

腸内細菌叢を *C. difficile* や *M. morgani* から *Bifidobacterium* 主体に誘導する目的で、乳酸菌製剤（場合によっては難吸収性抗菌薬）が用いられる。

また前述した血漿アミノ酸インバランスを是正し、さらに骨格筋でのアンモニア代謝を促進する目的で、分枝鎖アミノ酸製剤を点滴（治療目的）あるいは経口投与（予防目的）する。

おわりに

肝性脳症の原因となる物質とそれが増加する病態、治療との関連について概説した。なお肝性脳症の治療については、表 1 に示すように原因疾患自体の治療、すなわち劇症肝炎であれば肝移植、肝硬変であっても抗ウイルス療法をまず考えるべき時代となっぎてきていることを強調しておきたい。

■文献

- 1) 森脇久隆. 肝性脳症の治療体系. 日消誌. 2007; 104: 352-6.
- 2) Ito Y, et al. Effect of lactulose on short-chain fatty acids and lactate production and on the growth of faecal flora, with special reference to *Clostridium*. J Med Microbiol. 1997; 46: 80-4.

〈森脇久隆〉

臨床検査ガイド 2009~2010

これだけは必要な検査のすすめかた・データのよみかた

Medical Practice編集委員会 編

1. 生化学検査/D. アミノ酸および含窒素化合物

アミノ酸とその分画

白木 亮・福島秀樹・森脇久隆

■ デシジョンレベル (表 1)

表 1 に多数例の内科疾患における検討より、血中アミノ酸レベルがその診断または病態の把握に有用であると判明したものをあげる。

■ 基準値

表 2 に血漿中アミノ酸濃度とその分画の基準値を、また表 3 に血漿中および尿中アミノ酸分画の基準値 (各検査施設による) を示す。

■ 測定上の注意

1. 生理的変動

a. 日内変動

一般に食事後のアミノ酸分画は上昇する。特に高蛋白食の摂取により Met, Phe, Tyr, Ile, Leu, Val などが上昇し、尿中 His, Met-His 排泄量が増加する。運動負荷により Ala は上昇し、Orn は減少する。

b. 性・年齢

個体差は健常成人では少ないが、女性がやや高値を示す。小児では筋肉の発達などの利用が増加するため血漿アミノ酸は低値を示す。尿中アミノ酸も排泄量が減少し、特に Tau, Ala, Asn などはほとんど排泄がなくなる。妊娠期は利用の充進のためほとんどの血漿アミノ酸が低値を示す。

表 1 血中アミノ酸のデシジョンレベル

値	高頻度に見られる疾患	否定できない主要疾患
Fischer 比 1.8 以下	非代償性肝硬変症 劇症肝炎	cardiac cachexia 急性肝炎 (重症型) 慢性腎不全 慢性呼吸不全 重症感染症 高齢者 など
Met 100 以上 (nmol/ml)	劇症肝炎	急性肝炎 (重症型)

2. 検体採取条件

早朝の空腹時に採血し、ヘパリン加血漿を用いる。血清を用いた場合、赤血球からアミノ酸が遊離し高値を示すことがある。検体は測定まで凍結保存する。

■ 検査によって何がわかるか

血漿および尿中アミノ酸は各種先天性および後天性疾患で変動するが、そのパターンは疾患特異性があり、生体内アミノ酸、蛋白輸送および代謝の異常を推定する重要な検査法である。

表 2 血漿中アミノ酸と分画の基準値

総アミノ酸	TAA	2,100~3,500 (μmol/l)
非必須アミノ酸	NEAA	1,400~2,400 (μmol/l)
必須アミノ酸	EAA	660~1,200 (μmol/l)
分岐鎖アミノ酸	BCAA	270~600 (μmol/l)
必須アミノ酸/非必須アミノ酸	EAA/NEAA	0.40~0.63
分岐鎖アミノ酸/総アミノ酸	BCAA/TAA	0.11~0.20
Fischer 比	BCAA/AAA	2.43~4.40

■ どういうときに検査するか

以前より、血中・尿中アミノ酸組成の測定は、酵素異常による先天性アミノ酸代謝異常症の診断に採用されてきた。さらに、近年は肝疾患・腎疾患・心疾患・糖尿病などの内分泌疾患・重症感染症などにおいても診断と治療方針の決定、病態解析のための重要手段となっている。

■ 異常となる疾患/異常となる薬物

1. 先天性アミノ酸代謝異常症 (表4)

表4に先天性アミノ酸代謝異常症を示す。新生児スクリーニングで異常が認められた場合(フェニルケトン尿症・メープルシロップ尿症・ホモシスチン尿症・ヒスチジン尿症など)や、高アンモニア血症によるけいれん・神経運動発達遅滞などの中枢神経症状を呈する尿素サイクル代謝異常症(シトルリン血症など)、有機酸代謝異常症(ケトアシドーシス・低血糖)などのアミノ酸代謝異常症が推定されるときは、特定のアミノ酸濃度の上昇が有力な診断の手がかりとなる。

2. 後天性アミノ酸代謝異常症 (表5)

a. 肝疾患 (表1)

肝はアミノ酸代謝における主要臓器の一つであり、この異常により血中のアミノ酸組成にも変化が生じる。特に非代償性肝硬変症や劇症肝炎などといった肝不全では顕著である。Val, LeuおよびIleなどの分岐鎖アミノ酸(BCAA)の低下とTyrおよびPheの芳香族アミノ酸(AAA)とMetの上昇が特徴的である。BCAAとAAAのモル比、いわゆるFischer比は肝疾患では低下する。非代償性肝硬変症や劇症肝炎といった肝不全においては著明に低下し、特に肝性脳症の認められるような症例ではそのほとんどが1.0以下である。一方、急性肝炎、慢性肝炎、代償性肝硬変症では軽度~中等度にFischer比は低下する。また、Trpはこのアミノ酸と異なり、血中ではその多くがアルブミンと結合して存在するが、肝不全では血中の総Trp量には著変がなく、アルブミン結合型Trpが増加する。

b. 腎疾患

慢性腎不全では、食事蛋白制限に加え筋蛋白の崩壊や尿中排泄障害により、血中ではさまざまな窒素代謝物の蓄積とともに血漿遊離アミノ酸組成にも異常が出現する。そのため、Val, Ile, LeuなどのBCAAやTrp, Tyrは低下し、非必須アミノ酸やGlyは増加する。

c. 慢性呼吸不全

慢性呼吸不全では、Val, Ile, Ala, Tyrの低下とPhe, Asp, Glu, Gln, Serの増加を認める。また、呼吸機能や体重減少に相関してFischer比の低下を認める。

d. cardiac cachexia (表1)

