

- 9) Wilmore DW : Growth factors and nutrients in the short bowel syndrome. JPEN **23** : S117-S120, 1999
- 10) Dowling RH : Small bowel adaptation and its regulation. Scand J Gastroenterol **74** : 53-74, 1982
- 11) ASPEN board of directors and the clinical guidelines task force : Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adults and pediatric patients. JPEN **26** (Suppl 1), 2002

4. 免疫学的検査 / C. 感染症・免疫血清診断

肝炎ウイルスの DNA・RNA 診断

林 紀夫・片山和宏

B 型肝炎ウイルス (HBV) の DNA 診断

B 型肝炎の診断は、通常血清のウイルス抗原抗体系を測定することによってなされる。したがって、HBV-DNA 診断は主として HBV キャリアにおけるウイルス増殖動態を明らかにするために用いられる。一過性の急性肝炎でも HBV-DNA は検出される。

■ デシジョンレベル (表 1, 図 1)

HBV キャリアの自然経過は、1 期 (HBe 抗原陽性の無症候性キャリア期)・2 期 (肝炎期)・3 期 (HBe 抗体陽性の無症候性キャリア期) に分けられる。このうち、1 期と 2 期は HBV 増殖期、3 期は非増殖期と考えられる。ただし、高感度の PCR 法を用いると非増殖期にも DNA が検出されることから、非増殖期はウイルス増殖が著明に減少することによって肝病変も鎮静化しているものの、完全に HBV の複製がなくなっているわけではない。

血中のウイルス量を測定する基本は HBV の DNA の量を定量することになるが、その測定感度には限界があるため、現行の測定キットで血中の HBV-DNA が陰性と判定されても、完全に (特に肝臓中) ウイルスがいないことを意味しているわけではない。例えば HBs 抗原が陰性でも血中、肝臓組織中に HBV-DNA が存

在する場合がある (潜在性 HBV 感染症)。なかでも、血中 HBV-DNA を含む他の HBV マーカーがすべて陰性であっても、HBc 抗体のみが陽性の場合、従来既感染と片づけられてきたが、肝臓移植の場合には、HBV 感染源となりうるために、HBV キャリアである可能性を考慮する必要がある。したがって HBV-DNA の結果は、他の血清ウイルスマーカーと肝機能検査と統合して診断する必要がある。また、HBV が肝機能障害を起こすためには一定量以上のウイルス量が必要とされており、おおよそ 10^5 ml (PCR 法だと $5.0 \log \text{ copy/ml}$) がその閾値と考えられている。

■ 保険適応の条件

HBV-DNA 量の判定は、病態の診断や治療効果の判定のために、月 1 回の測定が認められる。またプレコアとコアプロモーターの変異の有無も、B 型急性肝炎で劇症肝炎が疑われるときや慢性肝炎の急性増悪時の治療患者選択のために測定が認められるが、それ以外、核酸アナログ剤耐性変異の有無などについては、保険では認められていない。

■ 基準値

以下に HBV-DNA 検出法をあげるが、いずれも「陰性」もしくは「検出せず」が基準値と

表 1 HBV-DNA のデシジョンレベル

値	方針	高頻度に見られる疾患	否定できない疾患
陰性	HBs 抗原, HBe 抗原など血清ウイルスマーカー, 肝機能検査と対応させる	健常者	潜在性 HBV キャリア
$< 10^5 \text{ ml}$ (PCR法で $5.0 \log \text{ copy/ml}$)		HBV キャリア非増殖期	B 型急性肝炎, B 型慢性肝疾患
$> 10^5 \text{ ml}$		健康キャリア, B 型急性肝炎, B 型慢性肝疾患	

	HBV増殖期		HBV非増殖期
感染 HBV量			
血清GPT値			
HBe抗原	(+)	(+)	(-)
	HBe抗原陽性 無症候性キャリア期	肝炎期	HBe抗体陽性 無症候性キャリア期
血中HBV-DNA (ドットプロット法 (PCR法)	(+) (+)	(+) (+)	(-) (+)
肝組織中 HBV-DNA (サザンプロット法) free HBV-DNA integrated HBV-DNA	(+) (-)	(+) (-)~(+)	(-) (-)~(+)

図1 HBV キャリアの経過とDNA 診断

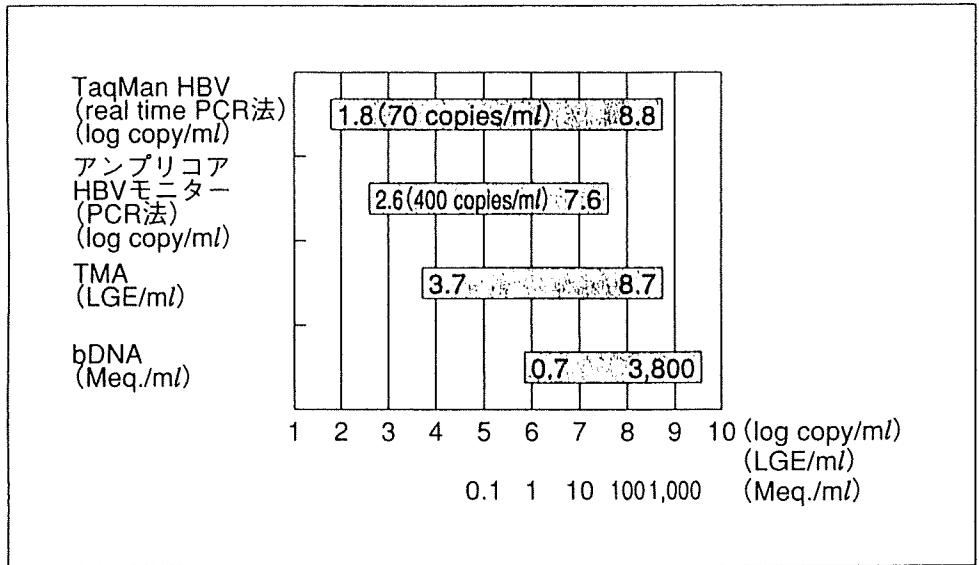


図2 HBV-DNA 検査の測定範囲

なる。従来、その検査目的により複数の検査方法の使い分けが必要であったが、近年の技術の進歩により、高い検出感度と広い測定範囲を両立する検査法（リアルタイムPCR法）が開発され、臨床応用されるようになっており、血中ウイルス量測定は、この方法に統一される方向になっている（図2）。

1. PCR(polymerase chain reaction)法

抽出したDNAを塩基配列の相補性を利用した方法で増幅し検出する。従来はアンプリコア

HBVモニターというキットが臨床使用されていたが、前述したように増幅過程での信号も確認することで検出感度と測定範囲の広域化を実現させたコバス TaqManHBV「オート」（リアルタイムPCR法）というキットが開発され、臨床利用されるようになった。これにより測定感度が2.6 log コピー/mlから1.8 log コピー/ml付近まで上がっている。1.8 log コピー付近というのは、これ以下でも陽性信号が検出できることがあるため、この場合「1.8以下」

表2 HBV-DNA 変異株の検出

変異部位	検出方法
プレC	ミニシーケンス法 (HBV-DNA 検出キット (プレコア)), MSSA 法
コアプロモーター	specific probe 法 (HBV-DNA 検出キット (コアプロモーター))
核酸アナログ耐性株	リバースハイブリダイゼーション法に基づいたプローブアッセイ (INNO-LipPA HBV DR Version 2)

と報告されるが、信号が検出できない場合は「検出せず」と報告される。ただ、「1.8以下」と「検出されず」の境界がどのくらいのウイルス量かについての詳細は不明である。Taq-ManHBV「オート」は血漿の3.0mlが必要なため、採血量が多くなる点は注意を要する。

さらに、PCRを行う際、特定のプライマーを選択することにより、目的とする遺伝子配列をもったもののみを比較的簡便に増幅検出したりすることが可能になっている。HBVの場合、pre-Cの変異株やコアプロモーターの変異株、ラミブジンやアデホビルなどの核酸アナログ剤に対する耐性株などの検出に応用されている(表2)。

