

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 22 年度 分担研究報告書

## 慢性肝疾患に対する就寝前夜食の効果

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：** ウイルス性慢性肝疾患患者 47 名に対して就寝前夜食を併用した 4 回食の血糖日内変動とインスリン分泌能に及ぼす影響について検討した。血糖日内変動とインスリン分泌能の検討はすべて入院患者を対象に行い、ESPEN のガイドライン（1997 年）に準じた食事療法を施行した。慢性肝炎では夕食前と夕食後 2 時間の血糖値の有意の（ $p=0.0281$ ， $p<0.0406$ ）改善がみられた。肝硬変においては朝食後 2 時間，昼食前の血糖値の有意の（ $p=0.0160$ ， $p=0.0004$ ）改善がみられた。慢性肝炎では血糖日内変動の最高血糖値と平均血糖値に有意な変化はみられなかったが，肝硬変では平均血糖値の有意の（ $p=0.0099$ ）低下がみられた。インスリン分泌能についても蓄尿中 C-ペプチドを用いて検討したが，慢性肝炎，肝硬変ともに有意な変化はみられなかった。糖尿病を合併した慢性肝疾患の食事療法として就寝前夜食を用いた分割食は有用な治療法と考えられる。

### A. 研究目的

慢性肝疾患，とくに C 型慢性肝疾患において糖尿病が高率に合併することが知られている。慢性肝疾患に糖尿病が合併すると患者の予後は不良となり，血糖値のコントロールにより予後が改善されることも報告されている。とくに C 型肝炎においては糖尿病を合併すると肝発癌率が高率となることも指摘されている。したがって慢性肝疾患においては糖尿病合併例においては血糖値のコントロールが極めて重要である。近年，肝硬変において早朝飢餓状態の改善のために就寝前夜食（Late evening snack：LES）が推奨されている。そこで慢性肝疾患に合併し

た糖尿病に対する栄養療法としての就寝前夜食の効果について検討し，慢性肝疾患に合併した糖尿病治療における就寝前夜食の意義について検討する。

### B. 研究方法

慢性肝疾患で入院中の慢性肝疾患患者 47 名について検討した。患者の内訳は慢性肝炎 11 例（B 型肝炎 2 例，C 型肝炎 9 例）と肝硬変 36 名（B 型肝炎 8 名，C 型肝炎 28 名）である。肝癌合併例，上部消化管手術施行例，分岐鎖アミノ酸製剤使用患者は対象から除外した。入院後 ESPEN のガイドライン（1997 年）に準じて標準体重 1kg あたり摂取エネルギー

量は非窒素エネルギー量として 25～35kcal/日，摂取たんぱく質量は 1.0～1.2g/日の 3 回食による食事療法を開始した。

食事療法開始後 7 日目に血糖日内変動（朝食前，朝食後 2 時間，昼食前，昼食後 2 時間，夕食前，夕食後 2 時間，夕食後 4 時間）を施行した。3 回食による血糖日内変動施行日にインスリン分泌能（尿中 C-ペプチド  $\mu\text{g}/\text{日}$ ）についても検討を行った。3 回食による血糖日内変動施行翌日より就寝前夜食を併用した 4 回食による食事療法を開始した。4 回食による食事療法は摂取エネルギー量，摂取たんぱく質量は 3 回食と同様とした。就寝前夜食を併用した食事療法開始後 7 日目に再度同様の検討を行った。

（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

摂取非窒素エネルギー量は標準体重 1kg あたり慢性肝炎で  $31.7 \pm 3.6\text{kcal}$ ，肝硬変では  $32.3 \pm 3.5\text{kcal}$  であり，両者の間に有意な差はみられなかった。たんぱく質摂取量は標準体重 1kg あたり慢性肝炎で  $1.1 \pm 0.1\text{g}$ ，肝硬変では  $1.1 \pm 0.2\text{g}$  であり，両者に有意な差はみられなかった。炭水化物の摂取量は慢性肝炎で  $278.3 \pm 16.6\text{g}/\text{日}$ ，肝硬変では  $276.9 \pm 15.8\text{g}/\text{日}$  であり，両者の間に有意な差はみられなかった。同様に脂質摂取量も慢性肝炎で

$50.9 \pm 5.4\text{g}/\text{日}$ ，肝硬変で  $49.2 \pm 6.5\text{g}/\text{日}$  と両者の間に有意な差はみられなかった。

慢性肝炎では 3 回食による血糖日内変動は朝食前  $142 \pm 37\text{mg}/\text{dL}$ ，朝食後 2 時間で  $239 \pm 93\text{mg}/\text{dL}$ ，昼食前  $197 \pm 101\text{mg}/\text{dL}$ ，昼食後 2 時間  $228 \pm 98\text{mg}/\text{dL}$ ，夕食前  $180 \pm 65\text{mg}/\text{dL}$ ，夕食後 2 時間  $230 \pm 78\text{mg}/\text{dL}$ ，夕食後 4 時間  $216 \pm 78\text{mg}/\text{dL}$  であった。就寝前夜食を併用した 4 回食での血糖日内変動はそれぞれ  $138 \pm 51\text{mg}/\text{dL}$ ， $201 \pm 64\text{mg}/\text{dL}$ ， $163 \pm 86\text{mg}/\text{dL}$ ， $183 \pm 52\text{mg}/\text{dL}$ ， $136 \pm 35\text{mg}/\text{dL}$ ， $177 \pm 58\text{mg}/\text{dL}$ ， $173 \pm 49\text{mg}/\text{dL}$  であり，4 回食による夕食前と夕食後 2 時間で有意の ( $p=0.0281$ ， $p=0.0406$ ) 血糖値の低下がみられた。

また，肝硬変の血糖日内変動は 3 回食では朝食前  $123 \pm 47\text{mg}/\text{dL}$ ，朝食後 2 時間  $221 \pm 102\text{mg}/\text{dL}$ ，昼食前  $181 \pm 94\text{mg}/\text{dL}$ ，昼食後 2 時間  $199 \pm 101\text{mg}/\text{dL}$ ，夕食前  $158 \pm 81\text{mg}/\text{dL}$ ，夕食後 2 時間  $203 \pm 93\text{mg}/\text{dL}$ ，夕食後 4 時間  $190 \pm 95\text{mg}/\text{dL}$  であった。肝硬変における 4 回食での血糖日内変動はそれぞれ  $120 \pm 45\text{mg}/\text{dL}$ ， $193 \pm 98\text{mg}/\text{dL}$ ， $158 \pm 81\text{mg}/\text{dL}$ ， $187 \pm 93\text{mg}/\text{dL}$ ， $139 \pm 68\text{mg}/\text{dL}$ ， $194 \pm 78\text{mg}/\text{dL}$ ， $184 \pm 81\text{mg}/\text{dL}$  であり，朝食後 2 時間，昼食前，夕食前で有意の ( $p=0.0160$ ， $p=0.0004$ ， $p=0.0440$ ) 血糖値の低下がみられた。

そこで肝硬変を Child-Pugh 分類で GradeA と GradeB&C の 2 群に分けて血糖日内変動について検討した。GradeA では有意な変化はみられなかったが，GradeB&C において昼食前と昼食後 2 時間で 4 回食により血糖値の有意の ( $p=$

