

学 位 論 文

論 文 題 目

〈邦 文〉

慢性肝疾患の治療向上を目指したビタミン剤
及び栄養剤の効果に関する研究

〈欧 文〉

Research on the effects of vitamin and nutrients to improve
the therapy in chronic liver disease

申請研究科名	薬学研究科
申請者氏名	藤 岡 愛 子

研究背景・目的

本邦の2015年の慢性肝炎罹患者数は、ウイルス性肝炎300万人、非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis；以下 NASH）300～400万人、アルコール性肝障害250万人、自己免疫性肝炎3万人、原発性胆汁性胆管炎3万7千人と推計されており、慢性肝炎全体で約950万人に上る。肝臓での炎症が持続して肝細胞の壊死と再生が繰り返されると、肝細胞の間隙に線維組織が増生し、10～30年の経過により肝臓が硬化して肝機能が低下した状態、すなわち肝硬変に進展する。肝硬変の進行した患者は、腹水による腹部膨満感、食欲不振、体動困難、肝性脳症による意識障害、異常行動、羽ばたき振戦などの症状を呈し、日常生活動作が著しく制限され、生活の質（quality of life；以下 QOL）が低下する。さらに、肝硬変患者は肝細胞癌発症の危険性が高く、C型肝炎から進展した肝硬変患者の発癌率は年間7%であり、肝細胞癌患者の5年生存率は約35%と極めて低い。本邦では2015年時点で、肝硬変患者が約40～50万人、肝細胞癌患者が3万7千人存在し、肝細胞癌で年間2万6千人が死亡していることから、肝硬変の予防及び症状管理は重要課題となっている。本研究では、肝疾患患者の生命予後改善を目指した薬物療法の検討を目的として、ビタミン剤の有効性及び栄養剤の効果的な投与方法に関する研究を実施した。

非アルコール性脂肪性肝疾患におけるビタミンEの効果

慢性肝炎に移行する肝疾患のうち、B型肝炎、C型肝炎に対しては経口抗ウイルス薬が上市され、多くの患者で肝硬変への進展が抑制され、肝細胞癌による死亡者数は2000年以降減少している。一方、本邦では食事の欧米化や運動不足により肥満や糖質の過剰摂取者が増加し、肝臓に脂肪が蓄積する非アルコール性脂肪性肝疾患（nonalcoholic fatty liver disease；以下 NAFLD）が急増している。NAFLDの10～20%は5～10年後に炎症を伴うNASHに進展し、2000年以降、NASH由来の肝硬変及び肝細胞癌が増加していることから、NAFLDの治療は重要性を増している。しかしながら、NAFLDに保険適応のある治療薬は存在しない。非アルコール性脂肪肝からNASHへの進展は酸化ストレスが深く関与していることから、抗酸化作用のあるビタミンEの効果が期待できる。本研究では、1日あたり150～600 mgのビタミンE（ α -トコフェロール）を1年間経口投与したNAFLD患者38例を後ろ向きに調査した。その結果、ビタミンE投与後に肝・胆道系酵素の3項目（AST、ALT、 γ -GTP）、非侵襲的線維化スコアリングの2項目（FIB-4 index、APRI）、及び超音波エラストグラフィで測定した肝組織の硬度の指標である剪断弾性波の速度（Vs）が改善することを明らかにした。また、これらの効果は、NAFLDの発症やNASHの進展に関与する疾患感受性遺伝子Patatin-like phospholipase domain containing 3（PNPLA3）のリスクアレルを保有する患者群においても得られることを確認した。

肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の切り替え効果

肝臓の重要な機能の一つに栄養素の代謝・貯蔵があり、多くの肝硬変患者は肝臓でのグリコーゲン貯蔵量が減少して糖新生が十分に機能せず、夜間など長時間の空腹時に容易に飢餓状態になる。その代償として、筋肉や脳など肝臓以外での利用速度が速い分岐鎖アミノ酸（branched-chain amino acid；以下 BCAA）がエネルギー基質として利用される。これにより、肝硬変患者では血中BCAA濃度が低下し、骨格筋からアミノ酸が供給され、筋蛋白の崩壊が進行する。この蛋白質エネルギー栄養障害が進行すると、骨格筋量の減少、内臓蛋白の減少、及び免疫機能障害を合併し、生

（名城大学大学院）

命の危機に陥る。したがって、肝硬変患者に対しては BCAA とエネルギーを補給する薬物療法を実施し、蛋白質合成を促進することが重要視されている。現在、本邦の処方箋医薬品のうち、保険診療上使用可能な経口 BCAA 製剤には、主に BCAA 顆粒（リーバクト®配合顆粒）と肝不全用経腸栄養剤（アミノレバン®EN 配合散）の 2 種類がある。臨床現場では、両薬剤は患者の食事摂取状況及び肝硬変の重症度に応じて主治医の判断で使い分けられている。また、欧州臨床栄養代謝学会のガイドラインでは、肝硬変患者の夜間及び早朝の飢餓状態に対し、就寝前に 200 kcal 程度の軽食を摂取する就寝前エネルギー投与（late evening snack；以下 LES）が推奨されている。しかしながら、BCAA 製剤の具体的な投与方法や 2 剤の併用療法、LES を組み合わせた治療法については十分検討されておらず、肝硬変患者の薬物療法は確立していない。

本研究では、BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者 26 例を、BCAA 顆粒 1 日 3 包（BCAA 含有量 12.0 g）から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 包（BCAA 含有量 11.1 g、LES 投与を含む）に切り替えた 16 例と BCAA 顆粒 1 日 3 包を継続した 10 例の 2 群に分類し、両群の栄養状態改善効果を比較する 6 か月間の前向き臨床試験を実施した。その結果、肝不全用経腸栄養剤に切り替えた患者群において、血清アルブミンの上昇効果は得られなかったが、肝不全の指標である総分岐鎖アミノ酸対チロシンモル比（molar ratio of total branched-chain amino acid to tyrosine；BTR）が切り替え 6 か月後に改善することが明らかになった。

肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の 2 剤併用効果

2 種類の BCAA 製剤は保険適応となる対象患者が異なることから、日常診療において併用されることはない。本研究では BCAA 製剤 2 剤を組み合わせ、BCAA 投与量を 1 日あたり 17.6 g に増量した薬物療法を考案し、BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、肝不全用経腸栄養剤を LES として就寝前に 1 包追加する薬物療法を実施した 40 例を後ろ向きに調査した。その結果、血清アルブミン値に影響を及ぼす要因（肝細胞癌治療、上部消化管出血、及びアルブミン輸注）のあった患者を除外したサブグループ解析において、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値が改善し、その効果は肝硬変の重症度で 3 群に分けた Child-Pugh 分類の Grade B の患者で特に効果的であることが明らかになった。

総括

慢性肝疾患は早期に適切な治療が実施されない場合、慢性肝炎から肝硬変や肝臓に進展し、血清アルブミンの低下による腹水や BCAA の不足による肝性脳症など、QOL を低下させる症状の合併や骨格筋量減少を引き起こし、生命予後に影響を及ぼす。慢性肝炎に移行する肝疾患の中でも、NAFLD は近年患者数が増加しているが、保険適応となる治療薬は存在しない。本研究では NAFLD 患者の肝炎鎮静化及び肝硬変への進展予防に効果が期待できる治療薬として、ビタミン E の有効性を検証した。また、肝硬変・肝不全患者の栄養状態改善を目的に投与される 2 種類の BCAA 製剤を組み合わせた併用療法の効果的な投与量及び投与方法を検討し、その併用療法が予後との関係が深い血清アルブミン値を改善することを実証した。慢性肝疾患の複雑な病態から、より効果的な薬物療法を検証することは、科学的根拠に基づいた医療の提供の一助となる。本研究の成果は、慢性肝疾患の QOL 向上、ひいては生命予後の改善に貢献できるものと考えられる。

目次

略語一覧	1 頁
序論	3 頁
第 1 章 非アルコール性脂肪性肝疾患におけるビタミン E の効果	
緒言	9 頁
方法	10 頁
結果	12 頁
考察	17 頁
小括	19 頁
第 2 章 慢性 C 型肝炎における骨格筋量減少とその関連因子の探索	
緒言	20 頁
方法	21 頁
結果	22 頁
考察	33 頁
小括	35 頁
第 3 章 肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の切り替え効果	
緒言	36 頁
方法	38 頁
結果	39 頁
考察	43 頁
小括	44 頁
第 4 章 肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の 2 剤併用効果	
緒言	45 頁
方法	46 頁
結果	48 頁
考察	53 頁
小括	55 頁
総括	56 頁
謝辞	58 頁
引用文献	59 頁

略語一覧

略語	英語	日本語
AAA	aromatic amino acid	芳香族アミノ酸
AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases	米国肝臓学会
ADL	activities of daily living	日常生活動作
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ARFI	acoustic radiation force impulse	音響放射圧
AST	asparatate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ASPEN	American Society for Parenteral and Enteral Nutrition	米国静脈経腸栄養学会
AWGS	Asian Working Group for Sarcopenia	サルコペニアに関するアジアワーキンググループ
BCAA	branched-chain amino acid	分岐鎖アミノ酸
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer	バルセロナ臨床肝癌病期分類
BIA	bioelectrical impedance analysis	生体インピーダンス分析
BMI	body mass index	体格指数
BSC	best supportive care	ベストサポーティブケア
BTR	molar ratio of total branched-chain amino acid to tyrosine	総分岐鎖アミノ酸対チロシンモル比
CHC	chronic hepatitis C	慢性 C 型肝炎
CLC	HCV-related liver cirrhosis	C 型肝炎硬変
CP-A	Child-Pugh grade A	Child-Pugh 分類グレード A
CP-B	Child-Pugh grade B	Child-Pugh 分類グレード B
CP-C	Child-Pugh grade C	Child-Pugh 分類グレード C
CT	computed tomography	コンピュータ断層撮影
DEXA	dual energy X-ray absorptiometry	二重エネルギー X 線吸収測定法
ESPEN	European Society for Clinical Nutrition and Metabolism	欧州静脈経腸栄養学会
EWGSOP	European Working Group on Sarcopenia in Older People	高齢者のサルコペニアに関する欧州ワーキンググループ
FIB-4	fibrosis-4	—
GCP	Good Clinical Practice	臨床試験の実施基準
GS	gall stone	胆石

略語	英語	日本語
γ-GTP	γ-glutamyltranspeptidase	γ-グルタミントランスペプチダーゼ
GWAS	genome-wide association study	全ゲノム関連解析
HCC	hepatocellular carcinoma	肝細胞癌
HCV	hepatitis C virus	C型肝炎ウイルス
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A	3-ヒドロキシ-3-メチル グルタリル CoA
IWGS	International Working Group on Sarcopenia	サルコペニアに関する国際 ワーキンググループ
L3	the third lumbar vertebra	第3腰椎
L3-SMI	the third lumbar vertebra skeletal muscle mass index	第3腰椎レベルの骨格筋量指数
LES	late evening snack	就寝前エネルギー投与
M2BPGi	mac-2 binding protein glycosylation isomer	Mac-2 結合蛋白糖鎖修飾異性体
MRI	magnetic resonance imaging	磁気共鳴画像
mTOR	mammalian target of rapamycin	哺乳類ラパマイシン標的蛋白質
NAFL	nonalcoholic fatty liver	非アルコール性脂肪肝
NAFLD	nonalcoholic fatty liver disease	非アルコール性脂肪性肝疾患
NASH	nonalcoholic steatohepatitis	非アルコール性脂肪肝炎
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey	国民健康栄養調査
PIVENS	pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis	—
PEIT	percutaneous ethanol injection therapy	経皮的エタノール注入療法
PEM	protein energy malnutrition	蛋白質エネルギー栄養障害
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain containing 3	パタチン様ホスホリパーゼ ドメイン含有蛋白質 3
QOL	quality of life	生活の質
RFA	radiofrequency ablation	ラジオ波焼灼療法
SNP	single-nucleotide polymorphism	一塩基多型
TACE	transcatheter arterial chemoembolization	肝動脈化学塞栓術
TLC	total lymphocyte count	総リンパ球数
Vs	velocity of shear wave	剪断弾性波の速度

序論

肝疾患にはウイルス性肝炎、脂肪肝、アルコール性肝障害、自己免疫性肝炎など様々な種類が存在する。肝疾患の中でもウイルス性肝炎（B型、C型）、非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis；以下 NASH）、及びアルコール性肝障害は、肝臓での炎症が6か月以上持続する慢性肝炎に高率に移行する。2015年の慢性肝炎罹患者数は未受診患者も含め、ウイルス性肝炎（B型、C型）300万人、NASH 300～400万人、アルコール性肝障害 250万人、自己免疫性肝炎 3万人、原発性胆汁性胆管炎 3万7千人と推計されており、慢性肝炎全体で約950万人に上る（図1）。慢性肝炎が持続し肝細胞の壊死と再生が繰り返されると、肝細胞の間隙に線維組織が増生する線維化が進行し、10～30年の経過により肝臓が硬化して肝機能が低下した状態、すなわち肝硬変に進展する。慢性肝炎から肝硬変に進展する割合は肝疾患の種類により異なり、C型肝炎ウイルス

（hepatitis C virus；以下 HCV）に感染した場合、約70%が慢性肝炎に移行し、その約60%が肝硬変に進展する。日本肝臓学会の2015年の統計によると肝硬変患者は40～50万人で、肝硬変の成因は、61%がC型肝炎、26%がアルコール性肝障害、NASHなどのC型・B型肝炎以外の非B非C型肝炎、12%がB型肝炎を占めており、2000年以降非B非C型肝炎の割合が増加している¹⁾。

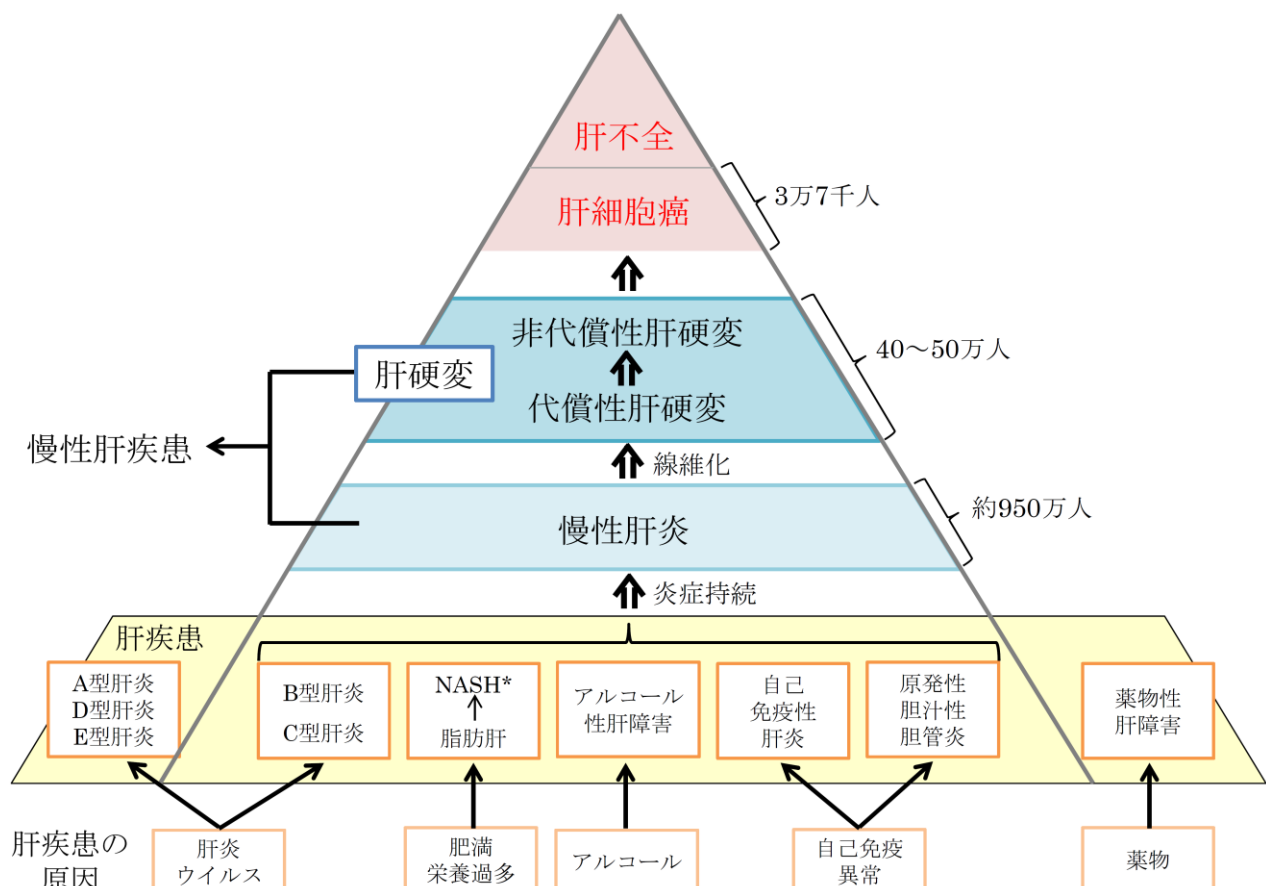


図1 肝疾患の原因と種類

*NASH: nonalcoholic steatohepatitis（非アルコール性脂肪肝炎）

肝硬変では、肝細胞が広範に瘢痕化し、血流抵抗が増加する門脈圧亢進の状態になる。門脈圧の亢進により上大静脈系に肝臓を迂回する新しい静脈（側副血行路）が形成され、これが食道や胃の粘膜下層から隆起して食道静脈瘤が形成される。この食道静脈瘤は破裂すると、致死的な経過を辿ることがある。また、肝臓は浸透圧の維持に必要な血漿蛋白質のアルブミンを合成しているが、肝硬変患者では病態の進行によりアルブミン合成の低下、及び門脈圧亢進による腹水貯留が生じる。さらに、肝臓でのアンモニア解毒能の低下により肝性脳症を引き起こすこともある。このように肝硬変の進行した患者は、腹水による腹部膨満感、食欲不振、体動困難、肝性脳症による意識障害、異常行動、羽ばたき振戦などの症状を呈し、日常生活動作（activities of daily living ; ADL）が著しく制限され、生活の質（quality of life ; 以下 QOL）が低下する。さらに、肝硬変患者は肝細胞癌発症の危険性が高く、C 型肝炎から進展した肝硬変は年率 7% の高い頻度で肝細胞癌を合併する。肝細胞癌の 5 年生存率は約 35% と極めて低い²⁾。本邦では 2015 年時点で、肝細胞癌患者が 3 万 7 千人存在し、肝細胞癌で年間 2 万 6 千人が死亡していることから、肝硬変の予防及び症状管理は重要課題となっている。

