

Ⅱ. 分担研究報告

厚生労働科学研究補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
肝発癌抑制を視野に入れた肝硬変の栄養療法ガイドライン作成を目指した総合的研究
平成 21 年度 分担研究報告書

肝硬変患者の生活習慣調査

研究分担者 羽生大記 大阪市立大学大学院 生活科学科 教授

研究要旨：肝硬変患者の生活習慣を調査解析した。現在の肝硬変患者の摂食状況は概ね同世代の健常者と大差なく、必要量を充足していた。歩数の減少、エクササイズ数の低下など生活強度は過少傾向にあった。身体組成では、体脂肪の増加、筋肉量の低下が示唆された。生化学的には、インスリン抵抗性状態にあった。

A. 研究目的

慢性肝疾患患者を対象に、簡便かつ正確な調査方法を用いて、日常の食事摂取状況、生活状況、消費エネルギー量などを明らかにする。肝硬変患者における栄養学的評価を再構築し、その評価に基づいて、総摂取エネルギー量や各種栄養素の過不足の状態を明らかにしたうえで、適切な栄養学的介入をするための基礎資料を得ることを目的とする。

B. 研究方法

健常者と慢性肝炎、肝硬変患者の生活習慣と栄養学的評価を行い、3群で比較した。

1) 身体計測：身長、体重、腹囲、上腕周囲長（AC）、上腕三頭筋皮下脂肪（TSF）、握力を測定した。上腕筋面積（AMA）は AC と TSF より計算式により算出した。

2) ヘルツェ（スズケン）：日常生活、食生活、運動習慣などに関

する問診を行った。

3) ライフコーダー（スズケン）：平均的な1週間の活動量、運動量、歩数、消費カロリー量などを測定した。

4) Inbody S430（Biospace）：生体電気インピーダンス（BIA）法により、除脂肪量、骨格筋量、体脂肪量、体脂肪率などの体組成分析を行った。

5) 臨床検査項目：血液生化学諸検査（IRI, BTR など）本研究は、大阪市立大学の倫理委員会で承認を得た。

C. 研究結果

・身体計測上は肝硬変では健常人に比して、筋肉の質的な低下（握力の低下）、体脂肪量の増加が示唆された。

・インスリン抵抗性が高頻度、高度にみられた。

・生活活動量調査において、慢性肝炎、肝硬変の患者は、歩数や1週間のエクササイズ数が低下していた。

D. 考察

肝硬変患者は、エネルギー摂取は充足していた。歩数など、同年代の健常者に比して運動不足であった。それらが、骨格筋量低下、筋力低下の一因と思われた。またインスリン抵抗性が顕著であった。

E. 結論

肝硬変患者の食生活を中心とした生活習慣を解析した。今年度はさらに症例数を増やして、成因別（HBV、HCV、NAFLDなど）、病期別（代償期、非代償期、HCC合併）など、肝硬変の生活習慣を分析し、適切な介入への基礎データ作りをする予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 羽生大記, 結川美帆, 林史和. NASH/NAFLDの成因・発症メカニズム; 栄養素異常. 臨床栄養 2010 印刷中.

2. 学会発表

1) 林史和, 下谷祐子, 遠藤隆之, 北岡陸男, 中村吉博, 結川美帆, 田嶋佐和子, 百木和, 森川浩安, 鎌田紀子, 服部俊一, 灘井城, 倉井修, 羽生大記. 慢性肝疾患患者における栄養状態と生活習慣の検討(会議録). 第25回日本静脈経腸栄養学会. 東京. 2010年2月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生労働科学研究補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
肝発癌抑制を視野に入れた肝硬変の栄養療法ガイドライン作成を目指した総合的研究
平成 21 年度 分担研究報告書

慢性肝疾患患者における栄養摂取状況の現状

研究分担者 鈴木 壱知 獨協医科大学越谷病院 消化器内科 准教授

研究要旨：脂肪肝を含めた慢性肝疾患患者 94 名に対して 3 日間も食事記録と管理栄養士によるアンケート調査により栄養摂取状況を検討した。標準体重当たりのエネルギー摂取量は慢性肝炎で $30.7 \pm 5.5 \text{ kcal/kg}$ 、肝硬変では 30.3 kcal/kg であった。たんぱく摂取量は慢性肝炎で $1.2 \pm 0.3 \text{ g/kg}$ 、肝硬変で $1.2 \pm 0.3 \text{ g/kg}$ であり、両群間に有意な差はなかった。エネルギー摂取不足例は肝硬変で約 50%、たんぱく摂取不足例は肝硬変で約 20% であった。慢性肝炎と肝硬変の間に炭水化物摂取量、脂肪摂取量に有意な差はみられなかった。発癌との関連性が指摘されている肥満、インスリン抵抗性による栄養摂取状況には有意な差はみられなかった。肝硬変の発癌防止を目指した栄養療法を実践するためには個別の栄養指導が必要である。

A. 研究目的

本研究班の目標は肝硬変の栄養療法のガイドライン作成であるが、ガイドライン作成に際して我が国における慢性肝疾患患者の栄養摂取状況を明らかにすることがまず第一である。そこで慢性肝疾患患者を対象に栄養調査を行い、慢性肝疾患患者の栄養摂取状況を明確にし、栄養療法のガイドライン作成の基礎的データを作成する。

B. 研究方法

外来通院中の脂肪肝を含めた慢性肝疾患患者の栄養摂取状況を 3 日間の記録法と管理栄養士によるアンケート調査によりエネルギー摂取量、三大栄養素（タンパク、脂質、炭水化物）脂肪

酸、ビタミン、微量元素の摂取状況を明らかにし、肝疾患の重症度、インスリン抵抗性、肥満度により検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言（2004 年）」「疫学調査に関する倫理指針（平成 19 年度）」に基づいて計画。実施し、説明文書を用いた十分なインフォームドコンセントのもと、参加者本人の自由意思による同意を文書で得ている。