0.0268,  $p=0.0006$ ) 低下がみられた。

さらに血糖日内変動における平均血糖値と最高血糖値の4回食による変化について検討したが、肝硬変において平均血糖値は3回食の  $180 \pm 82 \text{mg/dL}$  から4回食で  $168 \pm 70 \text{mg/dL}$  と有意に ( $p=0.0099$ ) 低下していた。

C-ペプチド ( $\mu\text{g/日}$ ) でインスリン分泌能について検討したが、慢性肝炎、肝硬変の両者とも有意な変化はみられなかった。

#### D. 考察

肝硬変において間接熱量計を用いた検討で肝臓における糖の利用は亢進しているが糖の利用が遅延していることが明らかにされていることから、就寝前夜食を併用した4回食では3回食よりも一回の食事で供給されるグルコースの量を減少することが可能である。そこで就寝前夜食を併用した4回食の血糖日内変動とインスリン分泌能について検討を行った。慢性肝疾患において血糖日内変動の改善がみられ、肝硬変においては平均血糖値の改善がみられた。しかし慢性肝炎と肝硬変ともに4回食ではインスリン分泌能を抑制することはできなかった。これは4回食でも肝臓で処理しきれないグルコースが末梢骨格筋でインスリン作用により処理されたことによりインスリン分泌を抑制することができなかったと推測される。今後、4回食よりもさらに頻回に分割した食事療法を行い、血糖日内変動とインスリン分泌能に及ぼす影響を検討することが必要であると考えられた。

#### E. 結論

就寝前夜食を併用した食事療法は慢性肝疾患、とくに肝硬変に合併した糖尿病に対する治療として有用であると考えられた。

#### F.健康危険情報

なし

#### G.研究発表

##### 1.論文発表

1) Suzuki K, Kagawa K, Koizumi K, Suzuki K, Katayama H, Sugawara M. Effects of late evening snack on diurnal plasma glucose profile in patients with chronic viral liver disease. Hepatol Res.2010;887-893

##### 2.学会発表

#### 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

厚生労働省科学研究費補助金 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のガイドライン作成を目指した総合的研究  
平成 22 年度分担研究報告書

肝硬変患者における非蛋白呼吸商の代替となるマーカーについての検討

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】 エネルギー低栄養状態は肝硬変患者の予後や生活の質を悪化させ、その指標である呼吸商が 0.85 以下の患者では、特に有意に予後不良である。また、呼吸商の低下した患者への LES (Late evening snack) 施行によって、肝機能や生活の質の改善が報告されている。しかし、呼吸商の測定には間接カロリーメーターという高価な機器を使用するため、日常臨床で広く一般に行えない。そのため、呼吸商の代替となりうるパラメータについて検討を行った。

【方法】 対象は岐阜大学医学部附属病院消化器内科入院中の肝硬変患者 44 例。検査前夜 18 時より絶食とし、検査当日午前 7 時から 9 時の安静臥床時に間接カロリーメーターを用いて呼吸商を測定した。また同時に血液検査、熟練した栄養士による身体計測を行った。呼吸商及び得られたパラメータについて単回帰分析を行い、相関性を検討した。

【結果】 呼吸商に対し、%AC (arm circumference) ( $r^2=0.204$ ,  $p=0.0021$ )、%AMC (arm muscle circumference) ( $r^2=0.178$ ,  $p=0.0043$ ) に正の相関が認められたが、血液学的パラメータや他の身体計測値と有意な相関が認められなかった。予後の指標となる呼吸商 0.85 に対する各々の予測値は、%AC 93.4 (90%CI: 82.8-99.6)、%AMC 94.2 (90%CI: 82.5-100.4) となり、%AC<82.8 もしくは%AMC<82.5 であれば 5%の危険率で呼吸商が 0.85 未満であることを予測できると考えられた。さらに、%AC=95・%AMC=92・回帰式より得られた呼吸商で患者を層別化し累積生存率を算出したところ、%AC・回帰式についてのみ有意差が認められた。

【考察及び結論】 %AC、%AMC は呼吸商の代替として肝硬変患者におけるエネルギー障害の指標として用いると考えられた。

共同研究者

白木 亮・岐阜大学医学部附属病院第一内科・助教

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、肝機能の低下した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生活の質 (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。

一方、呼吸商の低下した患者への就寝前食 (LES: Late evening snack) 施行によって、呼吸商・肝機能・QOL の改善が報告されており、欧米および日本の栄養ガイドラインでも推奨されている。しかしながら呼吸商の測定には間接カロリーメーターという高価で特殊な機械が必要であるため、日常臨床で広く一般に行えない。

そのため今回、呼吸商にかわって、日常臨床にて用いる生化学的あるいは身体的パラメータについて検討を行った。

B. 研究方法

岐阜大学医学部附属病院消化器内科入院中の肝硬変患者 44 例を対象とした (表 1)。年齢は平均 66 歳 (38 - 83)、男性 28 例、女性 16 例。肝硬変の病因としては、HBV が 1 例、HCV が 33 例、アルコール性が 6 例、

その他の病因によるものが4例であった。また肝硬変の程度は、Child-Pugh分類においてChild Aが16例、Child Bが19例、Child Cが9例であった。入院時肝細胞癌を合併していた患者は27例(61%)、また分岐鎖アミノ酸製剤を内服していた患者は16例(36%)であった。

検査前夜18時の夕食後より絶食とし、検査当日午前7時から9時の安静臥床時に間接カロリーメーターを用いて呼吸商を測定した。また同時に各種血液検査(血算・アルブミン・総ビリルビン・総コレステロール・プロトロンビン時間・遊離脂肪酸・分岐鎖アミノ酸/チロシンモル比など)を行い、さらに熟練した管理栄養士により、身長・体重・体格指数(BMI: body mass index)・上腕周囲長(AC: arm circumference)・上腕三頭筋部皮下脂肪厚(TSF: triceps skinfold thickness)・上腕筋囲(AMC: arm muscle circumference)を測定した。なお、AC・TSF・AMCの各身体計測値については、Japanese Anthropometric Reference Data (JARD 2001)をもとに、性別・年齢別に中央値を100%とするパーセント表記で記録した。以上のパラメータについて単回帰分析を行い、相関性を検討した。さらに、受信者動作特性(ROC: receiver operating characteristic)解析を用いて呼吸商が0.85となるカットオフ値を検討した。

#### C. 研究結果

(1) 呼吸商は肝機能の悪化と相関して有意に低下が認められた。

(2) 肝細胞癌の合併及び分岐鎖アミノ酸製剤の内服の有無と呼吸商の間には相関が認められなかった。

(3) 呼吸商に対し、%AC ( $r^2=0.204$ ,  $p=0.0021$ )・%AMC ( $r^2=0.178$ ,  $p=0.0043$ )に正の相関が認められた(図1)が、血液学的パラメータやその他の身体計測値と呼吸商の間には有意な相関が認められなかった。

(4) 予後の指標となる呼吸商0.85に対する各々のカットオフ値は、%AC 95・%AMC 92であった。

(5) 重回帰分析により、呼吸商 $=0.0019 \times$  (%AC) $-0.0134 \times$  (Child-Pugh score) $+0.7791$ の計算式が得られた。

(6) %AC $=95$ ・%AMC $=92$ ・回帰式より得られた呼吸商で患者を層別化し累積生存率を算出したところ、%AC・回帰式についてのみ有意差が認められた(図2)。

