Poster Session: 50th ASH Annual Meeting & Exposition, December 6-9, 2008. San Francisco, California, USA

慢性肝疾患における微量元素（特に亜鉛を中心とした）動態、BCAA療法の検討

分担研究者 片山 和宏

大阪厚生年金病院 内科部長

研究要旨：肝硬変においては、種々の代謝異常が見られ、特に蛋白代謝異常は不良な生命予後や合併症の一因として指摘されている。最近、微量元素である亜鉛が、尿素回路のオルニチントランスカルバミラーゼの補酵素であることより、アンモニア代謝に重要な働きをしており、肝硬変では亜鉛が欠乏することが、アンモニア代謝、ひいては蛋白代謝異常の一因であることが指摘されている。そこで我々は、慢性肝疾患における亜鉛欠乏の実態を明らかにするとともに、亜鉛補充がアンモニア代謝を改善することを示してきた。また、肝硬変の合併症である腹水・浮腫の治療に多用される利尿剤治療は、今まで蛋白代謝とは関連がないと考えられていたが、我々の検討で亜鉛の腎臓からの再吸収を抑制し、排泄量を増加させることにより、亜鉛欠乏を助長していることが明らかとなり、蛋白代謝の増悪因子である可能性が示唆されるに至った。そこで次に肝硬変の栄養治療の一つであるBCAA製剤と亜鉛補充の併用効果を検討したところ、亜鉛を加えることで、BCAA製剤のアミノ酸バランス是正効果が促進されることが明らかとなった。今後さらに亜鉛動態の検討により、亜鉛補充の効果を明らかにしていくとともに、その効率を上げる方策を探る予定である。

A. 研究目的

慢性肝疾患における亜鉛の動態を明らかにするとともに、亜鉛補充の効果を検討することを目的とした。

B. 研究方法

慢性肝疾患における亜鉛動態の検討においては、当院通院および入院患者60例において血中および尿中の亜鉛濃度の測定を行い、他の肝臓の予備能検査や内服薬との関連を検討した。またBCAA製剤と亜鉛製剤（硫酸亜鉛）の併用効果の検討については、外来通院患者40例を無作為に2群に分け、BCAA製剤単独投与群とBCAA製剤および硫酸亜鉛併用投与群に振り分

けた。その後5-6ヶ月の治療し、血中亜鉛濃度およびその他の血液検査の動態を両群で比較した。

（倫理面への配慮）亜鉛製剤の投与や投与臨床研究に関しては、書面で亜鉛投与の意義と方法を説明した上で患者の承諾を得た。また研究計画を倫理委員会で検討し、承認を得た。

C. 研究結果

1. 慢性肝疾患における血中亜鉛濃度と肝予備能および利尿剤使用との関連の検討。

肝硬変60例を、亜鉛、利尿剤非投与群（LC）25例、亜鉛製剤投与群（LCZ）16例、利尿剤投与群（LCd）4例、亜鉛利尿

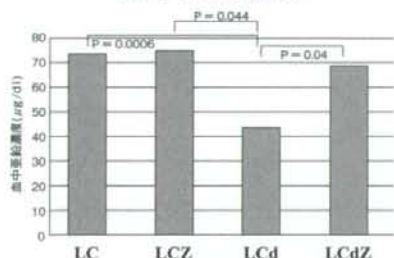
剤併用群 (LC d Z) 15例の4群に分けて検討した。

患者背景

	LC群	LCZ群	LCd群	LCdZ群
N	25	16	4	15
Age(yo)	67.7±11.0	61.1±13.3	52.5±11.7	66.4±10.8
Sex(M:F)	13:12	11:5	2:2	6:9
PLT(×10 ⁴ μl)	16.2±12.9	8.9±5.0	11.2±4.9	9.2±5.2
T.Bil(mg/dl)	1.0±0.3	1.1±0.5	1.4±0.5	1.7±0.9
Alb(g/dl)	3.8±0.4	3.3±0.4	2.8±0.5	2.9±0.5
PT(%)	89.2±19.1	74.5±13.1	64.8±15.4	73.9±20.2
FR	2.21±0.66	1.62±0.47	1.77±0.61	1.61±0.98

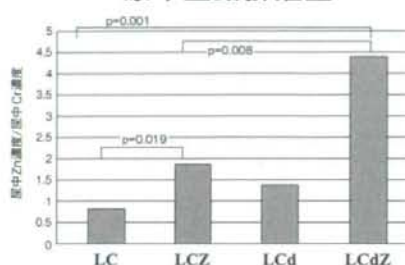
亜鉛製剤や利尿剤が投与されている症例は、肝疾患が進んでいる症例が多く、ビリルビン値、アルブミン値、凝固機能などLC群に比較して他の群は低下していた。血中の亜鉛濃度は、

血中亜鉛濃度



図のように、LC d 群で他の群に比し、有意に低値であった。そこで次に各群の尿中の亜鉛排泄量を随時尿の尿中亜鉛濃度を尿中クレアチニン濃度で補正し、比較検討した。LC d Z群の尿中亜鉛排泄量は、LC群やLCZ群と比較して有意に多く、またLCZ群もLC群に比べ有意に多量であった。LC d 群は今回の検討症例数が少ないため、LC群よりも多い傾向はあったが有意差は認められなかった。