C. 研究結果

脂肪肝 9 名と慢性肝疾患 85 名（慢性肝炎 32 名、肝硬変 53 名）を対象に栄養調査を施行した結果、標準体重当た

りのエネルギー摂取量は脂肪肝では 25.2 ± 5.4 kcal/kg, 慢性肝炎では 30.7 ± 5.5 kcal/kg, 肝硬変では 30.3 ± 8.0 kcal/kgであり, 脂肪肝では慢性肝炎より有意にエネルギー摂取量は低値であった。肝硬変でエネルギー摂取不足例は約50%に過ぎなかった。標準体重当たりのたんぱく摂取量は脂肪肝で 1.1 ± 0.2 g/kg, 慢性肝炎で 1.2 ± 0.3 g/kg, 肝硬変で 1.2 ± 0.3 g/kgであり, 有意な差はみられなかった。たんぱく摂取不足例は約20%に過ぎなかった。標準体重当たりの炭水化物の摂取量は脂肪肝で 3.5 ± 0.9 g/kg, 慢性肝炎では 4.6 ± 0.9 g/kg, 肝硬変で 4.5 ± 1.2 g/kgであり脂肪肝に比較して慢性肝炎, 肝硬変で摂取量は有意に高値であった ($p < 0.01$, $p < 0.05$)。脂質摂取量は各群間に有意な差はみられず脂質エネルギー比も脂肪肝で, $27.0 \pm 5.7\%$, 慢性肝炎で $23.4 \pm 5.6\%$, 肝硬変で $24.2 \pm 5.6\%$ と有意な差はみられなかった。脂肪酸の摂取状況は飽和脂肪酸は脂肪肝, 慢性肝炎, 肝硬変ではそれぞれ 12.5 ± 5.0 g, 11.4 ± 4.3 g, 12.0 ± 5.5 g, 一価不飽和脂肪酸はそれぞれ 15.5 ± 5.9 g, 14.5 ± 6.0 g, 14.4 ± 5.4 g, 多価不飽和脂肪酸もそれぞれ 10.5 ± 3.4 g, 10.0 ± 3.9 g, 9.9 ± 3.4 gであり各群間に有意な差はみられなかった。n-3系脂肪酸の摂取状況は脂肪肝で 1.7 ± 0.5 g, 慢性肝炎で 2.0 ± 1.3 g, 肝硬変で 1.9 ± 1.0 gであり各群間に有意な差はみられず, n-6系脂肪酸摂取量もそれぞれ 8.7 ± 3.0 g, 7.8 ± 3.0 g, 8.0 ± 2.8 gと有意な差はみられずn-3/n-6比も各群間に有意な差はみられなかった。

ビタミンの摂取状況はビタミンCは脂肪肝で 83 ± 51 mg, 慢性肝炎で 119 ± 59 mg, 肝硬変で 130 ± 49 mgと肝硬変は脂肪肝に比して有意に高値であった ($p < 0.05$)。ビタミンEの摂取状況は脂肪肝で 6 ± 2 mg, 慢性肝炎で 7 ± 2 mg, 肝硬変で 8 ± 3 mgであったビタミンKの摂取状況は脂肪肝で 225 ± 128 μ g, 慢性肝炎で 266 ± 158 μ g, 肝硬変で 236 ± 150 μ gであり, 各群間に有意な差はみられなかった。微量元素の鉄の摂取状況は脂肪肝で 6.9 ± 2.1 mg, 慢性肝炎で 7.8 ± 2.7 mg, 肝硬変で 7.9 ± 2.6 mgであり各群間に有意な差はみられなかった。また亜鉛摂取状況も脂肪肝で 7.9 ± 1.9 mg, 慢性肝炎で 7.1 ± 1.9 mg, 肝硬変で 7.1 ± 1.9 mgであり各群間に有意な差はみられなかった。肝硬変をChild-Pugh分類でGrade AとGrade B&Cの2群に分けて同様に検討したが, エネルギー摂取量はGrade Aで 32.1 ± 7.9 g/kgでありGrade B&Cでは 25.9 ± 6.9 g/kgでありGrade Aに比して有意に低値であった ($p < 0.05$)。炭水化物摂取量もGrade Aで 4.7 ± 1.3 g/kg, Grade B&Cで 4.0 ± 1.1 g/kgとGrade Aに比較して有意に低値であった ($p < 0.05$)。脂肪酸においては多価不飽和脂肪酸がGrade Aの 10.5 ± 3.2 gに比してGrade B&Cでは 8.2 ± 3.2 gと有意に低値であった ($p < 0.05$)。n-6系脂肪酸はGrade Aの 8.5 ± 2.7 g, Grade B&Cでは 6.6 ± 2.6 gとGrade Aに比して有意に低値であった ($p < 0.05$)。ビタミンの摂取状況は肝硬変の重症度による差はみられなかった。微量元素では亜鉛摂取状況はGrade Aで

7.4±1.7mg, GradeB&Cで6.2±2.0mgとGradeB&Cで有意に低値であった(p<0.05). インスリン抵抗性をHOMA-IRを用い, 2.5未満のインスリン抵抗性非合併群と2.5以上のインスリン抵抗性合併群の2群で検討したが栄養摂取状況には有意な差はみられなかった. BMIを25未満の非肥満群, BMIが25以上の肥満群で各栄養摂取状況を検討したが有意な差はみられなかった。

D. 考察

慢性肝疾患, とくに肝硬変患者の食事療法としてはPatekらの提唱した高エネルギー・高タンパク食が指導されている. しかし今回の検討では肝硬変患者においてエネルギー摂取量は十分であり, たんぱく摂取不足例も比較的lowであった. 肝硬変に糖尿病, 脂肪肝, 肥満が合併する事により肝発癌率が高率となることから慢性肝疾患患者, とくに肝硬変患者に対する栄養治療としては, 個々の患者の栄養摂取状況を把握した上で栄養治療を行うことが重要である。