#### 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、さらに栄養治療介入による予後の改善が得られるため、各種ガイドラインでも栄養治療が推奨されている。

間接カロリーメーターで測定される呼吸商は、肝硬変患者のエネルギー栄養状態を評価可能であり、LES導入の指標として有用なパラメータである。しかし、間接カロリーメーターという特殊で高価な機器を用いる必要があるため、代替マーカーが必要とされており、本研究が計画された。

呼吸商との相関は、身体計測値では%AC・%AMCで認められたが、%TSFとの相関は認められなかった。%AC及び%AMCは全身の骨格筋量を反映し、%TSFは全身の脂肪量を反映しているとされており、肝硬変患者においてはエネルギー代謝の点で、脂肪量の低下より筋肉量の低下の方がより重要であることが示唆された。またACは、身体計測方法の標準化により検査者間での誤差を最小とされることが報告されており、その点においてもACは客観性の高い指標と考えられた。

さらに、%AC及びChild-Pugh scoreにより計算される重回帰式も、呼吸商の代替としての指標として用いることが示された。しかしながらChild-Pugh scoreには蛋白代謝のマーカーである血清アルブミン値が含まれており、実地臨床では呼吸商の代替となるエネルギー代謝パラメータは、簡便性の上でも%ACが推奨されると考えられた。

なお、今回の研究では各種血液検査と呼吸商の相関が認められず、血液検査における有用なマーカーは認めなかった。

#### E. 結論

%ACは、エネルギー栄養状態の指標である呼吸商の代替マーカーとなりうることを示唆された。各種ガイドラインでは、呼吸商が0.85未満ではLES導入を推奨しており、本研究の結果より呼吸商0.85未満に相当する%AC 95未満の患者において、LES導入望ましいと考えられた。

今後、さらに症例数を増やした前向き試験の施行や、LES導入の効果判定として短期間で評価できるパラメータの検討が課題と考えられた。

#### F. 健康危機情報

特になし。

#### G. 研究発表

1. 論文発表

1) Terakura Y, Shiraki M, Nishimura K, Iwasa J, Nagaki M, Moriwaki H. Indirect calorimetry and Anthropometry to Estimate Energy Metabolism in Patients with Liver Cirrhosis. J Nutr Sci Vitaminol. 2010 56:372-379.

2. 学会発表

1)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～ 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

2)第25回日本静脈経腸栄養学会 2010年2月25日 千葉県幕張 肝硬変患者における呼吸商の代替となるエネルギー代謝障害の指標についての検討 寺倉陽一、白木亮、西村佳代子、岩砂淳平、村上啓雄、森脇久隆

3)第46回日本肝臓学会総会 2010年5月28日 山形県山形市 肝硬変患者におけるエネルギー低栄養状態の指標としての呼吸商・身体計測値の検討 寺倉陽一、白木亮、岩砂淳平、村上啓雄、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

表1) 対象

	Cirrhosis (n = 44)	Child A (n = 16)	Child B (n = 19)	Child C (n = 9)	P**
Age (years)	66 (38 - 83)	63 (56 - 77)	69 (52 - 83)	64 (38 - 82)	0.1117
Gender (M / F)	28 / 16	10 / 6	12 / 7	6 / 3	0.9774
Height (cm)	159 (143 - 173)	161 (145 - 170)	158 (143 - 172)	159 (144 - 173)	0.4457
Weight (kg)	59 (39 - 87)	62 (48 - 74)	56 (39 - 67)	61 (47 - 87)	0.1784
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.4 (16.0 - 30.5)	23.9 (19.7 - 29.1)	22.7 (16.0 - 27.4)	24.0 (18.4 - 30.5)	0.4464
Etiology (HBV / HCV / Alcohol / Others)	1 / 33 / 6 / 4	0 / 13 / 2 / 1	1 / 14 / 2 / 2	0 / 6 / 2 / 1	0.7450
Hepatocellular carcinoma (+ / -)	27 / 17	13 / 3	12 / 7	2 / 7	0.0142
Supplementation with branched-chain amino acid (+ / -)	16 / 28	5 / 11	4 / 15	7 / 2	0.0176
Non-protein respiratory quotient	0.87 (0.70 - 0.99)	0.90 (0.84 - 0.97)	0.87 (0.77 - 0.99)	0.81 (0.70 - 0.94)	0.0092
Resting energy expenditure (kcal/day)	1218 (910 - 2103)	1274 (930 - 1664)	1132 (918 - 1660)	1297 (910 - 2103)	0.1431
Basal metabolic rate (kcal/day)	1238 (875 - 1762)	1306 (1073 - 1540)	1164 (875 - 1378)	1276 (990 - 1762)	0.0337
Albumin (g/dl)	3.1 (2.0 - 4.4)	3.3 (2.4 - 4.4)	3.0 (2.5 - 3.5)	2.6 (2.0 - 3.4)	0.0005
Total bilirubin (mg/dl)	1.6 (0.4 - 6.6)	1.3 (0.7 - 3.4)	1.3 (0.4 - 2.5)	2.9 (0.6 - 6.6)	0.0002
Alanine aminotransferase (IU/L)	62 (8 - 449)	77 (22 - 248)	39 (11 - 106)	85 (8 - 449)	0.1708
Prothrombin time (%)	70 (37 - 100)	77 (46 - 100)	69 (50 - 94)	60 (37 - 76)	0.0095
Free fatty acid (μEq/l)	661 (200 - 1291)	532 (200 - 1072)	649 (329 - 990)	848 (524 - 1291)	0.0377
Branched-chain amino acid and tyrosine ratio	3.13 (0.88 - 6.34)	3.57 (1.98 - 6.34)	3.15 (1.97 - 4.91)	2.47 (0.88 - 4.96)	0.2266
%arm circumference	99.7 (72.5 - 125.1)	107.2 (93.3 - 125.1)	96.0 (72.5 - 114.9)	94.1 (76.3 - 106.9)	0.0055
%triceps skinfold thickness	101.0 (33.3 - 185.7)	119.9 (55.6 - 185.7)	95.6 (46 - 140)	78.5 (33.3 - 168.4)	0.0214
%arm muscle circumference	100.3 (71.6 - 119.5)	104.2 (87.2 - 118.2)	97.8 (71.6 - 119.5)	98.7 (78.3 - 110.7)	0.2224