尿中亜鉛排泄量

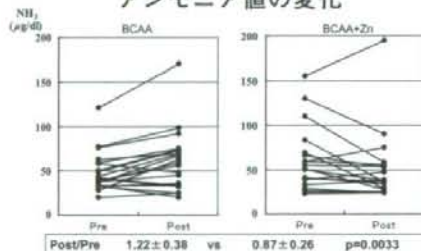


さらに尿中亜鉛の排泄分画を(U-Zn/sZn)(U-Cr/SCr)×100で計算し比較すると、LC(0.70±0.30)<LCZ(1.80±1.71)<LCd(2.38±2.61)<LCdZ群(5.21±0.55)となり、LC d Z群ではLC群、LCZ群と比較し有意に高値を示した。

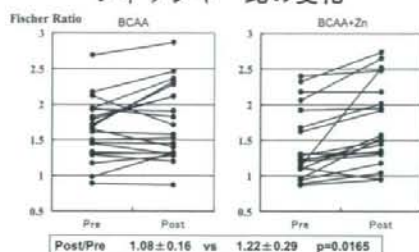
2. 肝硬変におけるBCAA製剤および亜鉛製剤併用の臨床効果に関する検討。

BCAA単独投与群とBCAA+亜鉛併用投与群での治療前の肝予備能(T.Bil, Alb, PT, FR, ammonia)には有意差は見られず、血中亜鉛濃度にも有意差は見られなかった。血中アンモニア値は、BCAA群では、前値に比し1.22±0.38倍とやや増加したが、併用群では0.87±0.26倍とやや低下し、両者の変化率には有意差を認めた。また、フィッシャー比の比較においても、BCAA群では、1.08±0.16倍と若干増加したが、併用群では1.22±0.29倍と有意に改善効果が高かった。血中亜鉛濃度の変化は、併用群で有意に高値であったが、血中アルブミン値については、今回の検討では両群に有意差は認めなかった。

アンモニア値の変化



フィッシャー比の変化



D. 考察

慢性肝疾患では、慢性肝炎から肝硬変へ病態が伸展するに伴い、亜鉛欠乏、蛋白代謝異常が出現し、それらの程度に相関が見られること、さらには亜鉛補充によってそれらの指標に改善が見られることより、亜鉛欠乏が窒素代謝異常の一因であることが明らかとなりつつある。肝硬変で亜鉛欠乏のおこる原因としては、消化管からの吸収障害や腎臓からの排泄増加のあることが指摘されているが、今回利尿剤投与例を検討すると、亜鉛排泄量の増加、特に尿細管からの再吸収が抑制されている（尿中亜鉛排泄分画の増加）ことが示された。利尿剤の作用機序が電解質の尿細管からの再吸収抑制であることを考えると、本現象は利尿剤の影響と考えられた。

さらに肝硬変の栄養療法として使用されるBCAA製剤は、肝硬変の生存率や合併症の率を下げる効果のあることも指摘されているが、そのものが窒素負荷になる面がある。今回の我々の検討でもBCAA投与により、血中アンモニア値はほぼ横ばい～若干上昇が見られたが、亜鉛を併用することでアンモニア値の低下と、フィッシャー比の改善が見られた。アンモニアの処理は、骨格筋でも行われ、その際にはBCAAが消費されることより、亜鉛投与で肝臓でのアンモニア処理能の改善に伴い、骨格筋でのアンモニア処理量の低下が体内BCAAの消費を減らした可能性が考えられた。

E. 結論

肝硬変では亜鉛欠乏が高頻度に見られ、蛋白代謝異常の一因となっており、利尿剤はこれを助長する可能性が高い。亜鉛補充はこれらの病態を改善する有効な治療である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M Hayashi, K Ikezawa, A Ono, S Okabayashi, Y Hayashi, S Shimizu, T Mizuno, K Maeda, T Akasaka, M Naito, T Michida, D Ueshima, T Nada, K Kawaguchi, T Nakamura, K Katayama. Evaluation of the effects of combination therapy with branched-chain amino acid and zinc supplements on nitrogen metabolism in liver cirrhosis. *Hepatol Res* 2007;37:615-619.

2. 学会発表

- 1) 千葉三保、貫野知代、松浦民子、森口彩、池澤賢治、小野亜紀子、岡林祥代、水野龍義、赤坂智文、明田寛史、前田晃作、内藤雅文、道田知樹、片山和宏。肝硬変における利尿剤投与における血中亜鉛濃度の検討。第37回日本肝臓学会西部会。2007年12月7-8日。長崎。
- 2) 片山和宏、西尾啓、千葉三保。肝硬変の窒素代謝異常における亜鉛欠乏の意義とその対策。シンポジウムⅢ 金属代謝異常（鉄・亜鉛と肝障害）第12回日本病態栄養学会。2009年1月10-11日。京都。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

α -グルコシダーゼ阻害剤併用LESの効果について

分担研究者 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学 教授

研究要旨：【目的】肝硬変患者では夜間の糖利用が低下し、体脂肪・筋蛋白異化が亢進する夜間飢餓状態を呈していることが多い。近年、この夜間飢餓状態を改善する目的で就寝前軽食摂取（Late evening snack: LES）が検討され、その有効性が報告されている。しかし、外来で長期に就寝前栄養を投与する場合には、カロリー負荷により耐糖能異常を悪化させる可能性がある。そこで肝硬変患者に対する就寝前の栄養投与に経口血糖降下剤である α -グルコシダーゼ阻害剤を併用することで、耐糖能悪化に与える影響について、及び α -グルコシダーゼ阻害剤併用で、糖の消化・吸収をより緩徐にすることにより、分割食を模倣した状態となり、エネルギー代謝が更に改善するかどうかについて検討した。