2. TMA(transcriptional-mediated amplification)法

PCRを用いない高感度のDNA検出法で、HBV-DNAをRNAへの転写を介して増幅、検出する方法。測定感度は、5,000copy/mlでPCR法よりも劣る。測定結果は、対数表示され、単位はLGE/ml(log genome equivalent)となる。3.7~8.7LGE/mlと比較的広範囲に定量できる点も特徴といえる。

3. 分岐DNAプローブ法(branched DNA probe assay)

PCRを用いない核酸の高感度検出法で、Chiron社製のキットを用いて行う。測定は、抽出したHBV-DNAに相補的な複数の合成DNAを、ハイブリダイズした後、さらに分岐した合成DNAに多数の酵素を標識したプローブDNAをハイブリダイズし増幅、検出する。測定単位はMeq/ml(mega equivalent/ml)で、測定感度は0.7Meq/mlである。

4. サザンブロット法(Southern blot hybridization)

血中、肝組織中のHBV-DNAを抽出後電気泳動によって展開することにより、検出したDNAの分子量も測定できる方法である。HBV感染症においては、感染期間が長くなると、HBV-DNAが、人の染色体の中に組み込まれる(integrated HBV-DNA)。肝細胞中のHBV-DNAを検出する際、分子量がわかれば、組み込まれたものかどうかの解析が可能となる。

■ 検査によって何がわかるか

1. 血中HBV-DNAの検出(リアルタイムPCR法, TMA法など)

HBV-DNAは、血中ではウイルス粒子の中にあるため、その有無の判定や量の測定は、体内でのHBVの増殖の状態を知る敏感な指標である。DNAポリメラーゼも、ウイルス粒子の中に存在するため、その活性を測定してもウイルス量を知ることができるが、核酸の増幅検出法と比べると、感度が悪いため、最近ではあまり用いられない。血中のHBs抗原やHBe抗原はウイルス粒子とは別に単独でも血中に分泌される(図3)。このため、その量はウイルス量のある程度反映しているものの、その量はウイルス量と必ずしも一致しない。

慢性HBV感染の場合、一般に血中のウイルス量が、 $10^5/ml$ 以下になると肝障害を起こさないため、ウイルス量を知ることが、病態を理解する上で重要となる。

2. HBV-DNAの変異の有無

PCR法により、微量の検体からDNAを増

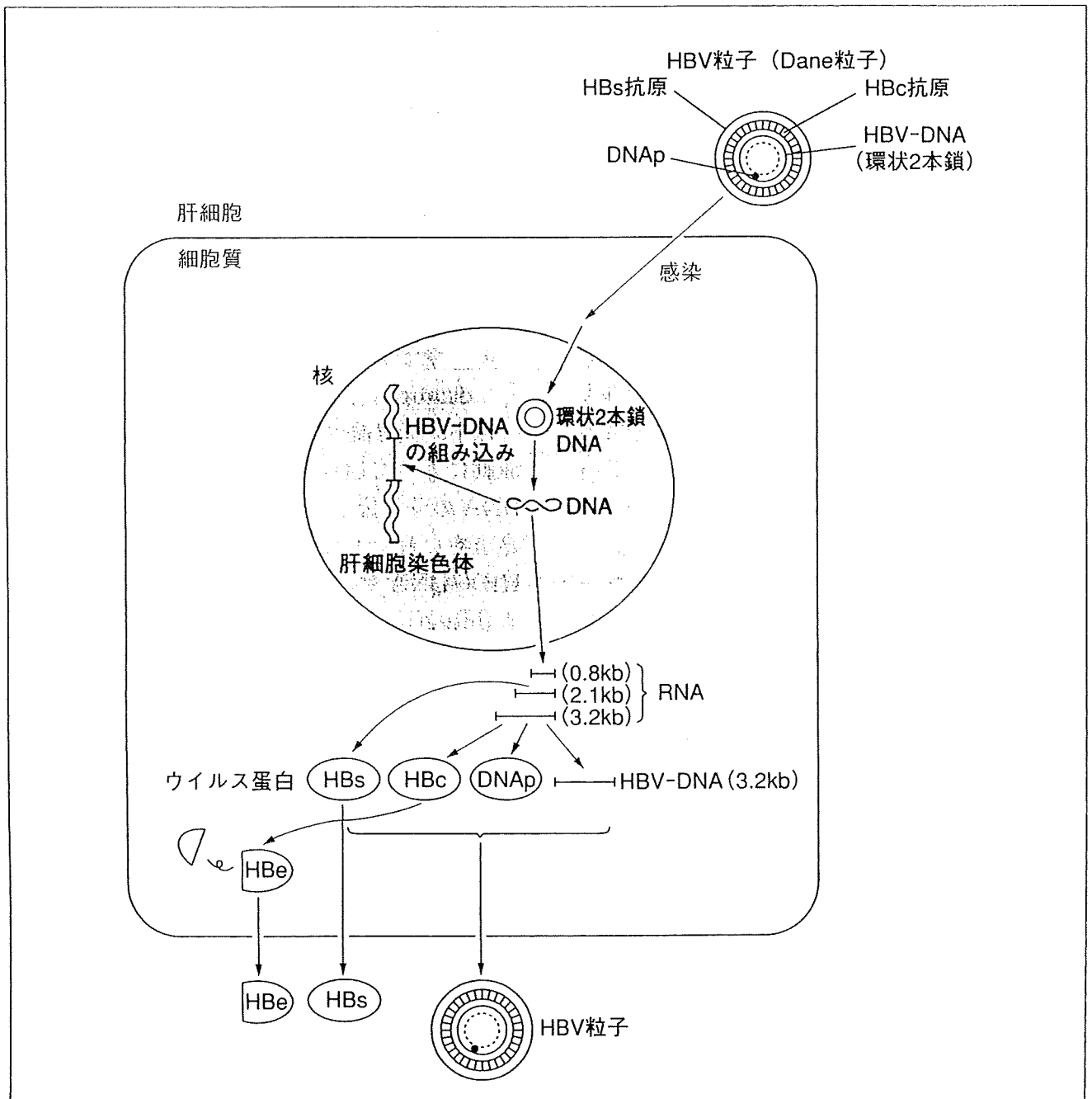


図3 肝細胞におけるHBVの感染・増殖過程の模式図

幅できるため、DNAの塩基配列の解析による変異の有無の診断などが可能となっている。ここでは臨床的意義が明確になってきているものを示すが、これ以外にも多くの変異の存在が指摘されている。

a. pre-C領域、コアプロモーター領域

この両領域はいずれもe抗原の産生に参与している。pre-C領域の1896番目の塩基がGがAに変異したり、コアプロモーター領域の1762番目のAからTへの変異と1764番目のG

がAに変異が起こった変異株はe抗原を産生できなくなる。B型肝炎のHBe抗原のセロコンバージョンや病変の進展などに関連があるとされている。

b. S領域

S蛋白の124~147番目のアミノ酸により、S抗原の共通抗原基'a'が形成されている。S抗原の産生に変化が起こらない形でこの部分に変異(多くは126, 145番目のアミノ酸)が起こると、抗原性が変化するためS抗原として認識