慢性うっ血性心不全などでみられる、いわゆる心臓悪液質といわれる栄養障害では、BCAAは低下しAAAおよびMetは上昇する。ただし、その程度は前述の肝不全に比べて軽度にとどまる。また、His, Pro, Asnの低下、Phe, Tyrの増加も認める。

e. 高インスリン血症と低インスリン血症

外因性および内因性の高インスリン血症では、血中のBCAAは低下し、さらにAAAやMetも減少を認める。逆に、糖尿病性ケトアシドーシスなど低インスリン血症では、BCAAが増加し、Alaは減少する。

f. 低蛋白栄養状態

低蛋白栄養状態(kwashiorkor)ではBCAAおよびThrの蓄積とAlaの増加が認められる。エネルギー摂取量が低下する場合は、Ala, Tyr, MetおよびLysも低下する。絶食時に最初の数日間はインスリン分泌の低下のため血漿BCAAの濃度は増加するが、数日以上以上の絶食が持続すると次第にBCAAなど必須アミノ酸を含めてすべてのアミノ酸濃度が低下する。

g. 重症感染症/術後

stress (surgical) diabetesという病態にあり、骨格筋では大量のBCAAが消費され、逆に骨格筋で代謝されないPheやTyrなどは増加してFischer比は低下する。

h. 高齢者

高齢者では、必須アミノ酸/非必須アミノ酸

表3 血漿および尿中アミノ酸

		血 漿		
		($\mu\text{mol/l}$)	($\mu\text{mol/l}$)	($\mu\text{mol/l}$)
		三菱化学メディエンス	SRL	シオノギBML
タウリン	Tau	43.9~57.1	40~93	38.0~67.3
ホスホエタノールアミン	PEA	ND	TR	ND
尿素	Urea	3,269~5,097	2,600~6,600	2,130~6,277
アスパラギン酸	Asp	<3.3	<3.0	<3.3
ヒドロキシプロリン	Hyp	TR	<23	TR
トレオニン	Thr	122.5~181.1	67~190	66.5~193.5
セリン	Ser	98.0~142.4	72~160	95.7~165.5
アスパラギン	Asn	43.7~60.1	45~97	37.7~70.3
グルタミン酸	Glu	22.8~45.4	12~63	11.8~60.6
グルタミン	Gln	478.3~658.5	420~700	481.5~795.9
サルコシン	Sarco	ND	TR	ND
α -アミノアジピン酸	α -AAA	ND	ND	ND
プロリン	Pro	165.6~243.6	28~270	76.9~230.9
グリシン	Gly	181.1~268.9	150~350	126.0~298.8
アラニン	Ala	321.9~479.9	210~520	202.8~502.8
シトルリン	Cit	28.2~40.8	17~43	19.1~43.9
α -アミノ-n-酪酸	α -AnBA	16.3~24.7	7.9~27	3.7~21.7
バリン	Val	224.1~276.3	150~310	144.3~275.1
シスチン	Cys	29.8~49.0	29~49	6.0~25.9
メチオニン	Met	26.4~36.0	19~40	10.3~30.7
シスタチオニン	Cysthio	ND	TR	ND
イソロイシン	Ile	63.4~88.0	40~110	36.4~83.0
ロイシン	Leu	107.3~144.1	78~180	78.3~158.3
γ -アミノ- β -ヒドロキシ酪酸	GABHBA	ND	ND	
チロシン	Tyr	54.6~75.2	40~90	40.8~70.8
β -アラニン	β -Ala	ND	TR	ND
フェニルアラニン	Phe	57.1~68.7		43.4~67.0
β -アミノイソ酪酸	BAIBA	ND	TR	ND
ホモシスチン	Homocys	ND	ND	ND
γ -アミノ酪酸	GABA	ND	ND	ND
モノエタノールアミン	MEA	<15.5	<11	<11.0
ヒドロキシリジン	Hyl	ND	ND	ND
オルニチン	Orn	47.1~72.5	30~100	36.1~108.1
1-メチルヒスチジン	1-Me-His	TR	<23	TR
ヒスチジン	His	67.4~98.6	59~92	58.4~98.0
リジン	Lys	142.5~208.3	110~240	113.6~238.8
3-メチルヒスチジン	3-Me-His	TR	<5.6	TR
トリプトファン	Trp	43.0~67.2	37~75	35.5~73.9
アンセリン	Ans	ND	ND	ND
カルノシン	Carno	ND	ND	ND
アルギニン	Arg	64.6~97.8	54~130	20.4~100.0

ND: 検出せず, TR: 痕跡

分画の基準値

尿 中		
($\mu\text{mol/day}$)	($\mu\text{mol/day}$)	($\mu\text{mol/day}$)
三菱化学メディエンス	SRL	シオノギBML
710~3,170	300~5,000	690~3,500
<460	30~100	ND
58~200 (mmol/day)	100~500 (mmol/day)	140~370 (mmol/day)
3~24	<20	TR~17
ND	ND	ND
110~360	30~600	81~700
300~710	200~1,000	260~1,100
120~270	60~400	74~500
22~51	10~50	22~66
370~800	200~1,500	130~920
ND	<130	ND
33~72	20~100	29~120
<18	ND	<17
1,090~2,470	600~4,000	700~3,300
220~520	100~800	140~780
<31	10~60	TR~92
<39	<40	22~70
27~63	20~80	27~66
43~100	20~200	34~250
8~31	TR~20	TR~21
35~85	TR~50	TR~71
22~44	7~25	TR~90
31~82	20~90	23~120
ND	ND	
73~220	40~300	50~200
12~89	TR~150	TR~120
46~97	20~110	36~100
<1,240	TR~2,000	TR~2,000
ND	ND	ND
ND	ND	ND
200~490	200~600	360~810
10~22	<40	ND
11~27	7~50	TR~56
170~620	50~2,000	43~2,600
1,230~2,300	400~3,000	510~2,400
52~550	50~2,000	53~1,500
210~490	100~500	260~590
39~96	20~150	36~130
<30	<300	ND
9~53	<100	ND
35~88	10~60	TR~57