【対象】肝硬変患者11名。本研究以前よりアミノレバンEN®をLESとして服用している患者を対象とした。 α -グルコシダーゼ阻害剤（ベイスン®(0.2mg)）を1日1錠、睡眠前のアミノレバン摂取する直前に服用した。耐糖能異常については75g OGTTを用いて、エネルギー代謝異常の変化については間接カロリーメーターを用いて検討した。

【結果】一週間及び3ヶ月後 α -グルコシダーゼ阻害剤を併用すると耐糖能異常が有意に改善した。3ヶ月後において非タンパク呼吸商が有意に改善した。試験期間中重篤な副作用は認めなかった。

【考案】LESに α -グルコシダーゼ阻害剤を併用することは、耐糖能異常及びエネルギー代謝を改善した。耐糖能異常患者において本方法は有用な栄養療法である可能性が示唆された。

共同研究者

是永 圭子 山口大学医学部附属病院
検査部 助教
内田 耕一 山口大学大学院医学系研究科
消化器病態内科学 助教
瀬川 誠 山口大学大学院医学系研究科
消化器病態内科学 医員

脂肪・筋蛋白異化が亢進する夜間飢餓状態を呈していることが多い。近年、この夜間飢餓状態を改善する目的で就寝前軽食摂取（Late evening snack: LES）が検討され、その有効性が報告されている。

山口大学第一内科では、肝硬変患者にLESとして就寝前に肝不全用経口栄養剤（アミノレバンEN®）を投与することにより、エネルギー代謝・アミノ酸インバランスの改善、耐糖能異常の改善が得られることを明らかにした

A. 研究目的

肝硬変患者では夜間の糖利用が低下し、体脂

(参考文献 1, 2)。

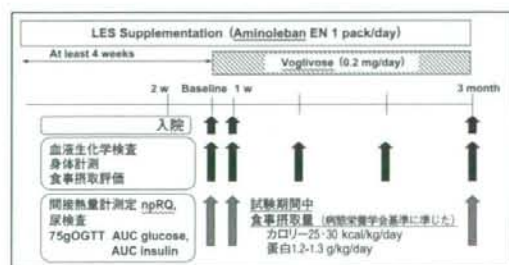
しかし、外来で長期に就寝前栄養を投与する場合には、カロリー負荷により耐糖能異常を悪化させる可能性があり、山口大学第一内科の検討で、75g OGTT負荷試験で糖尿病を呈する肝硬変患者にLESとして肝不全用経口栄養剤（アミノレバンEN®）を長期投与する際には注意を要することが報告された。

そこで今回我々は、75g OGTT負荷試験で糖尿病型を呈する肝硬変患者に対する就寝前の栄養投与に経口血糖降下剤である α -グルコシダーゼ阻害剤（ベイスン®）を併用し、併用前後で耐糖能に及ぼす影響と安全性を検討した。またその効果メカニズムについても基礎的に検討した。

B. 研究方法

【対象】肝硬変患者11名。内訳は肝硬変患者11名（44~78歳）男/女：4/7 成因HCV 7名、NASH 2名、Alcohol 1名、PBC 1名 Child Pugh 分類 A/B/C：3/7/1（HCC 1名）75g OGTT2時間値耐糖能異常 糖尿病型9名、境界型2名であった。

【方法】LESとしてアミノレバンEN 1pack/day内服した。4週から156週間観察した。 α -グルコシダーゼ阻害剤（ベイスン（0.2mg））を1日1錠を、睡眠前のアミノレバン摂取する直前に服用する。研究プロトコルを以下に示す。



1日の摂取カロリーは、表1より算出したカロリーから、アミノレバンEN210kcalを除いたカロリーを摂取した。

表1：1日摂取カロリー

総カロリー	25~30kcal/kg/day (BMI22を標準に算出)
蛋白質	1.0~1.5g/kg/day
脂 肪	総カロリーの25%

耐糖能異常については75g OGTTを用いて、エネルギー代謝異常の変化については間接カロリーメーターを用いて検討した。

【統計解析】 データはmean±SDで表現した。統計解析はStudent's t-testで行なった。有意差はP-values<0.05で行なった。

C. 研究結果

1. 身体計測

体重は研究導入前後で優位な変化はなかった。(61.9±13.6kg vs 62.1±13.1kg)また骨格筋量、体脂肪量、体脂肪率に優位な差は認めなかった。

2. 耐糖能

75gOGTTにおいてAUC glucose値は1週と3ヶ月において前値と比し有意に改善した。(p<0.05)しかし、空腹時血糖、ヘモグロビンA1cは有意差を認めなかった。AUC insulin値は前値と比し3ヶ月目において低下傾向を認めたが、前値と比し優位さを認めなかった。

3. エネルギー代謝

3ヶ月目において非蛋白呼吸商 (npRQ)の改善を認めた。(p<0.005)糖質燃焼率の増加および脂質燃焼率の低下を認めた。(p<0.005)

4. 血液生化学

3ヶ月目においてアルブミン値の改善を認めた。(p<0.005)

D. 考 察

LESに α グルコシダーゼ阻害剤を併用することにより、耐糖能の改善とともに、エネルギー代謝も改善した。

耐糖能異常が著明な症例には、LESに α グルコシダーゼ阻害剤を併用することが糖代謝の面からも有用な補助療法であることが示唆された。

E. 結 論

耐糖能異常を伴う肝硬変患者においてLESの栄養療法に α グルコシダーゼ阻害剤併用療法は栄養管理の補助療法として有用であることを示すことができた。

F. 健康危険情報

重篤な副作用を認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Effects of a late evening snack combined with α -glucosidase inhibitor on liver cirrhosis Keiko Korenaga, Masaaki Korenaga, Koichi Uchida, Takahiro Yamasaki and Isao Sakaida Hepatology Research 2008; 38: 1087-1097