できなくなるが、S 蛋白は産生されるため、ウイルス粒子は産生され感染が成立・持続する。頻度は低いですが、以下のような症例でこの変異が関与している：ワクチン接種後の母児感染成立例、HBV キャリアに対する肝移植後の S 抗体投与によるブロック不成功例、慢性肝炎経過中の S 抗原力価低値、S 抗体陽性例。

c. 核酸アナログ剤耐性遺伝子

核酸アナログ剤は、現在本邦で 3 種類（ラミブジン、アデホビル、エンテカビル）が臨床応用されており、B 型慢性肝炎治療の重要な部分を担っている。核酸アナログ剤は、インターフェロンに比べると副作用は少ないものの、共通の弱点として長期使用により耐性株が出現してくるという問題がある。一つの薬剤に対して、耐性ができて、ウイルスが増殖し、肝炎を起こす (breakthrough hepatitis) までには、複数の部位の変異が必要な場合が多い。このため、変異のデータとウイルスの増殖動態のデータを合わせて対応する必要がある。いずれの薬剤も逆転写酵素 (rt) のポリメラーゼ遺伝子の変異と耐性獲得の関係が明らかにされており、対応するアミノ酸配列が変わることで、薬剤耐性となる。ラミブジンの耐性では 204 番目のアミノ酸がメチオニン (M) からバリン (V) かイソロイシン (I) に変わる変異 (rtM204V/I) が YMDD の変異として有名で、これ以外にも rtL180M が耐性の原因となる。アデホビルでは、rtN236T や rtA181V/T の変異、エンテカビルでは、rtT184G、rtS202I や rtM250V などが耐性の原因となるとされているが、それぞれの変異の意義や重要性、それ以外の変異と耐性の関係についても現在検討が進行中である。これらの変異を検出するキットとしては、INNO-LiPA HBV DR Version 2 が、ラミブジン耐性関連とされるポリメラーゼの 80 番目、173 番目、180 番目、204 番目の変異の有無、アデホビル耐性関連の 181 番目、236 番目のアミノ酸変異を検出できる。また、Version 3 は、エンテカビルの耐性も検出できる。

3. genotype の判定

HBV も遺伝子配列によって A~H までの 8

種類の genotype に分類される。本邦では B、C が多く、北欧では A が多い。慢性化率などの臨床経過との関連も示唆されているが、詳細は今後の検討課題である。PCR 法を用いて増幅し、特定の配列の有無を認識する方法で判定する。

4. 肝組織中 HBV-DNA の検出 (サザンブロット法)

HBV は、肝細胞に感染するとウイルス構成蛋白とともに DNA を複製し増殖する。ただし、ウイルスの持っている DNA は増殖するには不完全な形であるため、肝細胞に感染後、いったん cccDNA (covalently closed circular DNA) という形に整えられてから RNA が合成される。RNA からはウイルス構成蛋白が合成されるのとともに、HBV の場合 DNA も合成され、この RNA から DNA 合成の過程を逆転写という。さらに慢性肝炎では、長い感染増殖の間にウイルスの DNA が宿主肝細胞の DNA の中に組み込まれる (図 3)。したがって肝組織内の HBV-DNA としては、ウイルス DNA (free HBV-DNA) と肝細胞染色体に組み込まれたウイルス DNA (integrated HBV-DNA) の両方が検出される。組み込まれた DNA から HBs 抗原などのウイルス抗原が産生されることはあるが、通常組み込みの際に DNA の欠損などが起こるために、完全なウイルス粒子の産生は起こらない。この両者は、サザンブロット法を用いて検出すると、DNA の大きさから鑑別が可能である。つまり、3.2kb の HBV-DNA が検出されれば、肝細胞内でのウイルス増殖を意味しており、それよりはるかに大きい HBV-DNA だけが検出されれば、ウイルス DNA が肝細胞染色体に組み込まれていることを示している。

さらに、最近肝組織内の cccDNA を定量できるようになった (HBVcccDNA 定量, PCR 法)。経口の抗ウイルス剤は RNA 以降の増殖過程に作用し、cccDNA には直接作用しないため、ウイルスの残存を評価するのに血中の HBV-DNA より優れている可能性が示されている。ただし、肝生検が必要などの欠点もあ

表3 HCV-RNA のデジションレベル

値	方針	高頻度に見られる疾患	否定できない疾患
陰性	HCV 抗体, 肝機能検査と対応させる	健常者	C 型ウイルス肝炎既感染, 抗ウイルス療法後の一過性陰性
陽性		C 型急性肝炎, C 型慢性肝疾患	

り, また測定感度やその検出の臨床的意義など, 今後の検討課題といえる。

C 型肝炎ウイルス(HCV)の RNA 診断

■ デジションレベル (表 3)

基本的に HCV-RNA が陰性であれば, HCV キャリアは否定されるが, インターフェロンなどの抗ウイルス治療直後は, 現在の検査方法の感度では一過性に陰性になっても, 後に再燃してくる可能性は否定できない。また過去の感染の有無は本検査では判定できないので HCV 抗体を併用して診断する。

■ 保険適応の条件

HCV-RNA 量の判定は, 病態の診断や治療効果の判定のために, 月 1 回の測定が認められる。ただし, genotype や遺伝子変異の有無については保険適応となっていない (genotype については, セロタイプでの型別判定が保険で可能)。

■ 基準値

以下に HCV-RNA 検出法をあげるが, いずれも「陰性」もしくは「検出せず」が基準値となる。B 型肝炎と同様, 従来その検査目的により複数の検査方法の使い分けが必要であったが, 近年の技術の進歩により, 高い検出感度と広い測定範囲を両立する検査法 (リアルタイム PCR 法) が開発され, 臨床応用されるようになっており, 血中ウイルスの検出と量測定は, この方法に統一される方向になっている (図 4)。

1. PCR (polymerase chain reaction) 法
HCV は RNA ウイルスであるため, 抽出し

た RNA から DNA を合成後 (RT: reverse transcription), PCR で増幅する必要がある。従来, RT-PCR 法を用いたキットを使い, 定性にはアンプリコア定性法を, 定量にはアンプリコアモニター法で判定していたが, HBV-DNA 検出でも記載したように増幅過程での信号も確認することで検出感度と測定範囲の広域化を実現させたコバス TaqManHCV 「オート」 (リアルタイム PCR 法) というキットが開発され, 臨床利用されるようになった。これにより測定感度が $1.7 \log$ コピー/ml から $1.2 \log$ コピー/ml 付近まで上がっている。 $1.2 \log$ コピー付近というのは, これ以下でも陽性信号が検出できることがあるため, この場合「 1.2 以下」と報告されるが, 信号が検出できない場合は「検出せず」と報告される。ただ, 「 1.2 以下」と「検出されず」の境界がどのくらいのウイルス量かについては, 詳細は不明である。TaqManHCV 「オート」は血清での測定が可能であるが, やはり 3.0 ml が必要なため, 採血量が多くなる点は注意を要する。

2. 分岐 DNA プローブ法 (branched DNA probe assay)

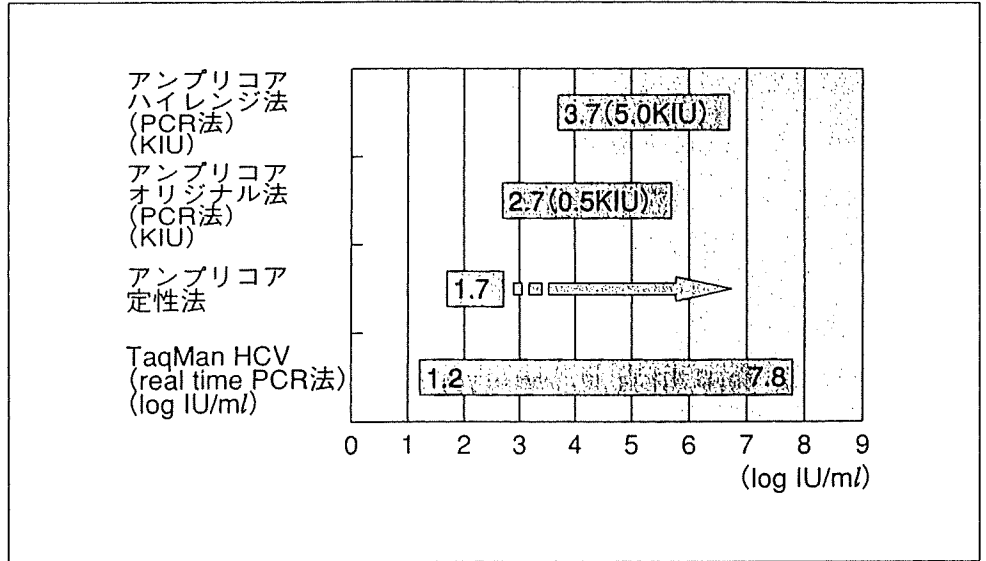
PCR を用いない核酸の高感度検出法で, HBV-DNA 検出の際に使用されるものと, 基本的には同じ原理で検出する。測定単位は Meq/ml (mega equivalent/ml) で, 測定感度は 0.3 Meq/ml である。