表4 先天性アミノ酸代謝異常症

疾患名	血中で増加するアミノ酸	異常(欠乏)酵素
フェニルケトン尿症	Phe	フェニルアラニン水酸化酵素
チロシン症	Tyr	P-ヒドロキシフェニルピルビン酸酸化酵素
ホモシスチン尿症	Met, Homocys	シスタチオニン合成酵素
メーブルシロップ尿症	Val, Ile, Leu アロイソロイシン	分岐鎖ケト酸デカルボキシラーゼ
高プロリン血症	Pro	I型: プロリン酸酸化酵素 II型: Δ^2 -ピロリン-5-カルボン酸脱水素酵素
高リジン血症	Lys	リジン-ケトグルタル酸還元酵素
ヒスチジン血症	His	ヒスチダーゼ
高グリシン血症	Gly	グリシン開裂反応
シトルリン血症	Cit	アルギノコハク酸合成酵素
カルバミルホスフェート 合成酵素欠損症	高 アン モニ ア血 症 不定(Gly, Ornなど)	カルバミルリン酸合成酵素
オルニチントランス カルバミラーゼ欠損症	Gln	オルニチントランスカルバミラーゼ
高アルギニン血症	Arg	アルギナーゼ
アルギノコハク酸尿症	アルギノコハク酸 Cit	アルギノサクシナーゼ

表5 アミノ酸代謝異常をきたす主な疾患

疾患名	血漿中濃度	
	上昇	低下
非代償性肝硬変 劇症肝炎	Phe, Tyr, Met, Ser, Gly	Val, Ile, Leu
慢性腎不全	NEAA, Gly	Val, Ile, Leu, Tyr
慢性呼吸不全	Phe, Asp, Glu, Gln, Ser	Val, Ile, Ala, Tyr
cardiac cachexia	Phe, Tyr, Met	Val, Ile, Leu, His, Pro, Asn
高インスリン血症	Ala	Val, Ile, Leu, Tyr, Phe, Met
低インスリン血症	Val, Ile, Leu	Ala, Gly, Thr, Ser
kwashiorkor	Ala	Val, Ile, Leu, Thr
重症感染症	Phe, Trp	Val, Ile, Leu
高齢者	Gly, Cit, Cys, Asp, Asn, Glu, Gln, 3-Me-His	Val, Ile, Leu

比の低下を認め、また血中のBCAAの減少も認める。

i. その他

進行性筋ジストロフィー症では、血中BCAAの低下を認める。また、統合失調症では、血中のMetおよびTrpが低下するとの報

告もある。

3. 薬 剤

検査値に影響を与える可能性のある薬物としては、当然アミノ酸製剤(輸液・経口薬)がある。また、抗けいれん薬のバルプロ酸ナトリウムの投与により高アンモニア血症とともに血中

で Gly と Gln の増加と Glu, Asp, Met および Ile の減少の認められた症例も報告されている。

■ 検査の総合評価

特定のアミノ酸だけが増加しているのか（先天性アミノ酸代謝異常症）、総アミノ酸濃度の増加（劇症肝炎）あるいは低下（蛋白質栄養障害）なのか、増加および減少するアミノ酸のパターン（肝・腎疾患）などが問題となる。必須アミノ酸や、BCAA, AAA とその比の変化などの特徴についても検討する。

■ 予想外の値が得られた場合にはどうするか

予想外の値が得られた場合には、採血と検体保存の条件が不良な場合が多く再チェックを要する。なお肥満者では、筋組織に対するインスリン抵抗性により BCAA および AAA が高値となり、患者の体格にも注意を要する。

■ 異常値がみられた場合の検査の進め方と対応

異常値が出た場合には、表 4 および表 5 のご

とき疾患を考え、同時に施行する他の血液生化学検査の特徴的な異常をとらえ、総合的に判断することが重要である。特に、先天性アミノ酸代謝異常症の場合には、実際に酵素活性を測定することも必要となる。

文 献

- 1) 武藤泰敏：肝不全—基礎と臨床—，日本醫事新報社，1994
- 2) Ravaglia, G. et al.: Plasma amino acid concentrations in healthy and cognitively impaired oldest-old individuals: associations with anthropometric parameters of body composition and functional disability. *Brit J Nutr* 88: 563-572, 2002
- 3) Yoneda, T. et al.: Plasma levels of amino acids and hypermetabolism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Nutrition* 17: 95-99, 2001
- 4) Kopple, J.D.: Abnormal amino acid and protein metabolism in uremia. *Kidney International* 14: 340-348, 1978

トピックス

ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルス研究

今村道雄* 茶山一彰**

はじめに

近年、ウイルス性肝炎に対する治療は飛躍的に進歩し、その治療成績は向上しつつある。しかし、耐性株の出現やインターフェロン (IFN) 療法の限界など、大きな問題点が残されている。これらの問題を克服するためには、肝炎ウイルスが有効に感染する動物モデルを用いた基礎的研究が必要である。しかし有効な動物モデルはいまだ確立されておらず、その原因として肝炎ウイルスがヒトとチンパンジーにしか感染しないことがある。チンパンジーは優れた肝炎ウイルス感染モデルになりうるが、倫理的・経済的に大きな問題を抱えている。よって、チンパンジーに代わるマウスなどの小動物を用いたより実践的な感染モデルが必要である。肝炎ウイルスはヒト肝細胞に発現している受容体を介して感染すると考えられており、通常のマウスに肝炎ウイルスを投与しても感染は認められない。一方、ヒト肝細胞キメラマウスは肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されたマウスであり、肝炎ウイルスの投与により、置換されたヒト肝細胞への感染が可能である。ここでは、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルスの生物学的研究および今後の展望について述べる。

ヒト肝細胞キメラマウスの作製

ヒト肝細胞キメラマウスは肝臓がヒトの肝細胞で置換されたマウスであり、マウスにヒト肝細胞を移植して作製する。このマウスは、移植したヒト肝細胞が免疫反応によって拒絶されず

に肝臓中で増殖可能である必要があり、またマウス自身の肝細胞は徐々に死滅する必要がある。そこで、免疫不全の SCID マウスと肝不全を有する uPA トランスジェニックマウスを掛け合わせて uPA/SCID マウスが作製された。この uPA/SCID マウスの脾臓にヒト肝細胞を注入することで、ヒト肝細胞キメラマウスを作製した (図1)。キメラマウスの肝臓のヒト肝細胞への置換率は、ヒト肝細胞に特異的な抗体であるヒトアルブミン抗体による免疫染色、およびマウス血中ヒトアルブミン濃度により算出した。その結果、90% 以上がヒト肝細胞で置換されたキメラマウスが作製された¹⁾。