慢性肝炎に移行する肝疾患のうち、B 型肝炎に対してはウイルスの複製に必要な DNA ポリメラーゼを阻害して増殖を抑える核酸アナログ製剤が、C 型肝炎に対しては経口直接作用型抗ウイルス薬がそれぞれ上市され、多くの患者で肝硬変への進展が抑制され、肝細胞癌による死亡者数は 2000 年以降減少している。一方、本邦では、食事の欧米化や運動不足により肥満や糖質の過剰摂取が増加し、肝臓に脂肪が蓄積する非アルコール性脂肪性肝疾患（nonalcoholic fatty liver disease ; 以下 NAFLD）が急増している。NAFLD の 90% は炎症や線維化を伴わない非アルコール性脂肪肝（nonalcoholic fatty liver ; 以下 NAFL）であり、これまで生命予後に関わる疾患とは認識されていなかったが、NAFLD の 10~20% は 5~10 年後に炎症を伴う NASH に進展する。2000 年以降、NASH 由来の肝硬変及び肝細胞癌が増加していることから、NAFLD の治療は重要性を増している。しかしながら、本邦では NAFLD に保険適応のある治療薬は存在せず、日本消化器病学会が作成した NAFLD/NASH 治療フローチャートでは、2 型糖尿病、高コレステロール血症、高血圧などの基礎疾患が存在する場合はその治療を優先し、適宜ビタミン E を追加投与することが推奨されている（図 2）³⁾。ビタミン E は脂溶性ビタミンの一つで抗酸化作用を併せ持つことから、NAFLD 患者の肝臓内で発生したフリーラジカルに対して拮抗的に作用し、脂質の連鎖的酸化を阻害すると考えられている。NASH 患者を対象としたビタミン E に関する臨床試験では、96 週のビタミン E 投与群はプラセボ投与群と比較して肝・胆道系酵素の逸脱量が減少し、肝組織の脂肪化と小葉内炎症が改善し、肝傷害を抑制する効果が報告されている⁴⁾。しかしながら、肝硬変への進展抑制や線維化の改善効果は確認されていない。

ウイルス性肝炎の場合、通院している患者は罹患者数全体の 3 分の 1 に留まっている。残りは、感染を認識しているが未受診の患者が 3 分の 1、潜在的に感染している患者が 3 分の 1 を占めると推測されている¹⁾。慢性肝炎は自覚症状がないことから、ウイルス性肝炎のみならず他の肝疾患においても、適切な治療が行われず、肝硬変に進展してから初めて受診する患者も多い。肝臓の重要な機能の一つは栄養素の代謝・貯蔵であるが、多くの肝硬変患者は蛋白質低栄養とエネルギー低栄養を合併した「蛋白質エネルギー栄養障害」（protein energy malnutrition ; 以下 PEM）にあることが報告されている⁵⁾。この栄養障害の原因として、肝臓でのグリコーゲン貯蔵量が減少すること

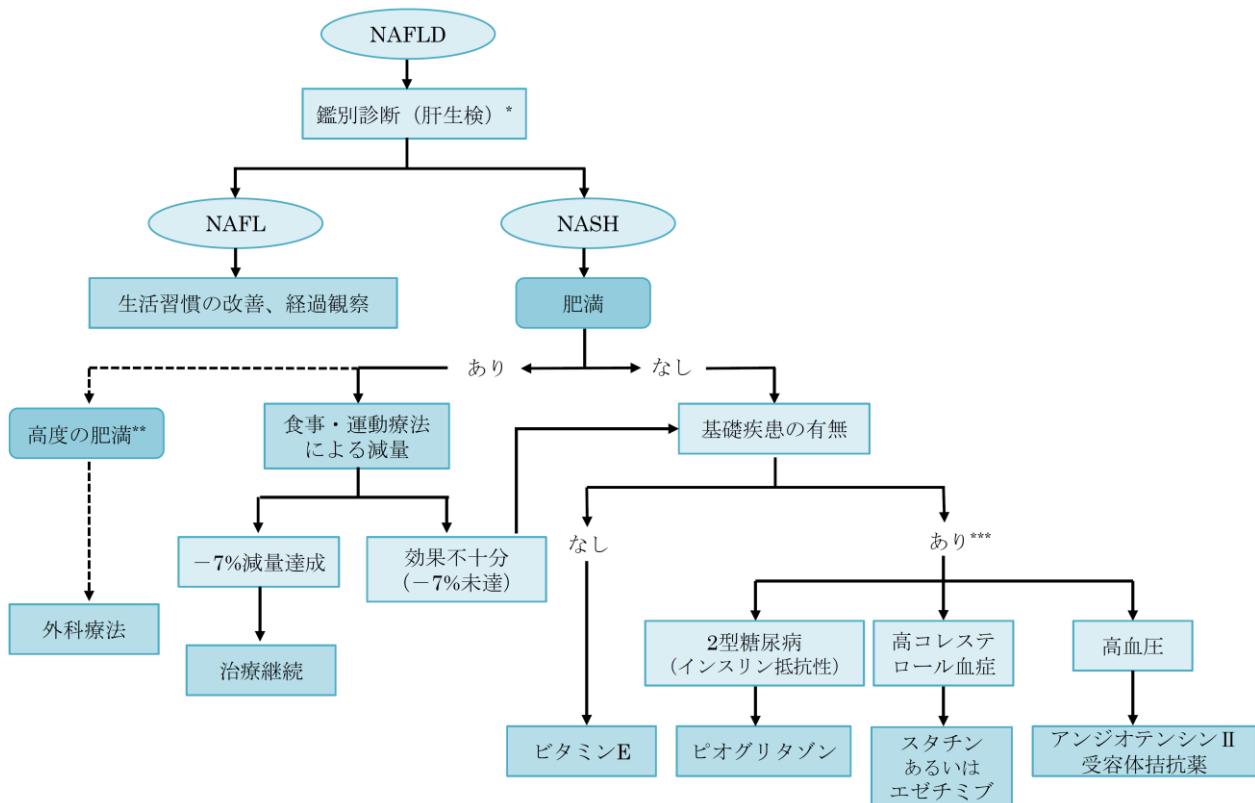


図2 NAFLD/NASH治療フローチャート

NAFLD: nonalcoholic fatty liver disease (非アルコール性脂肪性肝疾患)

NAFL: nonalcoholic fatty liver (非アルコール性脂肪肝)

NASH: nonalcoholic steatohepatitis (非アルコール性脂肪肝炎)

* 肝生検を施行していないNAFLDはNASHの可能性を検討し治療する

** ①BMI $\geq$ 37 ②BMI $\geq$ 32で糖尿病を合併するもの。または糖尿病以外の肥満に起因する合併症を2つ以上有する場合

*** 基礎疾患それぞれに適応の薬剤にビタミンEを適宜追加する

注: 各段階において各々の基礎疾患に準じた治療を適宜追加する

文献3) 日本消化器病学会編集, NAFLD/NASH診療ガイドライン2014, p18より引用

や、筋肉や脳など肝臓以外での利用速度が速い分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acid ; 以下 BCAA) がエネルギー基質として利用されることが考えられている。したがって、肝硬変患者では血液中の BCAA 濃度が低下することにより、骨格筋からアミノ酸が供給され、筋蛋白の崩壊が進行する^{6,7)}。PEM が進行すると、骨格筋量の減少の他、内臓蛋白の減少、免疫機能障害、及び創傷治癒遅延を合併する。さらに、脂肪を除いた体重 (除脂肪体重) が健常時の 70%まで減少すると、nitrogen death (窒素死) と呼ばれる生命の危機に陥る。このことから、肝硬変患者への BCAA 製剤の投与は PEM への進行を抑制し、QOL と生命予後の改善に繋がる。

前述のとおり、従来、肝疾患患者の骨格筋量減少は肝硬変に進展した段階で合併すると考えられていた。しかしながら、近年、肝硬変に進展する前段階である慢性 C 型肝炎の患者において、慢性的な HCV 感染が骨格筋量減少に関係することが海外で報告された⁸⁾。骨格筋量の減少は QOL 及び生命予後に影響するため、骨格筋量の減少と HCV 感染の関係について明らかにすることは、その予防や治療などの対応策を考える上で重要である。骨格筋量減少は進行すると窒素死を招くが、BCAA の投与は骨格筋量減少を有する肝硬変患者の生存率を高める⁹⁾。また、肝硬変ではグリコー

ゲン貯蔵量が減少し、夜間など長時間の空腹時に糖新生が十分に機能せず、容易に飢餓状態になる¹⁰⁾。このため、早朝のエネルギー枯渇状態を回避する目的で、就寝前に軽食を摂取する就寝前エネルギー投与 (late evening snack ; 以下 LES) の有効性が示されている¹¹⁾。すなわち、肝硬変患者の骨格筋量減少の抑制、QOL を低下させる諸症状の改善、及び生命予後の延長には、BCAA とエネルギーを補給する栄養療法を実施し、蛋白質合成を促進することが重要視されている。現在、本邦の処方箋医薬品のうち、保険診療上使用可能な経口 BCAA 製剤には、主に BCAA 顆粒 (リーバクト®配合顆粒) と肝不全用経腸栄養剤 (アミノレバン®EN 配合散) の 2 剤がある。BCAA 顆粒の主成分は BCAA のみであるのに対し、肝不全用経腸栄養剤は BCAA の他に糖質・脂質を含有し、1 包の総エネルギー量が 213 kcal であることから、これら 2 剤は肝硬変の重症度によって主治医の判断で使い分けられている。しかしながら、BCAA 製剤の具体的な投与方法や併用療法、LES を組み合わせた治療などは十分検討されておらず、肝硬変患者の栄養療法は確立していない。

以上、慢性肝疾患は早期に適切な治療が実施されない場合、慢性肝炎から肝硬変や肝細胞癌に進展し、腹水や肝性脳症など QOL を低下させる症状の合併や骨格筋量減少を引き起こし、生命予後に影響を及ぼす。本論文は 4 章から構成されており、慢性肝疾患の治療成績の向上を目指して、慢性肝疾患患者の病態、及びビタミン剤と栄養剤の効果に関する研究を実施した。

第 1 章では、ビタミン E を 1 年間経口投与した NAFLD 患者を後ろ向きに調査し、ビタミン E 投与後に肝・胆道系酵素であるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (asparatate aminotransferase ; 以下 AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (alanine aminotransferase ; 以下 ALT)、 γ -グルタミントランスぺプチダーゼ (γ -glutamyltranspeptidase ; 以下 γ -GTP)、肝組織の線維化スコアリングの数値、及び肝組織の硬度が改善することを明らかにした。また、このビタミン E の効果は、NAFLD の発症や NASH への進展に関与する第 22 番染色体近傍の疾患感受性遺伝子であるパタチン様ホスホリパーゼドメイン含有蛋白質 3 (patatin-like phospholipase domain containing 3 ; PNPLA3) のリスクアレルを保有する患者群においても認められた。第 2 章では、HCV 感染患者を対象に骨格筋量と慢性的な HCV 感染の関係について調査を行い、HCV 感染のみで骨格筋量は減少しないこと、肝硬変の進行に伴う骨格筋量の減少には性差があり、男性においてのみ骨格筋量減少がみられ、肝硬変の重症度を 3 段階に分ける Child-Pugh 分類の Grade A で著しく進行することを明らかにした。第 3 章では、BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 回 (朝食間及び就寝前) へ切り替える前向き臨床試験を実施した。本研究では、血清アルブミン値の有意な上昇はみられなかったが、切り替え 6 か月後に肝不全の指標である総分岐鎖アミノ酸対チロシンモル比 (molar ratio of total branched-chain amino acid to tyrosine ; 以下 BTR) が改善することを明らかにした。第 4 章では、第 3 章で得られなかった血清アルブミン値の上昇効果を検証するため、BCAA 顆粒に肝不全用経腸栄養剤を就寝前に 1 包追加した肝硬変患者を後ろ向きに調査した。肝不全用経腸栄養剤 1 日 3 包の服用は服薬コンプライアンスの維持が困難であるが、第 4 章で検討した BCAA 製剤 2 剤の併用療法は、服薬コンプライアンスの低下を招くことなく BCAA 投与量を増量し、LES を組み合わせた投与方法である。調査期間中、血清アルブミン値に影響を及ぼす要因 (肝細胞癌の治療、上部消化管出血、アルブミン輸注) のあった患者を除外したサブグループ解析において、この BCAA 製剤 2 剤を併用した薬物療法が血清アルブミン値を上昇させることを明らかにした。

本研究では、NASH が疑われる NAFLD 患者に対するビタミン E の効果、慢性肝疾患患者の骨格筋量減少の進行状況、及び肝硬変患者に対する BCAA 製剤の効果的な投与方法を検討した。NASH のように保険適応となる治療薬がない疾患に対し、他の疾患で用いられている治療薬の効果を実証することは、本邦の薬物療法の発展に繋がると考えられる。さらに、肝硬変の病態とそれに用いられる栄養剤の特徴を把握し、栄養剤の効果的な投与量及び投与方法を検証することは、慢性肝疾患患者の QOL 向上及び生命予後改善に貢献できるものと考えられる。

本論文は以下に示す既に公表された論文を総括したものである。

1. Aiko Fukui, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto, Michihito Murao, Takuji Nakano, Hiroaki Shimazaki, Toshiki Kan, Kazunori Nakaoka, Masashi Ohki, Yuka Takagawa, Hiroyuki Kamei, Kentaro Yoshioka
Vitamin E reduces liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease.
World Journal of Hepatology, **7**, 2749-2756 (2015)
2. Aiko Fukui, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto, Hiroyuki Kamei, Kentaro Yoshioka
Skeletal muscle mass depletion in patients with hepatitis C virus infection
European Journal of Gastroenterology & Hepatology, **31**, 59-66 (2019)
3. Aiko Fukui, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto, Hiroyuki Kamei, Kentaro Yoshioka
Switching from branched-chain amino acid granules to branched-chain amino acid-enriched nutrient improves the branched-chain amino acid-to-tyrosine ratio in patients with cirrhosis with hypoalbuminemia: A prospective study
European Journal of Gastroenterology & Hepatology, **32**, 501-506 (2020)
4. Aiko Fukui, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto, Michihito Murao, Takuji Nakano, Hiroaki Shimazaki, Toshiki Kan, Kazunori Nakaoka, Masashi Ohki, Yuka Takagawa, Hiroyuki Kamei, Kentaro Yoshioka
Additional BCAA-enriched nutrient mixture improves the nutritional condition in cirrhotic patients with hypoalbuminemia despite treatment with regular BCAA granules: A pilot study.
Turkish Journal of Gastroenterology, **26**, 328-335 (2015)

第1章 非アルコール性脂肪性肝疾患におけるビタミンEの効果

【緒言】

NAFLDは、成人の4人に1人が罹患している決して珍しくない肝疾患である¹²⁾。NAFLDの80～90%は脂肪変性のみで病態が進行しないNAFLであるが、残りの10～20%は壊死性炎症及び線維化を伴った脂肪変性を特徴とするNASHである¹³⁾。NASHは治療介入がない場合、肝硬変と肝細胞癌に進展する恐れがあることから¹⁴⁾、肝組織の炎症や脂肪化のみならず、線維化を抑制する治療薬が望まれている。しかしながら、本邦ではNASHの治療薬として承認されている薬剤はなく、NAFLD/NASH診療ガイドラインにより推奨されている薬剤は高脂血症や2型糖尿病の治療薬の一部のみで(図2)、エビデンスレベルも低い¹⁵⁻²²⁾。NASH発症のメカニズムは解明されていないが、複数の因子が同時並行で病態形成に関与する多重並行ヒット仮説が提唱されている(図3)²³⁾。この病態を形成する因子には、PNPLA3遺伝子、インスリン抵抗性、脂質過酸化などが報告されており、NAFLからNASH・肝硬変への進展には酸化ストレスが深く関与していることから、近年、抗酸化作用を有するビタミンEがNASHの治療薬として注目されている。米国のNASH患者を対象とした大規模無作為化比較試験〔pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis (PIVENS)試験〕では⁴⁾、ビタミンEを96週間投与した患者群において、肝・胆道系酵素であるAST、ALTの改善、及び肝生検で評価を行う肝組織の脂肪化と小葉内炎症の改善が認められた。一方、肝硬変や肝細胞癌の原因となる肝組織の繊維化に対するビタミンEの効果は認められなかった。