E. 結論

脂肪肝を含めた慢性肝疾患, とくに肝硬変患者の肝発癌の抑制を目指した栄養療法を行うには, 個々の患者の栄養摂取状況を把握した上でオーダーメイドな栄養治療を行うことが必要不可欠と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 鈴木壺知: 主要疾患の栄養管理—消化吸収障害—. 日本病態栄養学会編, 病態栄養専門医テキスト—認定認定専門医を目指すために, 南江堂. 2009; 91-95

2) 鈴木壺知, 香川景政, 桑山 肇: 病態別にみたNSTの実際—肝疾患に対するNST—. 消化器の臨床, 12(5), 526-530;

2009

3) 鈴木壺知, 高田 洋, 香川景政, 桑山 肇, 瀧沢義教, 奥住裕二, 川村憲弥, 春木宏介: 検査前食のエネルギー代謝の及ぼす影響—血清遊離脂肪酸による検討—. 肝臓50(12), 736-737; 2009

4) Suzuki K, Suzuki K, Koizumi K, Takada H, Nishiki R, Ichimura H, Oka S, Kuwayama H. Effect of symptomatic gastroesophageal reflux disease on quality of life of patients with chronic liver disease. Hepatol Res. 2008; 335-339.

5) Suzuki K, Suzuki K, Koizumi K, Ichimura H, Oka S, Takada H, Kuwayama H. 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. 2008; 267-272.

6) 原なぎさ, 岩田加壽子, 岩佐元雄, 垣内雅彦, 加藤章信, 金野貴子, 鈴木壺知, 大木智子, 竹井謙之他. 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. 2007; 287-294.

分担研究報告書

Tumor Necrosis Factor α と Leptin が肝硬変患者のエネルギー代謝に及ぼす影響

研究分担者 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：

[目的] タンパク質・エネルギー低栄養状態(PEM)は肝硬変患者で高頻度に出現し、この状態が患者の予後、あるいは QOL に影響を及ぼす。一方、Tumor Necrosis Factor α (TNF- α)や Leptin はエネルギー代謝に関与する。今回我々は、間接熱量計で測定した肝硬変患者のエネルギー代謝状態とこれらサイトカインとの関連に付き検討した。[方法] 肝細胞癌のない C 型肝硬変患者 24 名(男:女 16:8 平均年齢 65 \pm 6 歳 Child A:B:C 9:9:6)と健康人 12 名(男:女 8:4 平均年齢 59 \pm 8 歳)を対象とした。血液検査で、ALB・T-Bil・AST・PT・TNF- α ・可溶性 55kDa-TNF 受容体 (sTNF-R55)・可溶性 75kDa-TNF 受容体 (sTNF-R75)・レプチンを測定した。また、BMI・上腕筋囲・上腕三頭筋部皮下脂肪厚を身体計測した。さらに、肝硬変患者には早朝空腹時に間接熱量計にて安静時エネルギー消費量・エネルギー基質の燃焼比率を測定した。[結果] 1. 肝硬変患者では TNF- α (13.5 \pm 9.9ng/ml)・sTNF-R55(2717 \pm 1144ng/ml)・sTNF-R75(4110 \pm 943ng/ml)、健康人では TNF- α (2.8 \pm 0.4ng/ml)・sTNF-R55(1057 \pm 158ng/ml)・sTNF-R75(1886 \pm 351ng/ml)であり、肝硬変患者では健康人よりいずれも有意に高値であった。さらに、肝硬変患者では Child 指数の悪化に伴いそれぞれ上昇した。2. Leptin は肝硬変患者(5.9 \pm 4.6 μ g/l)、健康人(4.6 \pm 1.2 μ g/l)であり、差は認めなかったが、BMI との相関を認めた。3. 肝硬変患者で炭水化物の燃焼率の低下・脂肪の燃焼率の亢進は、Child 指数・TNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75 と相関を認めた。[結論] TNF- α は、肝硬変患者でエネルギー代謝との関連が示唆され PEM の一因と考えられた。

共同研究者

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

肝臓は消化吸收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、肝硬変患者では蛋白質-エネルギー低栄養状態 (PEM: protein-energy malnutrition) が高頻度に出現する。また、この状態が患者の予後あるいはQOL (quality of life) に影響を及ぼすことが報告されている。

エネルギー代謝状態や栄養状態は、間接熱量計や身体計測、血液検査などによって評価される。間接熱量計で測定される肝硬変患者のエネルギー代謝では、呼吸商 (non-protein respiratory quotient: npRQ) の低下・炭水化物の燃焼率 (%CHO) の低下・脂肪の燃焼率 (%FAT) の亢進が認められ、呼吸商の低下は予後との相関を認める。しかしながら、肝硬変患者のエネルギー代謝状態異常のメカニズムについては、十分に検討されていない。

一方、Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) やLeptinは、食欲不振やエネルギー代謝の亢進などをもたらすサイトカインであるが、肝硬変患者で上昇していると報告されている。

今回我々は、間接熱量計で測定した肝硬変患者のエネルギー代謝状態とこれらサイトカインとの関連に付き検討した。

B. 研究方法

肝細胞癌のないC型肝硬変患者24名 (男:女 16:8 平均年齢 65 \pm 6歳 Child A:B:C 9:9:6) と健康人12名 (男:女 8:4 平均年齢 59 \pm 8歳) を対象とした (表1)。

血液検査で、ALB・T-Bil・AST・PT・TNF- α ・可溶性55kDa-TNF受容体 (sTNF-R55)・可溶性75kDa-TNF受容体 (sTNF-R75)・レプチンを測定した。また、BMI・上腕筋囲(AMC: arm muscle circumference)・上腕三頭筋部皮下脂肪厚(TSF: triceps skinfold thickness)を身体計測した。さらに、肝硬変患者には早朝空腹時に間接熱量計にて安静時エネルギー消費量・エネルギー基質の燃焼比率および非蛋白呼吸商 (npRQ: non-protein respiratory quotient) を測定した。