■ 検査によって何がわかるか

1. HCV-RNA の検出および定量

Chiron 社が, 1989年に C 型肝炎ウイルス (HCV) の遺伝子を単離して以来, HCV の抗体検出系, 核酸検出系が開発され, 臨床応用されている。HCV の感染者のスクリーニング

図4 HCV-DNA 検査の測定範囲



は、HCV 関連抗体の測定によって行われるが、HCV 感染の確定診断や増殖状態を明らかにするためには、HCV-RNA の測定が必要である。前項で、いくつかの測定方法を紹介したが、測定感度、定量可能範囲の面からも、リアルタイム PCR 法を用いたコバス TaqMan HCV 「オート」に統一される方向にある。

C 型肝炎では、急性肝炎、慢性肝炎とも経過とともにウイルス量の変化がみられる。しかし B 型肝炎疾患と違い、肝硬変などに病変が進行してもウイルス量が減ることはない。したがっていったん HCV キャリアであることがわかった症例では、ウイルス量は後述するように、治療方法の選択や治療中のウイルス量の変化から治療効果を予測するのに有用である。また肝障害の程度の変動は、ある程度ウイルス量の変動とも関連していることが指摘されている。

2. HCV-RNA の変異の有無

PCR 法により、微量の検体から増幅できるため、塩基配列の解析による変異の有無の診断などが可能となっている。ここでは臨床的意義がある程度明確になってきているものを示すが、これ以外にも多くの変異の存在が指摘されている。

最近の検討で、HCV の genotype 以外にも IFN や IFN とリバビリン併用治療の効果予測に有用な変異が指摘されている。塩基多様度 (nucleotide diversity) とは、1 検体から複数

のクローンを RT-PCR 法で増幅させ、その塩基配列を比較することによって決定する。これは IFN 治療の有効例で無効例よりも低いことが指摘されている。また、HCV 遺伝子の NS5A 領域の一部、約40アミノ酸に相当する領域 (aa2209-2248) は、ISDR (interferon sensitivity determining region) と呼ばれ、アミノ酸変異が4つ以上ある変異型は、感染ウイルス量も少なく IFN 治療を奏効しやすいのに対し、変異の数が1~3個の中間型や変異のない野生型では IFN が奏効しにくいことが指摘されている。また、Core 領域の70番目と91番目に変異があると、IFN とリバビリン併用治療が効きにくい因子となることが指摘されている。

3. genotype の判定

HCV は遺伝子配列によっていくつかの genotype に分類することができるが、これは PCR 法を行う際、特定のプライマーを選択することによって目的とする遺伝子配列を持ったもののみを増幅検出することで識別が可能である。最近 HCV-RNA の遺伝子配列の検討から、今までいくつかあった genotype の名称の統一が提唱され、現段階では 1a~1c, 2a~2c, 3a, 3b, 4a, 5a, 6a など30種類以上に分類されている。また、抗原抗体反応を利用したウイルス genotype を判別する ELISA 法が開発され、最近保険適用となっている (イムノチェック-HCV, 国際試薬)。これによる型別

表4 HEV-RNAのデシジョンレベル

結果	方針	高頻度に見られる疾患	否定できない疾患
陰性	HEV抗体、肝機能検査と対応させる	健常者	E型急性肝炎
陽性		E型急性肝炎	

は serotype と呼ばれている。serotype 1 は genotype 1a, 1b に相当し、serotype 2 は genotype 2a, 2b に相当する。ただし、serotype 判定ができない例もときにみられる。当院で測定した HCV serotype 335例のうち、タイプ1と2の両方の反応があるためどちらか判定できない例が13例、どちらの反応も出ない例が25例あった。前者は複数の genotype が混在した可能性があるが、遺伝子タイプを測定すると1bが5例、2aと2bが4例ずつの計13例で、いずれからも単一 genotype のみが検出されており、複数の genotype の存在を否定はできないものの、主として単一 genotype の感染と考えられた。後者では、genotype 1bが14例、2aが6例、2bが5例の計25例で、免疫原性が弱いために serotype 判定ができなかったと考えられる。

E型肝炎ウイルス(HEV)のRNA診断

HEVは、急性E型肝炎の原因ウイルスであり、以前はアジアやアフリカの発展途上国に常在しており、本邦では輸入感染症と考えられていたが、最近、国内でも豚や鹿、猪などの動物が感染しており、それらを食することによる感染などが明らかになりつつある。

■ デシジョンレベル (表4)

E型肝炎の急性期には、血中、糞便中にHEVが検出されるが、一過性であるため、一般的には血清の抗体で診断する。

■ 保険適応の条件

E型肝炎に関しては、現時点ではどの検査も保険適応となっていない。

■ 検査によって何がわかるか

1. HEV-RNAの検出および genotype の判定
RT-PCR法を用いて、急性期の血中、および糞便中からHEV-RNAが検出される。ただし、一過性であるため、タイミングを逃すと陰性になってしまう。したがって一般的に急性E型肝炎の診断には血中抗体を併用して診断する。HEVは現在IからIVまでの4種類に分類され、日本で分離されているのはIII型に入る。また研究レベルではあるが、患者と感染源と思われる検体中のHEV遺伝子の塩基配列を比較検討することにより、感染経路を特定することも可能である。

HBV・HCV・HEV感染症 (肝炎ウイルスの項815頁参照)

■ どういうときに検査するか

1. 急性肝炎の鑑別診断

急性肝炎が肝炎ウイルス感染によるものかどうかの診断は、血清のウイルス抗原抗体系(特にIgM型抗体)を検査することによってほぼ可能である。ただし、抗体とともに各DNA、RNAを検出すれば診断はより確実となる。B型急性肝炎では肝炎発症前からHBs抗原・HBe抗原とともにHBV-DNAも陽性となる。

2. 慢性肝炎の鑑別診断

慢性肝炎もウイルス抗原抗体系の測定によってウイルス肝炎の有無を診断できる。HBVキャリアの場合、経過中の肝炎の増悪にはHBVの複製増殖が強く関与している。通常、肝炎のGPTの上昇に先立ってHBVの増殖がみられるため、肝炎の予後の推測に有用である。また、血中のウイルス増殖期のマーカーであるHBe抗原が陰性症例の中の約10%に、実際に