図1) 呼吸商と%AC・%AMCとの相関

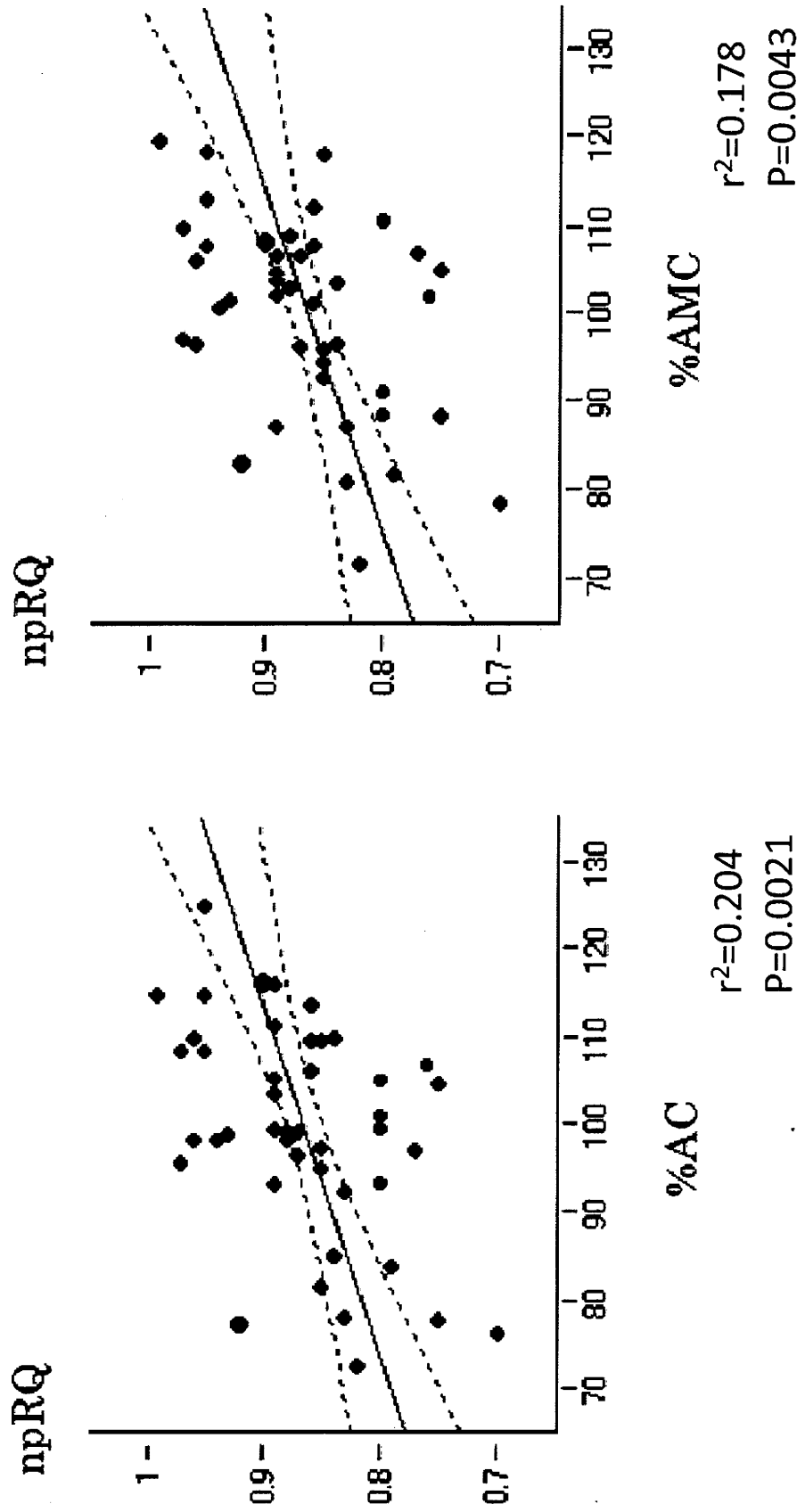
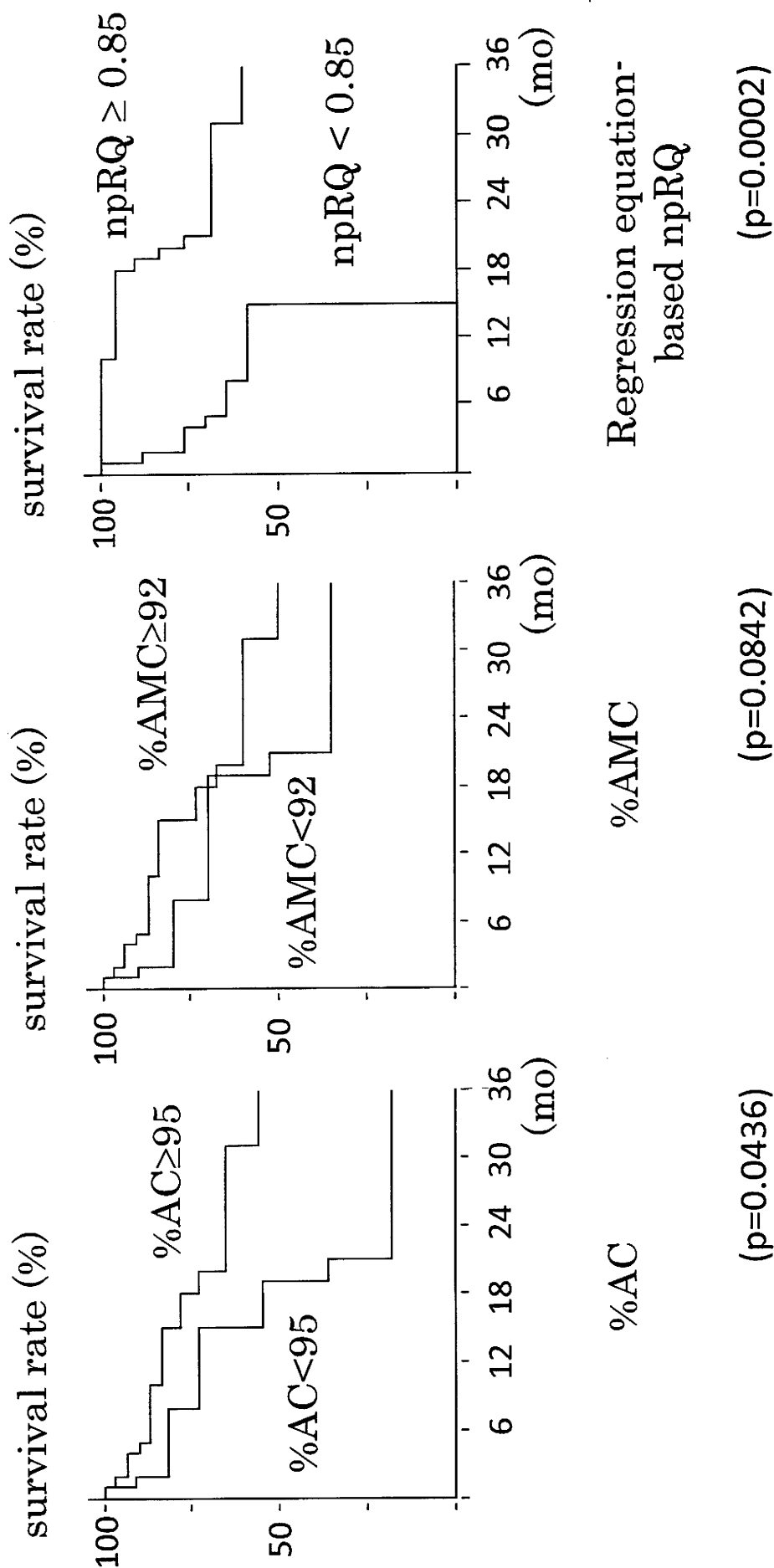




図2) %AC、%AMC、回帰式による推定呼吸商  
の各カットオフ値に対する累積生存率



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のガイドライン作成を目指した総合的研究班  
平成 22 年度分担研究報告書