C. 研究結果

肝硬変患者では、Child-Pughでの肝硬変の程度の悪化につれて%TSFと%AMCの低下があり、PEMの状態であった。

1. TNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75・レプチン濃度

TNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75濃度は、肝硬変患者では、健康人より有意に高値であった (表1)。さらに、Child-Pughでの肝硬変の程度の悪化につれて上昇を認めた (図2)。

レプチン濃度は、肝硬変患者と健康人との間に差をみとめなかった (表1) が、BMIとの間に相関を認めた。

2. エネルギー代謝

肝硬変患者のnpRQは、健康人と比べて有意に低下していた (表1)。また、肝硬変患者では、Child-Pughでの肝硬変の程度の悪化につれて、%CHOの低下・%FATの亢進が認められた (図2)。

3. TNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75・レプチン濃度とnpRQおよびエネルギー基

質の燃焼比率の関係

npRQおよび%CHOとTNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75は逆相関を認め(図3)、%TSHとTNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75は相関を認めた。

一方、レプチンはnpRQおよびエネルギー基質の燃焼比率との相関を認めなかった。

D. 考察

肝臓は、栄養素・エネルギーの代謝の中心臓器であるため、肝硬変患者ではPEMが高頻度に出現する。近年、肝硬変患者においてPEMと予後との関係が報告されており、治療介入の必要がある。

肝硬変患者において、閏節熱量計で測定したエネルギー代謝では、%CHOの低下・%FATの上昇を認め、その結果としてnpRQの低下を認め、予後と相関を認める。

TNF- α は、食欲不振やエネルギー代謝の亢進などをもたらすサイトカインであり、糖代謝(~10%)、遊離脂肪酸(~126%)の代謝を亢進、基礎代謝(~34%)の上昇を認めるとの報告がある。今回、TNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75と%CHOの低下・%TSHの上昇およびnpRQの低下と相関を認め、肝硬変でのエネルギー代謝異常の一因と考えられた。

また今回肝硬変患者において、Child-Pughでの肝硬変の程度の悪化につれてTNF- α ・sTNF-R55・sTNF-R75の上昇を認めた。これらは、クッパー機能の低下による肝でのエンドトキシンのクリアランスの低下・門脈-大循環シャントの存在・門脈圧亢進に伴う腸管内細菌のbacterial translocationなどが原因と考えられる。

今後、肝硬変患者のエネルギーの代謝

異常を改善するのに、TNF- α を低下させるような治療介入が有用である可能性が示唆された。

E. 結論

TNF- α は、肝硬変患者で上昇しており、間接熱量計で測定したnpRQおよび%CHOの低下・%TSHの上昇と相関を認め、エネルギー代謝との関連が示唆されPEMの一因と考えられた。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Shiraki M, Terakura Y, Iwasa J, Shimizu M, Miwa Y, Murakami N, Nagaki M, Moriwaki H. Elevated serum tumor necrosis factor-alpha and soluble tumor necrosis factor receptors correlate with aberrant energy metabolism in liver cirrhosis. Nutrition. 18. 2009.(in press) doi:10.1016

2. 学会発表

第38回日本肝臓学会西部会 2009年12月4日 鳥取県米子市 パネルディスカッション2 肝硬変の対策?原因療法から合併症の対策? PD2-8 肝硬変患者の就寝前軽食(LES)導入の指標についての検討

白木亮、寺倉陽一、森脇久隆

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

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）
「肝発癌抑制を視野に入れた肝硬変の栄養療法ガイドライン作成を目指した総合的研究」
平成 21 年度分担研究報告書

肝硬変の成因別蛋白エネルギー代謝に関する検討

研究分担者 加藤章信 盛岡市立病院病院長

研究要旨

肝発癌を視野に入れた肝硬変の栄養ガイドラインの作成に当たり、全国的な肝硬変の栄養病態を明らかにする必要があると考えられ、今回多施設での肝硬変の成因別のエネルギー代謝異常の頻度を検討した。対象症例としては腹水が無くかつ肝癌既往のない 144 例を対象とした。成因別の呼吸商は各成因とも重症度に従い低下した。さらに重症度を層とした成因別呼吸商はアルコール性がウイルス性に比して低下傾向を示した。

A. 研究目的

肝臓は栄養代謝の中心臓器であり、肝硬変では糖質、脂質、蛋白質・アミノ酸代謝を含めた多くの栄養代謝障害が高率に存在することが報告されている。従って栄養療法は肝硬変治療の基本となる。エネルギー代謝障害に関しては早朝空腹時の三大栄養素の燃焼比率を検討すると、健常者に比較して糖質の燃焼割合の減少と脂質の燃焼割合の増加が観察され、その結果呼吸商 (npRQ) の低下がみられる。この異常は健常人が 3 日絶食にした状態と等しいエネルギー代謝異常と考えられ、その是正のために夜間の就寝前軽食摂取療法などの介入が行われている。

肝硬変にみられる呼吸商低下の異常は肝の重症度に相関し重症度とともに進行することが報告されているが、肝硬変の成因別の差異については明らかではない。

肝発癌を視野に入れた肝硬変の栄養ガイドラインの作成に当たっては、成因別の介入の時期等について明らかにする必要があると考えられ、今回多施設での肝硬変の成因別のエネルギー代謝異常病態を検討した。

B. 研究方法

全国 3 施設（岩手医科大学、岐阜大学、兵庫医科大学）の肝硬変症例で間接熱量計によりエネルギー代謝動態を測定した 144 例を対象とした。肝硬変の診断は腹部超音波検査、CT 等の画像検査や肝組織検査、血液生化学検査などにより総合的に診断した。

方法は統一シートを作成し、BMI (body mass index)、肝硬変の成因、各種血液生化学検査、肝性脳症、浮腫・腹水の有無および肝細胞癌の既往を記入した。解析は未記入項目のある症例はその項目の解析対象から除外し解析を行った。また BMI の項目においては腹水有りの症例を除外した。