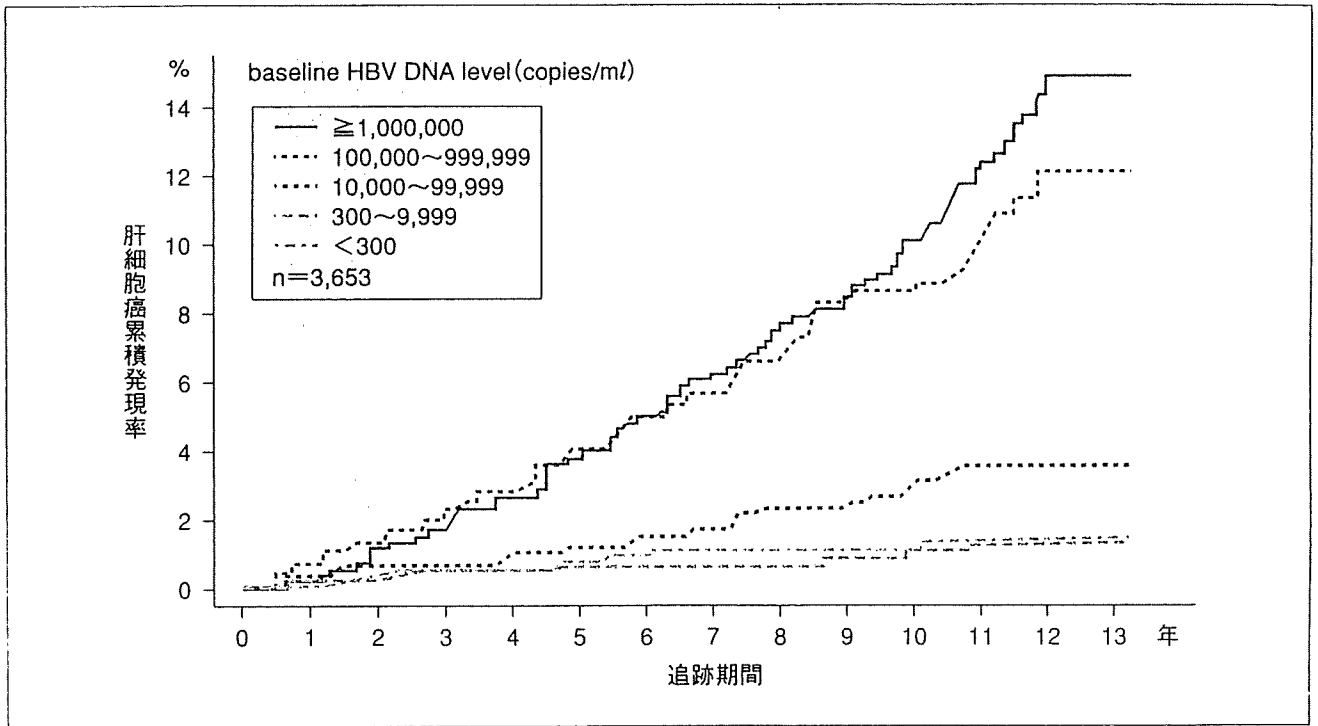


図5 血中 HBV-DNA 量と肝発癌率

観察開始時点でのウイルス量別に、その後経過観察していると、発癌率が異なることを示した。

(文献1)より引用、一部改変)

はウイルス増殖がみられ、そのために肝炎が活動性を示す症例がある。この場合は、HBV-DNA がウイルス増殖のよい指標となる。HBV-DNA を含めたウイルスマーカーの変動を伴わない GPT の上昇は、C 型肝炎や自己免疫性肝炎など他の原因を考慮する必要がある。

また、HBV キャリアに対して、免疫抑制効果の強い薬剤を使用した治療をする際には、注意を要することが指摘されている。一般に HBs 抗原が陽性であっても、HBe 抗原が陰性であったり、HBV-DNA がきわめて低値もしくは測定感度以下であれば、HBV 非増殖期として、病態は安定しているとみなされる。しかしこのような状態であっても、抗癌剤（特にステロイド剤を含む場合）や免疫抑制剤、抗リウマチ剤を投与するとウイルス増殖に伴った急性の肝炎を起こすことがあり、しばしば重症化する。したがって、このような症例には、あらかじめ核酸アナログ剤を予防投与したり、少なくとも HBV-DNA を含むウイルスマーカーを厳重にフォローしていくことが重要となる。さらに、前述したように HBs 抗原が陰性であって

も、HBe 抗体が陽性の場合、やはり抗癌剤や抗リウマチ剤での治療、肝移植などの強力な免疫抑制剤を使用する治療などの際には、HBV が再活性化することがあり、潜在性 HBV 感染として、嚴重なウイルスマーカーのフォローによる注意が必要となる。

最近、HBV-DNA の量が、その後に発癌の確率に影響を与える可能性が指摘されている。従来は、線維化が進行している場合や HBe 抗原陽性の場合には発癌の確率が高いことが指摘されていた。ウイルスの量については、一般に 10^5 /ml 以下になると肝障害を起こすことがないために、その量と発癌の確率については言及されてこなかったが、Chen ら¹⁾は、ウイルスの量が多い症例ほどその後の発癌率が高いことを示し、さらに 10^4 ~ 10^5 /ml レベルでも、肝障害の有無にかかわらず、それ以下の症例と比べると発癌率が上がる可能性を指摘している(図5)。したがって、ウイルスの量のモニターは、病態の把握や予測に重要である。

HCV キャリアの場合も、ウイルス量の変動に伴い肝機能障害も変動するが、B 型肝炎

表5 B型慢性肝炎の治療ガイドライン

治療対象は、ALT \geq 31IU/lで

HBe抗原陽性は、HBV DNA量 5 log copies/ml 以上、

HBe抗原陰性は、4 log copies/ml 以上

【35歳未満】

HBe抗原	HBV-DNA量	
	≥ 7 log copies/ml	< 7 log copies/ml
e抗原陽性	① IFN 長期投与 (3ヵ月以上) ② Entecavir	IFN 長期投与 (3ヵ月以上)
e抗原陰性	① 経過観察 ② IFN 長期投与 (3ヵ月以上) あるいは entecavir	経過観察 (F2以上の進行例には IFN, Entecavir)

【35歳以上】

HBe抗原	HBV-DNA量	
	≥ 7 log copies/ml	< 7 log copies/ml
e抗原陽性	① Entecavir ② Entecavir +IFN 連続療法 (3ヵ月以上)	① Entecavir ② IFN 長期投与 (3ヵ月以上)
e抗原陰性	Entecavir	Entecavir

本ガイドラインには補足1, 補足2がある。

(B型およびC型肝炎ウイルス感染者に対する治療の標準化に関する臨床研究班, 2006より)

で見られるような大きな変動がみられることは少ない。

最近、肝炎ウイルスの重感染や自己免疫性肝炎との重複例の報告があるが、この場合はウイルス量やその経過から、主たる肝細胞障害の原因を検討する必要がある。

3. 抗ウイルス療法の指標

B型慢性肝炎に対するインターフェロンや核酸アナログ剤による治療などは、一般に治療前のALTが高値でウイルス量が少ない症例で、有効率が高いことが指摘されている。インターフェロン治療と核酸アナログ剤での治療では、それぞれ長所・短所があるが、それらを踏まえたうえで、厚生労働科学研究費肝炎等克服緊急対策事業の研究班からガイドラインが出されており(表5)、HBV-DNA量が、治療方針決定の重要な因子になっている。また、核酸アナログ剤の治療中には、耐性株の出現に注意する

表6 C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリン併用療法における著効率

ウイルス量	セロタイプ	
	1	2
5.0 log IU/ml 以上	40~60%	
5.0 log IU/ml 未満	80~90%	

必要があるが、HBV-DNA量を定期的にモニターすることで、これを予測することができると。各薬剤に対する耐性を示す変異の部位もかなり明らかにされており、検出キットも販売されているが、保険適応がないために、耐性株そのものの証明は研究レベルになる。

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療は、ウイルス量とセロタイプ(または genotype)により治療効果が大きく影響を受ける²⁾(表6)。このためB型慢性肝炎と同様にガイドライン

表7 C型慢性肝炎に対する初回治療ガイドライン

	genotype 1	genotype 2
高ウイルス量 1Meq/ml 5.0 log IU/ml 300fmol/l 以上	Peg-IFN α 2b+ribavirin (48 週間) Peg-IFN α 2a+ribavirin (48 週間)	Peg-IFN α 2b+ribavirin (24 週間)
低ウイルス量 1Meq/ml 5.0 log IU/ml 300fmol/l 未満	IFN (24 週間) Peg-IFN α 2a (24~48 週間)	IFN (8~24 週間) Peg-IFN α 2a (24~48 週間)

本ガイドラインには再治療ガイドラインとガイドラインの補足がある。

(B型およびC型肝炎ウイルス感染者に対する治療の標準化に関する臨床研究班, 2007より)