## 肝硬変患者の病態と実態調査

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栄養病態を検討した。多施設での肝硬変の病態を性差により分けて検討した。成因では HCV、HBV には性差が無くアルコール性は男性が、NASH を含むその他の成因では女性が多い傾向を示した。BMI による層別解析では BMI25 未満では BMI25 以上に比べ高齢で肝癌の既往も多い傾向を示した。肝癌既往による層別解析では肝癌の既往のある群は既往のない群に比し、男性が多く高齢でアルブミン、血小板、血清脂質が低く血液アンモニア濃度が高く、肝の予備能の低下した症例が多くみられた。

### 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。

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、平成 20 年度には多施設での肝硬変の成因別の栄養病態を検討し報告した。対象症例としては腹水が無くかつ肝癌既往のない 448 例を対象とした。肝硬変の成因は HCV の占める割合が最も多くまた BMI25 以上の肝硬変は 3 割に認められた。また成因別に 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、HBV

に比して、アルコール性、その他の成因による肝硬変での BMI が高い傾向にあった。今回の検討ではこれらの対象症例を中心として肝癌の既往の有無で病態に差がないか、さらには肝癌の既往のある肝硬変での病態の特徴について検討した。肝癌の既往の有無により病態に差がないか否か検討することで、肝硬変の病態をより明らかにし肝発癌を視野に入れた肝硬変の栄養ガイドラインを作成することに寄与することを目的としている。

### B. 研究方法

全国 16 施設（北海道：旭川医科大学、東北：岩手医科大学、関東：獨協大学越谷病院、東海大学八王子病院、杏林大学、中部：岐阜大学、三重大学、MIWA 内科胃腸科

Clinic、近畿：大阪市立大学、関西医科大学、大阪厚生年金病院、兵庫医科大学、中国・四国：愛媛大学、川崎医科大学、九州：久留米大学、別府医療センター)に2007年5・6月に外来受診をした肝硬変患者を対象とした。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。統計検定はJMP version 5を用いた。

### C. 研究結果

(1) 患者背景 総症例数は733例(男性：366例、女性367例、平均年齢66.6歳)であり、そのうち、腹水を有する症例は110例で、肝癌の既往を有する症例が211例であった。対象症例の詳細について表1に示す。

#### 患者背景

総症例数 733例

項目	調査時点	患者例数 (例)
性別：男/女	366/367 (49.9%/50.1%)	N=733
年齢	66.6±9.8	N=732
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.44±9.8	N=613
血清アルブミン	3.48±0.8	N=719
総ビリルビン	1.30±1.10	N=719
血清総蛋白	6.90±0.8	N=724
血清総蛋白/血清アルブミン	1.98±0.4	N=624
血清アンモニア	87.1±9.8	N=682
胆红素/血清	0.1/0.45 (11.2%/88.8%)	N=724
胆红素/血清	110/614 (18.2%/81.8%)	N=724
肝臓腫瘍/血清	211/519 (38.3%/61.7%)	N=727

数値は例数(割合)またはmean±S.D.

肝硬変の成因別に対象症例を検討すると、HCV 293例(65.4%)、HBV 43例(9.6%)、アルコール性 56例(12.5%)、その他(自

己免疫性肝炎、PBC、NASH等) 56例(12.5%)の割合であった。

### (2) 肝癌既往による層別解析

対象症例を肝癌の既往の有無により2群に分け、各々の病態の差異を検討した。その結果、肝癌の既往のある群では有意差をもって男性(p=0.0045)が多く、年齢は高値(p<0.001)、血清アルブミン値は低く(p=0.0038)、血液アンモニア濃度は高い(p=0.0039)という結果であった。さらに、BMIの分布は肝癌の既往がある群ではBMI=22.76、肝癌の既往のない群ではBMI=23.68でありどちらの群もBMIが特徴的に高いというわけではないが、肝癌の既往のある群の方が低いという結果であった。

### 肝癌既往による層別解析

(解析対象 721例)

項目	肝癌既往			
	有り N=211 (29.3%)	不明 N=510 (70.7%)	有意差	統計
性別：男/女	117/94 (55.0%/45.0%)	241/269 (47.3%/52.7%)	N=510	<0.001*
年齢	66.5±9.8	66.8±10.9	N=610	<0.001*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.76±9.8	23.68±9.8	N=648	<0.001*
血清アルブミン	3.39±0.8	3.53±0.8	N=605	<0.001*
総ビリルビン	1.27±0.8	1.31±1.0	N=605	n.s.
血清総蛋白	6.79±0.8	6.93±0.8	N=610	<0.001*
血清総蛋白/血清アルブミン	1.98±0.4	1.98±0.4	N=632	n.s.
血清アンモニア	88.1±9.8	87.1±9.8	N=582	<0.001*
胆红素/血清	0.1/0.4	0.1/0.4	N=648	<0.001*
胆红素/血清	100/510 (19.6%/80.4%)	100/510 (19.6%/80.4%)	N=648	<0.001*
肝臓腫瘍/血清	100/111 (90.1%/9.9%)	111/409 (27.1%/72.9%)	N=612	<0.001*

数値は例数(割合)またはmean±S.D.  
\*) a: t test, b: Welch's test, c: x square test  
\*) 腹水有り症例を除く

7

### (3) 性差別のBMI層別解析

肝癌の既往が男性に多かったことから、性差を分けて検討した。

腹水症例を除く全症例の平均BMIは23.44kg/m<sup>2</sup>であり、男性のBMIの平均は23.43、女性のBMIの平均は23.45と差がなかった。HCV424例における平均BMIは23.11kg/m<sup>2</sup>であり、男性のBMIの平均は22.95、女性のBMIの平均は23.23と差がなかった。HBV60例における平均BMIは23.39kg/m<sup>2</sup>であり、男性のBMIの平均

は 23.38、女性の BMI の平均は 23.42 と HCV 同様に差がなかった。アルコール性 66 例における平均 BMI は 24.39kg/m<sup>2</sup> であり、男性の BMI の平均は 24.50、女性の BMI の平均は 23.75 と男性で高値の傾向を示した。

男性における BMI 別の層別解析を行った。その結果 BMI>25 の群(92 例)は BMI<25 の群(206 例)に比し、有意に高齢(p=0.006)で、血小板が低く(p=0.001)、血液アンモニア濃度が高値(p=0.009)であった。肝癌の既往は BMI>25 の群で 20.9%、BMI<25 の群で 33.7%であった。

女性における BMI 別の層別解析では BMI>25 の群((87 例)は BMI<25 の群(226 例)に比し、年齢や血小板数に有意さはないものの肝癌の既往は BMI>25 の群で 16.1%、BMI<25 の群で 26.4%の成績であった。

### BMIによる層別解析(女性)

(観察対象 316例)