B型肝炎ウイルス (HBV) 感染マウス

ヒト肝細胞キメラマウスにB型肝炎患者血清を静脈内投与すると、投与2週後よりマウス血中 HBV DNA は陽性となる。その後、血中 HBV DNA は次第に上昇し、高 titer のウイルス血症が長期間にわたり認められる (図2)²⁾。HBV 感染マウスの肝組織を免疫染色にて検討すると、ヒトアルブミン陽性のヒト肝細胞は HBc 抗原陽性であった。一方、マウス肝細胞は HBc 抗原陰性であり、置換されたヒト肝細胞に特異的に HBV が感染していることが確認された (図3)²⁾。HBV 感染マウスに核酸アナログを経口投与すると、血中 HBV DNA の著明な低下が認められ (図2)、HBV 感染マウスが抗ウイルス薬の評価に有用であることが確認された。

B型肝炎患者では核酸アナログ投与中、変異株の出現による薬剤耐性獲得が問題となっている。これらの問題を解決するためには、人工的に種々の変異を組み込んだウイルスに感染す

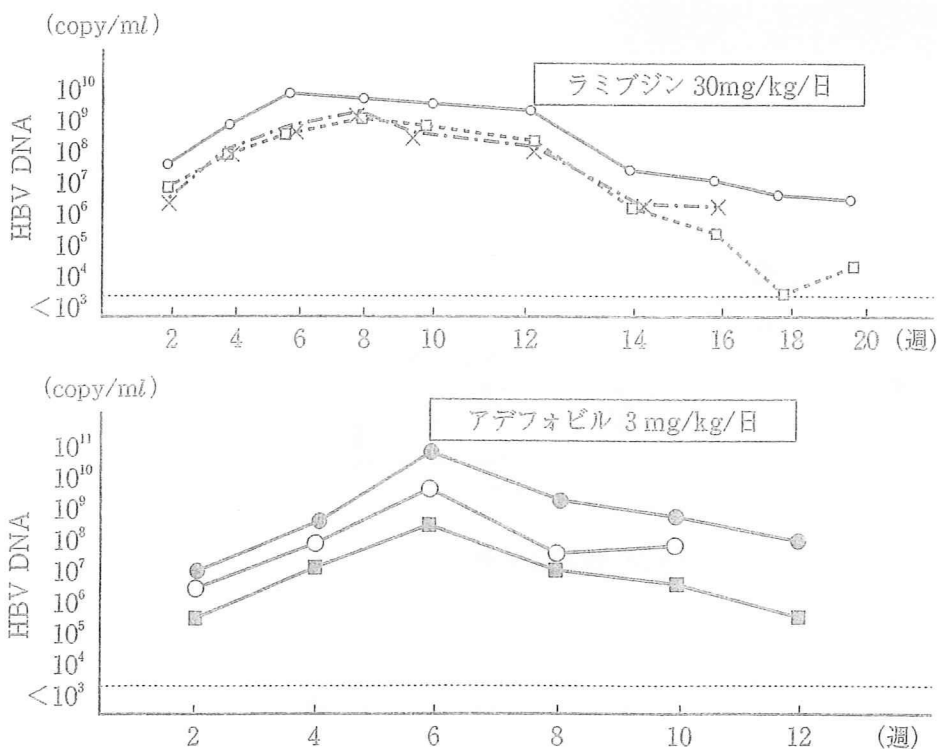
* 広島大学大学院医歯薬学総合研究科
分子病態制御内科学

** 同 教授

図1 uPA/SCID マウスおよびヒト肝細胞を用いたキメラマウスの作製法
(Hepatoday 10:3, 2005 より改変引用)