(表7) が作成されているが、ウイルス量 (HCV-RNA 量) とセロタイプが、治療方針決定の重要な因子である。また、C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリン併用治療にて、治療を開始してからのウイルスの減少スピードは、治療効果を予測する有力な因子であることがわかってきた。ゲノタイプ1型で高ウイルス量 (5 log IU/ml 以上) の症例に対するペグインターフェロンとリバビリン治療の場合、48週間投与した場合の著効率は約50%であるが、治療開始12週目までにRNAが陰性化 (アンプリコア定性法で) もしくは100分の1に減少した症例では、著効になる確率は約70%、24週目までに陰性化した症例では30%となる。しかしウイルスの消失する時期が遅い症例には、治療期間を通常より延長すると治療効果が上がることで、前述のガイドラインの補足にも72週間投与が推奨されている (12週目では陰性化せず、24週目までに陰性化した症例は late responder と呼ばれ、治療期間を72週間まで延長すると、著効率がさらに約20%程度上がる。2008年より一般に使用できるようになったリアルタイムPCR法は、ウイルス測定感度が従来より上がっているため、36週目までにリアルタイムPCR法でウイルスが陰性化した症例では、72週までの治療が推奨されている)。また、塩基多様度やISDR, Core領域70と91

の変異の有無などを調べることで、IFNやIFNとリバビリン併用治療の効果予測がある程度可能となる。

■ 検査の総合評価

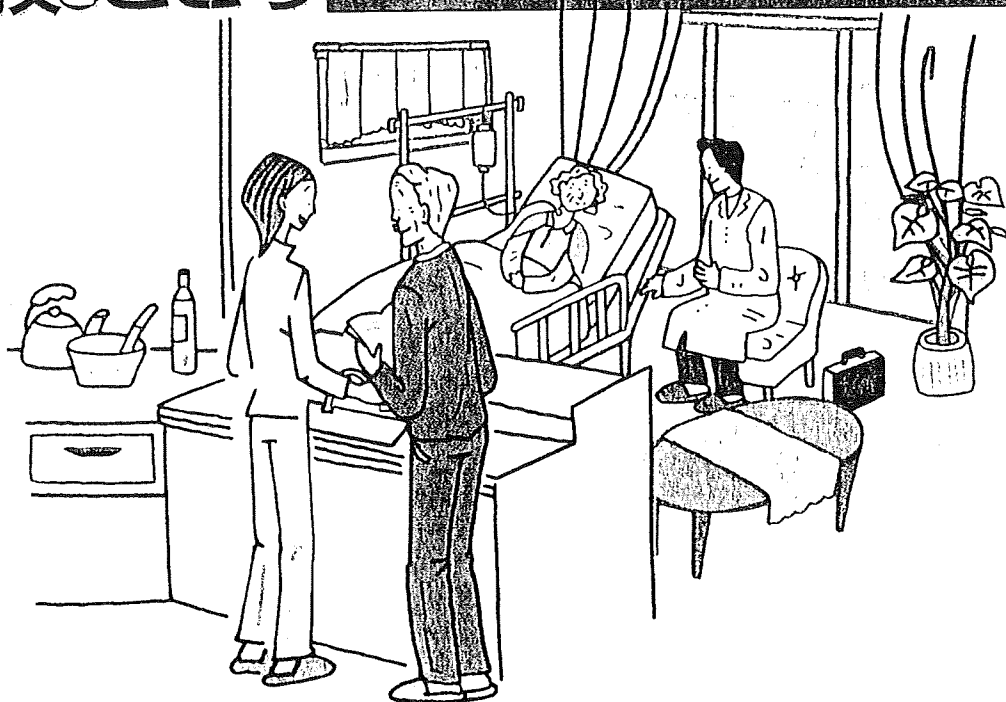
HBV, HCVとも最近臨床に応用されるようになったリアルタイムPCR法が、血中ウイルスの検出感度が一番高い。C型慢性肝炎では、病態の把握や抗ウイルス治療の指標としてウイルス量を測定することになるが、B型慢性肝炎では、ウイルス量以外にも、HBs抗原抗体やHBe抗原抗体、さらには各遺伝子の変異の有無なども併せて考慮していくことになる。

■ 異常値がみられた場合の対応

1. 肝炎ウイルスマーカーのチェック
2. 慢性肝疾患の状態の把握
肝機能検査, 肝生検
3. 抗ウイルス療法, 肝庇護療法を検討

文 献

- 1) Chen, C.J., Yang, H.I., Su, J. et al.: Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. JAMA 295: 65-73, 2006
- 2) 林 紀夫, 小瀬嗣子, 平松直樹: C型慢性肝炎治療の変遷. 日消誌 105: 175-185, 2008



在宅栄養管理

—経口から胃瘻・経静脈栄養まで—

亀田クリニック在宅医療部 小野沢 滋 編著

南山堂

わが国の肝疾患（肝癌を含む）による死亡は1970年代後半以降増加の一途をたどり、1990年代の後半には頭打ちとなっているものの2004年には人口10万人対40人にもおよび、その約60%は肝硬変により占められている¹⁾。患者や家族の在宅医療に対するニーズが増加しつつある昨今の時代背景を踏まえると、在宅医療の対象となる慢性肝疾患は相当数存在するものと推定される。肝臓は栄養代謝において中心的な役割を果たしていることから、肝硬変では糖質、脂質、蛋白質などの各種栄養代謝障害が生じる。また、肝硬変では経過中にしばしば腹水の発生や肝性脳症の発現をみるが、在宅医療の継続を困難にすることが少なくない。本項では、肝硬変の栄養代謝の特徴について概説するとともに、在宅医療における栄養療法の実際について解説する。

1. 肝硬変における栄養療法の意義

蛋白質・エネルギー低栄養状態（PEM）は肝硬変患者の27～87%に認められ²⁾、著しい低栄養状態にある肝硬変患者は合併症や死亡率が高率である³⁾。ことに、大量腹水を有する肝硬変患者は腹部膨満感や易疲労感、呼吸困難などの症状を呈するためにQOLは著しく低下するほか、食事摂取量の低下やエネルギー消費量の亢進によりPEMの一層の悪化をきたすため、適切な栄養療法が必要である。

近年、肝硬変に対する経腸栄養は肝機能や栄養状態を改善するとともに合併症の発現を阻止し、生存率を改善させることが明らかになっている³⁾。さらに、PEMの是正を目的とした分岐鎖アミノ酸（branched-chain amino acid：BCAA）顆粒の経口投与が患者の生存期間を延長させることから⁴⁾、栄養治療の医学的妥当性が示されている。

2. 肝硬変の栄養代謝異常の特徴

a. エネルギー消費量

肝硬変患者では安静時エネルギー消費量（resting energy expenditure：REE）が亢進していることが明らかにされている^{5, 6)}。REEの亢進は重症度の進行に

従い増加するとされており，ことに腹水や特発性細菌性腹膜炎（spontaneous bacterial peritonitis：SBP），肝癌合併例，静脈瘤破裂などに伴う循環動態不安定例において顕著である^{7, 8)}．エネルギー消費量が亢進する機序として，肝硬変患者では呼吸・循環系が hyperdynamic state にあることや，ホルモンやサイトカイン，腹水の存在そのものの関与が考えられている．

b. 基質利用

肝硬変における早朝空腹時の基質利用は健常人の3日間の絶食状態に相当する．すなわち，呼吸商が有意に低下し，健常者に比べて内因性脂質の利用が上昇していることが特徴であり^{5, 6)}，その程度は肝の重症度を反映して予後とも関連する^{9, 10)}．基質利用の変化に関与する要因として，肝臓内のグリコーゲン貯蔵量の減少や耐糖能異常（インスリン抵抗性や糖利用の低下）が考えられている．

c. 腹水や肝性脳症合併例の特徴

肝硬変における腹水の発生には門脈圧亢進，血漿膠質浸透圧の低下（低アルブミン血症），二次性高アルドステロン血症などの「肝性因子」が重要であり，これに「全身循環因子」や「腎性因子」が密接に関連している．高度の腹水貯留を伴う患者は腹部膨満感や呼吸困難により hypermetabolism を示すことが多く⁸⁾，食欲の低下や減塩食，亜鉛欠乏による味覚低下も加わるために食事摂取量はさらに低下して栄養障害を助長していることが多い．