項目	年齢	性別	観察時点別		p値	検定
			25以上 N=121(38.3%)	25未満 N=195(61.7%)		
年齢	33.48±8.81	♀	27.89±7.84	21.78±2.12	229	<0.001
性別	0.0±0.0	♀	0.0±0.0	0.0±0.0	229	N.S.
血清アルブミン	3.82±0.90	♀	3.82±0.66	3.58±0.81	226	N.S.
総ビリルビン	1.14±0.68	♀	1.23±0.68	1.10±0.68	229	N.S.
血小板数	18.21±11.04	♀	9.88±3.46	16.25±12.56	229	<0.001
血清アンモニア	112.8±78.1	♀	118.2±67.8	118.9±72.7	229	N.S.
γ-GTP	88.1±28.8	♀	92.1±28.8	84.2±28.1	226	N.S.
血清α1-酸性糖蛋白	180.7±23.2	♀	152.2±18.7	188.4±22.0	217	N.S.
血清γ-GT	81.4±37.8	♀	82.0±37.8	47.2±27.2	145	<0.01
年齢/性別	3.27±1.35	♀	2.28±1.47	5.41±1.90	116	N.S.
年齢/性別	19/288(6.9%)	♀	7/80(8.0%)	13/218(5.9%)	226	N.S.
年齢/性別	74/295(25.1%)	♀	34/73(31.8%)	40/167(23.8%)	227	<0.001

数値は例数(割合)またはmean±S.D.  
a) a: t test, b: Welch's test, c: x square test  
\*2) 観測有り観測を除く

18

### BMIによる層別解析(男性)

(観察対象 298例)

項目	年齢	性別	観察時点別		p値	検定
			25以上 N=92(30.9%)	25未満 N=206(69.1%)		
年齢	23.43±8.89	♂	27.47±2.40	21.82±1.23	226	<0.001
性別	0.0±0.0	♂	0.0±0.0	0.0±0.0	226	N.S.
血清アルブミン	3.80±0.88	♂	3.99±0.83	3.43±0.88	226	N.S.
総ビリルビン	1.22±0.92	♂	1.26±1.18	1.16±0.77	226	N.S.
血小板数	18.29±7.49	♂	8.86±4.30	18.87±8.91	226	<0.001
血清アンモニア	122.8±44.8	♂	126.1±28.4	123.7±43.4	140	N.S.
γ-GTP	87.8±22.8	♂	100.9±24.0	86.4±20.8	134	N.S.
血清α1-酸性糖蛋白	180.1±29.8	♂	151.2±20.9	150.1±20.7	191	N.S.
血清γ-GT	68.5±28.8	♂	71.0±28.8	52.8±24.8	131	<0.001
年齢/性別	4.05±2.18	♂	2.83±1.88	4.13±2.33	127	N.S.
年齢/性別	26/271(9.6%)	♂	11/91(12.0%)	15/181(8.3%)	226	N.S.
年齢/性別	84/296(28.4%)	♂	38/73(52.1%)	46/196(23.5%)	225	<0.001

数値は例数(割合)またはmean±S.D.  
a) a: t test, b: Welch's test, c: x square test  
\*2) 観測有り観測を除く

17

### (4) 性差別の肝癌既往の有無による層別解析

男性における肝癌既往の有無による層別解析を行った。その結果肝癌既往を有する群(117 例)は肝癌の既往のない群(241 例)に比し、有意に高齢(p=0.0001)で、血清アルブミンが低値(p=0.01)、であった。肝癌の既往を有する群の BMI の平均は 22.66 で既往を有さない群の BMI の平均 23.72 に比し低値であった。

女性における肝癌既往の有無による層別解析の結果、肝癌既往を有する群(94 例)は肝癌の既往のない群(269 例)に比し、男性同様に有意に高齢(p=0.0044)で、血清アルブミンも低値(p=0.03)、であった。肝癌の既往を有する群の BMI の平均は 22.88 で既往を有さない群の BMI の平均 22.64 と有意差はなかった。

### 肝癌既往による層別解析(女性)

(観察対象 363例)

項目	年齢	性別	肝癌既往		p値	検定
			有り N=94(25.9%)	無し N=269(74.1%)		
年齢	68.8±8.8	♀	70.2±7.1	68.4±8.3	269	<0.001
年齢/性別	22.68±8.81	♀	22.88±2.01	22.64±8.47	269	N.S.
血清アルブミン	3.48±0.96	♀	3.37±0.97	3.53±0.94	266	<0.01
総ビリルビン	1.28±1.18	♀	1.33±0.80	1.28±1.23	264	N.S.
血小板数	9.88±10.88	♀	9.88±1.8	10.22±11.80	269	N.S.
血清アンモニア	118.4±78.1	♀	118.4±78.1	118.8±78.2	272	N.S.
γ-GTP	84.8±28.8	♀	78.7±28.7	87.9±28.7	148	<0.001
血清α1-酸性糖蛋白	147.8±23.8	♀	128.4±28.8	150.2±24.8	248	<0.001
血清γ-GT	32.8±28.8	♀	39.3±28.3	30.2±18.4	110	N.S.
年齢	3.28±1.32	♀	3.48±2.32	3.87±1.98	134	N.S.
年齢/性別	23/220(10.5%)	♀	10/84(10.8%)	23/269(8.6%)	269	N.S.
年齢/性別	48/218(22.0%)	♀	10/78(12.8%)	29/240(12.1%)	269	<0.01
年齢/性別	84/269(31.2%)	♀	34/73(46.6%)	50/196(25.5%)	225	<0.001

数値は例数(割合)またはmean±S.D.  
a) a: t test, b: Welch's test, c: x square test  
\*2) 観測有り観測を除く

22

## 肝癌既往による層別解析(男性)

(観察対象 359例)

項目	単位	全例 N=359	肝臓機能					
			AST U/L	ALT U/L	ALP U/L	γ-GTP U/L		
年齢	歳	64.2±10.8	158	66.8±20.3	157	52.3±11.4	241	64.9±20.1
BMI (2)	kg/m <sup>2</sup>	23.4(23.97)	296	23.4(23.96)	157	23.7(23.78)	238	23.6(23.97)
血清アルブミン	g/L	3.50±0.91	151	3.41±0.93	157	3.54±0.95	238	3.49±0.94
血小板	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1.31±1.06	151	1.23±0.75	155	1.38±1.10	237	1.31±1.06
血清アンモニア	mg/dl	10.1±7.21	150	9.4±6.10	157	10.4±8.97	231	10.1±7.21
胆红素	mg/dl	1.2±0.41	151	1.0±0.40	156	1.0±0.40	237	1.1±0.41
γ-GTP/ALP	ratio	52.2±21.0	150	60.2±20.8	156	34.2±14.3	236	52.2±21.0
血清アスパラギン酸	U/L	148.8±33.3	151	144.3±34.3	156	150.8±33.9	236	148.8±33.3
血清アミラーゼ	U/L	81.2±40.5	150	85.3±39.3	151	83.3±41.1	236	81.2±40.5
AST/ALT	ratio	4.01±2.18	150	4.48±2.84	157	3.78±1.90	236	4.01±2.18
AST/γ-GTP	ratio	48.2(10.18.45)	150	21.9(9.17.98)	157	27.2(14.11.34)	231	48.2(10.18.45)
AST/ALP	ratio	62.7(38.17.38)	150	23.7(9.14.43)	157	23.2(9.13.74)	231	62.7(38.17.38)
AST/γ-GTP/ALP	ratio	1.17(1.01.13.79)						1.17(1.01.13.79)

数値は算術平均値±標準偏差(S.D.)  
a) a-t test, b) Welch's test, c) x square test  
\*2) 縦軸を対数変換