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

肥満関連肝発癌モデルにおける分岐鎖アミノ酸の抑制効果に関する基礎的研究

分担研究者 森脇 久隆

岐阜大学大学院医学系研究科腫瘍制御学講座消化器病態学分野・教授

研究要旨：C型慢性肝疾患患者において約30%に肥満を認め、肥満と肝臓の炎症・線維化・癌化との関連について明らかにされつつある。さらに長期の分岐鎖アミノ酸 (Branched Chain Amino Acids: BCAA) 顆粒療法が肝発癌に及ぼす影響を検討したところ、肥満合併肝硬変患者にて上昇した発癌リスクをBCAAは抑制すると報告されている。また近年、肝臓におけるメタボリックシンドロームの表現型と称される非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) は、肝硬変・肝癌の原因として注目を浴びている。今回、肥満関連肝発癌モデルを用いてBCAAの発癌抑制効果に関する検討を行った。

C57BL/KsJ-db/db (db/db) マウスを用いてNAFLD (nonalcoholic fatty liver disease) 関連モデルマウスを作成し、chemical carcinogenとしてdiethylnitrosamineを用いた。BCAA投与群では、有意にALT ($p<0.01$) が低値、肝腫瘍発生率は低値 ($p<0.05$) であった。さらに、有意に肝脂肪蓄積を抑制、線維化抑制を認め、インスリン抵抗性の改善を認めた。

肥満関連肝発癌モデルマウスにおいてBCAAを投与することで、肝腫瘍発生を抑制し、そのメカニズムとしてインスリン抵抗性の改善、肝への脂肪蓄積の抑制が考えられた。今後、酸化ストレスの面からの検討が必要と考えられる。

共同研究者

清水 雅仁 岐阜大学医学部附属病院第一内科・助教

白木 亮 岐阜大学医学部附属病院生体支援センター・助教

岩砂 淳平 岐阜大学医学部腫瘍制御学講座消化器病態学分野・大学院生

寺倉 陽一 岐阜大学医学部腫瘍制御学講座消化器病態学分野・大学院生

A. 研究目的

近年、本邦においても食の欧米化に伴い肥満は健康上重大な問題となり、肥満者は、しばし

ば糖尿病・高脂血症・高血圧などを合併することから、脳心血管系疾患の危険因子として内臓脂肪型肥満やインスリン抵抗性を重視するメタボリックシンドロームが重要視されている。

肝臓は消化吸収された栄養素の代謝制御の中心的役割を担う臓器であり、肝臓への栄養の過剰負荷は肝機能を修飾し障害をもたらす。非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) は肝臓におけるメタボリックシンドロームの表現型と称される病態であり、肝硬変・肝癌の原因として注目を浴びている。

また、C型慢性肝疾患患者において約30%に

肥満を認め、肥満と肝臓の炎症・線維化・癌化との関連について明らかにされつつある。さらに長期の分岐鎖アミノ酸 (Branched Chain Amino Acids: BCAA) 顆粒療法が肝癌発生に及ぼす影響を検討したところ、肥満合併肝硬変患者にて上昇した発癌リスクをBCAAは抑制すると報告されている。

今回、肥満関連肝発癌モデルを用いてBCAAの発癌抑制効果およびメカニズム解析をおこなった。

B. 研究方法

Animal: 4週間齢の雄のC57BL/KsJ-db/db (db/db) マウス、Chemical carcinogen: diethylnitrosamine (DEN) を使用、DEN投与群には2週間40ppmを自由飲水にて投与。

Diets: CRF-1 (Basal diet)、basal diet containing 3.0% BCAA (w/w)、basal diet containing 3.0% Casein (w/w) を使用。

Group A: CRF-1+DEN(+)

Group B: Casein+DEN(+)

Group C: BCAA+DEN(+)

Group D: BCAA+DEN(-)

の4群に分けた。実験開始34週に6時間絶食の後に犠死、臓器重量測定 (内臓脂肪量は精巣周囲、後腹膜)、組織の肉眼的観察、HE染色、Sudan III染色、Azan染色、PCNA染色、肝TG定量 (Folch法)、肝hydroxyproline定量、血清ALT測定、血糖測定、血清インスリン測定 (ELISA)、血清BCAA測定を行った。

C. 研究結果

臓器重量は体重、肝重量、腎重量、脾重量で有意差を認めなかった。内臓脂肪量はGroup Aでは他の群と比較し有意に増加していた。血清ALT値はBCAA投与群 (Group C,D) では非投

与群 (Group A,B) より有意に低値であった (図1)。肝腫瘍発生率はBCAA投与群 (Group C,D) では非投与群 (Group A,B) より有意に低値であった (図2)。血清BCAA値はBCAA投与群 (Group C,D) では非投与群 (Group A,B) より有意に高値であった。肝TG定量ではBCAA投与群 (Group C,D) では非投与群 (Group A,B) より有意に低値であった。肝hydroxyproline定量ではBCAA投与群 (Group C,D) では非投与群 (Group A,B) より有意に低値であった。血清インスリン値および血糖値はBCAA投与群 (Group C,D) では非投与群 (Group A,B) より有意に低値であった (図3)。また、肝組織にてPCBA陽性細胞数はBCAA投与群 (Group C,D) では非投与群 (Group A,B) より有意に低値であった (図3)。

図1

Serum ALT

Group	no.	mice	diet	Treatment	No. of mice	serum ALT
A	10	db/db	CRF-1	DEN	10	365±169.6 ^a
B	11	db/db	casein	DEN	11	331.4±86.6 ^a
C	11	db/db	BCAA	DEN	11	128.0±18.5
D	5	db/db	BCAA	saline	5	119.9±63.5

^ap < 0.01 significantly different from group C,D.