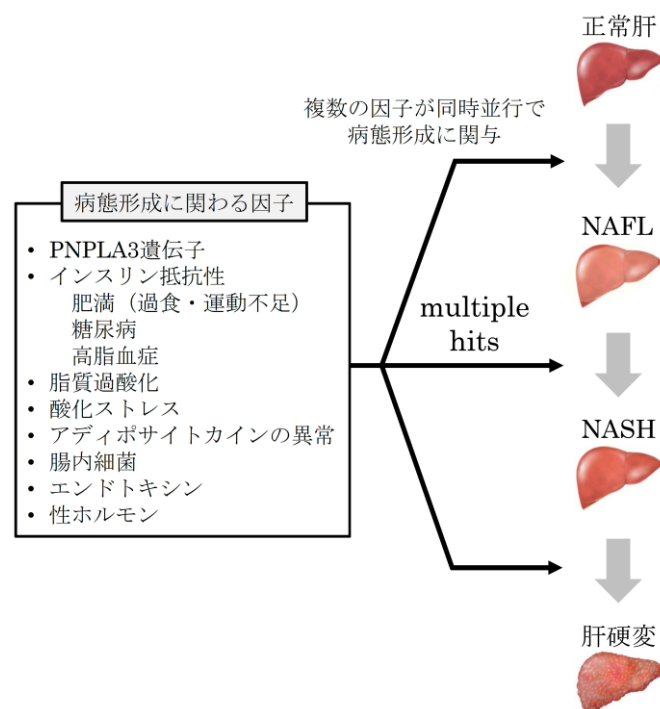


図3 多重並行ヒット仮説 (multiple parallel hits hypothesis)

PNPLA3: patatin-like phospholipase domain containing 3

NAFL: nonalcoholic fatty liver (非アルコール性脂肪肝)

NASH: nonalcoholic steatohepatitis (非アルコール性脂肪肝炎)

慢性肝疾患の生命予後は、肝組織の線維化の程度に応じて決定される場合が多いことから、肝線維化の評価が不可欠である。肝線維化の評価方法は従来より侵襲を伴う肝生検が標準的な検査法とされてきたが、これには入院が必要であり、出血、気胸、及び感染症などの合併症のリスクを伴う²⁴⁾。近年、肝生検に替わる非侵襲的な肝線維化評価法が検討され、年齢・性別と血液生化学検査値から算出可能な肝線維化スコアリングや、超音波を用いて体表面から肝組織の硬度を測定する超音波エラストグラフィなどの開発が進められている。超音波エラストグラフィの一つである **acoustic radiation force impulse** (以下、ARFI) エラストグラフィは、超音波の音響放射圧を用いて組織の硬度を測定する新しい手法で、測定により得られる剪断弾性波の速度〔**velocity of shear wave** ; 以下 **Vs (m/s)**〕は肝線維化の程度を反映する^{25, 26)}。ARFI エラストグラフィは他の超音波エラストグラフィと比較して、高度肥満患者での測定可能な対象範囲が広い²⁷⁻²⁹⁾。これらの非侵襲的な肝線維化評価法は、外来診療で反復測定が可能であり、初回診断時のみならず病状の進行度及び治療反応性のモニタリングにも利用できる。

NAFLD の発症及び進行に最も重要なリスク因子は肥満であるが、他の因子として遺伝的素因が挙げられる。NAFLD 患者と健常者において実施された全ゲノム関連解析 (**genome-wide association study** ; 以下 GWAS) では、NAFLD の疾患感受性遺伝子として PNPLA3 遺伝子が同定されている³⁰⁻³³⁾。この領域にある **rs738409 (C>G)** はシトシンとグアニンから成る一塩基多型 (**single-nucleotide polymorphism** ; 以下 SNP) が確認されており、メジャーアレルであるシトシンからマイナーアレルであるグアニンへの変異が肝組織の脂肪化及び炎症の程度に深く関与する。日本人の PNPLA3 リスクアレルのホモ接合体を保有する頻度は健常人で 18%、NAFLD 患者で 38% であり、年齢・性別・体格指数 (**body mass index** ; 以下 BMI) で調整された NAFLD 発症のオッズ比は 1.73 と報告されている²²⁾。これまで、PNPLA3 遺伝子多型と NAFLD の発症及び病態の進行との関連性について調査した報告はいくつかあるが³⁰⁻³³⁾、治療反応性について検討した報告は国内外において存在しない。

本章では、NAFLD 患者に対するビタミン E の有効性を、非侵襲的手法である肝線維化スコアリング及び ARFI エラストグラフィを用いて評価し、PNPLA3 遺伝子多型との関連についても検討した。

【方法】

対象患者

2011 年 1 月から 2015 年 7 月までの期間、藤田医科大学病院で脂質異常症または末梢循環障害の治療のためビタミン E を 1 年以上投与した外来 NAFLD 患者 38 例を対象に、臨床検査値、及び ARFI エラストグラフィによる肝硬度測定値の推移を後ろ向きに調査した。対象患者は全て、ビタミン E 開始前に食事・運動療法など生活習慣を改善する指導を受けたが、AST・ALT の改善が不十分な患者であった。NAFLD の診断は、肝生検または超音波検査の結果と臨床経過に基づいて主治医が行った。アルコール性肝障害の診断基準である 1 日の平均純エタノールが男性 30 g、女性 20 g を超える飲酒習慣のある患者は除外した。また、ビタミン E 投与開始時から投与開始 12 か月後までの調査期間中に、NAFLD に対する効果が報告されている薬剤 (ピオグリタゾン、メトホルミン、ウルソデオキシコール酸、HMG-CoA 還元酵素阻害薬、エゼチミブ、及びアンジオテンシン

Ⅱ受容体拮抗薬)を開始または増量した患者も除外した。

ビタミン E の投与

ビタミン E は 1 日あたり 150 mg、300 mg または 600 mg を 1 日 3 回に分けて食後に経口投与し、1 年以上継続した。投与量ごとの症例数の内訳は、150 mg が 2 例、300 mg が 4 例、600 mg が 32 例であり、ビタミン E はエーザイ株式会社（東京）のユベラ[®]錠、ユベラ N[®]カプセル、及びユベラ N[®]ソフトカプセルが投与された。なお、ユベラ[®]錠 50 mg は 1 錠中に α -トコフェロール酢酸エステル 50 mg (50 IU 相当)、ユベラ N[®]カプセル 100 mg は 1 カプセル中に α -トコフェロールニコチン酸エステル 100 mg (88 IU 相当)、ユベラ N[®]ソフトカプセル 200 mg は 1 カプセル中に α -トコフェロールニコチン酸エステル 200 mg (176 IU 相当) を含有している。米国肝臓学会 (American Association for the Study of Liver Diseases; 以下 AASLD) のガイドラインにおいて、成人 NASH 患者に推奨されているビタミン E の投与量は 1 日あたり 800 IU である²²⁾。しかしながら、日本の保険診療で認められているビタミン E の投与量は、脂質異常症、及び閉塞性動脈硬化症に伴う末梢循環障害には 300~600 mg、末梢循環障害、及び過酸化脂質の増加防止には 150~300 mg である。本研究の対象患者は保険診療範囲内でビタミン E が投与されており、各患者の併存疾患の適応症に応じた用量が投与されていた (表 1)。

臨床検査値と肝線維化スコアリング

肝炎の指標には、AST、ALT、 γ -GTP などの肝・胆道系酵素の値を用い、ビタミン E の投与開始時、投与開始 6 か月後、及び 12 か月後の 3 時点でデータを収集した。肝線維化の指標には、Fibrosis-4 (以下、FIB-4) index 及び aspartate aminotransferase-to-platelet index (以下、APRI) の二つの非侵襲的スコアリングを用いた^{34, 35)}。FIB-4 index の計算式は、年齢 $\times$ AST (U/L) / 血小板 (10^9 /L) $\times \sqrt{\text{ALT (U/L)}}$ 、APRI の計算式は、AST (U/L) / AST (基準値上限) / 血小板 (10^9 /L) $\times 100$ であり、肝・胆道系酵素と同一の 3 時点で算出した。

ARFI エラストグラフィによる肝硬度測定

肝硬度は、シーメンスメディカルシステム株式会社（東京）の ARFI エラストグラフィ (ACUSON S2000) を用いて測定し、ビタミン E の投与開始時及び投与開始 12 か月後の 2 時点の Vs 値を収集した。ARFI エラストグラフィは、肝臓の体表面から超音波の音響放射圧で振動を与え、肝内で発生した横に伝わる振動 (剪断弾性波) の伝達速度 Vs (m/s) を測定することにより肝臓の硬度を評価する方法である。Vs 値の測定は肝右葉の被膜から 2~3 cm 深部で位置を変えて 10 回実施し、その中央値を結果として用いた。なお、逐次的な肝生検は実施されていなかったため、組織学的改善については検討できなかった。

PNPLA3 遺伝子型の測定

PNPLA3 遺伝子型の測定は、対象患者から採取した全血検体を用いて、検体検査受託業者に委託して実施した。遺伝子採血の実施にあたっては、全ての患者で採血前に脂肪肝における遺伝子多型の研究について説明し、研究協力の同意が得られている。ゲノム DNA の抽出には Qiagen 社 (東

京) の QIA amp DNA Mini Kits、rs738409 の一塩基多型の測定には Applied Biosystems 社 (東京) の TaqMan®SNP Genotyping Assay が用いられ、いずれの工程もキット販売業者の指定する手順に従って実施した。PNPLA3 遺伝子型により対象患者を、メジャーアレルである CC ホモ接合体と CG ヘテロ接合体から成る CC/CG 群とマイナーアレルである GG ホモ接合体の GG 群の 2 群に分け、ビタミン E の治療反応性の違いについて検討した。

統計解析

投与開始時における各群の患者背景及び臨床検査値の差については、 χ^2 検定または Mann-Whitney *U* 検定を用いて解析した。同一群の 3 時点における臨床検査値の差は Bonferroni 補正を加えた Friedman 検定を用いて解析し、同一群の 2 時点における測定値の差は Wilcoxon の符号付順位検定を用いて解析した。統計解析は全て SPSS ソフトウェア (米国ニューヨーク州アーモンク、SPSS Statistics Version 22) を用いて実施し、有意水準は $P < 0.05$ (両側検定) とした。

研究倫理

本研究は、藤田医科大学医学研究倫理審査委員会、及びヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を受けており (承認番号 HM14-020)、日本の医薬品の臨床試験の実施基準 (Good Clinical Practice ; 以下 GCP) とヘルシンキ宣言に準拠して実施した。

【結果】

ビタミン E 投与開始時の患者背景及び臨床検査値

対象患者 38 例のうち、7 例 (18.4%) は BMI>32 の高度肥満で、15 例 (39.5%) は 2 型糖尿病を合併していた (表 1)。PNPLA3 遺伝子型は CC 群 7 名、CG 群 12 名、GG 群 19 名であった (図 4)。本研究では、対象患者を CC/CG 群 19 例と GG 群 19 例に分けて統計解析を実施した。CC/CG 群と GG 群のビタミン E 投与開始時の比較において、GG 群の血小板数と血清アルブミン値は CC/CG 群より有意に低かった (それぞれ $P=0.046$ 、 $P=0.032$)。また、GG 群のアルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase ; ALP) 値、FIB-4 index、APRI、及び Vs は、CC/CG 群より有意に高かった (それぞれ $P=0.032$ 、 $P=0.006$ 、 $P=0.014$ 、 $P=0.010$)。

表1 ビタミンE投与開始時の患者背景と臨床検査値

症例数	全症例	PNPLA3遺伝子型		<i>P</i> 値 CC/CG群 vs. GG群
		CC/CG群	GG群	
	38	19	19	
性別 (男/女)	10/28	6/13	4/15	0.461 ^a
年齢 (歳)	62.0 ± 11.6	58.4 ± 11.9	65.6 ± 10.1	0.061 ^b
身長 (cm)	157 ± 10	159 ± 11	154 ± 8	0.226 ^b
体重 (kg)	68.2 ± 14.9	69.7 ± 16.1	66.7 ± 13.5	0.685 ^b
BMI	27.9 ± 4.7	27.7 ± 4.0	28.0 ± 5.3	0.988 ^b
NAFLDの分類				
脂肪肝 (画像検査で確認)	23	13	10	0.347 ^a
NASH (肝生検で確認)	9	5	4	
非ウイルス性肝硬変 (臨床的に判断)	5	1	4	
Burn-out NASH (肝生検で確認)	1	0	1	0.439 ^a
Child-Pugh分類 (A/B/C)	4/2/0	1/0/0	3/2/0	
糖尿病の合併 (有/無)	15/23	5/14	10/9	
肝細胞癌の合併 (有/無)	0/38	0/19	0/19	-
ビタミンE投与量 (150 mg/300 mg/600 mg)	2/4/32	2/1/16	0/3/16	0.223 ^a
併用薬				
ピオグリタゾン	3	2	1	0.547 ^a
メトホルミン	2	2	0	0.146 ^a
ウルソデオキシコール酸	27	14	13	0.721 ^a
HMG-CoA還元酵素阻害薬	13	6	7	0.732 ^a
エゼチミブ	7	6	1	0.036 ^a
アンギオテンシンII受容体拮抗薬	9	6	3	0.252 ^a
臨床検査値				
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	16.7 ± 7.5	19.3 ± 7.1	14.1 ± 6.9	0.046 ^b
プロトロンビン活性 (%)	98.5 ± 18.7	104 ± 17.6	93.2 ± 18.2	0.061 ^b
ヘモグロビンA1c (%)	6.38 ± 1.06	6.26 ± 0.97	6.49 ± 1.14	0.394 ^b
総蛋白 (g/dL)	7.42 ± 0.52	7.47 ± 0.49	7.36 ± 0.54	0.435 ^b
血清アルブミン (g/dL)	4.27 ± 0.39	4.41 ± 0.36	4.14 ± 0.37	0.032 ^b
総ビリルビン (mg/dL)	0.98 ± 0.50	0.84 ± 0.29	1.11 ± 0.61	0.172 ^b
AST (IU/L)	61.1 ± 29.9	58.2 ± 32.2	64.1 ± 27.2	0.191 ^b
ALT (IU/L)	68.5 ± 41.2	69.9 ± 36.0	67.1 ± 45.7	0.385 ^b
アルカリホスファターゼ (IU/L)	312 ± 108	270 ± 85	355 ± 112	0.032 ^b
γ-GTP (IU/L)	87.4 ± 70.0	72.6 ± 59.1	102 ± 76.4	0.142 ^b
総コレステロール (mg/dL)	185 ± 37	194 ± 43	176 ± 28	0.172 ^b
中性脂肪 (mg/dL)	151 ± 85	147 ± 99	156 ± 64	0.351 ^b
コリンエステラーゼ (IU/L)	333 ± 124	353 ± 91	313 ± 147	0.172 ^b
肝線維化スコアリング				
FIB-4 index	3.80 ± 2.78	2.61 ± 1.74	4.98 ± 3.1	0.006 ^b
APRI	1.50 ± 0.94	1.17 ± 0.75	1.84 ± 0.98	0.014 ^b
Vs (m/s)	2.20 ± 0.91	1.81 ± 0.76	2.56 ± 0.89	0.010 ^b

数値は症例数または平均値±標準偏差を示す。

PNPLA3: patatin-like phospholipase domain containing 3、BMI: 体格指数、NAFLD: 非アルコール性脂肪性肝疾患、NASH: 非アルコール性脂肪肝炎、AST: aspartate aminotransferase、ALT: alanine aminotransferase、γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase、FIB-4: Fibrosis-4、APRI: aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index、Vs: velocity of shear wave

^a χ^2 検定、^b Mann-Whitney *U*検定

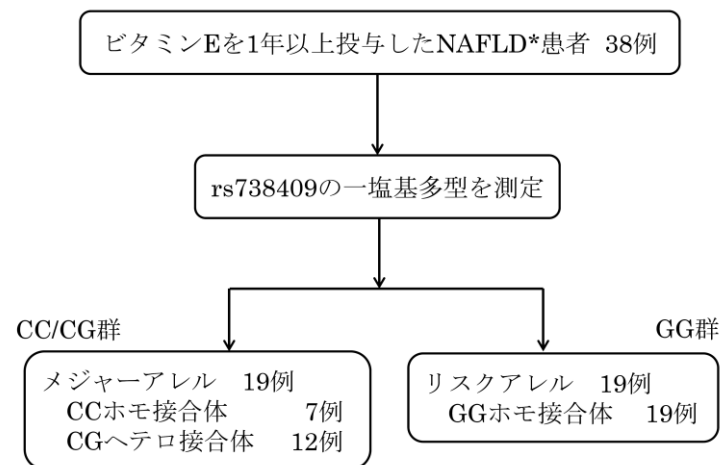


図4 対象患者の疾患感受性遺伝子型による分類

* NAFLD: 非アルコール性脂肪性肝疾患

体重の変化

全症例のビタミン E 投与開始時の体重は 68.2 ± 14.9 kg、投与開始 12 か月後は 72.4 ± 16.8 kg であり、有意な変化はみられなかった。また、調査期間中に、肝組織像（脂肪変性、炎症細胞浸潤、肝細胞の風船様腫大の程度）の改善に有効性が示されている³⁶⁾7%以上の体重減少が認められた患者は存在しなかった。

肝・胆道系酵素におけるビタミン E の効果

図 5 に調査期間中のビタミン E 投与による肝・胆道系酵素の推移を示した。全症例の投与開始 6 か月後の AST、ALT、及び γ -GTP は、ビタミン E 投与開始時と比較して有意に低下し（それぞれ $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P = 0.019$ ）、投与開始 12 か月後のそれらも有意に低下した（それぞれ $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ ）。PNPLA3 遺伝子型で 2 群に分けた検討では、CC/CG 群の投与開始 6 か月後の AST、ALT、及び γ -GTP は、投与開始時と比較して有意に低下し（それぞれ $P = 0.004$ 、 $P = 0.022$ 、 $P = 0.047$ ）、投与開始 12 か月後のそれらも有意に低下した（それぞれ $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P = 0.003$ ）。GG 群の投与開始 6 か月後の AST 及び ALT は、投与開始時と比較して有意に低下し（それぞれ $P = 0.045$ 、 $P = 0.004$ ）、投与開始 12 か月後のそれらも有意に低下した（それぞれ $P = 0.011$ 、 $P < 0.001$ ）。GG 群の投与開始 6 か月後の γ -GTP は、投与開始時と比較して変化なかったが、投与開始 12 か月後のそれは有意に低下した（ $P = 0.005$ ）（図 5）。