21

### 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病態を性差により分けて検討した。

成因では HCV、HBV には性差が無くアルコール性は男性が、NASH を含むその他の成因では女性が多い傾向を示した。

BMI による層別解析では BMI25 未満では BMI25 以上に比べ高齢で肝癌の既往も多い傾向を示した。

肝癌既往による層別解析では肝癌の既往のある群は既往のない群に比し、男性が多く高齢でアルブミン、血小板、血清脂質が低く血液アンモニア濃度が高く、肝の予備能の低下した症例が多くみられた。

近年、肝硬変に伴う肝発癌症例の増加があり、ことに HCV 症例では肝硬変からの発癌率が年率 7% と高率であることが注目されている。肝硬変症例での肝発癌の促進因子としては HCV または HBV が陽性であること、男性であること、肝機能の安定がないこと、糖代謝異常があること、さらに肥満などの因子が上げられている。

今回の検討で、肝癌の既往例を性差や BMI の面に注目して検討したところ、前述

のように、肝癌の既往例の病態的な特徴としては高齢の男性で、肝の重症度が高い症例であることが明らかとなった。BMI の面からは必ずしも BMI が 25 以上で肝癌の既往は多くなかった。このことが肥満の因子が肝癌の発癌促進因子であることを否定するものではなく、年齢や性差、肝予備能様々な因子が肝発癌に関与していることを示したものと理解される。肝発癌を視野に入れた栄養ガイドラインを作成する場合には、一律に肝硬変の至適エネルギー量を ESPEN のガイドラインを適応するのではなく年齢や性差、肝予備能も考慮に入れて、検討すべきであると考えられた。

### E. 結論

多施設での肝硬変の病態を性差により分けて検討した。

成因では HCV、HBV には性差が無くアルコール性は男性が、NASH を含むその他の成因では女性が多い傾向を示した。

BMI による層別解析では BMI25 未満では BMI25 以上に比べ高齢で肝癌の既往も多い傾向を示した。

肝癌既往による層別解析では肝癌の既往のある群は既往のない群に比し、男性が多く高齢でアルブミン、血小板、血清脂質が低く血液アンモニア濃度が高く、肝の予備能の低下した症例が多くみられた。

### F. 健康危険情報

無し

### G. 研究発表

- 1) 加藤章信、鈴木一幸:肝性脳症,今日の消化器疾患治療指針 第3版 編集:幕内雅敏、菅野健太郎、工藤正俊, 医学

- 書院,2010; 558-560
- 2) 加藤章信:肝性脳症,今日の診断指針 第6版金澤一郎,永井良三編,,医学書院,2010;349-351
- 3) 加藤章信:肝性脳症,肝硬変診療ガイドライン 編集:日本消化器病学会,2010;160-175
- 4) 加藤章信,鈴木一幸,遠藤龍人:肝炎、肝不全,日本臨牀,2010;68(3):358-361
- 5) 加藤章信:肝硬変に対する経口分岐鎖アミノ酸製剤の使い分けと投与のタイミング, Modern Physician,2010;30(2):309
- 6) 加藤章信:知っておきたい潜在性の肝性脳症とその診断, Modern Physician,2010; 30(3):425
- 7) 加藤章信:肝不全の代謝制御と栄養管理は?,重症患者と栄養管理 Q&A 編集:東口高志,2010;総合医学社:162-167
- 8) 加藤章信:分岐鎖アミノ酸,静脈経腸栄養,2010;25(5):1051-1056
- 9) 加藤章信,鈴木一幸:肝硬変,薬局,2010;468-471
- 10) Kuroda H, Ushio A, Miyamoto Y, Sawara K, Oikawa K, Kasai K, Endo R, Tkakikawa Y, Kato A, Suzuki K:Effects of branched-chain amino acid-enriched nutrient for patients with hepatocellular carcinoma following radiofrequency ablation: a one-year prospective trial, J Gastroenterol Hepatol,2010;25
- 11) 加藤章信・鈴木一幸:分岐鎖アミノ酸. 肝硬変に対する栄養サポートのエビデンス, J JSPEN 25, 1051-1055, 2010

む。)

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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 22 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—

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：

本邦に多く存在する C 型慢性肝炎、アルコール性肝障害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。また、最近、増加している非アルコール性脂肪性肝疾患 (Nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD) においても同様の病態が認められている。しかし、より進行した肝硬変における鉄過剰症の実態は明らかとなっていない。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。これまでの研究で、我々は metal-free high performance liquid chromatography system (HPLC) を用いて高感度な NTBI 測定系を確立した。本研究では、肝硬変例の血清 NTBI が健常者または NAFLD 例と比較して有意に上昇し、鉄毒性が病態に関与していることを見出した。

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

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

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

制効果があると報告されている。また、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は成因にかかわらず高頻度に肝内鉄過剰となっていることを報告している。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。

我々はこれまでの研究で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させることに成功している。今回は肝硬変患者、健常ボランティア、非アルコール性脂肪性肝疾患患者の血清NTBI値を比較検討した。

## B. 研究方法

肝硬変患者における食餌鉄摂取状に

## 関する大規模実態調査

肝硬変患者の食餌鉄摂取量・血清フェリチンの調査を本研究班の全体研究の一環として行った。対象・方法の概要は以下である。

### 【対象】

#### ● 選択基準

研究参加施設消化器内科外来に受診した20歳以上の肝硬変患者(成因はB型、C型を中心にアルコール性、自己免疫性、非アルコール性脂肪性肝炎なども含む)、ウイルス性慢性肝炎(B型、C型)と脂肪肝(非アルコール性脂肪性肝炎)患者で本試験の説明を受け、その意義を理解し、文書による同意が得られた患者である。なお、自己免疫性肝硬変には原発性胆汁性肝硬変も含める。

#### ● 除外基準

- ① 年齢20歳未満の患者
- ② ウイルソン病、ヘモクロマトーシスによる肝硬変患者
- ③ 半年以内に肝癌の治療を行った患者
- ④ 半年以内に食道胃静脈瘤の治療を行った患者
- ⑤ 鉄剤投与中の患者
- ⑥ 透析治療を要する腎不全患者
- ⑦ その他、担当医師が本研究の対象として不適当であると認めた患者

### 【研究方法】

研究期間に外来受診した肝硬変患者、慢性肝炎、脂肪肝患者の臨床データ、生活アンケート、身体計測、食事



摂取量調査を行う。食事調査は患者本人記入による3日間の食事調査票を基にし、管理栄養士がフードモデルや写真を併用しながらインタビュー形式で摂取量の確認を行い、総エネルギー量、三大栄養素（タンパク、脂質、炭水化物）、微量栄養素である鉄や亜鉛の摂取量の調査を行う。

#### 【評価項目】

- (1) 一日当りの鉄摂取量 (mg/日)
- (2) 血清鉄マーカー（血清鉄, TIBC, 血清フェリチン）

#### 【研究期間】

調査期間：2009年8月20日～2010年9月30日

研究期間：2009年8月20日～2011年3月31日（予定）

#### 【参加研究施設】

厚生労働省科学研究（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」（鈴木班）の研究分担者または研究協力が所属する施設およびその関連施設（旭川医科大学、岩手医科大学、大阪厚生年金病院、大阪市立大学、岐阜大学、久留米大学、倉敷成人病センター、東北大学、独協医科大学越谷病院、三重大学）

#### 【倫理的配慮】

本研究は、「世界医師会ヘルシンキ宣言（2004年）」と「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、参加患者本人の自由意思による同意を文書で得た。患者の診療情報は匿名化した。また、本研究の遂行にあたっては各共同研究施設の倫理審査委員会の承認を得た。