図2 血清を用いたマウスへの HBV 感染



るマウスが必要である。このため、1.4 倍長の HBV ゲノムを組み込んだプラスミドを作製し、HepG2 細胞に恒常発現させ、上清中に HBV を

恒常的に産出する細胞を作製した。野生型の YMDD 株と同時に、ラミブジン耐性である YVDD 株を恒常的に産出する細胞も作製した。

図3 HBV 感染マウスの肝組織

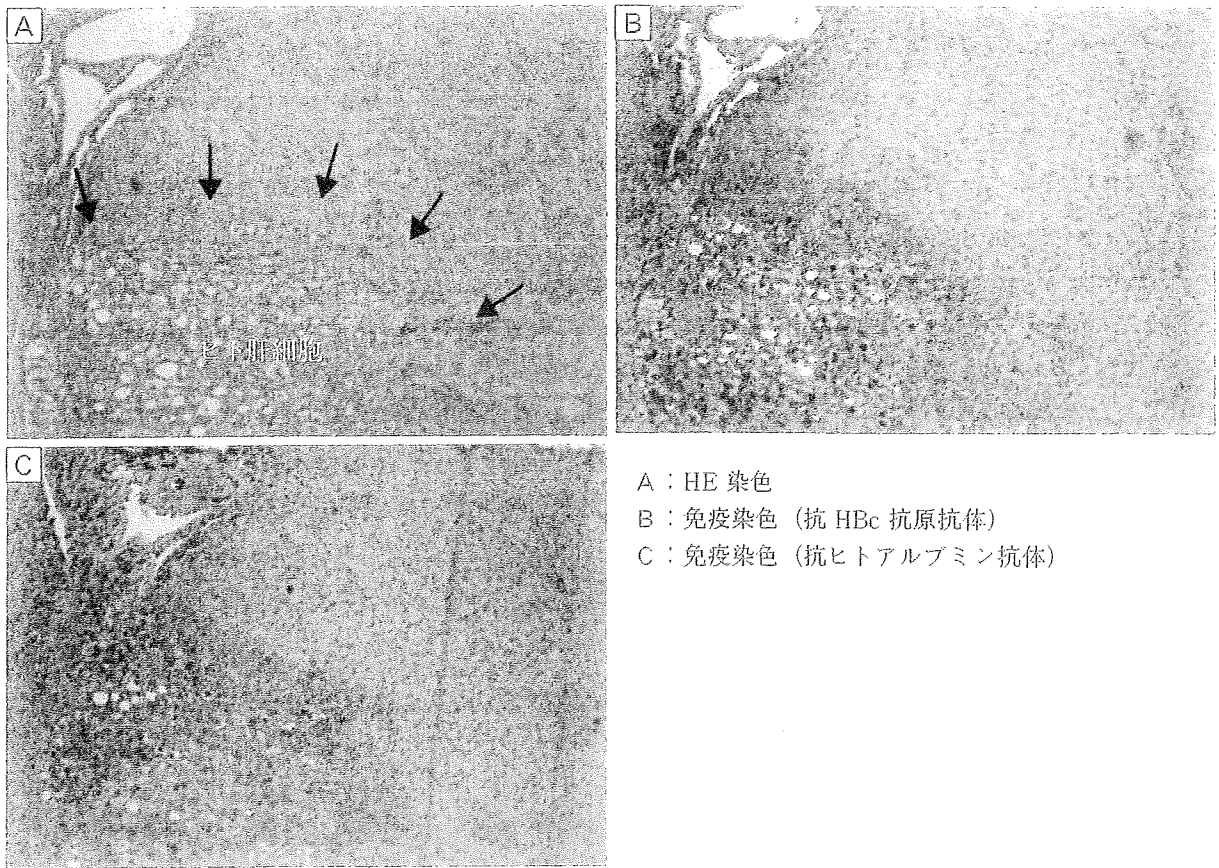
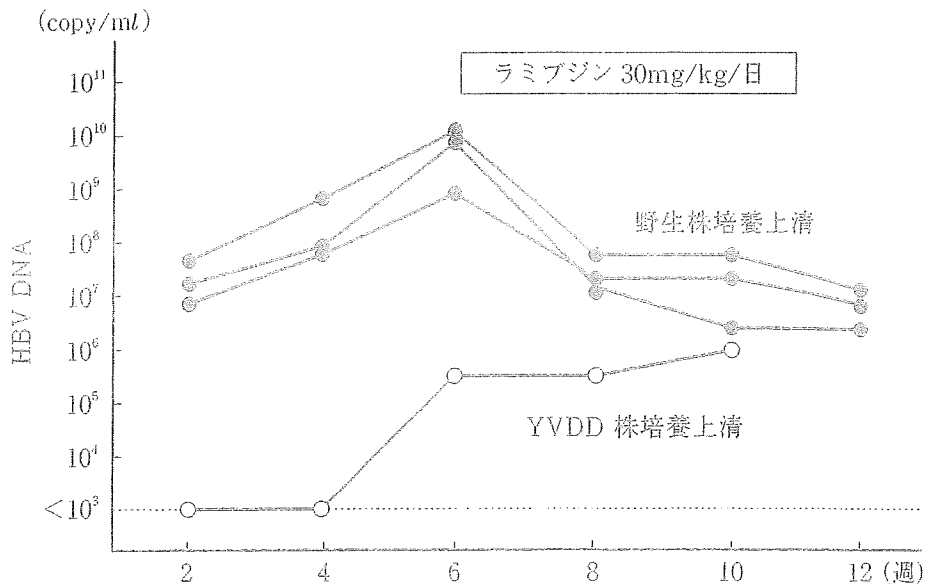


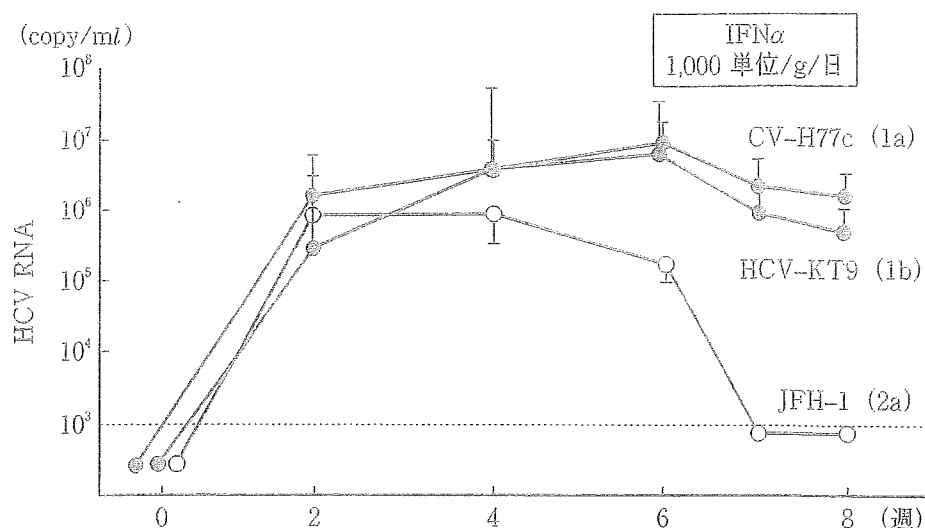
図4 培養上清を用いたマウスへの HBV 感染



これらの培養上清をキメラマウスへ投与すると、野生株および YVDD 株ともに HBV 感染が確認され、人工的に作製した変異ウイルスに感染したマウスが作製される (図4)。これら

HBV 感染マウスにラミブジンを経口投与すると、野生株感染マウスでは血中 HBV DNA の低下が認められたが、YVDD 株感染マウスでは低下を認めなかった (図4)。このことは、

図5 クローンを用いたマウスへの HCV 感染



感染性クローンを用いた HBV 感染マウスが薬剤の効果判定に有用であることを示している。この手法を用いて新規のラミブジン耐性株の評価も可能であり⁹⁾、HBV 遺伝子型間でのウイルス感染・増殖、肝線維化の違いも報告されている¹⁵⁾。

C型肝炎ウイルス (HCV) 感染マウス

ヒト肝細胞キメラマウスに HCV 感染患者の血清を投与すると、マウス血中に高 titer の HCV RNA が長期間検出される⁹⁾。この HCV 感染マウスに IFN を投与すると、マウス血中 HCV RNA は低下する。これは HCV 感染マウスが抗ウイルス薬の評価に有用であることを示しており、新規候補となる抗 HCV 薬の効果判定にも用いられている⁷⁻¹⁰⁾。

HCV は、遺伝子型間で IFN の感受性が異なることが知られている。すなわち、遺伝子型 1 型は 2 型に比べて IFN 抵抗性である。また、同じ遺伝子型であっても患者によって IFN の治療効果が異なっている。これらの原因として HCV のアミノ酸配列が重要と考えられており、実際に HCV の Core¹¹⁾、E2¹²⁾、NS5A¹³⁾ 領域のアミノ酸変異と IFN 感受性の違いが報告されている。しかし、これらの変異がなぜ IFN 抵抗性と関与しているのかはいまだ明らかではな