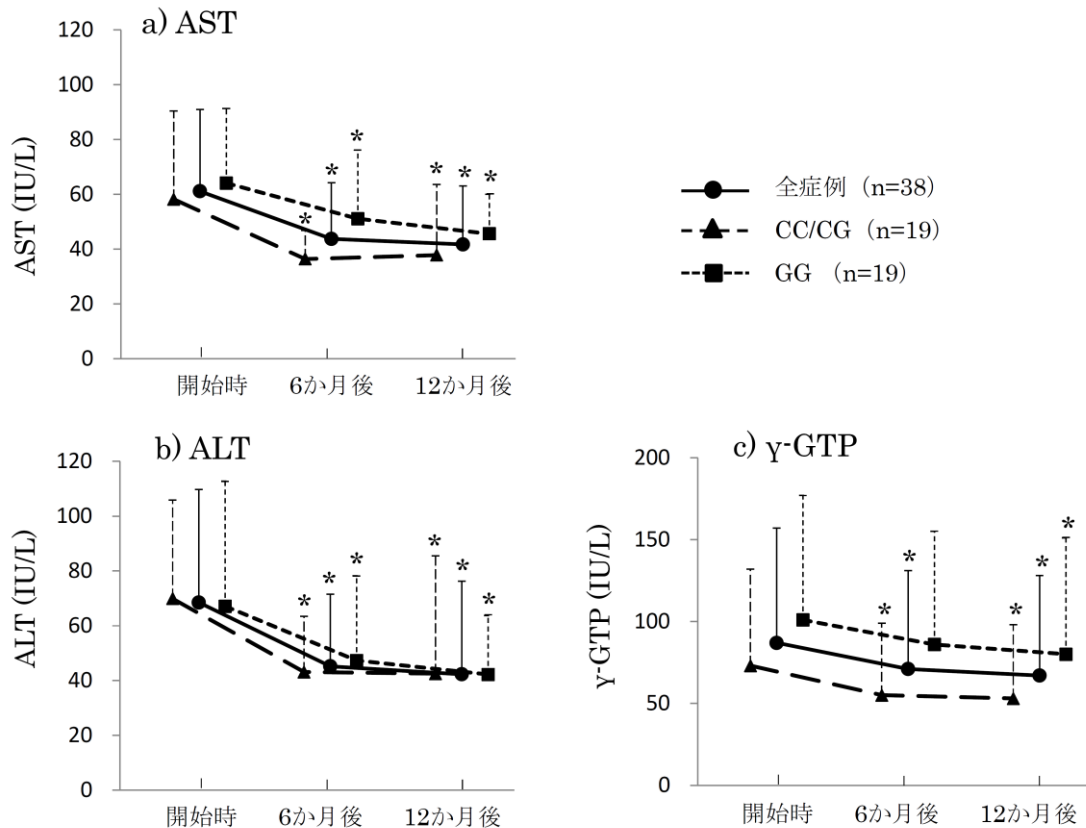


図5 ビタミンE投与による肝・胆道系酵素の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 開始時 (Wilcoxonの符号付順位検定)

AST: aspartate aminotransferase、ALT: alanine aminotransferase、
γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase

肝線維化スコアリングにおけるビタミンEの効果

図6に調査期間中のビタミンE投与による肝線維化スコアリングの推移を示した。全症例の投与開始6か月後のFIB-4 index及びAPRIは、投与開始時と比較して有意に低下し(それぞれ $P=0.015$ 、 $P<0.001$)、投与開始12か月後も有意に低下した(それぞれ $P=0.035$ 、 $P<0.001$)。PNPLA3遺伝子型で2群に分けた検討では、CC/CG群の投与開始6か月後のFIB-4 index及びAPRIは、投与開始時と比較して有意に低下し(それぞれ $P=0.014$ 、 $P=0.004$)、投与開始12か月後も有意に低下した(それぞれ $P=0.017$ 、 $P<0.001$)。GG群のFIB-4 indexに変化はみられなかったが、GG群の投与開始6か月後のAPRIは投与開始時と比較して有意に低下し($P=0.028$)、投与開始12か月後も有意に低下した($P=0.036$) (図6)。

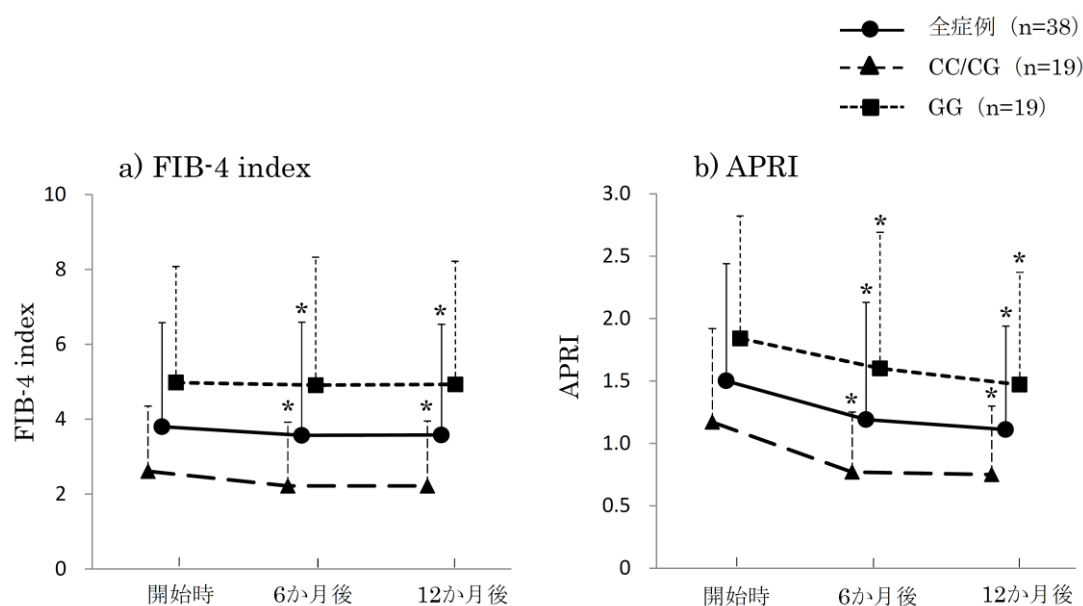


図6 ビタミンE投与による肝線維化スコアリングの推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 開始時 (Wilcoxonの符号付順位検定)

肝硬度におけるビタミンEの効果

図7に調査期間中のビタミンE投与による剪断弾性波の速度 (V_s) の推移を示した。全症例の投与開始12か月後の V_s は、投与開始時と比較して有意に低下した ($P=0.005$)。また、ビタミンEの投与量が1日150 mgまたは300 mgであった6例を除いた32例の解析においても、投与開始12か月後の V_s は投与開始時と比較して有意に低下した ($P=0.004$ 、結果提示なし)。PNPLA3遺伝子型で2群に分けた検討では、CC/CG群の投与開始12か月後の V_s には有意な変化はみられなかったが ($P=0.083$)、GG群のそれは投与開始時と比較して有意に低下した ($P=0.029$) (図7)。

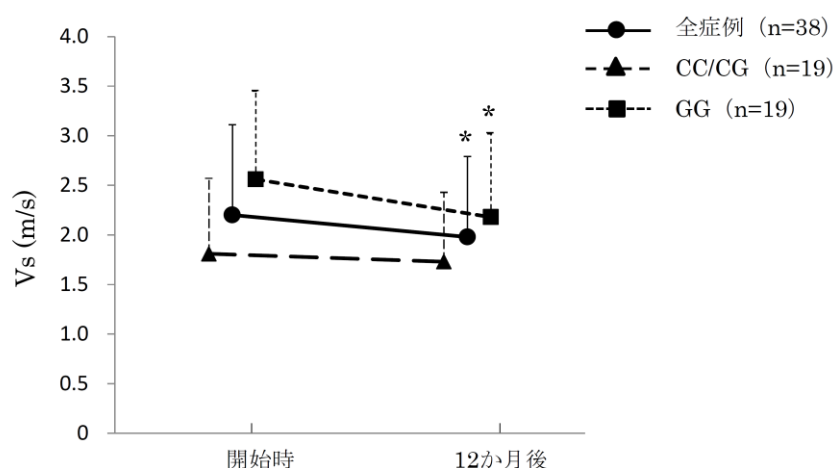


図7 ビタミンE投与による剪断弾性波の速度 (V_s) の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 開始時 (Wilcoxonの符号付順位検定)

【考察】

本研究では、ビタミン E を 1 年間経口投与した NAFLD 患者を調査し、ビタミン E が肝・胆道系酵素のみならず、肝線維化スコアリング及び肝硬度を改善することが明らかになった。また、ビタミン E は疾患感受性遺伝子である PNPLA3 のリスクアレルを保有する患者群においても効果が得られることが確認された。

NAFLD の基本的な治療は生活習慣の改善であり、食事療法及び運動療法により 7 %以上の減量を達成した患者においてアミノトランスフェラーゼ値、肝組織の脂肪変性、炎症細胞浸潤、及び風船様腫大の程度が改善することが報告されている³⁶⁾。しかしながら、本研究の対象患者は、ビタミン E の投与開始時から投与開始 12 か月後の調査期間中、体重に有意な変化はみられなかったことから、本研究で得られた効果は体重減少による影響ではないと考えられる。米国の成人 NASH 患者を対象とした大規模多施設共同無作為化比較試験 (PIVENS 試験) において⁴⁾、1 日あたり 800 IU のビタミン E を投与した患者群の AST 及び ALT は、プラセボ投与群のそれらと比較して、投与開始 6 か月後に有意に減少し、この効果は 24 か月後まで持続することが報告されている。本研究の対象患者の肝・胆道系酵素の逸脱量は、この PIVENS 試験の結果と一致して、ビタミン E 投与開始 6 か月後に減少し、その効果は 12 か月後も持続していた。

NASH の診断及び NAFLD の線維化評価は、従来より肝生検が標準的な検査法である。しかしながら、肝生検は侵襲的な手法で合併症のリスクを伴うこと、入院が必要であり反復評価には適さないこと、サンプリングエラーにより進行ステージを誤診する確率が 1～2 割あることなどの欠点がある²⁴⁾。近年、肝生検に替わる非侵襲的な肝線維化評価法が検討され、年齢、性別、及び血液生化学検査値等から算出できる肝線維化スコアリングが開発されている³⁾。その中で、FIB-4 index 及び APRI は、日常診療で測定されている臨床検査項目を用いて算出可能であり、外来診療において容易に線維化の程度を把握できる点が優れている^{34, 35)}。本研究の対象患者の投与開始 12 か月後の FIB-4 index 及び APRI は、ビタミン E 投与開始時と比較して有意に低下していたことから、12 か月のビタミン E 投与により肝線維化が改善することが示唆された。しかしながら、これらの肝線維化スコアリングは AST・ALT を用いて算出するため、炎症の改善による AST・ALT の減少がスコアの低下に影響した可能性が考えられる。

一方、AST・ALT の影響を受けない非侵襲的な肝線維化評価法として、近年、超音波エラストグラフィが普及している。ARFI エラストグラフィで測定される剪断弾性波の速度 V_s (m/s) は、肝生検で得られる 5 段階の線維化ステージ (F0～F4) と正の相関があることが確認されている²⁷⁻²⁹⁾。この検査は主に診断の補助に用いられており³⁷⁾、これまで治療効果の判定に用いられた報告はない。したがって、本研究で肝線維化の評価項目の一つに V_s を加えたことは先駆的な試みである。本研究の対象患者のビタミン E 投与開始 12 か月後の V_s は、投与開始時と比較して有意に低下しており、これはビタミン E の投与により肝線維化が改善した結果と考えられる。一方、PIVENS 試験のビタミン E 治療群の肝生検結果では、肝組織の脂肪化と小葉内炎症の改善はみられたが、線維化ステージの改善はみられなかった⁴⁾。この線維化に対するビタミン E の結果が矛盾する理由について、以下のことが考えられる。本研究で用いた ARFI エラストグラフィは剪断弾性波の速度が大きいほど、すなわち V_s 値が高いほど線維化が進行していることを示し、定量的な連続変数として結果が得られる。本研究の全症例の V_s 平均値は、ビタミン E 投与開始時が 2.20 m/s、投与開始 12

か月後が 1.98 m/s であり、有意に低下していた。針生検による肝組織所見の評価には新犬山分類が用いられ、線維化の程度は F0（線維化なし）、F1（門脈域の線維性拡大）、F2（線維性架橋形成）、F3（小葉のひずみを伴う線維性架橋形成）、F4（肝硬変）の 5 段階で評価される。日本人 NAFLD 患者 54 例を肝生検と ARFI エラストグラフィで同時に評価した研究によると、病態を識別するための基準範囲を区切る値（カットオフ値）が示されており、肝生検の線維化ステージ F3 に相当する Vs のカットオフ値は 1.77 m/s、F4 に相当するカットオフ値は 1.90 m/s と報告されている²⁷⁾。このカットオフ値を用いて本研究のビタミン E 投与開始時と投与開始 12 か月後の Vs を肝生検の線維化ステージに置き換えると、両者とも F4 に相当する。したがって、PIVENS 試験では肝生検で同一ステージと判断された僅かな変化も、本研究では ARFI エラストグラフィを用いて肝線維化を評価したことにより、Vs のデータが連続した測定値で得られ、統計学的に改善効果が認められたと考えられる。

PNPLA3 は、肝組織の脂肪蓄積量のみならず、炎症及び線維化にも関連する NASH の疾患感受性遺伝子である^{32, 38)}。最近のメタ解析では PNPLA3 遺伝子が GG ホモ接合体の患者は CC ホモ接合体の患者と比較して、壊死性炎症スコアが 3.24 倍、線維化の進展リスクが 3.20 倍高いことが報告されている³⁹⁾。したがって、本研究では対象患者をリスクアレルのホモ接合体である GG 群とそれ以外の CC/CG 群の 2 群に分けて、ビタミン E の治療効果を検討した。GG 群の患者背景は CC/CG 群と比較して、ビタミン E 投与開始時の血小板数及び血清アルブミン値が有意に低値であり、APRI、FIB-4 index、及び Vs が有意に高値であったことから、肝硬変が進行している患者が多くみられた。ビタミン E 治療効果の検討では、リスクアレルのホモ接合体である GG 群においてもビタミン E 投与開始 12 か月後に AST、ALT、 γ -GTP、APRI が有意に改善し、CC/CG 群と同程度の治療効果が得られた。また、GG 群の肝硬度 Vs は、ビタミン E 投与開始 12 か月後で有意に低下しており、NAFLD の病態がより進行している GG 群の患者においても、線維化改善効果が得られることが明らかになった。本研究の結果から、ビタミン E を用いて治療を行う場合、PNPLA3 遺伝子多型を含めた NAFLD 患者全例で効果が期待できるものと考えられる。

NAFLD に対するビタミン E の至適投与量は未だ定まっていない。PIVENS 試験では、NASH 患者を対象に 1 日あたり 800 IU のビタミン E を 2 年間投与して、肝組織の脂肪変性と小葉内炎症の改善効果が報告されている⁴⁾。一方、ビタミン E には有害事象の報告もあり、1 日あたり 400 IU のビタミン E を投与した血管疾患または糖尿病の患者では、左室駆出率が有意に低下し、心不全のリスクが高まることが報告されている⁴⁰⁾。本研究のビタミン E 投与量は各症例の併存疾患により異なるが、84%の患者で最高用量の 600 mg（528 IU 相当）を投与していた。本研究では 65%の患者が糖尿病を合併していたが、1 年間の調査期間中に心不全を発症した患者はいなかった。今後、NAFLD 患者にビタミン E を投与する際は、効果と副作用の両面を考慮し、血管疾患または糖尿病を合併している患者では、心臓超音波検査の定期的な実施や投与量の減量、投与期間の短縮について検討することも必要と考えられる。

【小括】

ビタミン E 治療は、NAFLD 患者の肝・胆道系酵素のみならず、肝線維化スコアリング及び肝硬度を改善した。また、ビタミン E の効果は NAFLD の疾患感受性遺伝子である PNPLA3 のリスクアレルを保有する患者群においても認められた。

第2章 慢性C型肝炎における骨格筋量減少とその関連因子の探索

【緒言】

肝疾患の中でも慢性C型肝炎（chronic hepatitis C；以下CHC）は慢性肝炎の主要な原因であり、世界的なHCV感染の有病率は2.5%（1億7750万人）、本邦での有病率は1.4%（150～200万人）であると推定されている¹⁾。慢性肝炎は自覚症状がなく、健康診断や手術の際にHCV感染を指摘されても肝臓専門医を受診しない患者も存在することから、早期に抗ウイルス薬による治療に至らない場合も多い。慢性肝炎により肝細胞の壊死と再生が繰り返されると、肝細胞の隙間に線維組織が増生し、10～30年の経過で肝硬変に進展する。肝硬変では、肝細胞数の減少及び肝機能の低下によりグリコーゲン貯蔵量が減少することから、夜間など長時間の空腹時に糖新生が十分に機能せず、容易に飢餓状態になる¹⁰⁾。このグルコースの利用効率減少の代償として、利用速度が速いBCAAが肝臓以外の筋肉などでエネルギー基質として利用され、消費される⁶⁾。また、病態の進行した肝硬変患者は尿素回路の処理能力低下により高アンモニア血症を引き起こすが、アンモニアを筋肉内で処理する際にもBCAAが消費される。これらのことから、肝硬変患者では血液中のBCAA濃度が低下し、その結果、骨格筋からアミノ酸が供給され、筋蛋白の崩壊が進行する^{6,7)}。筋蛋白の崩壊は、骨格筋量減少の他、内臓蛋白の減少、免疫機能の低下、創傷治癒遅延などの障害を誘発する。さらに、脂肪を除いた体重（除脂肪体重）が健常時の70%まで減少すると窒素死（nitrogen death）と呼ばれる生命の危機に陥る⁴¹⁾。したがって、肝硬変患者ではBCAAを適切に補給し、筋蛋白の崩壊を防止することが重要である。