図2

Incidence, multiplicity and size of hepatic neoplasms

Group	mice	diet	Treatment	No. of mice	Incidence	Multiplicity (no. of neoplasms/ mouse) (mean±SD)			
						Total	Adenoma	Adenocarcinoma	
A	10	db/db	CRF-1	DEN	6/10 (60%) ^{ab}	1.0±1.03 ^a	0.9±1.10	0.1±0.32	14.4±4.40 ^{bc}
B	11	db/db	casein	DEN	8/11 (72.7%) ^a	1.73±1.27 ^a	1.45±1.13	0.27±0.47	19.1±5.68
C	11	db/db	BCAA	DEN	2/11 (18.2%)	0.18±0.40	0.18±0.40	0	9.64±3.12
D	5	db/db	BCAA	saline	0/5 (0%)	0	0	0	3.40±0.54

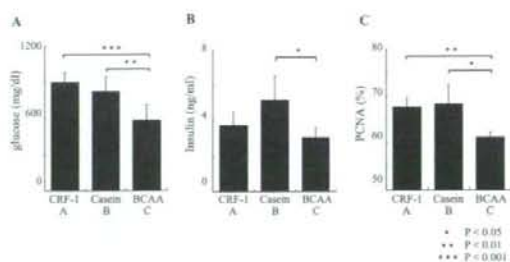
^ap < 0.05 significantly different from group C.

^bp < 0.01, significantly different from group D.

^cp < 0.001, significantly different from group D.

図3

Glucose, Insulin, and PCNA



D. 考察

肥満関連肝発癌モデルマウスにおいてBCAAを投与することで、肝腫瘍発生を抑制した。そのメカニズムとしてインスリン抵抗性の改善、肝への脂肪蓄積の抑制の結果、肝の炎症・線維化の抑制に寄ると考えられた。今後、酸化ストレスの面からの検討が必要と考えられる。

なお、肥満関連大腸発癌モデルマウスにおいてBCAA投与により、大腸腫瘍発生を抑制した。そのメカニズムとしてインスリン抵抗性の改善が考えられ、BCAAの普遍的な作用と示唆された。

E. 結論

BCAAはインスリン抵抗性を改善することにより肝腫瘍発生を抑制することが示唆された。また酸化ストレスを軽減する可能性もあり今後さらなる検討が必要である。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M Shimizu, Y Shirakami, J Iwasa, et al. Supplementation with Branched-Chain

Amino Acids Inhibits Azoxymethane-Induced Colonic Preneoplastic Lesions in Male C57BL/KsJ-db/db Mice. CLINICAL CANCER RESEARCH (in press)

2. 学会発表
特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

【書籍】

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版者名	出版地	出版年	ページ
1 鈴木一幸	消化器疾患②肝疾患	渡辺明治	病態栄養ガイドブック (改訂第2版)	メディカルレビュー社	大阪	2008	120-127
2 黒田英克、 滝川康裕、 鈴木一幸、 他	当科における肝硬変の 成因別頻度	恩地森一	2008肝硬変の成因別 実態	中外医学社	東京	2008	42-46
3 鈴木一幸、 滝川康裕	肝硬変の治療	林 紀夫	Annual Review消化器 2008	中外医学社	東京	2008	118-123
4 加藤章信	肝性脳症	山口 徹	今日の治療指針	医学書院	東京	2008	393-394
5 加藤章信	末梢静脈栄養法	東口高志	全科に必要な栄養管理 Q&A	総合医学社	東京	2008	116-117
6 加藤章信	身体計測	渡辺明治	今日の病態栄養療法	南江堂	東京	2008	17-20
7 加藤章信	食事療法	松崎靖司	患者さんの質問に答える 慢性肝疾患診療 改訂2版	南山堂	東京	2008	22-25

【雑誌】

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
1 Watanabe Y, Kato A, Sawara K, R. F. Butterworth, Sasaki T, Terasaki K, Sera K, Suzuki K	Selective alterations of brain dopamine D ₂ receptor binding in cirrhotic patients: results of a ¹¹ C-N-methylspiperone PET study	Metab Brain Dis 2008	23	265-274	2008
2 Kato A, Watanabe Y, Sawara K, and Suzuki K	Diagnosis of sub-clinical hepatic encephalopathy by neuropsychological tests (NT-tests).	Hepatol Res	38	S112-127	2008
3 加藤章信	Q & A で学ぶ栄養管理と薬学管理 肝胆脾疾患	薬局	59	261-269	2008
4 Kazutomo Suzuki, Hajime Kuwayama, et al	Effect of symptomatic gastroesophageal reflux disease on quality of life of patients with chronic liver disease	Hepatol Res	38	335-339	2008
5 Kazutomo Suzuki, Kazuyoshi Suzuki, Hajime Kuwayama, et al	Measurement of serum branched- chain amino acids to tyrosine ratio level is useful in a prediction of a change of serum albumin level in chronic liver disease	Hepatol Res	38	267-272	2008