い。種々のアミノ酸変異を持つ HCV 感染マウスの作製が可能となれば、これらの解明の足掛かりになると思われる。そこで我々は、遺伝子型 1a 型クローンである CV-H77C¹⁴⁾、遺伝子型 1b 型クローンである HCV-KT9¹⁵⁾、および遺伝子型 2a 型クローンである JFH-1¹⁶⁾ を用いてマウスへの感染を行った。これらの cDNA を発現するプラスミドより *in vitro* トランスクリプション法にて HCV RNA を合成した。マウスへの遺伝子型 1a および 1b 型 HCV の感染は、合成した RNA をマウス肝臓内に直接注入して行った。一方、遺伝子型 2a 型の JFH-1 は細胞内で感染性ウイルス粒子を作製することが報告されており¹⁶⁾、合成 RNA を Huh7 細胞にトランスフェクション後、ウイルス粒子を含む培養上清をマウスに静脈内投与した。いずれの手法においても、投与 2 週後に血中 HCV RNA は定量可能となり、合成 RNA を用いた遺伝子型 1a, 1b および 2a 型の HCV 感染マウスが作製された (図 5)^{9,11)}。これらウイルス感染マウスの血清をナイーブなマウスに投与すると HCV 感染が確認され、マウス血中に感染性 HCV が含まれていることが確認された。さらに、これらの感染マウスに IFN を連日投与すると、遺伝子型 1a, 1b 型の感染マウスでは投与 2 週後に血中 HCV RNA はそれぞれ 0.7

log, 1.2 log 低下した。一方, 遺伝子型 2a 型の感染マウスでは, 投与 1 週後にすべて感度以下に低下した (図 5)。これらの結果より, 遺伝子型 1 型は 2 型に比べて IFN 抵抗性であることが確認された。

おわりに

ヒト肝細胞キメラマウスは, 扱いが簡便であること, ウイルスの感染・複製がヒト肝細胞内で生じることなどの点より, 優れた肝炎ウイルス感染モデルになりうると思われる。今後, 肝炎ウイルス感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて, 肝炎ウイルスの感染・増殖のメカニズムの解明, ウイルス性肝炎患者の病態解明, さらに新規抗ウイルス薬や感染予防薬の開発などに応用していきたいと考える。

文 献

- 1) Tateno C, et al: Near completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol* 165 (3): 901-912, 2004.
- 2) Tsuge M, et al: Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology* 42 (5): 1046-1054, 2005.
- 3) Yatsuji H, et al: Emergence of a novel lamivudine-resistant hepatitis B virus variant with a substitution outside the YMDD motif. *Antimicrob Agents Chemother* 50 (11): 3867-3874, 2006.
- 4) Sugiyama M, et al: Influence of hepatitis B virus genotypes on the intra- and extracellular expression of viral DNA and antigens. *Hepatology* 44 (4): 915-924, 2006.
- 5) Sugiyama M, et al: Early dynamics of hepatitis B virus in chimeric mice carting human hepatocytes monoinfected or coinfecting with genotype G. *Hepatology* 45 (4): 929-937, 2007.
- 6) Hiraga M, et al: Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon. *FEBS Lett* 581 (10): 1983-1987, 2007.
- 7) Unehara T, et al: Serine palmitoyltransferase inhibitor suppresses HCV replication in a mouse model. *Biochem Biophys Res Commun* 346 (1): 67-73, 2006.
- 8) Kneteman NM, et al: Anti-HCV therapies in chimeric scid-Alb/uPA mice parallel outcomes in human clinical application. *Hepatology* 43 (6): 1346-1353, 2006.
- 9) Vanwolleghem T, et al: Ultra-rapid cardiotoxicity of the hepatitis C virus protease inhibitor BILN 2061 in the urokinase-type plasminogen activator mouse. *Gastroenterology* 133 (4): 1144-1155, 2007.
- 10) Inoue K, et al: Evaluation of a cyclophilin inhibitor in hepatitis C virus-infected chimeric mice *in vivo*. *Hepatology* 45 (4): 921-928, 2007.
- 11) Akuta N, et al: Predictive factors of early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b: amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Hepatol* 46 (3): 403-410, 2007.
- 12) Chayama K, et al: Association of amino acid sequence in the PKR-eIF2 phosphorylation homology domain and response to interferon therapy. *Hepatology* 32 (5): 1138-1144, 2000.
- 13) Enomoto N, et al: Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 334 (2): 77-81, 1996.
- 14) Yanagi M, et al: Transcripts of a chimeric cDNA clone of hepatitis C virus genotype 1b are infectious *in vivo*. *Virology* 244 (1): 161-172, 1998.
- 15) Kimura T, et al: Establishment of an infectious genotype 1b hepatitis C virus clone in human hepatocyte chimeric mice. *J Gen Virol* 89 (9): 2108-2113, 2008.
- 16) Wakita T, et al: Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 11 (7): 791-796, 2005.

Hepatitis Virus-infected Animal Model by Using Human Hepatocyte Chimeric Mice

Michio Imamura, Kazuaki Chayama

Department of Medicine and Molecular Science, Graduate School of
Biomedical Sciences, Hiroshima University

動物モデルを用いたウイルス性肝炎研究 最前線

キメラマウス

今村道雄・柘植雅貴・茶山一彰

広島大学大学院医歯薬学総合研究科分子病態制御内科学/いまむら・みちお つげ・まさたか ちゃやま・かずあき

ヒト肝細胞キメラマウス

肝炎ウイルスは、ヒトとチンパンジーにしか感染しない。そのため、生体を用いた肝炎ウイルス研究は困難であり、マウスなどの小動物を用いたより実践的な感染モデルが必要である。ヒト肝細胞キメラマウスは、肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されたマウスであり、B型肝炎ウイルス(HBV)やC型肝炎ウイルス(HCV)の投与により置換されたヒト肝細胞への感染が可能である。