肝硬変患者は、蛋白質低栄養とエネルギー低栄養が併存するPEMを合併することが知られており、その合併率は約50～90%である⁴²⁻⁴⁵⁾。肝硬変患者においてPEMは予後不良因子の一つであり⁴⁶⁻⁴⁹⁾、PEMの主な特徴である骨格筋量減少の評価には骨格筋量の定量が重要となる。骨格筋量の測定方法にはcomputed tomography（以下CT）法、生体インピーダンス分析（bioelectrical impedance analysis；BIA）、二重エネルギーX線吸収測定法（dual energy X-ray absorptiometry；以下DEXA）、磁気共鳴画像（magnetic resonance imaging；以下MRI）法が用いられている。中でもCT法は、肝硬変患者において肝細胞癌（hepatocellular carcinoma；以下HCC）のスクリーニング検査として日常的に実施されている。CT法は他の測定法と比較して、肝硬変でよく認められる腹水や浮腫などの体液貯留による測定誤差の影響が小さいことから、臨床研究における骨格筋量の標準測定法として汎用されている⁵⁰⁾。これまで、CT画像を用いて計測した骨格筋量は肝硬変の重症度に関連し、肝硬変の進行に伴い骨格筋量減少の合併率が高まることが報告されている^{47-49, 51)}。しかしながら、それらの報告はウイルス性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患、及びアルコール性肝障害など様々な種類の肝疾患が混在した患者群を対象としており、疾患ごとの詳細な研究は実施されていない。また、骨格筋量減少が進行する時期やリスク因子は明らかになっていない。近年、米国において、肝硬変を除いたHCV感染者は非感染者と比較して、上腕周囲径で測定した骨格筋量が低下していることが報告された⁸⁾。これまで慢性肝疾患患者の骨格筋量は肝硬変の進行に伴い減少すると考えられてきたが、この報告によりHCV感染のみで骨格筋量の減少が生じる可能性が示唆された。肝炎ウイルスの感染により骨格筋量の減少が引き起こされれば、骨格筋量減少を予防するための治療として、BCAA製剤のみならず、ウイルス性肝炎では抗ウイルス薬を併用する

など、肝疾患の種類によって必要となる対応策が異なる可能性も考えられる。早期の骨格筋量減少の進行防止は、肝疾患患者における QOL と生命予後の改善に重要であり、その原因を明らかにすることは適切な治療を実施する上で必要となる。本章では、肝疾患の対象を CHC 患者に限定し、骨格筋量と HCV 感染及び肝硬変の重症度との関係性を CT 画像を用いて調査した。

【方法】

対象患者

本研究では、2010 年 5 月から 2016 年 4 月の期間に藤田医科大学病院肝胆膵内科で腹部 CT 検査を実施した患者 611 例のデータを診療録を用いて後ろ向きに調査した。対象患者の内訳は、HCV 感染患者 302 例と対照群とした胆石患者 309 例であり、C 型慢性肝炎以外の肝疾患 (B 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疾患、自己免疫性肝炎、及び原発性胆汁性胆管炎) を合併している患者、HCC 以外の胆癌患者、肝疾患以外の原因で栄養障害または低アルブミン血症を呈する患者は除外した。対照群を胆石患者としたのは、藤田医科大学病院肝胆膵内科に通院歴があり、当該診療科の外来診察室及び Web サイトにて本研究の詳細な内容を公開し、対象となる患者が拒否できる機会を設定するオプトアウトが可能であること、本研究の骨格筋量の測定に必須である腹部 CT を施行していること、及び罹患者数が多く除外基準に抵触する患者を除いても症例数が確保できることが主な理由である。なお、インターフェロン治療中または化学療法施行中は、食思不振や総リンパ球数の減少など栄養状態の指標となる評価項目に影響を及ぼす可能性があるため、当該治療期間に施行した CT 画像は用いなかった。

骨格筋量の測定

骨格筋量の測定は、HCC 及び胆石症のスクリーニングまたは診断のために過去に施行した腹部 CT 検査の画像を用い、第 3 腰椎 (the third lumbar vertebra ; 以下 L3) レベルの骨格筋の横断面積 (cm^2) を測定した。この L3 レベルの骨格筋横断面積は 1 枚の腹部画像から測定でき、全身の骨格筋量と相関することが報告されている⁵²⁾。L3 レベルの骨格筋には、大腰筋、腰方形筋、腸肋筋、最長筋、脊柱起立筋、多裂筋、腹横筋、内腹斜筋、外腹斜筋、腹直筋が含まれる。腹部 CT 画像の解析には、3 次元画像解析システム SYNAPSE VINCENT コンピュータワークステーションソフトウェア Version V4.4 (富士フイルム社、東京) を用い、骨格筋面積の定量は、選択した L3 レベルの体軸方向画像から皮膚、内臓器官、脊柱管中心部の面積を手動で除外して実施した。この骨格筋量の測定は全て筆者自身が実施したため、測定者間の誤差は生じていない。L3 レベルの骨格筋量指数 (the third lumbar vertebra skeletal muscle mass index ; 以下 L3-SMI) (cm^2/m^2) は、BMI の算出と同様に、測定した L3 レベルの骨格筋横断面積 (cm^2) を身長² (m^2) で除することで標準化した⁵³⁾。

患者背景及び臨床検査値

本研究では、骨格筋量の測定に用いた CT 撮影日の前後 2 週間以内の患者背景及び血液生化学検査値を解析に用いた。肝硬変の有無は、臨床経過と腹部超音波検査または CT 検査の結果から主治医が判断した。胆石患者の血液生化学検査値は、急性胆嚢炎の影響で異常値を呈していることが多

いため、収集しなかった。

統計解析

骨格筋量は著しい性差が認められるため、統計解析は男女別に実施した。全ての患者背景及び臨床検査値は、Shapiro-Wilk 検定により非正規分布を示すことを確認した。対応のない 2 群の変数の比較には Mann-Whitney *U* 検定を用い、肝硬変の重症度を 3 段階に分ける Child-Pugh 分類の 3 群の変数の比較には Jonckheere-Terpstra 検定を用いた。L3-SMI の独立した関連因子の検討には、先に Spearman の順位相関係数 (ρ) を用いて L3-SMI との相関係数を算出し、有意であった変数 ($|\rho| > 0.2$) を用いて重回帰分析を実施した。統計解析は全て SPSS ソフトウェア (SPSS Statistics Version 22; IBM Co., Armonk, NY) を用いて実施し、有意水準は $P < 0.05$ (両側検定) とした。

研究倫理

本研究は、藤田医科大学医学研究倫理審査委員会の承認を受けており (承認番号 HM16-021)、日本の GCP とヘルシンキ宣言に準拠して実施した。

【結果】

患者背景及び臨床検査値

対象患者を、性別及び疾患別に、男性胆石 (gall stone ; 以下 GS) 群、男性 CHC 群、男性 C 型肝炎 (HCV-related liver cirrhosis ; 以下 CLC) 群、女性 GS 群、女性 CHC 群、女性 CLC 群の六つに分類し、各群の患者背景及び臨床検査値を比較した (表 2-1 及び表 2-2)。CLC 群の患者は、さらに、肝硬変に特徴的な 5 項目 (脳症、腹水、血清ビリルビン値、血清アルブミン値、プロトロンビン活性値) を点数化して合計点から肝硬変の重症度を 3 段階に分ける Child-Pugh 分類 (図 8) に基づいて、5~6 点を Grade A (CP-A)、7~9 点を Grade B (CP-B)、10~15 点を Grade C (CP-C) に分類し、患者背景及び臨床検査値を比較した (表 3-1 及び表 3-2)。

表2-1 対象患者の背景と臨床検査値（男性）

症例数	男性 (n = 345)				
	GS	CHC	CLC	P値	
	193	35	117	GS vs. CHC	CHC vs. CLC
年齢 (歳)	67.9 ± 13.6	58.4 ± 10.6	69.6 ± 9.6	<0.001 ^a	<0.001 ^a
身長 (cm)	165 ± 7	167 ± 6	165 ± 7	0.224 ^a	0.292 ^a
体重 (kg)	64.6 ± 11.0	66.8 ± 10.4	62.1 ± 13.6	0.284 ^a	0.011 ^a
BMI	23.6 ± 3.2	23.9 ± 3.3	22.7 ± 4.4	0.625 ^a	0.029 ^a
L3-SMI (cm ² /m ²)	48.5 ± 7.7	51.3 ± 8.6	43.4 ± 9.2	0.112 ^a	<0.001 ^a
肝障害度 (Child-Pugh A/B/C)			55/42/20		
肝細胞癌の既往 (無/有)	193/0	32/3	31/86		<0.001 ^b
BCLCステージ (0/A/B/C/D)		3/0/0/0/0	11/21/23/16/15		
肝細胞癌の治療法 (肝切除/RFA/TACE/PEIT/BSC/その他)		1/1/0/1/0/0	24/22/23/1/9/7		
白血球数 (/μL)		5,471 ± 1,474	5,234 ± 3,000		0.044 ^a
総リンパ球数 (/μL)		1,830 ± 543	1,351 ± 873		<0.001 ^a
ヘモグロビン (g/dL)		14.7 ± 1.2	12.0 ± 2.3		<0.001 ^a
血小板数 (×10 ⁴ /μL)		16.1 ± 3.9	10.9 ± 6.4		<0.001 ^a
プロトロンビン活性 (%)		102 ± 12	83 ± 19		<0.001 ^a
血清アルブミン (g/dL)		4.2 ± 0.7	3.1 ± 0.8		<0.001 ^a
総ビリルビン (mg/dL)		0.8 ± 0.3	2.2 ± 3.7		<0.001 ^a
AST (IU/L)		44 ± 28	73 ± 60		<0.001 ^a
ALT (IU/L)		57 ± 51	54 ± 46		0.866 ^a
γ-GTP (IU/L)		60 ± 53	87 ± 170		0.519 ^a
総コレステロール (mg/dL)		166 ± 27	137 ± 51		<0.001 ^a
血清クレアチニン (mg/dL)		1.05 ± 1.17	1.20 ± 0.99		0.057 ^a
FIB-4 index		2.35 ± 1.12	8.05 ± 4.82		<0.001 ^a

数値は平均値±標準偏差または症例数を示す。

GS: 胆石、CHC: 慢性C型肝炎、CLC: C型肝炎硬変、BMI: 体格指数、L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、

BCLC: バルセロナ臨床肝癌病期分類、RFA: ラジオ波焼灼療法、TACE: 肝動脈化学塞栓療法、PEIT: エタノール注入療法、

BSC: ベストサポーターシップケア、AST: aspartate aminotransferase、ALT: alanine aminotransferase、γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase、

^aMann-Whitney *U*検定、^bχ²検定

表2-2 対象患者の背景と臨床検査値（女性）

	女性 (n = 266)			
	GS	CHC	LC	P値
症例数	116	47	103	GS vs. CHC CHC vs. CLC
年齢 (歳)	64.3 ± 14.9	64.2 ± 9.6	71.4 ± 8.2	0.566 ^a <0.001 ^a
身長 (cm)	154 ± 7	151 ± 6	151 ± 6	0.018 ^a 0.992 ^a
体重 (kg)	56.1 ± 12.3	50.7 ± 8.9	51.7 ± 9.6	0.021 ^a 0.657 ^a
BMI	23.5 ± 4.5	22.1 ± 3.8	22.5 ± 3.7	0.096 ^a 0.566 ^a
L3-SMI (cm ² /m ²)	39.8 ± 6.7	38.9 ± 6.3	38.2 ± 6.3	0.533 ^a 0.460 ^a
肝障害度 (Child-Pugh A/B/C)			62/25/16	
肝細胞癌の既往 (無/有)	116/0	44/3	49/54	<0.001 ^b
BCLCステージ (0/A/B/C/D)		1/1/1/0/0	6/19/16/4/9	
肝細胞癌の治療法 (肝切除/RFA/TACE/PEIT/BSC/その他)		3/0/0/0/0/0	11/20/15/1/4/3	
白血球数 (/μL)		5,115 ± 1,649	4,406 ± 1,783	0.009 ^a
総リンパ球数 (/μL)		1,763 ± 686	1,324 ± 745	<0.001 ^a
ヘモグロビン (g/dL)		12.9 ± 1.7	11.7 ± 2.0	<0.001 ^a
血小板数 (×10 ⁴ /μL)		15.5 ± 3.5	10.0 ± 5.1	<0.001 ^a
プロトロンビン活性 (%)		104 ± 17	85 ± 17	<0.001 ^a
血清アルブミン (g/dL)		4.3 ± 0.3	3.4 ± 0.6	<0.001 ^a
総ビリルビン (mg/dL)		0.8 ± 0.3	1.5 ± 1.4	<0.001 ^a
AST (IU/L)		43 ± 35	76 ± 60	<0.001 ^a
ALT (IU/L)		41 ± 38	51 ± 36	0.014 ^a
γ-GTP (IU/L)		33 ± 34	64 ± 82	<0.001 ^a
総コレステロール (mg/dL)		176 ± 37	147 ± 45	<0.001 ^a
血清クレアチニン (mg/dL)		0.62 ± 0.15	0.83 ± 0.60	0.005 ^a
FIB-4 index		2.94 ± 1.23	9.34 ± 6.94	<0.001 ^a

数値は平均値±標準偏差または症例数を示す。

GS: 胆石、CHC: 慢性C型肝炎、CLC: C型肝炎硬変、BMI: 体格指数、L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、

BCLC: バルセロナ臨床肝癌病期分類、RFA: ラジオ波焼灼療法、TACE: 肝動脈化学塞栓療法、PEIT: エタノール注入療法、

BSC: ベストサポーターブケア、AST: aspartate aminotransferase、ALT: alanine aminotransferase、γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase、

^a Mann-Whitney *U*検定、^b χ^2 検定

項目 \ ポイント	1点	2点	3点
肝性脳症	なし	軽度	時々昏睡
腹水	なし	少量	中等量
血清アルブミン (g/dL)	3.5超	2.8～3.5	2.8未満
プロトロンビン時間 (%)	70超	40～70	40未満
血清ビリルビン (mg/dL)	2.0未満	2.0～3.0	3.0超



各項目のポイントを加算し、
その合計点で分類

5～6点:	Grade A (軽度)
7～9点:	Grade B (中等度)
10～15点:	Grade C (高度)

図8 Child-Pugh分類

表3-1 Child-Pugh分類に基づいたC型肝硬変患者の背景と臨床検査値（男性）

症例数	男性 (n = 117)			P値 3群
	CP-A 55	CP-B 42	CP-C 20	
年齢 (歳)	70.1 ± 10.6	70.9 ± 9.2	65.8 ± 13.2	0.653 ^a
身長 (cm)	166 ± 6	165 ± 6	164 ± 9	0.898 ^a
体重 (kg)	62.0 ± 9.8	61.1 ± 14.9	64.2 ± 19.1	0.317 ^a
BMI	22.5 ± 3.2	22.4 ± 5.4	23.5 ± 5.4	0.572 ^a
L3-SMI (cm ² /m ²)	44.8 ± 7.9	42.2 ± 10.5	42.3 ± 9.7	0.021 ^a
肝細胞癌の既往 (無/有)	20/35	6/36	5/15	0.050 ^b
BCLCステージ (0/A/B/C/D)	8/14/8/5/0	3/7/15/11/0	0/0/0/0/15	
肝細胞癌の治療法 (肝切除/RFA/TACE/PEIT/BSC/その他)	18/8/5/1/0/3	4/10/13/0/6/3	2/4/5/0/3/1	
白血球数 (μL)	4,616 ± 1,717	4,700 ± 2,184	8,055 ± 5,115	0.055 ^a
総リンパ球数 (μL)	1,713 ± 934	1,078 ± 670	937 ± 695	<0.001 ^a
ヘモグロビン (g/dL)	13.3 ± 1.7	11.2 ± 2.1	10.3 ± 2.3	<0.001 ^a
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	10.3 ± 5.4	11.9 ± 6.1	10.7 ± 9.2	0.961 ^a
プロトロンビン活性 (%)	94 ± 14	80 ± 15	58 ± 15	<0.001 ^a
血清アルブミン (g/dL)	3.7 ± 0.5	2.8 ± 0.4	2.2 ± 0.5	<0.001 ^a
総ビリルビン (mg/dL)	1.0 ± 0.4	1.4 ± 1.3	6.8 ± 7.2	<0.001 ^a
AST (IU/L)	65 ± 49	73 ± 64	97 ± 78	0.065 ^a
ALT (IU/L)	58 ± 46	46 ± 37	58 ± 60	0.220 ^a
γ-GTP (IU/L)	62 ± 63	117 ± 271	94 ± 101	0.762 ^a
総コレステロール (mg/dL)	151 ± 38	126 ± 42	121 ± 83	<0.001 ^a
血清クレアチニン (mg/dL)	0.90 ± 0.28	1.45 ± 1.33	1.51 ± 1.22	0.001 ^a
FIB-4 index	7.31 ± 4.75	7.96 ± 4.43	10.25 ± 5.34	0.024 ^a

数値は平均値±標準偏差または症例数を示す。

HCV: C型肝炎ウイルス、CP-A: Child-Pugh Grade A、CP-B: Child-Pugh Grade B、CP-C: Child-Pugh Grade C、

BMI: 体格指数、L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BCLC: バルセロナ臨床肝癌病期分類、

RFA: ラジオ波焼灼療法、TACE: 肝動脈化学塞栓療法、PEIT: エタノール注入療法、BSC: ベストサポートケア、

AST: aspartate aminotransferase、ALT: alanine aminotransferase、γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase、