C. 研究結果

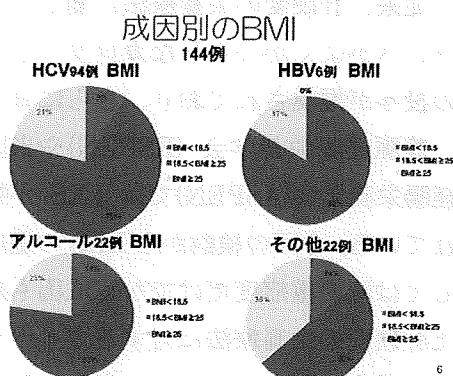
(1) 患者背景 総症例数は144例(平均年齢63.8歳)であり、血清アルブミン値は平均3.2g/dl、総ビリルビン1.5mgであった。

肝硬変の成因は、HCV 94例、HBV 6例、アルコール性 22例、その他(自己免疫性肝炎、PBC、NASH等) 22例の割合であった。重症度の内訳は Child-Pugh 分類の grade A 54例(37.5%)、grade B 68例(47.2%)、grade C 22例(15.3%)であった。

(2) BMIの分布

対象症例の平均BMIは22.9kg/m²であった。HCV94例におけるBMI>25の割合は21%、HBV6例のBMI>25の割合は17%であった。

アルコール性 22例のBMI>25の割合は23%、その他の成因による肝硬変 22例のBMI>25の割合は36%であった。



(3) 肝硬変の重症度別の呼吸商

対象症例の平均呼吸商(npRQ)は0.856±0.077であり、重症度別をChild-Pugh分類に分けてnpRQを検討するとgrade Aで0.885±0.067、grade Bが0.847±0.081、grade Cが0.813±0.056でgrade A・Bに比較してgrade Cで低値の傾向を示した。

重症度別の呼吸商(全症例)

Child-Pugh	npRQ	例数
grade A	0.885±0.067	54
grade B	0.847±0.081	68
grade C	0.813±0.056	22
全体	0.856±0.077	144

(mean±S.D.)

さらに重症度別かつ成因別にnpRQを検討するとHCV性、HBV性、アルコール性とも重症度の進行と共にnpRQは低下する傾向を示したがことにアルコール性ではgrade Aの早期からnpRQは低下する傾向がみられた。

重症度別にみた各成因の呼吸商(npRQ)

Child-Pugh 分類	HCV (n=97)	HBV (n=6)	アルコール (n=22)
grade A	0.894±0.065	0.879±0.065	0.839±0.076
grade B	0.848±0.085	0.780±0.014	0.837±0.067
grade C	0.822±0.590	0.800	0.801±0.617
全体	0.862±0.078	0.833±0.066	0.833±0.066

重症度別かつ成因別の糖質の燃焼比率はnpRQと同様にアルコール性ではgrade Aから低下し、脂質の燃焼比率はgrade Aで高値の傾向を示した。

重症度別にみた各成因の糖質の燃焼比率

Child-Pugh 分類	HCV (n=94)	HBV (n=6)	アルコール (n=22)
grade A	54.4±16.5	47.2±17.4	41.2±26.5
grade B	47.0±17.0	29.3±3.9	45.5±19.9
grade C	41.7±14.4	31.3	32.8±15.1

(%)

重症度別にみた各成因の脂質の燃焼比率

Child-Pugh 分類	HCV (n=94)	HBV (n=6)	アルコール (n=22)
grade A	28.4±15.5	34.2±18.6	44.7±29.7
grade B	38.0±17.4	49.9±16.9	39.8±20.9
grade C	44.8±15.1	62.1	43.4±6.6

(%)

D. 考察

肝発癌を視野に入れた肝硬変の栄養ガイドラインの作成を目的として、全国的な肝硬変の栄養病態を明らかにするために多施設での肝硬変の成因別のエネルギー代謝を検討した。対象の144例の肝硬変の成因はHCVの占める割合が65.2%と最も多くまたBMI25以上の肝硬変は24.2%に認められた。

今回の対象症例で成因別にBMIの差異を検討するとBMI25以上の肥満傾向のある肝硬変はHCV 21%、HBV17%、アルコール性 23%、その他の成因による肝硬変36%でありウイルス性肝硬変とアルコール性・その他の成因による肝硬変では有意なBMIの差がない対象であった。

Child-Pugh分類による重症度別にnpRQを比較すると重症度の進行と共にnpRQは

低下する傾向にあった。さらに成因別に重症度別にnpRQを比較するとウイルス性肝硬変に比較してアルコール性ではgrade AですでにnpRQが低下している傾向を認めた。

肝硬変では従来より高頻度で蛋白・エネルギー代謝異常が認められることが指摘されておりその異常の程度は肝の重症度に相関することが報告されている。このエネルギー代謝異常に対しては近年就寝前の軽食摂取療法 (late evening snack;LES)などにより早朝空腹時のnpRQの低下を改善する試みがなされている。

肝硬変の成因によりエネルギー代謝異常に差があるか否かについては明らかではなかったが、今回の検討によりアルコール性肝硬変では重症度の軽い肝硬変でも既にエネルギー障害が認められ、早期よりエネルギー代謝異常に対する介入が求められるものと考えられる。

従来、肝硬変の栄養療法に関しては、バランスがよくかつ十分なカロリーと蛋白質の投与が推奨されており、さらにヨーロッパ静脈経腸栄養学会 (ESPEN)や米国静脈経腸栄養学会(ASPEN)ではLESが推奨されている。今回の検討からLESの適応に関しては肝の重症度だけでなく成因も加味した肝硬変の栄養療法に対するガイドラインが考慮すべきものであると考えられた。また、今後症例数を増加して分岐鎖アミノ酸製剤の使用実態を含めた解析も必要であると考えられる。

E. 結論

多施設での肝硬変の成因別のエネルギー代謝異常動態を検討したところ呼吸商は各成因とも重症度に従い低下した。さらに重

症度を層とした成因別呼吸商はアルコール性がウイルス性に比して低下傾向を示した。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