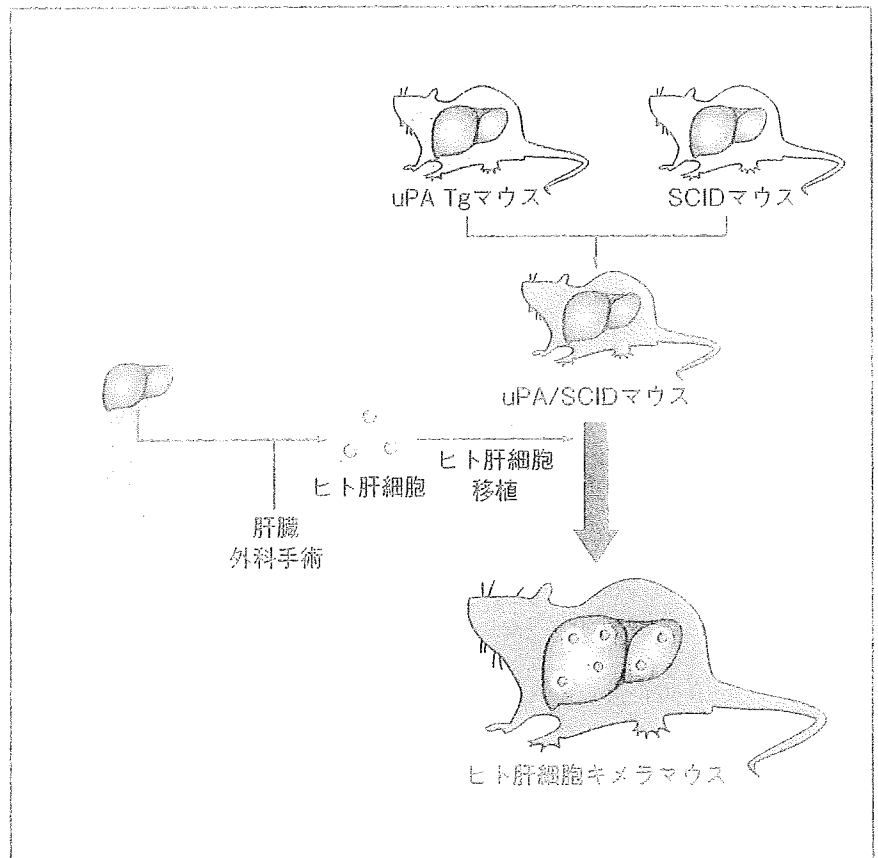
ヒト肝細胞キメラマウスは、マウスにヒト肝細胞を移植して作製する。免疫不全のSCIDマウスと、肝不全を有する urokinase-type plasminogen activator (uPA)トランスジェニックマウスを掛け合わせて uPA/SCID マウスが作製される。こ

の uPA/SCID マウスの脾臓にヒト肝細胞を注入することでマウス肝臓の 90% 以上がヒトの肝細胞で置換されたヒト肝細胞キメラマウスが作製される(図1)¹⁾。

ヒト肝細胞キメラマウスを用いた
肝炎ウイルス研究

ヒト肝細胞キメラマウスにHBVあるいはHCV感染患者の血清を経静脈的に投与すると、 $10^6 \sim 10^8$ copy/mlのウイルス血症が12週間以上継続する。HBVあるいはHCVを感染させたマウスに核酸アナログやインターフェロンなどの抗ウイルス薬を投与すると血中ウイルス量は低下することより、本マウスが抗ウイルス薬の効果判定

図1 uPA/SCIDマウスおよびヒト肝細胞を用いたキメラマウスの作製法
(茶山一彰: Hepatoday 10:3, 2005, 図1より引用)



ヒト肝細胞キメラマウスに肝炎ウイルス患者血清や合成ウイルス核酸を投与することにより、肝炎ウイルスの感染が可能となる。肝炎ウイルス感染マウスは肝炎ウイルスの生物学的検討および抗ウイルス薬の効果判定に有用である。

に有用であると思われる^{2,3)}。本マウスに種々の抗ウイルス薬を組み合わせて投与し、より有効な治療法の開発が可能になり、また新規候補となる抗ウイルス薬や感染予防薬の効果判定にも有用である⁴⁾。

近年、HCVのcore領域やNS5A領域のアミノ酸変異とインターフェロン療法の治療効果の関係が明らかとなってきた。これらのアミノ酸変異がどのような原因でインターフェロンの効果と関係しているのか、あるいは難治性のHCVに対してどのような治療を行っていくべきかの検討は重要な課題である。そこで種々のHCVクローンから合成した全長RNAをマウス肝臓内に直接投与することにより、モノクローナルなHCV感染マウスを作製した^{3,5)}。さらに、最も課題となっている genotype 1b 型の HCV クローンにあらかじめ変異を導入することにより、種々の変異型 HCV 感染マウスの作製も可能である。これらマウスは HCV の変異と抗ウイルス薬の効果の関係の解明

や、難治性 HCV に対する新規治療法の開発に有用であると思われる。

文 献

- 1) Tateno, C. et al. : Near completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol* 165 : 901-912, 2004
- 2) Tsuge, M. et al. : Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology* 42 : 1046-1054, 2005
- 3) Hiraga, M. et al. : Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon. *FEBS Letts* 581 : 1983-1987, 2007
- 4) Matsumura, T. et al. : Amphipathic DNA polymers inhibit hepatitis C virus infection by blocking viral entry. *Gastroenterology* 137 : 673-681, 2009
- 5) Kimura, T. et al. : Establishment of an infectious genotype 1b hepatitis C virus clone in human hepatocyte chimeric mice. *J Gen Virol* 89 : 2108-2113, 2008

そこが知りたい

C型肝炎のベスト治療

インターフェロンを中心に

編集 銭谷幹男
八橋 弘
柴田 実

医学書院

5-3 合併症のある症例 循環器疾患

PEG-IFN とリバビリンの併用療法を行う場合、心疾患またはその既往がある患者では、貧血により心疾患が悪化する危険性がある。そのため、心疾患のない患者と心疾患のある患者では、リバビリンの減量基準が異なるので注意が必要である。また、高血圧を有する患者では、脳出血のリスクが高いことも報告されており、注意が必要である。

① 63歳男性。【主訴】C型肝炎治療目的。【現病歴】1993年、献血時に肝障害を指摘され、当院受診。C型慢性肝炎と診断され、IFN α -2bによる治療を6カ月間受けたがHCV-RNAは治療後再陽性化した。その後、外来で経過観察中であったが、今回、PEG-IFN/リバビリン併用療法目的で入院となった。【既往歴】52歳：高血圧性心臓病，61歳：2型糖尿病。【輸血歴】17歳時，交通事故。【家族歴】父：胃癌，母：高血圧，糖尿病，兄：高血圧。【入院時現症】身長170.7cm，体重67.0kg，BMI23，血圧160/98mmHg，脈拍60/分(整)，眼瞼結膜に貧血なし，眼球結膜に黄染なし，心雑音なし，呼吸音清。肝脾触知せず，下腿浮腫認めず，神経学的異常所見なし。