^aJonckheere-Terpstra検定、^b Pearsonの χ^2 検定

表3-2 Child-Pugh分類に基づいたC型肝炎患者の背景と臨床検査値（女性）

	女性 (n = 103)			
	CP-A	CP-B	CP-C	P値
症例数	62	25	16	3群
年齢 (歳)	70.3 ± 8.6	75.1 ± 6.3	69.8 ± 7.5	0.410 ^a
身長 (cm)	153 ± 6	148 ± 7	150 ± 5	0.003 ^a
体重 (kg)	53.2 ± 8.8	46.6 ± 8.5	53.4 ± 11.8	0.084 ^a
BMI	22.7 ± 3.5	21.2 ± 3.0	23.6 ± 4.7	0.568 ^a
L3-SMI (cm ² /m ²)	38.5 ± 6.6	36.7 ± 5.2	39.2 ± 6.7	0.548 ^a
肝細胞癌の既往 (無/有)	31/31	11/14	7/9	0.832 ^b
BCLCステージ (0/A/B/C/D)	6/12/11/2/0	0/7/5/2/0	0/0/0/0/9	
肝細胞癌の治療法 (肝切除/RFA/TACE/PEIT/BSC/その他)	9/12/7/0/1/2	2/7/3/0/1/1	0/1/5/1/2/0	
白血球数 (/μL)	4,311 ± 1,423	4,276 ± 2,289	4,975 ± 2,140	0.714 ^a
総リンパ球数 (/μL)	1,636 ± 732	955 ± 520	686 ± 316	<0.001 ^a
ヘモグロビン (g/dL)	12.4 ± 1.8	11.0 ± 2.0	10.3 ± 1.9	<0.001 ^a
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	10.5 ± 4.5	8.3 ± 4.1	10.8 ± 7.7	0.028 ^a
プロトロンビン活性 (%)	92 ± 13	82 ± 15	62 ± 15	<0.001 ^a
血清アルブミン (g/dL)	3.8 ± 0.3	3.0 ± 0.4	2.6 ± 0.3	<0.001 ^a
総ビリルビン (mg/dL)	1.0 ± 0.4	1.6 ± 1.0	3.2 ± 2.5	<0.001 ^a
AST (IU/L)	60 ± 27	93 ± 87	113 ± 81	0.007 ^a
ALT (IU/L)	50 ± 28	56 ± 56	44 ± 28	0.405 ^a
γ-GTP (IU/L)	43 ± 27	88 ± 109	111 ± 135	0.184 ^a
総コレステロール (mg/dL)	155 ± 32	138 ± 51	131 ± 70	0.001 ^a
血清クレアチニン (mg/dL)	0.72 ± 0.62	0.92 ± 0.45	1.07 ± 0.71	<0.001 ^a
FIB-4 index	6.61 ± 3.21	12.59 ± 7.36	14.85 ± 10.89	<0.001 ^a

数値は平均値±標準偏差または症例数を示す。

HCV: C型肝炎ウイルス、CP-A: Child-Pugh Grade A、CP-B: Child-Pugh Grade B、CP-C: Child-Pugh Grade C、
 BMI: 体格指数、L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BCLC: バルセロナ臨床肝癌病期分類、
 RFA: ラジオ波焼灼療法、TACE: 肝動脈化学塞栓療法、PEIT: エタノール注入療法、BSC: ベストサポートケア、
 AST: aspartate aminotransferase、ALT: alanine aminotransferase、γ-GTP: γ-glutamyltranspeptidase、
^aJonckheere-Terpstra検定、^b Pearsonのχ²検定

骨格筋量

男女とも、GS 患者と CHC 患者の L3-SMI に有意な差は認められず（表 2-1、表 2-2、及び図 9）、男性 GS 患者を 65 歳未満に限定した検討においても同様の結果であった（L3-SMI 平均値：51.8 cm²/m²）（結果提示なし）。男性 CLC 患者の L3-SMI は、男性 CHC 患者の L3-SMI より有意に低値であった（Mann-Whitney *U* 検定、 $P<0.001$ ）（図 9）。男性 CLC 患者を Child-Pugh 分類で 3 群に分けた比較では、CP-B の L3-SMI は CP-A の L3-SMI より有意に低値であり（Dunn-Bonferroni 検定、 $P=0.033$ ）、CP-B と CP-C の L3-SMI に有意な差は認められなかった（図 9）。一方、女性の L3-SMI に有意な群間差は認められなかった（図 9）。

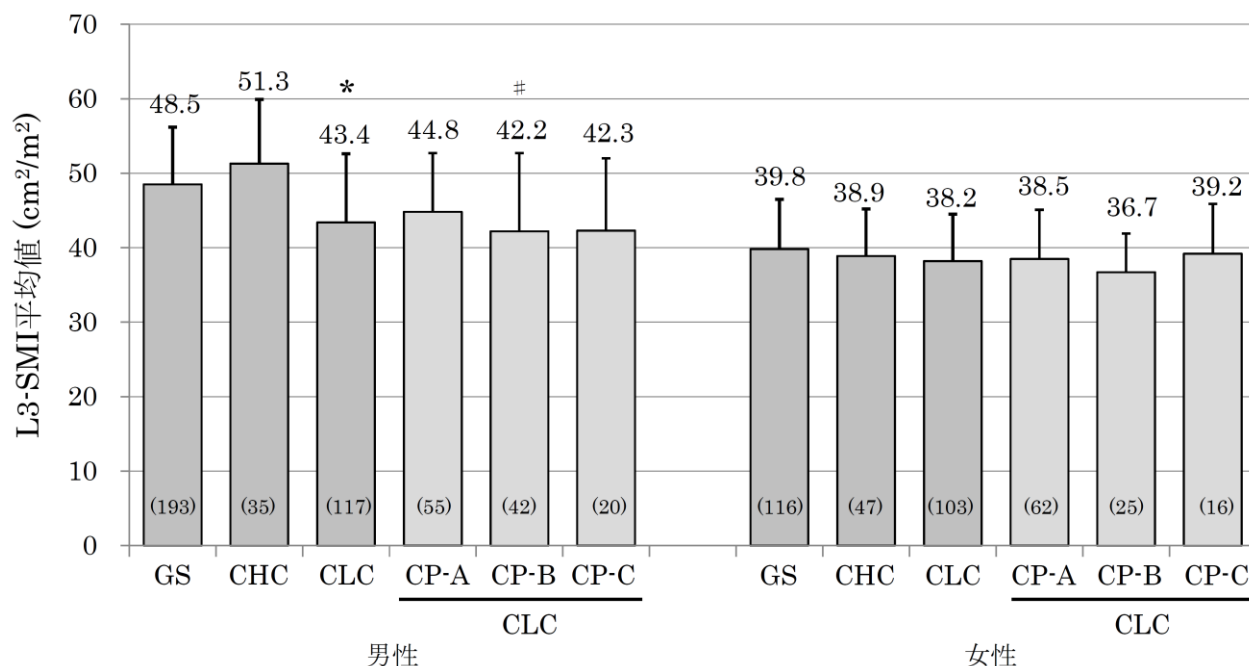


図9 胆石、慢性C型肝炎、C型肝炎硬変、及び各Child-Pugh分類の患者群のL3-SMI平均値

* $P<0.05$ vs. 男性CHC (Mann-Whitney *U* 検定)、# $P<0.05$ vs. 男性CP-A (Dunn-Bonferroni 検定)

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、GS: 胆石、CHC: 慢性C型肝炎、CLC: C型肝炎硬変、

CP-A: Child-Pugh Grade A、CP-B: Child-Pugh Grade B、CP-C: Child-Pugh Grade C

括弧内の数値は患者数を示す。

骨格筋量に関わる因子

肝硬変を除いた CHC 患者と GS 患者の L3-SMI に関連する因子を表 4-1（男性）及び表 4-2（女性）に示した。男性では、単変量解析において年齢、体重、BMI が L3-SMI と有意に相関し（Spearman の順位相関係数はそれぞれ $\rho=-0.362$ 、 $\rho=0.539$ 、 $\rho=0.746$ ）、重回帰分析ではこれら三つの因子全てが L3-SMI に関連する独立変数として選択された（全て $P<0.001$ ）（表 4-1）。女性では、単変量解析において体重と BMI が L3-SMI と有意に相関し（それぞれ $\rho=0.558$ 、 $\rho=0.633$ ）、重回帰分析では BMI が L3-SMI に関連する独立変数として選択された（ $P<0.001$ ）（表 4-2）。HCV 感染は、男女とも L3-SMI に関連する独立変数として選択されなかった（表 4-1、表 4-2）。

表4-1 肝硬変を除いた男性の慢性C型肝炎患者と胆石患者のL3-SMIに関連する因子

	男性 (n = 228)					
	Spearmanの順位相関分析		重回帰分析			
	ρ	P 値	β	P 値	95%信頼区間	
					下限	上限
年齢 (歳)	-0.362	<0.001	-0.309	<0.001	-0.237	-0.125
身長 (cm)	-0.077	0.245				
体重 (kg)	0.539	<0.001	-0.570	<0.001	-0.548	-0.281
BMI	0.746	<0.001	1.129	<0.001	2.348	3.172
HCV感染 (無/有)	0.106	0.112				
肝細胞癌の既往 (無/有)	-0.139	0.035				
$R^2 = 0.621$						
Durbin-Watson比 = 1.702						
ANOVA $P < 0.001$						

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BMI: 体格指数、HCV: C型肝炎ウイルス

表4-2 肝硬変を除いた女性の慢性C型肝炎患者と胆石患者のL3-SMIに関連する因子

	女性 (n = 163)					
	Spearmanの順位相関分析		重回帰分析			
	ρ	P 値	β	P 値	95%信頼区間	
					下限	上限
年齢 (歳)	-0.179	0.022				
身長 (cm)	0.035	0.656				
体重 (kg)	0.558	<0.001	—	—	—	—
BMI	0.633	<0.001	0.717	<0.001	0.931	1.262
HCV感染 (無/有)	-0.049	0.535				
肝細胞癌の既往 (無/有)	0.041	0.601				
$R^2 = 0.514$						
Durbin-Watson比 = 1.913						
ANOVA $P < 0.001$						

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BMI: 体格指数、HCV: C型肝炎ウイルス

慢性 HCV 感染患者の L3-SMI に関連する因子を表 5-1 (男性) 及び表 5-2 (女性) に示した。男性では、単変量解析において年齢、体重、BMI、肝硬変、HCC の既往、総リンパ球数 (total lymphocyte count ; 以下 TLC)、ヘモグロビン、血清アルブミン、総コレステロールが L3-SMI と有意に相関し (それぞれ $\rho = -0.440$ 、 $\rho = 0.626$ 、 $\rho = 0.721$ 、 $\rho = -0.365$ 、 $\rho = -0.415$ 、 $\rho = 0.285$ 、 $\rho = 0.300$ 、 $\rho = 0.310$ 、 $\rho = 0.218$)、重回帰分析では BMI、肝硬変、TLC が L3-SMI に関連する独立変数として選択された (それぞれ $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P = 0.008$) (表 5-1)。女性では、単変量解析において体重、BMI、白血球数が L3-SMI と有意に相関し (それぞれ $\rho = 0.461$ 、 $\rho = 0.607$ 、 $\rho = 0.216$)、重回帰分析では、体重と BMI が L3-SMI に関連する独立変数として選択された (それぞれ $P = 0.003$ 、 $P < 0.001$) (表 5-2)。

表5-1 男性慢性HCV感染患者のL3-SMIに関連する因子

	男性 (n = 152)					
	Spearmanの順位相関分析		重回帰分析			
	ρ	P 値	β	P 値	95%信頼区間	
					下限	上限
年齢 (歳)	-0.440	<0.001	—	—	—	—
身長 (cm)	0.056	0.491				
体重 (kg)	0.626	<0.001	—	—	—	—
BMI	0.721	<0.001	0.688	<0.001	1.329	1.795
肝硬変 (無/有)	-0.365	<0.001	-0.216	<0.001	-7.392	-2.558
肝細胞癌の既往 (無/有)	-0.415	<0.001	—	—	—	—
白血球数 (/ μ L)	0.037	0.650				
総リンパ球数 (/ μ L)	0.285	<0.001	0.143	0.008	<0.001	0.003
ヘモグロビン (g/dL)	0.300	<0.001	—	—	—	—
血小板数 ($\times 10^4$ / μ L)	0.013	0.871				
プロトロンビン活性 (%)	0.192	0.019				
血清アルブミン (g/dL)	0.310	<0.001	—	—	—	—
総ビリルビン (mg/dL)	-0.129	0.115				
AST (IU/L)	-0.151	0.063				
ALT (IU/L)	0.122	0.136				
γ -GTP (IU/L)	0.019	0.821				
総コレステロール (mg/dL)	0.218	0.007	—	—	—	—
血清クレアチニン (mg/dL)	-0.080	0.328				
			$R^2 = 0.620$			
			Durbin-Watson比 = 2.116			
			ANOVA $P < 0.001$			

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BMI: 体格指数、AST: aspartate aminotransferase、
ALT: alanine aminotransferase、 γ -GTP: γ -glutamyltranspeptidase

表5-2 女性慢性HCV感染患者のL3-SMIに関連する因子

	女性 (n = 150)					
	Spearmanの順位相関分析		重回帰分析			
	ρ	P 値	β	P 値	95%信頼区間	
					下限	上限
年齢 (歳)	-0.110	0.179				
身長 (cm)	-0.166	0.043				
体重 (kg)	0.461	<0.001	-0.422	0.003	-0.471	-0.101
BMI	0.607	<0.001	1.028	<0.001	1.293	2.230
肝硬変 (無/有)	-0.061	0.461				
肝細胞癌の既往 (無/有)	-0.016	0.845				
白血球数 (μL)	0.216	0.008	—	—	—	—
総リンパ球数 (μL)	0.164	0.048				
ヘモグロビン (g/dL)	0.090	0.276				
血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	0.074	0.370				
プロトロンビン活性 (%)	-0.021	0.804				
血清アルブミン (g/dL)	0.035	0.670				
総ビリルビン (mg/dL)	0.015	0.852				
AST (IU/L)	-0.040	0.630				
ALT (IU/L)	0.002	0.980				
γ -GTP (IU/L)	0.052	0.527				
総コレステロール (mg/dL)	0.098	0.234				
血清クレアチニン (mg/dL)	0.083	0.311				
$R^2 = 0.447$						
Durbin-Watson比 = 2.139						
ANOVA $P < 0.001$						

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BMI: 体格指数、AST: aspartate aminotransferase、

ALT: alanine aminotransferase、 γ -GTP: γ -glutamyltranspeptidase

C型肝硬変患者のL3-SMIに関連する因子を表6-1（男性）及び表6-2（女性）に示した。男性では、単変量解析において年齢、体重、BMI、Child-Pughスコア、HCCの既往、血小板数がL3-SMIと有意に相関し（それぞれ $\rho = -0.300$ 、 $\rho = 0.582$ 、 $\rho = 0.688$ 、 $\rho = -0.200$ 、 $\rho = -0.242$ 、 $\rho = -0.220$ ）、重回帰分析では年齢、体重、BMI、Child-PughスコアがL3-SMIに関連する独立変数として選択された（それぞれ $P = 0.003$ 、 $P = 0.014$ 、 $P < 0.001$ 、 $P = 0.001$ ）（表6-1）。女性では、単変量解析において体重、BMIがL3-SMIと有意に相関し（それぞれ $\rho = 0.406$ 、 $\rho = 0.567$ ）、重回帰分析では両因子がL3-SMIに関連する独立変数として選択された（それぞれ $P = 0.009$ 、 $P < 0.001$ ）（表6-2）。

表6-1 男性C型肝炎患者のL3-SMIに関連する因子

	男性 (n = 117)					
	Spearmanの順位相関分析		重回帰分析			
	ρ	P値	β	P値	95%信頼区間	
					下限	上限
年齢 (歳)	-0.300	0.001	-0.218	0.003	-0.348	-0.072
身長 (cm)	0.032	0.731				
体重 (kg)	0.582	<0.001	-0.457	0.014	-0.559	-0.063
BMI	0.688	<0.001	1.098	<0.001	1.567	2.988
Child-Pughスコア	-0.200	0.031	-0.202	0.001	-1.364	-0.345
肝細胞癌の既往 (無/有)	-0.242	0.008	—	—	—	—
白血球数 (/ μ L)	-0.060	0.522				
総リンパ球数 (/ μ L)	0.155	0.098				
ヘモグロビン (g/dL)	0.177	0.056				
血小板数 ($\times 10^4$ / μ L)	-0.220	0.017	—	—	—	—
プロトロンビン活性 (%)	-0.014	0.885				
血清アルブミン (g/dL)	0.159	0.088				
総ビリルビン (mg/dL)	-0.013	0.886				
AST (IU/L)	-0.112	0.229				
ALT (IU/L)	0.074	0.428				
γ -GTP (IU/L)	-0.044	0.636				
総コレステロール (mg/dL)	0.160	0.086				
血清クレアチニン (mg/dL)	-0.071	0.447				
$R^2 = 0.590$						
Durbin-Watson ratio = 2.311						
ANOVA $P < 0.001$						

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BMI: 体格指数、AST: aspartate aminotransferase、

ALT: alanine aminotransferase、 γ -GTP: γ -glutamyltranspeptidase

表6-2 女性C型肝炎患者のL3-SMIに関連する因子

	女性 (n = 103)					
	Spearmanの順位相関分析		重回帰分析			
	ρ	P値	β	P値	95%信頼区間	
					下限	上限
年齢 (歳)	-0.149	0.133				
身長 (cm)	-0.173	0.080				
体重 (kg)	0.406	<0.001	-0.474	0.009	-0.548	-0.081
BMI	0.567	<0.001	1.015	<0.001	1.146	2.365
Child-Pughスコア	-0.017	0.863				
肝細胞癌の既往 (無/有)	-0.022	0.829				
白血球数 (/ μ L)	0.155	0.118				
総リンパ球数 (/ μ L)	0.102	0.308				
ヘモグロビン (g/dL)	0.005	0.957				
血小板数 ($\times 10^4$ / μ L)	0.016	0.871				
プロトロンビン活性 (%)	-0.120	0.231				
血清アルブミン (g/dL)	-0.007	0.944				
総ビリルビン (mg/dL)	0.016	0.876				
AST (IU/L)	-0.018	0.854				
ALT (IU/L)	0.039	0.693				
γ -GTP (IU/L)	-0.003	0.977				
総コレステロール (mg/dL)	0.085	0.392				
血清クレアチニン (mg/dL)	0.091	0.362				
$R^2 = 0.391$						
Durbin-Watson ratio = 2.180						
ANOVA $P < 0.001$						