一方，肝性脳症は重篤な肝障害が原因で生ずる意識障害を中心とする精神神経症状であり，指南力の低下や異常行動などの軽度のものから刺激を加えてもまったく反応しない深昏睡まで広く包含される．肝硬変にみられる脳症は門脈-大循環短絡の要因が強いタイプ（慢性再発型）と肝細胞障害の要因が強いタイプ（末期型）に分けられる．治療効果や予後は肝機能不全の程度に左右されることから，肝の重症度判定が重要である．腸管内で発生するアンモニアなどの中毒物質は食事蛋白に由来することが多いことから，門脈大循環短絡を有する肝硬変では蛋白の過剰摂取により容易に肝性脳症を発症する病態（蛋白不耐症）にある．

3. 栄養療法

a. 基本方針

栄養状態の主観的包括的評価（SGA）や生化学的パラメーター，臨床病期（代

表 II-3-1. 肝硬変に対する経腸栄養療法 (ESPEN ガイドライン：2006)

一般的事項	SGA や身体計測により低栄養状態のスクリーニング 推奨摂取熱量：35 ～ 40kcal/kg/ 日 推奨摂取蛋白質量：1.2 ～ 1.5g/kg/ 日
経腸栄養の適応	適切な栄養指導を行っても必要量を経口的に摂取できない場合
経路	食事が至適量に満たない場合，経腸栄養剤を経口 or 経管投与
経腸栄養製剤の組成	一般的な蛋白組成が推奨される 腹水症例では高蛋白・高カロリーの組成を考慮 肝性脳症を発症した例では BCAA 高含有製剤を投与 経口的 BCAA 補充は肝硬変の予後を改善
予後	経腸栄養療法は栄養状態，肝機能を改善，合併症減，生存期間延長

(Plauth M, Cabre E, Riggio O, et al. ESPEN guideline on enteral nutrition : liver disease. Clin Nutrition. 25 ; 285-294, 2006.)

償性あるいは非代償性)，肝性脳症の有無や昏睡度，糖尿病合併の有無などを判定して栄養治療計画を作成する。

肝硬変に対する栄養療法のコンセンサスとして，欧州静脈経腸栄養学会 (ESPEN) の基準ガイドラインがある (表 II-3-1)³⁾。このガイドラインで推奨されている摂取エネルギー量や蛋白質投与量は日本人の体格から考えてやや多い点に注意する必要がある，栄養投与ルートについても症例に応じた対応が必要である。

わが国における食事療法については第7回日本病態栄養学会のコンセンサス¹¹⁾ (表 II-3-2) と2008年度版の「慢性肝炎の治療ガイド」(表 II-3-3) に示された指針¹²⁾があり，どちらも日本人の体格などが考慮された，臨床的に使用しやすい内容となっている。

b. エネルギー代謝異常に対する対策

上述したように，硬変肝では食後のグリコーゲン貯蔵量が減少し，筋蛋白を分解してアミノ酸からの糖新生が亢進するため，骨格筋量は減少し，早朝空腹時には体内の脂肪を栄養素として利用するといったエネルギー代謝異常にある。そのため，摂取総カロリーより200kcal程度を分割し，軽食として就寝前に摂取する就寝前軽食摂取療法 (late evening snack : LES) がわが国ならびに ESPEN³⁾，米国静脈経腸栄養学会 (ASPEN)¹³⁾ において推奨されている。おにぎり1個にミカン1個といった簡単な軽食でよいが，肝不全用の経腸栄養剤投与により血清アルブミン濃度の増加とともに栄養素の燃焼比率の改善がみら

表 II-3-2. 肝硬変の食事療法 (第7回日本病態栄養学会年次総会コンセンサス:2003)

1. エネルギー必要量
 - ・ 栄養所要量 (生活活動強度別)*¹ を目安にする
 - ・ 耐糖能異常のある場合: 25 ~ 30kcal/kg (標準体重) / 日
2. 蛋白質必要量
 - ・ 蛋白不耐症がない場合*²: 1.0 ~ 1.5g/kg/ 日
 - ・ 蛋白不耐症がある場合: 0.5 ~ 0.7g/kg/ 日 + 肝不全用経腸栄養剤
3. 脂質必要量: エネルギー比 20 ~ 25%
4. 食塩: 腹水・浮腫がある場合には 5 ~ 7g/ 日
5. 分割食 (4 ~ 6 回 / 日) あるいは夜食 (200kcal 相当*³)

* 1: 第六次改定 日本人の栄養所要量 (厚生労働省, 2000 年)

* 2: アルブミン < 3.5g/dL, フィッシャー比 < 1.8, BTR (総分岐鎖アミノ酸 / チロシンモル比) < 3.0 の場合には BCAA 顆粒を投与することがある。

* 3: 肥満例では夜食を給与する場合には, 1日の食事総量を変化させないか減量する必要がある。また, やせ例では, 夜食も含めて1日の食事総量の増加を検討する, 夜食などはバランス食であることが望ましい。

(渡辺明治ほか: 栄評治 20: 181-96, 2003)

表 II-3-3. 非代償性肝硬変の管理

1. エネルギー必要量
 - ・ 30 ~ 35kcal/kg (標準体重) / 日
 - ・ 耐糖能異常のある場合: 30kcal/kg (標準体重) / 日
2. 蛋白質必要量
 - ・ 蛋白不耐症がない場合: 1.2 ~ 1.3g/kg/ 日
 - ・ 蛋白不耐症がある場合: 0.6 ~ 1.0g/kg/ 日
3. 脂質必要量: 35g (脂質エネルギー比 25%)
4. 食塩: 5 ~ 7g/ 日 飲酒: 禁止
5. 不足の栄養素は BCAA を高含有する肝不全用経腸栄養剤で補う
6. 食事摂取が十分で, 血中アンモニアが正常範囲内であっても, 低アルブミン血症 (3.5g/dL 以下) や BTR 低値 (4.0 以下) を示す症例には, BCAA 顆粒製剤を投与
7. 200kcal の夜食 (夕食からの振り替え) や肝不全用経腸栄養剤 (1 包) の就寝前投与

(日本肝臓学会編: 非代償性肝硬変の管理. 慢性肝炎の治療ガイド, 文光堂, 東京, p.60, 2007, 一部改変)

れることから¹⁴⁾, 長期に LES を継続するにあたっては肝不全用経腸栄養剤 (1 包) を併用することがエネルギー代謝異常の改善に有用と考えられる。なお, LES を行う場合には, 今までの食事に 200kcal 程度のカロリーを単純に上乗せすると肥満や耐糖能異常の悪化を招くことがあることから, あくまでも総カロリーの中から分割することが大切である。