#### 肝硬変患者の血清NTBIの検討（単施設検討）

##### 【対象】

2005年1月から2010年4月までに旭川医科大学病院に外来通院または入院加療をした肝硬変72名、NAFLD患者37名と健常ボランティアで血清ALT値が男性30 IU/L以下(19名)、女性20 IU/L以下(14名)をコントロールとした。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】

血清NTBI測定に関しては当研究室では基礎臨床研究棟に non-metal high performance liquid chromatography (HPLC) system を用いた定量システムを導入した。以下に本高感度NTBI測定の概要を述べる。

- 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 上記血清中にキレート剤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 を限外濾過法で、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。

#### 【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、適当量を分注し-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

#### 肝硬変患者における食餌鉄摂取状に関する大規模実態調査

まず鈴木班全体研究の「肝硬変患者における栄養摂取状況と病態の進展に関する大規模実態調査」の中で肝硬変患者の鉄過剰状態の有無と食事による鉄摂取量の調査を行った。全国10施設から登録された肝硬変 (LC) 120例と対照群として慢性肝炎 (CH) 87例、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 31例で比較した。各疾患群の患者の一日当たりの鉄摂取量中央値はLC 6.7 mg/日、CH 7.1 mg/日、NAFLD 7.5 mg/日であり、肝硬変が他群と比較して摂取量が増加していることはなかった (表1)。

表1：肝硬変患者の食事中鉄摂取量

	LC	CH	NAFLD
Total number of values	120	87	31
Minimum	0.66	0.71	3.8
25% Percentile	5.4	5.4	5.4
Median	6.7	7.1	7.5
75% Percentile	8	7.9	10
Maximum	13.1	15.1	13.3
Mean	6.79883	6.95299	7.59355
Std. Deviation	2.10362	2.09227	2.49492
Std. Error	0.192033	0.224315	0.448101
Lower 95% CI of mean	6.41859	6.50706	6.67841
Upper 95% CI of mean	7.17907	7.39891	8.50869

また、貯蔵鉄マーカーである血清フェリチン値を3群で比較すると中央値はLC 98.25 ng/mL、CH 141.4 ng/mL、NAFLD 93.1 ng/mLで、肝硬変はCHより低値で、NAFLDと同程度であった(表2)。

表2：肝硬変患者の血清フェリチン値

	LC	CH	NAFLD
Total number of values	98	39	37
Minimum	3.2	18.4	5.7
25% Percentile	38	54.1	60.1
Median	98.25	141.4	93.1
75% Percentile	218.7	224.9	220
Maximum	1624.7	677.3	441
Mean	166.574	187.905	139.281
Std. Deviation	214.927	177.929	110.12
Std. Error	21.7109	28.4914	18.1035
Lower 95% CI of mean	123.485	130.228	102.565
Upper 95% CI of mean	209.664	245.583	175.997

### 肝硬変患者の血清 NTBI の検討 (単施設検討)

肝硬変患者の血清 NTBI 値を当施設症例で検討した。肝硬変症例 73 名の臨床像は男性 49 名、女性 23 名。年齢の中央値は 66 歳。成因は B 型肝炎ウイルス起因が 14 名、C 型肝炎ウイルス起因が 42 名、アルコール性が 6 名、NASH 関連が 4 名、自己免疫性(AI)が 2 名、その他が 4 名であった (表 3)。

健常ボランティア、NAFLD の NTBI 中央値がそれぞれ 0.203, 0.348 であるのに対し、肝硬変患者では 0.4375 であった (表 4)。

肝硬変の NTBI を成因別で検討すると全体では 0.4375、B 型肝炎ウイルス関連が 0.7295、C 型肝炎ウイルス関連が 0.3405、アルコール性が 0.642 であった (表 5)。

表3：肝硬変患者の臨床像

Gender (M : F)	49 : 23
Age	66
Causes (B : C : AL : NASH : AI : Others)	14 : 42 : 6 : 4 : 2 : 4
BMI	23.0
Deuretics	29
Lactulose	14
BCAA	23
Varix	14
Ascites	18
HCC (none : early : advance)	20 : 13 : 39
WBC	3645
Hgb	12.7
PLT	92 x E3
PT%	75.5
ALB	3.6
Tbil	1.0
AST	50
ALT	36
GGT	48
Cre	0.75
AMMO	70
S-Fe	118
TIBC	326
%Tf	38.3
Ferritin	110.4
NTBI	0.437

表4：肝硬変患者の血清 NTBI

	LC	Healthy Control	NAFLD
Total number of values	70	33	37
Minimum	0.007	0	0
25% Percentile	0.18175	0.1015	0.0625
Median	0.4375	0.203	0.248
75% Percentile	0.749	0.305	0.4035
Maximum	5.311	0.653	1.098
Mean	0.6036	0.20303	0.266784
Std. Deviation	0.762453	0.136223	0.239105
Std. Error	0.0911306	0.0237133	0.0393086
Lower 95% CI of mean	0.421798	0.154727	0.187062
Upper 95% CI of mean	0.785402	0.251333	0.346506

表5：肝硬変の成因別における血清 NTBI

	All	B	C	AL
Total number of values	70	14	42	6
Minimum	0.007	0.016	0.007	0.193
25% Percentile	0.18175	0.455	0.152	0.26425
Median	0.4375	0.7295	0.3405	0.642
75% Percentile	0.749	1.11275	0.525	0.7755
Maximum	5.311	3.449	1.366	0.993
Mean	0.6036	0.883643	0.396762	0.576833
Std. Deviation	0.762453	0.824734	0.332661	0.293735
Std. Error	0.0911306	0.22042	0.0513307	0.119917
Lower 95% CI of mean	0.421798	0.407455	0.293096	0.268577
Upper 95% CI of mean	0.785402	1.35983	0.500427	0.88509

#### D. 考察

慢性肝疾患の終末像である肝硬変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。

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、血中を輸送されている。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。

鈴木班全体研究の「肝硬変患者における栄養摂取状況と病態の進展に関する大規模実態調査」では肝硬変患者の食餌鉄摂取量は慢性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患群に比較し増加していなかった。これは肝硬変において鉄摂取量が増加していないことを確認する結果となった。また、従来の貯蔵鉄マーカーである血清フェリチンの中央値は肝硬変群においては 98.25 ng/mL と高くはないが、150 以上の高値例が多数含まれており、症例間のばらつきが大きいと考えられた。

旭川医科大学の単施設での血清 NTBI の検討では、対象の血清フェリチンの中央値は 110.4 ng/mL であった。鈴木班全体研究の多施設調査の肝硬変母集団の血清フェリチン値と差がなく、両母集団における貯蔵鉄に差はないと考えられた。当施設での肝硬変例では血清フェリチンがさほど高くはないにもかかわらず、健常者、非アルコール性脂肪性肝疾患例に比べ Redox 活性のあり、非特異的に実質細胞に取り込まれる NTBI が上昇していた。このことから肝硬変患者においてはさほど高くない血清フェリチン値の場合でも鉄毒性の直接指標である血清 NTBI が上昇している可能性があり、肝硬変患者における血清フェリチン値の基準値を血清 NTBI の測定結果から再考する必要があると考えられた。