- 1) 加藤章信, 鈴木一幸:肝疾患, 経腸栄養剤ハンドブック A to Z 編集: 佐々木雅也, 幣憲一郎, 南江堂, 62-67, 2009
- 2) 加藤章信, 鈴木一幸:肝硬変の栄養療法日本医事新報 4421, 57-61, 2009
- 3) 加藤章信, 遠藤龍人, 鈴木一幸: ウイルス肝炎ガイドラインにおける栄養療法の位置づけと実際, 栄養-評価と治療 26(2), 120-123, 2009
- 4) 遠藤龍人, 加藤章信, 鈴木一幸:肝胆基礎からわかる疾病, 肝臓病-1, 臨床栄養 114(5), 444-447, 2009
- 5) 遠藤龍人, 加藤章信, 鈴木一幸:基礎からわかる疾病, 肝臓病-2, 臨床栄養 114(7), 762-766, 2009
- 6) 遠藤龍人, 加藤章信, 鈴木一幸:基礎からわかる疾病, 肝臓病-3, 臨床栄養 115(1), 4-8, 2009
- 7) 遠藤龍人, 加藤章信, 遠藤龍人:肝硬変, Nutrition Care2009, 秋季増刊 12, 115-123, 2009
- 8) 黒田英克, 柿坂啓介, 小野寺美緒, 牛尾晶, 宮本康弘, 佐原圭, 及川寛太, 葛西和博, 遠藤龍人, 滝川康裕, 加藤章信, 鈴木一幸: 肝癌合併肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の有効性, 消化器科 49(2), 202-207, 2009
- 9) 加藤章信, 遠藤龍人, 鈴木一幸:

BCAA は果たして禁忌なのか, 肝胆膵 59(3), 477-482, 2009

- 10) 遠藤龍人, 俵万里子, 加藤章信, 鈴木一幸: 肝不全の輸液管理. Nutrition Care 2(6) 49-54, 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

無し

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
肝発癌抑制を視野に入れた肝硬変の栄養療法のガイドライン作成を目指した総合的研究

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—

研究分担者 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：

C型慢性肝炎、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、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と考えられている。しかし、より進行した病態である肝硬変症における鉄過剰症の実態は明らかではない。現在、慢性肝疾患における鉄過剰状態の評価は一般には血清フェリチンが有用なマーカーとなっているが、臓器障害を考える上で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)を直接測定することが臨床的に重要と考えられる。しかし、その測定系が確立していないため鉄毒性の評価が不十分となっている。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、パイロットスタディとして肝硬変症例で検討した。

研究協力者

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

共同研究者

佐々木勝則 旭川医科大学消化管再生修復医学講座 特任准教授

高度鉄過剰症では肝障害だけでなく心不全、糖尿病、内分泌障害などの多臓器不全を引き起こす。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軽度から中等度の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。そして、これらの病態では瀉血療法や鉄制限食が血清ALTを改善し、発癌抑制効果があると報告されている。

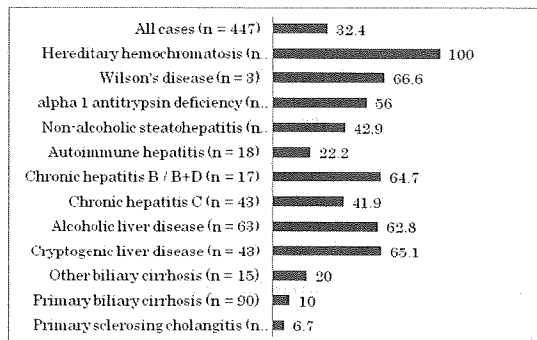
1997年にLudwig等は慢性肝疾患の終末像である肝硬変症においても成因にかかわらず高頻度に肝内鉄過剰

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、過剰状態になると反応性に富む自由鉄が増え、活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)を産生することによって細胞毒性を呈する。遺伝性ヘモクロマトーシスなどの

となっていることを報告している (図1)。

図1: Stainable iron in cirrhotic liver (Ludwig J et al. Gastroenterology 1997)



よって肝硬変症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と考えられるが、その後、肝硬変症における鉄過剰症の実態は明らかにされていない。また、現在、慢性肝疾患の鉄過剰状態は血清フェリチンで評価されることが多く、その臨床的有用性が認知されている。しかし、実際に血清中の毒性の強い鉄は非トランスフェリン結合鉄(NTBI)であり、現在、本邦においてNTBI測定は行われていない。また、欧米においてもNTBI測定対象が遺伝性ヘモクロマトーシスや輸血依存性貧血のサラセミア等の高度鉄過剰症が対象になっている。遺伝性ヘモクロマトーシス以外の通常の肝硬変症のような軽度から中等度の鉄過剰症に対するNTBI測定の検討は報告されていない。

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指した。さらに肝硬変症の鉄代謝異常の実態調査の一環として、健常ボランティアと肝硬変症患者の血清NTBIデータを測定した。

B. 研究方法

【対象】

対象は旭川医科大学病院で診断された肝硬変症患者14名と健常ボランティア8名である。なお患者および健常ボランティアには説明同意書の文書を用いて説明し、患者の自由意思で同意された方をエントリーしている。

【血清NTBI測定法】

non-metal high performance liquid chromatography (HPLC) systemを用いた高感度NTBI測定の概要を以下に述べる。

- ① 血清にコバルト溶液を添加し、コバルトイオンでApo-transferrinをブロックする。
- ② キレート剤NTA (Nitrilotriacetic acid)溶液を添加し、transferrinに結合していない不安定鉄(NTBI)を捕捉する。
- ③ NTBIを捕捉したNTAを限外濾過で、transferrin, ferritinなどから分離する。
- ④ 分離したNTBIをNTAからさらに高親和性鉄キレート剤CP-22に置換する。
- ⑤ non-metal HPLC systemでFe-3(CP22)を分離し、吸光度を測定する。
- ⑥ 標準試料から作成した標準曲線から鉄イオン濃度を算出する。