治療前検査成績

【血算】WBC 3,500/ μ L，RBC 410万/ μ L，Hb 13.2g/dL，PLT 15.9万/ μ L。【生化学】T. Bil 1.0mg/dL，AST 33IU/L，ALT 42IU/L，LDH 176IU/L，ALP 264IU/L， γ -GTP 88IU/L，T. P 7.9g/dL，Alb 4.3g/dL，ZTT 9.1KU，HCVセロタイプ1型，HCV-RNA量3,250KIU/mL。【凝固】PT 90%。

治療経過

高血圧症に対して、バルサルタン(80mg)1T，アムロジピン(5mg)1T，バイアスピリン(100mg)1Tを内服中であり，心不全徴候は認めなかった。PEG-IFN- α -2bとリバビリン800mg/日併用療法開始3週後に，Hb値が治療前13.2g/dLから10.4g/dL(-2.8g/dL)に低下した。倦怠感も出現したため，リバビリン投与量を600mg/日へと減量したところ，Hb値は11g/dL台で推移し，倦怠感も軽減した。その後，Hb値が再び10.4g/dLまで低下したため，さらにリバビリンを400mg/日へと減量した。Hb値は11g/dL台に回復し，48週の治療が完遂できた(図3-6)。HCV-RNAは治療中一度も陰性化することはなかったが，発癌抑止目的で48週治療を行った。

治療のポイント

1. 心疾患のない患者では，Hb 10.0g/dL未満でリバビリンを減量し，Hb 8.5g/dL未満で治療中止となる。
2. 心疾患のある患者(既往を含む)では，上記に加えて，治療前値に比べHb値2g/dL以上の減少が4週間持続する場合は減量する。
3. 本例のように，自覚症状(倦怠感)が強い場合は，Hb値2g/dL以上の低下が4週持続する前に減量することも必要である。
4. 高血圧患者，特に糖尿病を合併する患者では，PEG-IFN治療により，脳出血のリスクが高いことが報告されており，治療前に十分なインフォームド・コンセント

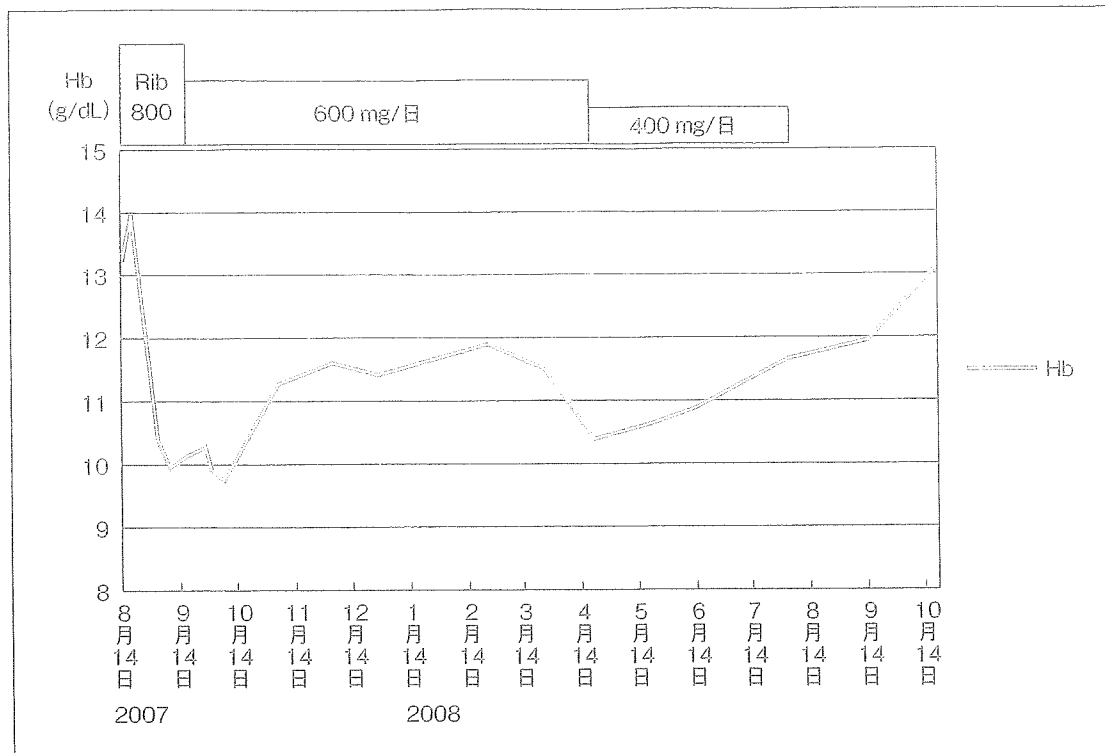


図 3-6 治療経過：Hb 値とリバビリン(Rib)投与量

心疾患またはその既往のある患者では、Hb 値が投与前値より 2 g/dL 以上の低下が 4 週間以上持続した場合にリバビリンを減量する。本例では、自覚症状が強く出現したため、2 g/dL 以上の減量が 4 週持続する前にリバビリンを減量し治療継続が可能であった。

トが必要である。

5. PEG-IFN/リバビリン併用療法の副作用として、循環器疾患では、心筋症、心不全、狭心症、不整脈(心室性頻脈)、心筋梗塞、心膜炎などが報告されている。

❖ 文献

- 1) Jones GJ, Itri LM: Safety and Tolerance of Recombinant interferon Alfa-2a (Roferon-A) in Cancer Patients. *Cancer* 1986; 57: 1709-1715
- 2) Vial T, Descotes J: Clinical Toxicity of the interferons. *Drug Saf*, 1994; 10: 115-150
- 3) 大塚健, 西村真人, 小森敏明, 他: インターフェロン投与における心臓自律神経機能への影響. *呼吸と循環* 1997; 45: 601-604

(釈迦堂 敏, 向坂彰太郎)

山形大学教授 河田純男

熊本大学教授 佐々木 裕

編集

現場の疑問に答える

肝臓病診療

Q&A

中外医学社