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
6	原なぎさ、加藤章信、金野貴子、鈴木孝知、他	慢性肝疾患患者の健康食品摂取状況 - 多施設 (6 施設) 調査の結果から -	日本病態栄養学会雑誌	10(3)	287-294	2007
7	内田幸江、奥住裕二、メ谷直人、鈴木孝知、他	慢性肝疾患における栄養指標としての血清アルブミン値測定の問題点	臨床病理	54(10)	1008-1012	2006
8	生田克哉、鳥本悦宏、高後裕	鉄代謝と病態	日本臨牀	66巻3号	469-474	2008
9	Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Torimoto Y, Kato J.	Dysregulation of systemic iron metabolism in alcoholic liver diseases.	J Gastroenterol Hepatol	23 Suppl 1	S78-81	2008
10	Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J.	Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload.	Int J Hematol.	88(1)	7-15	2008
11	生田克哉、佐々木勝則、鳥本悦宏、高後裕	生体内不安定鉄と鉄毒性と鉄キレート療法	血液フロンティア	19(2)	31-39	2009
12	Hayashi M, Ikezawa K, Ono A, Okabayashi S, Hayashi Y, Shimizu S, Mizuno T, Maeda K, Akasaka T, Naito M, Michida T, Ueshima D, Nada T, Kawaguchi K, Nakamura T, Katayama K.	Evaluation of the effects of combination therapy with branched-chain amino acid and zinc supplements on nitrogen metabolism in liver cirrhosis.	Hepatol Res	37	615-619	2007
13	Korenaga K, Korenaga M, Uchida K, Yamasaki T, Sakaida I.	Effects of a late evening snack combined with alpha-glucosidase inhibitor on liver cirrhosis.	Hepatol Res	38	1087-97	2008
14	M Shimizu, Y Shirakami, J Iwasa, et al	Supplementation with Branched-Chain Amino Acids Inhibits Azoxymethane-Induced Colonic Preneoplastic Lesions in Male C57BL/KsJ-db/db Mice.	CLINICAL CANCER RESEARCH (in press)			

IV. 研究成果の刊行物

書 籍

第5章 病態栄養と栄養療法

1

1 1 消化器疾患

2 肝疾患

肝疾患の栄養療法を実践するうえでは、最初に肝疾患の原因(肝炎ウイルス、薬剤、アルコール、自己免疫など)の検索とともに鑑別診断を行い、さらに各疾患の病態・重症度を的確に判断することが重要である。栄養療法では、身体計測や血液生化学検査などから栄養病態を把握し、食事による栄養療法のみで十分か、末梢および中心静脈からの静脈栄養が必要かを判断して治療方針を決定する。慢性肝炎、肝硬変、脂肪肝などの慢性肝疾患患者の多くは外来治療が中心となるので、生活指導を含めた栄養食事指導を継続的に行うことが大切である。

1 肝疾患の分類と原因

肝疾患は発症様式、病態により急性と慢性の肝疾患に分類される。

原因としてはウイルス性(肝炎ウイルス、肝炎ウイルス以外のウイルス)、薬物性、アルコール性、自己免疫性、その他(代謝性、循環障害など)が挙げられるが、わが国ではウイルス性の肝疾患が最も頻度が高い。表1に主な肝炎ウイルスの特徴を示す。

2 急性肝炎、劇症肝炎

種々の原因(ウイルス、薬剤、アルコール、自己免疫など)により肝臓にびまん性の炎症が生じた状態をいう。ウイルス、特に肝炎ウイルスによるものが最も多く、肝障害の発生機序には細胞障害性Tリンパ球を介した免疫反応が重視されている。

急性肝炎のなかで、特に高度の肝機能不全によ

り肝性脳症(昏睡)をきたしたものを劇症肝炎と呼ぶ。

A. 診断(基準)

急性肝炎の診断は現病歴、血液生化学検査、画像検査(腹部超音波検査、CT検査)より行う。典型例では診断は比較的容易である。原因の検索がきわめて重要であり、アルコール歴、薬剤歴、家族歴、海外渡航歴などを十分聴取する。プロトロンビン時間(PT)を測定し、合わせてアルブミン、コレステロール、コリンエステラーゼなどから肝細胞機能の障害の程度(重症度)を判定する。

劇症肝炎の診断は表2に示す診断基準で行う。予後は亜急性型が不良(救命率は急性型約50%、亜急性型約20%)であり、最近では生体部分肝移植を受ける例が増加してきている。

B. 治療(基準)

急性期は原則として入院治療を行う。

栄養療法では、十分な経口摂取が可能かどうかを確認し、食事療法のみで治療を行うか、ある

表1 肝炎ウイルスの種類と特徴

	A型肝炎	B型肝炎	C型肝炎	D型肝炎	E型肝炎
原因ウイルス	HAV	HBV	HCV	HDV(HBV存在下)	HEV
主な感染経路	経口 (食事、生水)	経皮 (血液、体液)	経皮 (血液)	経皮 (血液、体液)	経口 (食事、生水)
母子感染	なし	あり	あり(まれ)	あり	なし
好発年齢	全年齢層	青年	青、壮年	青年(キャリア)	全年齢層
劇症化	あり(まれ)	あり	あり(まれ)	あり	あり(まれ)
キャリア化	なし	あり	あり	あり	なし
慢性化	なし	あり	あり	あり	なし
肝がん	なし	あり	あり	あり	なし

表2 劇症肝炎の診断基準

劇症肝炎とは、肝炎のうち初発症状出現後8週以内に高度の肝機能異常に基づいて昏睡Ⅱ度以上の肝性脳症をきたし、プロトロンビン時間が40%以下を示すものとする。そのうちには症状出現後10日以内に脳症が発現する急性型と、11日以降に発現する亜急性型がある。