【研究施設、研究環境の状況】

NTBIに関しては当講座の基礎臨床研究棟にnon-metal HPLCを用いた定量システムを導入した。これまで本システムで問題となった低濃度領域の定量性に関

してその問題点を明白にし、改善することで検出感度の向上、安定した測定システムを構築することができてきた。これまで検出が難しかった健常人血清NTBI値を求めることが可能となっており、信頼性のあるデータを算出していける段階にあるといえる。

【生体試料の取り扱い】

末梢血は採血後1時間以内に血清分離を行い、適量を分注し-30°Cにて凍結保存した。

【倫理面への配慮】

対象患者および健常ボランティアには、当施設の主治医から直接説明同意書を用いて説明し、文書で同意を頂いた。対象患者に関しては、日常の診療の一部として必ず施行している採血の際に合わせて本研究用の血液を採取させていただき、本研究のためだけに採血での苦痛や不利益が生じることがないように配慮した。また、患者を特定できる個人情報を破棄して記号化し、個人情報が流出しないように十分配慮した。健常ボランティアに関しても末梢血血算や各種生化、NTBIを測定するが、患者群と同様に個人情報は破棄した形をとり、個人情報の流出がないように配慮した。なお、日常診療上必要な検査項目以外の本研究で測定する検査項目に関しては、研究者が全て負担し、患者側に費用負担はない。臨床研究の倫理指針に基づき、当施設の倫理委員会の承認を得ることとし、平成21年3月31日に倫理委員会の認可を得た。

C. 研究結果

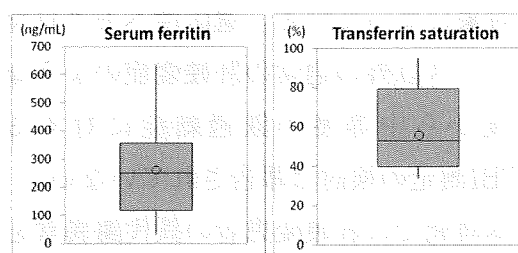
肝硬変症例14名の臨床像は男性12名、女性2名。平均年齢は70±12 (41-84)歳。成因はB型肝炎ウイルス起因が4名、C型肝炎ウイルス起因が8名、アルコール性が1名、非B非C型が1名である。肝予備能の指標としてChild-Pughスコアが7.1±1.4 (6-10)点であった (表1)。

表1: Clinical characteristics of patients with liver cirrhosis

Gender (M/F)	12/2
Age (years)	70±12 (41-84)
Type of LC (B/C/AIc/NBNC)	4/8/1/1
Alcohol ingestion	2/12
HCC	14/0
Haemoglobin (g/dL)	13.44±1.26 (11.4-16.4)
Platelet count (x10 ³ /mm ³)	100.9±35.58 (39-164)
ALT (IU/L)	45.93±15.53 (15-77)
Albumin (g/dL)	3.271±0.514 (2-3.9)
Bilirubin (mg/dL)	1.307±0.41 (0.7-2)
Ammonia (mg/dL)	89±37.08 (53-192)
Child-Pugh score	7.143±1.406 (6-10)

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 (図2)。

図2



血清NTBI濃度は健常ボランティアが0.039±0.029 μMの低値であるのに対し、肝硬変症例では0.28±0.25 μMで、有意に上昇していた(p=0.003) (図3)。

図 3 : Serum NTBI

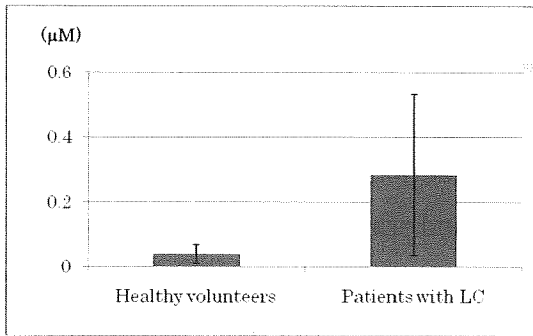
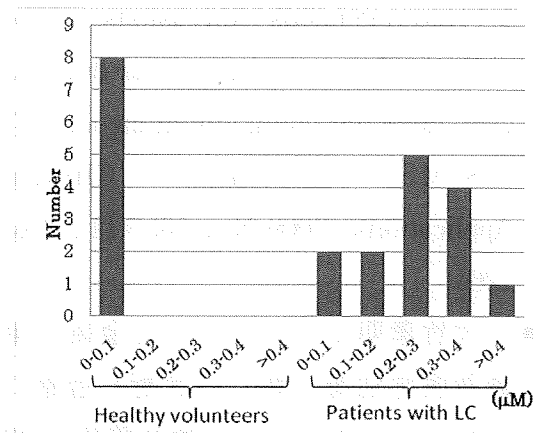


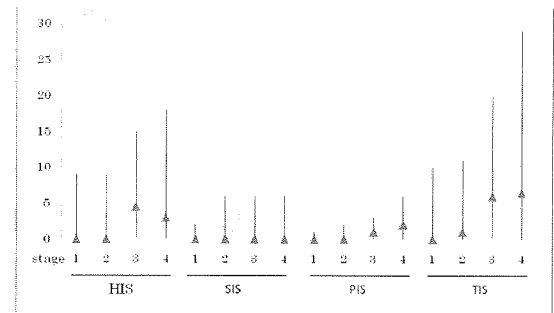
図 4 : Histogram of distinction of NTBI concentration



D. 考察

慢性肝疾患の終末像である肝硬変症において高頻度に肝内鉄過剰となっていると考えられる。我々もC型慢性肝炎において肝線維化ステージの進展に伴い肝内鉄蓄積が増し、特にステージ3、4の線維化進展例がステージ1、2の軽症例に比べ有意に鉄蓄積が亢進していることを報告している (図5)。

図 5 : Histological hepatic iron index in CH-C (Saito H et al. Hepatol Res. 2005)