L3-SMI: 第3腰椎レベルの骨格筋量指数、BMI: 体格指数、AST: aspartate aminotransferase、

ALT: alanine aminotransferase、 γ -GTP: γ -glutamyltranspeptidase

【考察】

本研究では、肝硬変を除く CHC 患者と GS 患者を合わせた患者群において L3-SMI に関連する因子を探索したところ、重回帰分析において HCV 感染は L3-SMI に関連する独立変数として選択されなかった。この結果から、肝硬変を伴わない CHC 患者は、HCV 感染のない GS 患者と比較して骨格筋量は低下しておらず、HCV 感染のみで骨格筋量は減少しないことが明らかになった。また、男性 CLC 患者の重回帰分析において Child-Pugh スコアが L3-SMI に関連する独立変数として選択されたことから、肝硬変の進行とともに骨格筋量が減少することが明らかになった。これまで CT 法で計測した骨格筋量と肝硬変の重症度との関連性は報告されているが^{47-49, 51)}、それらは複数の種類の肝疾患患者を対象とした研究である。本研究は世界で初めて対象を CHC に限定し、HCV 感染のない対照群と比較することにより、HCV 感染による骨格筋量減少への影響、及び骨格筋量と肝硬変重症度の相関について明らかにした。

HCV 感染と骨格筋量の関係について明らかにするため、本研究では初めに男女別に GS 群と CHC 群の L3-SMI を比較したが、有意な差は認められなかった。しかしながら、男性のこれら 2 群の患者背景を比較すると GS 群の年齢が CHC 群のそれより有意に高かったことから、骨格筋量に対する加齢の影響が考えられた。すなわち、GS 群の骨格筋量は加齢により減少し、CHC 群の骨格筋量は HCV 感染により減少し、2 群の骨格筋量が同程度になった可能性が考えられた。そこで、GS 患者を 65 歳未満に限定し、加齢による影響を除いて追加の解析を実施した結果、同様に GS 群と CHC 群の L3-SMI に有意な差は認められなかったことから、HCV 感染により骨格筋量は減少しないことが明らかになった。

米国の調査研究では HCV 感染と骨格筋量減少に関連があることが報告されており⁸⁾、本研究の結果と矛盾が生じる。米国の研究は国民健康栄養調査〔National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)〕で収集された 18,513 例のデータを解析したものであり、骨格筋量の指標に上腕周囲径を用いていることから、全身の骨格筋量を反映していない可能性が考えられる。腹水・浮腫を合併する肝硬変患者においては、上腕周囲径より L3-SMI が 5 年後の生存予測に有用であることが指摘されている⁵⁴⁾。また、サルコペニアの診断基準を作成している世界の三つの団体〔European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP)⁵⁰⁾、Asian Working Group for Sarcopenia (AWGS)⁵⁵⁾、及び International Working Group on Sarcopenia (IWGS)⁵⁶⁾〕のガイドラインにおいても、骨格筋量の評価には CT 法、MRI 法、及び DEXA などの画像検査が推奨され、上腕周囲径は推奨されていない。さらに、前述の米国の研究は、HCV 感染者の平均年齢が 47 歳と若く、対象者の 72% に麻薬注射の使用歴があることから、薬物依存から生じる生活水準の低下、すなわち栄養価の低い食事、運動習慣の欠如などが上腕周囲径に影響した可能性が考えられる。したがって、HCV 感染と骨格筋量減少に関連はないという本研究結果は、骨格筋量の測定方法の適正、及び対象者の麻薬使用歴に関する点で、米国の調査研究より信頼性が高いと考えられる。

肝硬変はその重症度により CP-A（軽度）、CP-B（中等度）、CP-C（重度）の三つに分類される。本研究では CP-A、CP-B、CP-C の 3 群の年齢に有意な差はなかったが、男性の L3-SMI は Jonckheere-Terpstra 傾向検定において、肝硬変の進行とともに有意な低下が認められた。また、男性 CLC 患者における重回帰分析において Child-Pugh スコアと L3-SMI との間に負の相関が認められた。このことから、男性では Child-Pugh スコアが上昇するほど L3-SMI が低下し、肝硬変の進行とともに骨格筋量が減少することが明らかになった。これまで、複数の種類の肝疾患が混在する患者群を対象とした研究において、L3-SMI と Child-Pugh スコアとの間に弱い相関があることや⁴⁷⁾、Child-Pugh 分類に基づく肝硬変の進行とともに骨格筋量低下の合併率が増加することが報告されており⁴⁹⁾、本研究結果はそれらの先行研究を指示するものであった。

一方、本研究の女性の骨格筋量は肝硬変が進行しても減少せず、重回帰分析で L3-SMI に関連する独立変数として BMI と体重以外に選択される因子はなかった。これまでも、女性は肝硬変が進行してもサルコペニアの有病率は増加しないことや⁴⁹⁾、女性の骨格筋量減少の合併率は慢性肝炎、CP-A、CP-B、または CP-C の 3 群に差がないこと⁵⁷⁾が報告されている。女性で骨格筋量が減少しない理由として、女性は男性と比較して脂肪貯蔵量が多く、肝硬変を有する女性では糖新生の際に筋肉より脂肪が優先して利用されることが推測されているが^{58, 59)}、詳細は未だ明らかではない。

肝硬変の重症度(Child-Pugh 分類)と骨格筋量に関する検討では、男性 CP-B の L3-SMI は CP-A のそれと比較して有意に低かったが、CP-C の L3-SMI は CP-B のそれと比較して有意な差はなかった。CT 画像を用いて L3 レベルの腸腰筋横断面積を骨格筋量の指標として定量した他の研究においても、本研究結果と同様に、CP-B の骨格筋量は CP-A のそれより有意に低く、CP-B と CP-C の骨格筋量に有意な差はないことが報告されている⁵¹⁾。これらの結果から、慢性肝炎から肝硬変を経て肝不全へ進展する過程の中で、骨格筋量の減少が著しく進行する時期は CP-A であることが示唆された。肝硬変は進行の程度により代償性肝硬変と非代償性肝硬変に分けられる。代償性肝硬変は肝機能の低下が軽度で無症状の状態であり、Child-Pugh 分類の CP-A に該当する。一方、非代償性肝硬変は肝機能が代償できない程度まで悪化し、黄疸、腹水、肝性脳症等の症状が認められる状態であり、CP-B 及び CP-C に該当する。肝硬変患者の骨格筋量減少はアミノ酸の補給と運動の併用療法により改善することが報告されている⁶⁰⁾。CP-A の時期には既に筋蛋白崩壊が始まっているという本研究結果を考え合わせると、肝硬変患者の PEM を予防するためには、CP-B 及び CP-C のみでなく CP-A も含めた全ての重症度の肝硬変患者を対象に BCAA 製剤を投与することが重要であると推察される。しかしながら、本邦の BCAA 製剤は低アルブミン血症の患者を対象に治験が実施されたことから、保険適応の範囲は、CP-B 及び CP-C の非代償性肝硬変に限定されている。今後、BCAA 製剤が CP-A の代償性肝硬変患者においても保険診療範囲内で使用可能になるように、根拠となる科学的データの収集がさらに必要と考えられる。

本研究では、対象患者の異なる六つの重回帰分析(表 4-1、表 4-2、表 5-1、表 5-2、表 6-1、及び表 6-2) 全てにおいて、L3-SMI に関連する独立変数として BMI が選択された。BMI は肥満度を表す体格指数であり、CT 法を用いて骨格筋量を測定した他の研究においても同様の結果が報告されている^{9, 51)}。男性 CHC 患者の重回帰分析では、L3-SMI に関連する独立変数として TLC が選択された。TLC は従来より栄養状態を反映する有用な指標であり、栄養障害の進行とともに減少し、罹患率と死亡率に相関することや⁶¹⁻⁶³⁾、上腕周囲径と相関すること⁶⁴⁾が報告されている。本研究の BMI 及び TLC が骨格筋量と関連するという結果は、既存の報告と矛盾していないと考えられる。

PEM は肝硬変患者の重要な予後不良因子の一つであり、筋蛋白崩壊の程度を評価するには骨格筋量の定量が重要である。本研究は、本邦の肝疾患の中で最も罹患患者数の多い HCV 感染患者の骨格筋量を調査し、栄養療法を必要とする対象は CP-A を含めた全ての重症度の肝硬変患者であることが明らかになった。今後、BCAA 製剤の保険適応範囲が代償性肝硬変にも拡大され、肝疾患患者の QOL 及び生命予後の改善に繋がることが期待される。

【小括】

本研究では CHC 患者と対照群の骨格筋量を定量し、肝硬変の重症度と骨格筋量の関係を調査したところ、先行研究と異なり、肝硬変を伴わない CHC 患者は HCV 非感染者と比較して骨格筋量は低下しておらず、HCV 感染のみで骨格筋量は減少しないことが明らかになった。さらに、男性 CLC 患者では肝硬変の進行とともに骨格筋量が減少し、その減少は Child-Pugh 分類の Grade A で著しく進行することが明らかになった。

第3章 肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の切り替え効果

【緒言】

肝硬変患者では、第2章の結果に示したように、骨格筋量の減少が認められ、高頻度に PEM を合併する⁶⁵⁾。PEM が進行すると腹水、浮腫、肝性脳症などの症状が出現し、QOL が低下する^{65, 66)}。さらに、PEM を合併する肝硬変患者は、それを合併しない肝硬変患者と比較して生存率が低く、骨格筋量の低下は生命予後に深く関係する^{65, 67)}。したがって、肝硬変患者の ADL を維持し、生命予後を改善するためには、PEM の予防と治療に対するアプローチが極めて重要となる。

肝硬変の進行した患者では、血液中の BCAA 濃度が低下する⁶⁾。これは肝細胞数の減少及び肝機能の低下によりグリコーゲン貯蔵量が減少し、夜間など長時間の空腹時に糖新生が十分に行われず、BCAA がエネルギー基質として利用されることに起因する。また、肝硬変患者では肝臓でのアンモニア処理能力が低下し、その代償として骨格筋でアンモニアが処理されるが、その際にも BCAA が消費されることから、体内でさらに BCAA が不足する。BCAA の中でも特にロイシンは、細胞内シグナル伝達経路の哺乳類ラパマイシン標的蛋白質 (mammalian target of rapamycin ; mTOR) の p70 S6 キナーゼ系を活性化することによりアルブミン合成を促進している⁶⁸⁾。したがって、BCAA の減少はアルブミン合成を低下させ、低アルブミン血症を引き起こす。

肝硬変患者の低アルブミン血症に対する栄養療法は、主に消費した BCAA の経口投与が行われ⁶⁹⁻⁷¹⁾、その投与量は1日あたり 12 g が基準になっている。これは、大規模臨床試験において、1日あたり 12 g の経口 BCAA 投与が、血清アルブミン値を上昇させ、肝不全、食道静脈瘤の破裂、肝細胞癌、死亡の発生率を低下させることが報告されていることに起因する^{9, 69)}。本邦で肝硬変に保険適応のある経口 BCAA 含有医薬品は、主に BCAA 顆粒 (リーバクト®顆粒) と肝不全用経腸栄養剤 (アミノレバン®EN 配合散) の2種類がある。BCAA 顆粒は肝硬変患者の低アルブミン血症の初期治療に用いられ、3包で BCAA 12 g に相当する。一方、肝不全用経腸栄養剤は2包で BCAA 11.1 g を含有し、BCAA 顆粒3包分の BCAA 含有量に近似する。BCAA 製剤2種類の主な成分含有量を表7に示した。BCAA 顆粒3包は炭水化物と脂質は含有せず、エネルギー量 48 kcal であるのに対し、肝不全用経腸栄養剤2包は総アミノ酸 27.0 g、炭水化物 63.0 g、脂質 7.4 g を含有し、エネルギー量 426 kcal である。すなわち、肝不全用経腸栄養剤は、BCAA 顆粒と比較して、BCAA 以外のアミノ酸、脂質、及び炭水化物を含有し、エネルギー量が高いことが特徴である。

表7 経口分岐鎖アミノ酸製剤の成分含有量

	BCAA顆粒 3包	肝不全用経腸栄養剤 2包
総アミノ酸 (g)	12.0	27.0
総BCAA (g)	12.0	11.1
L-バリン (g)	3.4	3.2
L-ロイシン (g)	5.7	4.1
L-イソロイシン (g)	2.9	3.8
炭水化物 (g)	-	63.0
脂質 (g)	-	7.4
総エネルギー (kcal)	48	426

BCAA: 分岐鎖アミノ酸

2種類のBCAA製剤は保険適応が異なり、それぞれBCAA顆粒は「低アルブミン血症を呈する非代償性肝硬変患者」、肝不全用経腸栄養剤は「肝性脳症を伴う慢性肝不全患者」である。肝硬変は進行の程度により代償性と非代償性に分けられ、代償性肝硬変は肝機能の低下が軽度で無症状の状態であり、非代償性肝硬変は肝機能が代償できない程度まで悪化し、黄疸、腹水、肝性脳症等の症状を呈する状態である。さらに、肝硬変が進行して肝臓が生体に必要な機能を果たせなくなった状態が肝不全である。臨床現場では、2種類のBCAA製剤は、患者の食事摂取状況及び肝硬変の重症度に応じて主治医の判断で使い分けられている。一般的に、食事を十分量摂取していて低アルブミン血症を呈する肝硬変患者はBCAA顆粒1日3包から開始し、BCAA顆粒の投与では低アルブミン血症が改善しない場合に肝不全用経腸栄養剤が用いられている。なお、肝不全用経腸栄養剤の保険適応上の用法用量は1日3回食事と共に経口投与となっているが、肝不全用経腸栄養剤はアミノ酸特有の苦味に加え、溶解後の1包あたりの液量が約200 mLであり、腹水により腹部膨満感のある肝硬変患者にとって1日3回の継続は困難であることが課題となっている。

肝硬変患者は肝臓でのグリコーゲン貯蔵量が減少していることから、夜間など長時間の空腹時に糖新生が十分に機能せず、容易に飢餓状態になる¹⁰⁾。肝硬変患者の体内では、グルコースの酸化が著しく減少し、脂質及び蛋白質の異化が亢進するため、肝硬変患者の一晩絶食後の代謝状態は、健康人の2～3日間絶食後の飢餓状態と同等であることが報告されている¹⁰⁾。この肝硬変患者の夜間飢餓状態を緩和する方法として、米国静脈経腸栄養学会（American Society for Parenteral and Enteral Nutrition ; ASPEN）と欧州静脈経腸栄養学会（European Society for Clinical Nutrition and Metabolism ; ESPEN）のガイドラインでは、就寝前に200 kcal程度の軽食を摂取するLESが推奨されている⁷²⁻⁷⁵⁾。LESには白米（おにぎり）や栄養補助食品が用いられているが^{72, 73)}、近年では、肝不全用経腸栄養剤1包（213 kcal）がガイドラインの推奨しているLESのエネルギー量と同程度であることから、肝不全用経腸栄養剤をLESとして就寝前に投与する治療が試みられている^{7, 71)}。しかしながら、BCAA製剤の切り替え効果や効果的な投与方法、LESを組み合わせた治療については十分検討されていない。

本章では、BCAA顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者を対象に、BCAA顆粒から肝不全用経腸栄養剤に切り替え、LESとして投与した場合の効果について、BCAA顆粒を継続した患者を対照に比較検討した。

【方法】

対象患者

本研究は、2016年8月から2017年2月までの期間に、藤田医科大学病院肝胆膵内科に通院または入院している肝硬変患者のうち、BCAA 顆粒 1日3包を3か月以上投与しても低アルブミン血症（血清アルブミン値 3.5 g/dL 未満）が改善しなかった 26 名を対象に実施した。肝硬変の診断は、血液生化学検査値〔末梢血の血小板数及び Mac-2 結合蛋白糖鎖修飾異性体（mac-2 binding protein glycosylation isomer；以下 M2BPGi）など〕、腹部画像検査、及び組織学的検査（肝生検）の結果に基づいて、主治医が判断した。BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤への切り替えに同意した患者は介入群（肝不全用経腸栄養剤群）として BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤へ変更し、同意しなかった患者は対照群（BCAA 顆粒群）として BCAA 顆粒の投与を継続した。なお、低アルブミン血症の原因が肝硬変以外にも考えられる慢性腎臓病や栄養失調の患者は除外した。

試験薬

BCAA 顆粒（リーバクト®顆粒、味の素株式会社、東京）は、1包あたり L-バリン 1,144 mg、L-ロイシン 1,904 mg、L-イソロイシン 952 mg を含有し、通常用量の1回1包を1日3回食後に経口投与した。肝不全用経腸栄養剤（アミノレバン®EN 配合散、大塚製薬株式会社、東京）は、1包あたり L-バリン 1,602 mg、L-ロイシン 2,037 mg、L-イソロイシン 1,923 mg を含有し、BCAA 以外のアミノ酸も含めた総アミノ酸は 13.5 g、脂質 3.7 g、及び少量のミネラルとビタミンを含有し、総エネルギー量 213 kcal である。肝不全用経腸栄養剤の添付文書上の用量は1日3包であるが、この用量は服薬コンプライアンスの確保が困難であり、他の臨床試験においても大多数の患者が1日3包を継続できず、1日2包に減量となったことが報告されている⁷⁶⁾。したがって、本研究の肝不全用経腸栄養剤の投与量は1日2包に設定し、朝食間及び就寝前に1包ずつ経口投与した。なお、肝不全用経腸栄養剤群の患者には、服薬コンプライアンスを確認するため、試験開始時に6か月の服用日誌を配布し、試験終了時に回収した。