(注1)先行する慢性肝疾患が存在する場合には劇症肝炎から除外する。ただし、B型肝炎ウイルスの無症候性キャリアからの急性増悪例は劇症肝炎に含めて扱う。

(注2)薬物中毒、循環不全、妊娠性脂肪肝、Reye症候群など、肝臓の炎症を伴わない肝不全は劇症肝炎から除外する。

(注3)肝性脳症の昏睡度は犬山分類(1972年)に基づく。

(注4)病因分類は「難治性の肝疾患に関する研究班」の指針(2002年)に基づく。

(注5)プロトロンビン時間が40%以下を示す症例のうち、肝性脳症が認められない、ないしは昏睡Ⅰ度以内の症例は急性肝炎重症型、初発症状出現から8週以降24週以内に昏睡Ⅱ度以上の脳症を発現する症例は遷延性肝不全に分類する。これらは劇症肝炎の類縁疾患であるが、診断に際しては除外して扱う。

(難治性の肝疾患に関する調査研究班, 2003年)

いは静脈栄養療法を併用するかどうかを判断する。

急性肝炎では多くは安静のみで薬物療法を必要としない。重症化例では副腎皮質ステロイド、抗凝固療法ならびに合併症の予防対策を行う。劇症肝炎例では人工肝補助療法を合わせて行う。また、ウイルス性(B型, C型)では抗ウイルス療法を併用する。

1 食事療法

高度の黄疸を伴う例では急性期には脂質を制限(脂肪の消化吸収が障害されていることが多い)するが、通常の経過を辿る急性肝炎では治療上における各栄養素の制限は特に必要ない。劇症化が疑われる例、あるいは劇症化した例では基本的に絶食とし、末梢または中心静脈栄養管理を行う。

2 経腸・静脈栄養

急性肝炎ではあくまでも食事療法が中心であり静脈栄養は補助的なものである。劇症肝炎では、昏睡期には末梢静脈または中心静脈よりブドウ糖を中心とした栄養補給を行うが、脂肪製剤、アミノ酸製剤は通常は用いない。肝細胞機能の回復傾向がみられれば、肝不全用経腸栄養剤(アミノレバンEN[®], ヘパンED[®])

の経口投与を開始し、完全中心静脈栄養より経腸栄養に徐々に切り替える。

C. 栄養の病態

急性肝炎では肝細胞機能障害の程度に応じて各栄養素の代謝障害をみる。重症化例では肝でのグリコーゲン貯蔵の低下、高インスリン血症とあいまって低血糖をみることがある。急性肝炎でエネルギー代謝が亢進していることが多く、十分なエネルギー投与が必要である。各栄養素の燃焼比率をみると、重症化例、特に劇症肝炎では炭水化物の燃焼比率が低下し、脂質の燃焼比率が高まっている。ビタミン、ミネラル(特に亜鉛)の欠乏が肝細胞機能障害の程度に応じて認められる。

D. 栄養評価

身体計測(身長, 体重, 上腕筋筋, 上腕三頭筋部皮下脂肪厚)を行う。貧血や低たんぱく質血症の有無を確認する。一般に栄養評価に用いられている血液生化学検査項目(アルブミン, コレステロール, コリンエステラーゼなど)は肝細胞で合成されるため、その低下が栄養摂取不良によるものか、あるいは肝細胞機能障害によるものかを判定できない場合があり、注意が必要である。

E. 栄養食事指導

肝炎の回復期あるいは退院時に栄養食事指導を行う。一律に高たんぱく質・高エネルギー食を指導するのは適切でなく、標準体重に見合った栄養食事指導を行うことが最も大切である。肝炎の回復後に肥満となり脂肪肝となることもしばしばみられる。アルコール性のもものでは禁酒が最も重要である。

3 慢性肝炎

肝臓に6ヵ月以上炎症が持続している状態をいう。組織学的には炎症の程度、線維化の程度により3段階に分類される。B型肝炎ウイルス(HBV), C型肝炎ウイルス(HCV), 自己免疫性によるものが大部分を占めるが、HCVによるものが圧倒的に多い。い

第5章 病態栄養と栄養療法

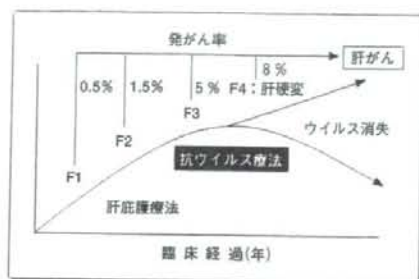


図1 C型慢性肝炎の臨床経過

いずれの場合にも肝臓での炎症が持続すれば高率に肝硬変に移行し、発がんに至る例もみられる(図1)。

A. 診断(基準)

- 確定診断は肝組織所見による。臨床的には肝機能、特に血清トランスアミナーゼが6ヵ月以上異常を持続していれば慢性肝炎と診断するが、肝硬変を除外する必要がある。

B. 治療(基準)

- 肥満の有無を確認し、標準体重に見合った食事療法を行う。糖尿病合併例では糖尿病に準じた食事療法を行う。慢性肝炎の進展に酸化ストレスの関与が重視されており、特にC型肝炎では肝臓内に鉄が過剰に沈着している例が多い。したがって、鉄過剰にならないように食事療法を行うが、血清トランスアミナーゼの異常が持続する例では鉄制限食(6mg/日)とする。薬物療法では肝庇護薬とともに抗ウイルス療法(B型肝炎に対してはインターフェロン、エンテカビル水和物、C型肝炎に対してはインターフェロン、リバビリン)を行う。C型肝炎に対する抗ウイルス療法の効果はHCV遺伝子型とウイルス量に左右される。