今回の検討ではC型肝硬変症例だけでなくB型、アルコール性、非B非C型肝硬変においても血清フェリチン、トランスフェリン飽和度が高値で、軽度から中等度の鉄過剰症であることが示された。この過剰鉄が酸化ストレスを増強し肝病態を悪化させることから、肝硬変症患者の栄養管理上、各患者の体内鉄動態は無視することのできない重要なファクターである。

血清フェリチンは肝内貯蔵鉄のマーカーであり、一般に鉄過剰を評価するために有用なマーカーとなっている。欠点としては、肝細胞障害が強い場合にApo-ferritinが血中に逸脱するため、実際の貯蔵鉄量と解離する場合がある。血清中の鉄はトランスフェリンに結合し毒性を示さないように存在し、血中を運搬されている。しかし、鉄過剰状態に陥ると、血中にトランスフェリンに結合していないNTBIが出現し、しだいにその量が増してくる。よってこの細胞毒性の強いNTBIを直接測定することが臨床病理的に重要と考えられるが、世界的にも一般臨床化されておらず、本邦では測定実績の報告すらない。国外でももっぱら遺伝

性ヘモクロマトーシス、鎌状赤血球、サラセミアなどの輸血依存性の難治性貧血患者の長期大量輸血後の高度鉄過剰症に関して検討されている。それに対して肝硬変症を含めた一般の慢性肝疾患における鉄過剰症は軽度から中等度のものであり、その測定感度が問題であった。今回我々が構築し改良を加えたnon-metal HPLCを用いた定量システムは肝硬変患者だけでなく、健常者の血清NTBI濃度も測定可能であることが特筆すべき点である。

低濃度領域の測定感度の不安定性に関して、測定過程で使用される蒸留水、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を突きとめた。試薬、バッファー類から徹底して除鉄処理を行い、バックグラウンドを低減し、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。

E. 結論

Non-metal 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濃度を測定することが可能となった。肝硬変症では健常者に比べて細胞毒性の高い血清NTBIが上昇していた。肝硬変症患者において血清NTBIを評価することは肝病態にも関与する鉄毒性の評価のため有用な血清マーカーと考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Ikuta K, Yersin A, Ikai A, Aisen P, Kohgo Y; Characterization of the interaction between diferric transferrin and transferrin receptor 2 by functional assays and atomic force microscopy. J Mol Biol, 2010 in press
- Hosoki T, Ikuta K, Shimonaka Y, Sasaki Y, Yasuno H, Sato K, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Saito K, Kohgo Y; Heterogeneous expressions of hepcidin isoforms in hepatoma-derived cells detected using simultaneous LC-MS/MS. Proteomics - Clinical Applications-, 2009 Nov 16; 3(11):1256-1264
- 大竹孝明; アルコールと金属代謝最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 62 アルコール性肝障害2009年: 50-59
- 大竹孝明、高後裕; NASHの成因と病態 3 酸化ストレスと鉄代謝障害 治療学2009年43: 1088-1091
- 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年2月号 19(2):31-39

2. 学会発表

1) 海外

- 2009 IBIS Meeting BioIron (2009.06.07-11, Portugal)

A novel simultaneous quantitative method for hepcidin isoforms using

liquid chromatography tandem mass spectrometry. Ikuta K, Shimonaka Y, Hosoki T, Sasaki Y, Yasuno H, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Saito K, Kohgo Y (Poster)

- 2009 IBIS Meeting BioIron (2009.06.07-11, Portugal)

Metabolic steatosis and alcohol-loading regulate the expression of transferrin receptor 1 and hepcidin in mice liver. Ohtake T, Ikuta K, Sawada K, Abe M, Hosoki T, Miyoshi S, Suzuki Y, Sasaki K, Torimoto Y, Kohgo Y (poster)

- Asia Pacific Iron Academy Conference 2009 (2009.11.26-29, Chiang Mai)

Evaluation and monitoring of body iron. Yutaka Kohgo (Oral Presentation)

- Asia Pacific Iron Academy Conference 2009 (2009.11.26-29, Chiang Mai)

Iron impact in chronic hepatic disease (hepatitis, cirrhosis) Yutaka Kohgo (Oral Presentation)

2) 国内

- 第45回日本肝臓学会総会 (2009.06.04-05, 神戸)

新規同時定量法による肝臓由来培養細胞株における鉄代謝調節ホルモン・ヘプシジン アイソフォーム発現パターンに関する検討。細木卓明、生田克哉、佐藤一也、大竹孝明、佐々木勝則、鳥本悦宏、高後裕、佐々木雄亮、安野秀之、下中靖、齊藤敬司 (口頭発表)

- 第45回日本肝臓学会総会

(2009.06.04-05, 神戸)

肥満およびアルコール負荷によるマウスヘプシジンの発現変化に関する検討

大竹孝明、三好茂樹、澤田康司、阿部真美、鈴木康秋、生田克哉、高後裕 (ポスター発表)

- 第33回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 (2009.09.12-13, 倉敷)

Non-metal HPLC を用いた高感度 NTBI 測定法の確立—健常人および鉄過剰症患者のNTBI測定— 佐々木勝則、高後裕、大竹孝明、生田克哉、鳥本悦宏 (口頭発表)

- 第33回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 (2009.09.12-13, 倉敷)

過栄養性脂肪肝は鉄代謝関連分子の発現異常をもたらす - 基礎的検討 - 三好茂樹、大竹孝明、本村亘、澤田康司、阿部真美、鈴木康秋、大平賀子、細木卓明、生田克哉、佐々木勝則、鳥本悦宏、高後裕

- 第71回日本血液学会学術集会 (2009.10.23-25, 京都)

A novel simultaneous quantification of hepcidin isoforms by liquid chromatography-mass spectrometry. Katsuya Ikuta, Yasushi Shimonaka, Takaaki Hosoki, Yusuke Sasaki, Hideyuki Yasuno, Naoka Okamura, Motohiro Shindo, Takaaki Ohtake, Katsunori Sasaki, Yoshihiro Torimoto, Keiji Saito, Yutaka Kohgo (ポスター発表)