c. 蛋白・アミノ酸代謝異常に対する対策

わが国では窒素平衡の是正や低栄養の改善を目的に経口 BCAA 製剤が頻用

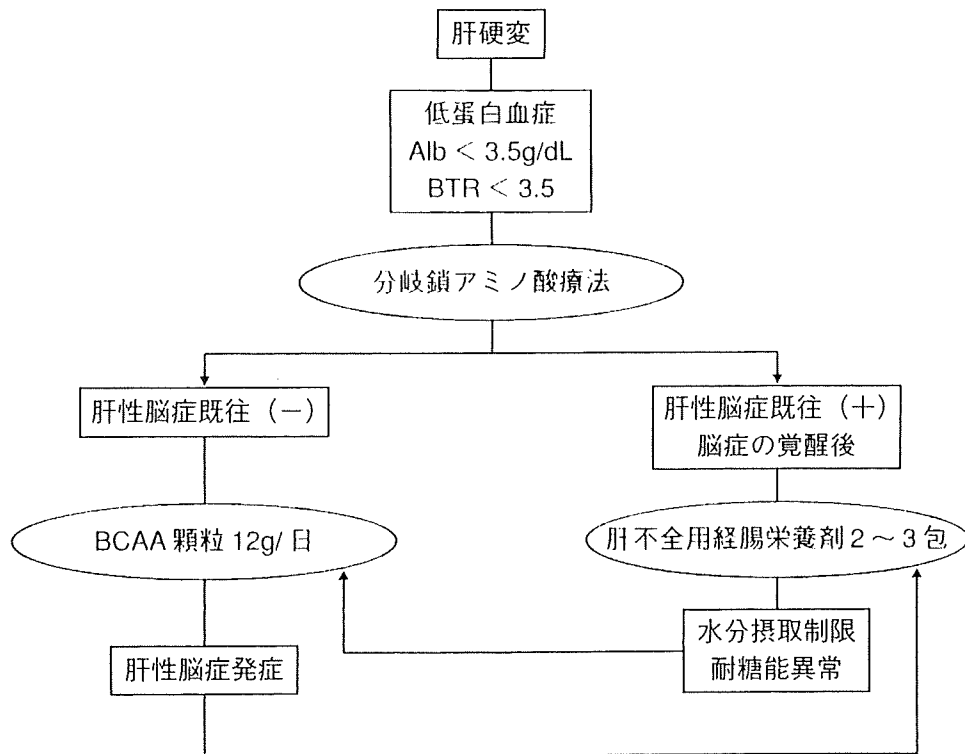


図 II-3-1. 分岐鎖アミノ酸製剤の使い分け

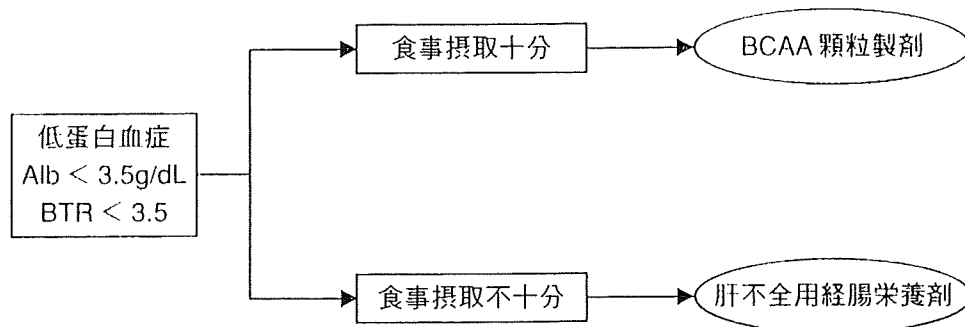


図 II-3-2. 食事摂取状況からみた BCAA 製剤の適応

され、前述の ESPEN のガイドラインでも BCAA 製剤の有用性が強調され、積極的に用いることが推奨されている³⁾。

BCAA 製剤の適応は非代償性肝硬変であり、その効果は肝の重症度に左右されることから、重症度の進行していない非代償性肝硬変の時期から投与することが望ましい¹⁵⁾。

経口 BCAA 製剤には BCAA 顆粒 (リーバクト[®]) と肝不全用経腸栄養剤 (アミノレバン[®] EN, ヘパン ED[®]) があるが、厳密には使い分けが必要であり、前者は食事摂取が十分にもかかわらず低アルブミン血症 (3.5 g/dL 以下) を呈する症例に、後者は肝性脳症の覚醒後や既往があり、蛋白不耐症を伴う慢性肝不全例に適応がある (図 II-3-1)。しかしながら、脳症の既往があっても balan

スのとれた食事が十分摂取されており、アンモニアのコントロールがなされている場合にも顆粒製剤は投与可能であり、逆に脳症の既往がなくとも食事摂取が不十分な場合には経腸栄養剤を選択することも栄養代謝改善の面からは有用と考えられる(図II-3-2)。したがって、経口BCAA製剤の選択にあたっては、食事摂取状況調査により摂取量の減少や栄養バランスの偏りの有無について十分把握することが大切である。

4. 腹水治療のストラテジー

Na出納を負にするとともに血漿膠質浸透圧の維持が治療の基本であり、第1段階：食塩制限、第2段階：抗アルドステロン薬投与、第3段階：ループ利尿薬投与追加(血清アルブミンが2.5 g/dL以下の際にはアルブミン静注追加)の順に段階的に行うことが一般的である¹⁶⁾。

a. 塩分制限

極端な制限はむしろ食欲を減退させて栄養状態の悪化を招くこともあることから、通常5～7 g/日程度の制限にすることが多く、尿中Na排泄量に見合った塩分制限を指導することが望ましい。食事以外の水分制限の有効性を示した報告はなく、低Na血症(130 mEq/L以下)を伴う例に限って1日1000 mL以下とする。塩分制限単独で効果が得られる症例は10～20%、さらに利尿薬を加えることにより約90%が改善するとされているが、高度の腹水貯留により呼吸困難や腹部膨満感を訴える場合にはこれらの治療を同時に開始したり、腹水穿刺排液を行うことも少なくない。

b. 腹水患者の栄養投与量

REEを的確に評価するためには間接熱量測定を行うことが理想であるが、在宅医療では現実的ではないため、体重当たりの病態別推奨必要量を用いて栄養投与量を設定することが多い。一般に高度の栄養不良患者の体細胞量(活発に代謝を行う組織)は減少しているため、代謝的負荷を強いる危険性を考慮して「実際の体重」をもとに算出すべきとされているが、高度の腹水・浮腫を伴う肝硬変患者では体重測定値の妥当性が乏しいことから、「標準体重」をもとに算出することが一般的である。大切なことは、個々の患者に適したエネルギー量を1日25～35 kcal/kgという範囲で選択してモニタリングすることであり、体構成成分を維持するように設定することが基本である。

5. 肝性脳症治療のストラテジー

治療の基本は、アンモニアを中心とした中毒物質の除去とアミノ酸をはじめとする代謝異常の是正であり、薬物治療はあくまでも誘因除去や栄養管理などの一般療法と並行して行うべきである。また、肝硬変では腎機能障害や糖尿病を合併していることが多いため、血中アンモニア濃度や電解質、血糖値のモニタリングを頻回に行うことも大切である。

a. 誘因の除去

肝性脳症の約70%に何らかの誘因がみられる。代表的なものに蛋白質の過剰摂取、消化管出血、便秘・下痢などの便通異常、感染症、鎮静薬・鎮痛薬の過剰投与、利尿薬の過剰投与などがある。便通は軟便が1日2～3回あるように、繊維の多い食物（野菜や果物、海藻、芋類）を摂取するとともに、合成二糖類（ラクツロースシロップ、ポルトラック[®]原末）の量を調節しながら、必要に応じて緩下剤も併用する。

b. 栄養管理

肝硬変では高アンモニア血症とBCAAの低下が密接に関連しており、血漿BCAAの低下は芳香族アミノ酸（aromatic amino acid：AAA）の脳内への移行を促進して偽性神経伝達物質の増加をもたらすことから、BCAAの補充療法を中心とした食事療法が高アンモニア血症における栄養治療の中心的な位置を占める。BCAA製剤には輸液製剤と肝不全用経腸栄養剤、顆粒製剤があるが、肝性脳症の程度や病期に応じて使い分けが必要である¹⁵⁾。

経口摂取が可能な軽度の脳症（Ⅰ～Ⅱ度）を認める場合には、低蛋白食（0.4～0.6 g/kg 標準体重）とし、食欲不振の程度に応じて肝不全用経腸栄養剤（アミノレバン[®]EN、ヘパンED[®]）を併用する¹⁷⁾。本剤はBCAAとともに、糖質、蛋白質、脂質、ビタミン、ミネラルなどをバランス良く配合した製剤であり（1包あたり約200～300 kcal）、食事の総カロリーからその分を減らすよう指導する。

Ⅱ度以上の肝性脳症出現時には輸液製剤を投与することが多く、わが国ではアミノレバン[®]注とモリヘパミン[®]注の2剤が使用可能である。本剤はBCAAを多く含有し、AAA（フェニルアラニン、チロシン）およびメチオニンが少ない組成となっており、通常は200～400 mL/日として、最大で1,000 mL/日を超えない量で点滴静注する。経口摂取が困難な昏睡極期では一時的に絶食と