C. 栄養の病態

各栄養素の代謝障害をみることは少ないが、C型肝炎ではB型肝炎に比し耐糖能異常(糖尿病)の合併頻度が高い傾向にある。C型肝炎では鉄の吸収が亢進しており、肝組織内に過剰な鉄沈着を認めることが多い。

D. 栄養評価

急性肝炎と同様に、身体計測(身長、体重、上腕筋囲、上腕三頭筋部皮下脂肪厚)を行う。糖尿病および脂肪肝の合併の有無を確認する。必要に応じて肝生検を行い、脂肪沈着の程度ならびに線維化の程度をみる。血液生化学検査ではアルブミン、コレステロール、コリンエステラーゼなどの栄養指標をみる。

E. 栄養食事指導

- 標準体重に見合った栄養食事指導を行うのが基本である。糖尿病あるいは脂肪肝を合併している例ではそれらに見合った栄養食事指導を行う。
- 鉄摂取量が過剰にならないように指導し、肝機能異常が持続している例(血清トランスアミナーゼが高値)では鉄制限食を指導する。
- アルコールの関与が考えられる例では禁酒または制限を指導する。

4 脂肪肝, 非アルコール性脂肪肝炎

- 脂肪肝の原因は過栄養による肥満、アルコール、薬剤、糖尿病など多岐にわたる。多くの例では低エネルギー食や運動による体重減少、断酒による生活習慣の改善によって治療できるものである。非アルコール性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis; NASH)は最近注目されている病態であり、病歴で明らかな飲酒歴はないが、アルコール性肝障害に類似した肝組織像を示し、壊死、炎症や線維化を伴う脂肪肝炎を認める。一部の症例では肝硬変から肝がんへ進展することが観察されている。確定診断に肝組織像の観察が必須である。肥満、耐糖能異常、脂質異常症、高血圧など生活習慣病の合併率が高い。

A. 診断(基準)

脂肪肝の診断は画像検査(腹部超音波検査、CT検査)により容易であるが、BMIが25以上であれば50%、30以上であれば80%に脂肪肝がみられるといわれている。ただし、肝臓への脂肪沈着の程度は正確には肝組織検査によらざるをえない。

NASHの診断は肝組織検査のみでしか診断できない。線維化の程度、炎症の程度などをみる。血液生化学検査では、血清ASTおよびALTの軽度異常(ALT>AST)、血清γ-GTP、血中脂質(コレステロール、トリグリセリド)、コリンエステラーゼの増加などを認めるが、成因によってその程度は異なる。糖尿病合併例では血糖、HbA_{1c}の異常をみる。

B. 治療(基準)

NASHの発生機序と治療法の関係を図2に示した。

肥満、耐糖能異常、脂質異常症、高血圧など生活習慣病の合併の有無を確認し、それぞれの病態に見合った食事療法を行うのが基本である。過栄養による過体重や運動不足を認める例では運動療法も併用する。

薬物療法として、血中脂質異常の改善薬、血糖改善薬(特にインスリン抵抗性改善薬)、インスリンなどを適宜選択するが、現在のところNASHに対する確立した治療法はない。

C. 栄養の病態

肥満、耐糖能異常、脂質異常症、高血圧など生活習慣病の合併を高頻度に認めるため、これらの病態をよく理解する必要がある。

脂肪肝の発生要因として、①肝臓での脂肪酸合成の亢進、②肝臓での脂肪酸化の低下、③肝臓から末梢への脂肪輸送の障害などが重要である。

D. 栄養評価

身体計測(身長、体重、上腕筋囲、上腕三頭筋部皮下脂肪厚)を行う。

血中脂質(コレステロール、トリグリセリド、HDLおよびLDLコレステロール)、血糖、HbA_{1c}、腎機能(血中尿素窒素、クレアチニン)などを評価する。

E. 栄養食事指導

体重減少がNASHの改善に有効であることが証明されており、食事療法の基本は、総体重あたり総エネルギー25~35kcal/kg/日、たんぱく質1.0~1.5g/kg/日、脂肪は総エネルギーの20%以下、アルコールは禁止することが望ましいとされている。糖尿病、脂肪肝、高血圧などを合併している例ではそれらの病態を考慮して摂取エネルギー、脂質量制限、食塩などの制限も随時行う。

嗜好品(清涼飲料水、コーヒー、アルコール)の摂取状況を調査し、過剰摂取者に対しては適切な指導を行う。アルコールの関与が考えられる例では原則として禁酒を指導する。

5 肝硬変

病理学的には、持続性の炎症により肝細胞壊死と再生がくり返され、肝小葉構造の改築がびまん性に生じ線維性隔壁による再生結節が形成さ

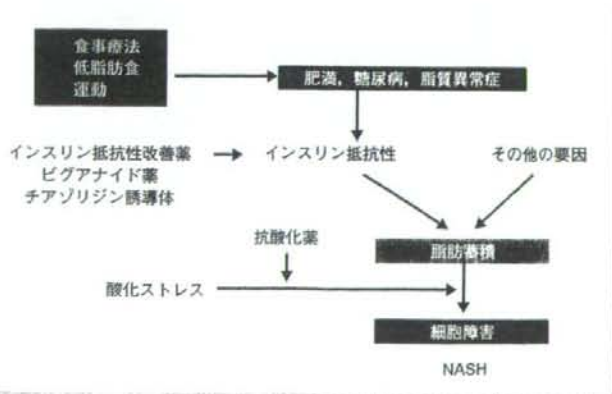


図2 NASHの発生機序と治療法