試験デザイン

試験開始時は、患者背景、身体計測値、臨床検査値、Child-Pugh スコアの算出に必要な客観的所見（浮腫及び肝性脳症の程度）などの情報を収集した。栄養状態及び副作用の評価に用いた臨床検査項目（血清アルブミン、トランスサイレチン、TLC、BTR、ヘモグロビン A1c、及び総コレステロール）は、試験開始時、試験開始3か月後、試験開始6か月後の3点で経時的に測定した。トランスサイレチンは ESPA TTR II キット（ニプロ株式会社、大阪）を用いて免疫比濁法で測定し、BTR の算出に必要なアミノ酸の定量は酵素法（株式会社エスアールエル、東京）で測定した。

統計解析

試験開始時の患者背景及び臨床検査値の2群の差は、 χ^2 検定またはMann-Whitney U 検定を用いて解析した。同一群の臨床検査値の経時的変化は、Wilcoxonの符号付順位検定を用いて解析した。全ての統計解析はSPSSソフトウェア（SPSS Statistics Version 20.0; IBM Co.、アーモンク、ニューヨーク州、米国）を用いて実施し、有意水準は $P < 0.05$ （両側検定）とした。

研究倫理

本研究は、藤田医科大学医学研究倫理審査委員会の承認を受けており（承認番号 HM18-181）、日本のGCPとヘルシンキ宣言に準拠して実施した。本研究は前向き臨床試験であり、全被験者に文書を用いて説明し、書面による同意を得て実施した。

【結果】

対象患者の分類と患者背景

本研究には26例の肝硬変患者が登録され、その内訳はBCAA顆粒群10例、肝不全用経腸栄養剤群16例であった。試験期間中に実施計画書から逸脱した症例は2例で、その内訳はBCAA顆粒の投与を中止したBCAA顆粒群の患者と、肝不全用経腸栄養剤を2包から3包に増量した肝不全用経腸栄養剤群の患者であり、これら2例を除いた24例で統計解析を実施した（図10）。肝不全用経腸栄養剤群の服薬コンプライアンスは良好で、平均服薬遵守率は89.3%であった。試験開始時の患者背景及び臨床検査値を表8-1（全症例）及び表8-2（BCAA顆粒群と肝不全用経腸栄養群の比較）に示す。BCAA顆粒群と肝不全用経腸栄養群の患者背景に有意な差はみられなかった。

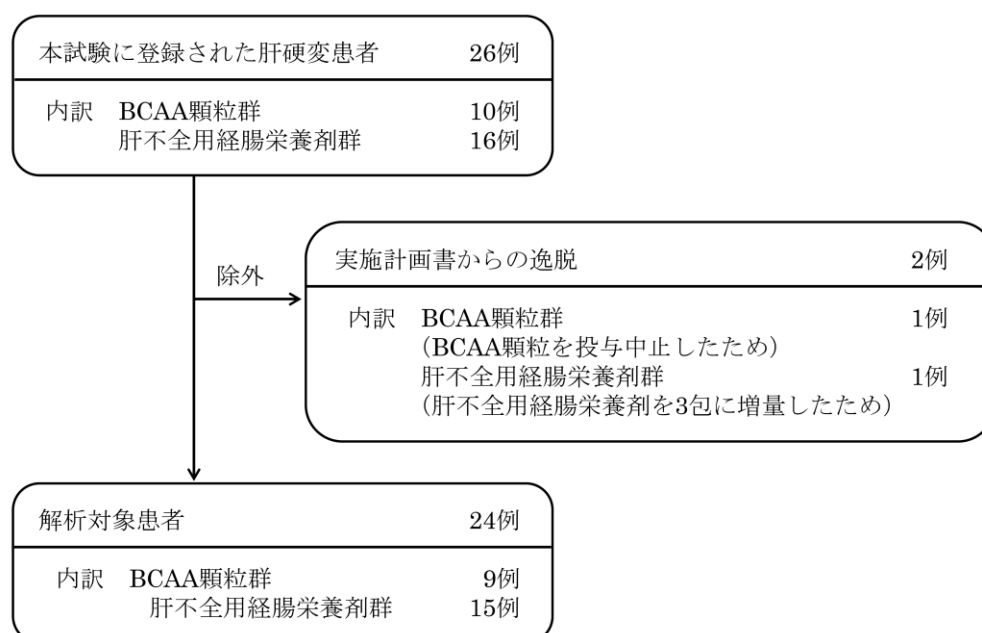


図10 対象患者の分類

BCAA: 分岐鎖アミノ酸

表8-1 試験開始時の患者背景と臨床検査値（全症例）

	全症例
	(n = 24)
性別 (男/女)	10/14
年齢 (歳)	75.9 ± 7.7
身長 (cm)	157 ± 9
体重 (kg)	57.3 ± 13.7
BMI	23.4 ± 5.6
肝疾患の成因	
非アルコール性脂肪性肝炎	10
C型肝炎	5
B型肝炎	3
自己免疫性肝炎	3
原発性胆汁性胆管炎	2
アルコール性肝障害	1
Child-Pugh分類 (A/B/C)	17/7/0
HCCの合併(無/有)	14/10
試験期間中のHCC治療 (TACE/肝切除) (無/有)	19/5
試験期間中のアルブミン輸注(無/有)	23/1
糖尿病の合併 (無/有)	16/8
白血球数 (/ μ L)	3992 ± 1461
総リンパ球数 (/ μ L)	1204 ± 494
血小板数 ($\times 10^4$ / μ L)	9.7 ± 3.7
プロトロンビン時間 (%)	75 ± 16
ヘモグロビンA1c (%)	6.2 ± 1.5
血清アルブミン (g/dL)	3.1 ± 0.2
トランスサイレチン (mg/dL)	10.0 ± 3.2
総ビリルビン (mg/dL)	1.7 ± 0.7
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (IU/L)	56 ± 48
アラニンアミノトランスフェラーゼ (IU/L)	34 ± 19
血清クレアチニン (mg/dL)	0.88 ± 0.30
BTR	3.07 ± 1.17
M2BPGi (COI)	8.15 ± 4.62

数値は症例数または平均値±標準偏差を示す。

BCAA: 分岐鎖アミノ酸、BMI: 体格指数、HCC: 肝細胞癌、TACE: 肝動脈化学塞栓療法、

BTR: 総分岐鎖アミノ酸対チロシン比、M2BPGi: Mac-2結合蛋白糖鎖修飾異性体

表8-2 試験開始時の患者背景と臨床検査値 (BCAA顆粒群と肝不全用経腸栄養剤群の比較)

	BCAA顆粒群 (n = 9)	肝不全用経腸栄養剤群 (n = 15)	P値
性別 (男/女)	2/7	8/7	0.210 ^a
年齢 (歳)	76.7 ± 8.7	75.4 ± 7.2	0.599 ^b
身長 (cm)	155 ± 7	157 ± 11	0.861 ^b
体重 (kg)	57.0 ± 14.4	57.4 ± 13.7	0.953 ^b
BMI	23.8 ± 6.9	23.2 ± 4.9	0.861 ^b
肝疾患の成因			
非アルコール性脂肪性肝炎	4	6	0.976 ^a
C型肝炎	2	3	
B型肝炎	1	2	
自己免疫性肝炎	1	2	
原発性胆汁性胆管炎	1	1	
アルコール性肝障害	0	1	
Child-Pugh分類 (A/B/C)	5/4/0	12/3/0	0.356 ^a
HCCの合併(無/有)	7/2	7/8	0.210 ^a
試験期間中のHCC治療 (TACE/肝切除) (無/有)	8/1	11/4	0.615 ^a
試験期間中のアルブミン輸注(無/有)	9/0	14/1	1.000 ^a
糖尿病の合併 (無/有)	5/4	11/4	0.412 ^a
白血球数 (μL)	3556 ± 1180	4253 ± 1586	0.379 ^b
総リンパ球数 (μL)	1225 ± 510	1191 ± 501	0.815 ^b
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	8.8 ± 2.9	10.2 ± 4.1	0.446 ^b
プロトロンビン時間 (%)	75 ± 14	75 ± 18	0.907 ^b
ヘモグロビンA1c (%)	7.1 ± 1.9	5.7 ± 0.8	0.194 ^b
血清アルブミン (g/dL)	3.1 ± 0.2	3.0 ± 0.2	0.682 ^b
トランスサイレチン (mg/dL)	9.9 ± 3.3	10.1 ± 3.2	0.770 ^b
総ビリルビン (mg/dL)	1.8 ± 0.8	1.6 ± 0.7	0.682 ^b
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (IU/L)	38 ± 10	66 ± 58	0.108 ^b
アラニンアミノトランスフェラーゼ (IU/L)	24 ± 8	39 ± 22	0.055 ^b
血清クレアチニン (mg/dL)	0.92 ± 0.33	0.86 ± 0.30	0.599 ^b
BTR	2.54 ± 0.74	3.40 ± 1.28	0.064 ^b
M2BPGi (COI)	8.31 ± 5.19	8.05 ± 4.43	0.558 ^b

数値は症例数または平均値±標準偏差を示す。

BCAA: 分岐鎖アミノ酸、BMI: 体格指数、HCC: 肝細胞癌、TACE: 肝動脈化学塞栓療法、

BTR: 総分岐鎖アミノ酸対チロシン比、M2BPGi: Mac-2結合蛋白糖鎖修飾異性体

^aχ²検定、^bMann-Whitney U検定

栄養状態及び副作用の評価

試験期間中の臨床検査値の推移を図 11 に示す。血清アルブミン、トランスサイレチン、及び総リンパ球数は、両群とも有意な変化はみられなかった (図 11 A-C)。肝不全用経腸栄養剤群の試験開始 6 か月後の BTR (4.36±2.39) は、試験開始時 (2.54±0.74) と比較して有意に上昇したが (Wilcoxon の符号付順位検定、 $P=0.030$)、BCAA 顆粒群では変化しなかった (図 11 D)。ヘモグロビン A1c 及び総コレステロールは、両群とも有意な変化はみられなかった (図 11 E, F)。

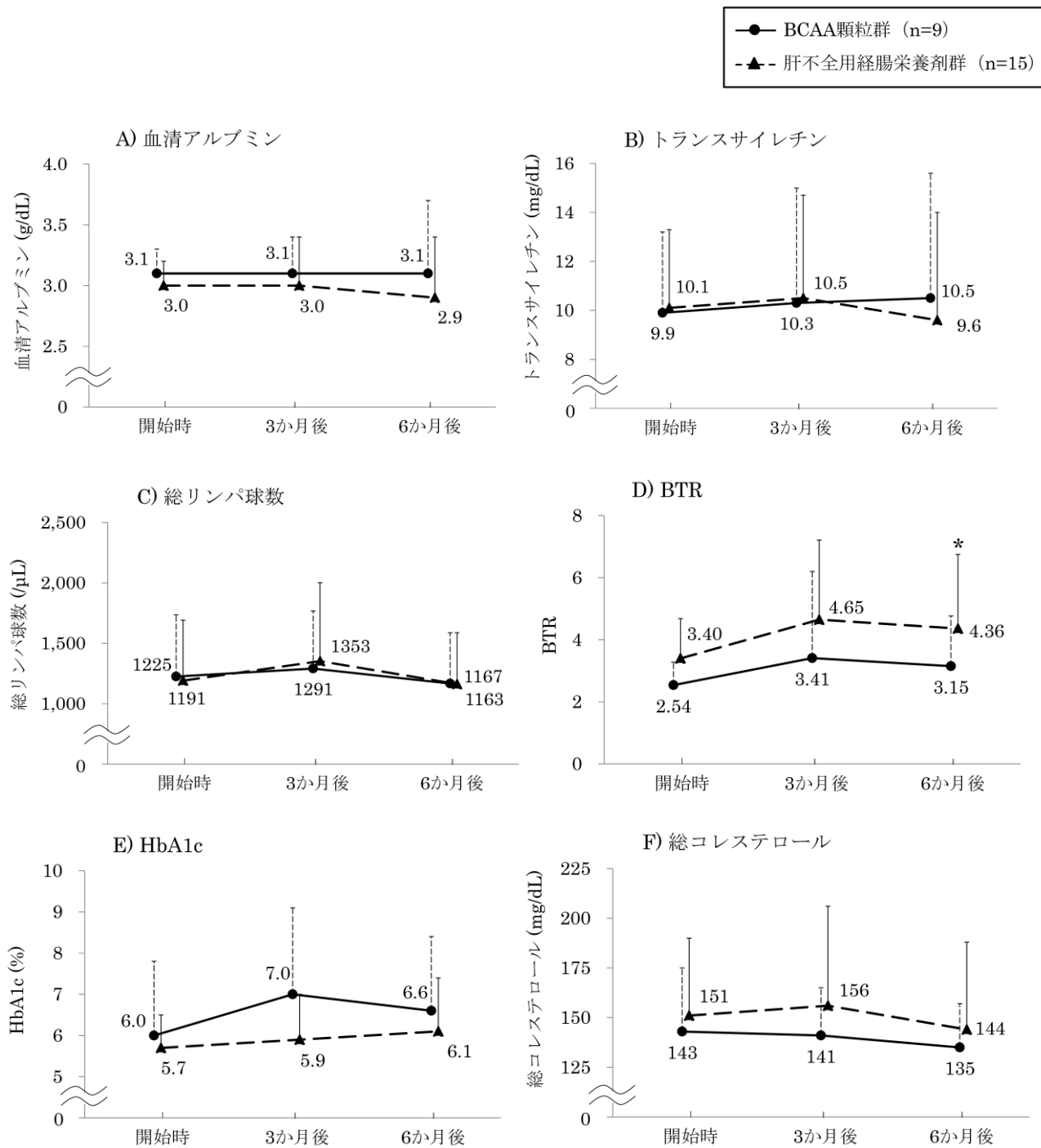


図11 臨床検査値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 試験開始時 (Wilcoxon符号付順位検定)

BCAA: 分岐鎖アミノ酸、BTR: 総分岐鎖アミノ酸対チロシン比

【考察】

本研究では、BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者を対象に、BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 回(朝食間及び就寝前)へ切り替える前向き臨床試験を実施した。その結果、血清アルブミン値は変化しなかったが、切り替え 6 か月後に肝不全の指標である BTR が改善した。肝硬変患者では、肝硬変の進行とともに血清 BCAA 濃度の低下、及び血清芳香族アミノ酸 (aromatic amino acid ; 以下 AAA) 濃度の上昇がみられ、BCAA と AAA のモル比である Fischer 比が低下する⁷⁷⁾。Fischer 比は肝臓の予備能力及び肝不全の重症度の評価に用いられる重要な指標であるが⁷⁸⁾、測定が煩雑で高価なことから普及が進まなかった。一方、Fischer 比の AAA をチロシンに置き換えた BTR は迅速に測定でき、臨床的意義は Fischer 比と同等であることから⁷⁹⁾、現在、臨床現場では Fischer 比の代替として BTR が測定されている。近年、BTR が肝硬変患者の予後予測因子になりうるかを評価するため、BTR と無症候生存期間の関係を調査した後ろ向き観察コホート研究が実施された⁸⁰⁾。その結果、 $BTR \geq 4$ の患者は $BTR < 4$ の患者と比較して無症候生存期間が有意に長く、 $BTR < 4$ の患者の $BTR \geq 4$ の患者に対する死亡ハザード比は 4.50 であり、BTR が肝硬変患者の予後予測に有用であることが報告されている⁸⁰⁾。本研究で実施した BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤に切り替える薬物療法は、切り替え 6 か月後に BTR が有意に上昇したことから、肝硬変患者の生命予後を改善する有用な治療選択肢の一つと考えられる。

BCAA 顆粒 3 包を投与した患者群と肝不全用経腸栄養剤 3 包を食事と共に投与した患者群の血清アルブミン値の推移を比較した先行研究がある⁷⁶⁾。この試験では肝不全用経腸栄養剤を投与した患者のほとんどが 1 日 3 包を継続できず、実際には 1 日 2 包に減量していたことから⁷⁶⁾、本研究の肝不全用経腸栄養剤群と等しい投与量と言える。この先行研究の BCAA 顆粒を投与した患者群と肝不全用経腸栄養剤を投与した患者群の血清アルブミン値の改善効果は同等であった。本研究では、肝不全用経腸栄養剤群の切り替え前後で血清アルブミン値が変化しなかったことから、この先行研究の結果と一致していた。一方、先行研究では投与開始 6 か月後の BTR 改善効果は両群で同等であったが、本研究では BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤に切り替えることにより BTR が改善した。本研究における BTR の結果が先行研究と異なる理由は、肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 回の投与時間を空腹時である朝食間と就寝前 (LES) に設定した点にあると考えられる。すなわち、本研究で切り替え後に BTR が上昇した理由は、肝臓のグリコーゲン貯蔵不足により生じていた早朝の飢餓状態⁸¹⁾が就寝前のエネルギー投与により緩和され、亢進していた蛋白質の異化が抑制され、さらに BCAA を同時に補給することにより BCAA の消費量が低下したためと推察される。

HCV 関連慢性肝疾患患者を対象とした先行研究では、 $BTR < 3.75$ の患者群の 1 年後の血清アルブミン値は有意に減少するのに対し、 $BTR \geq 3.75$ の患者群のそれは維持されることから、BTR は 1 年後の血清アルブミン値に関連することが報告されている⁸²⁾。本研究の肝不全用経腸栄養剤群の BTR は、試験開始時 3.40 ± 1.28 、試験開始 6 か月後 4.36 ± 2.39 であり、切り替え 6 か月後に $BTR \geq 3.75$ に上昇した。したがって、BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤に切り替える本研究の薬物療法は、1 年後の血清アルブミン値の減少を抑制する効果を有することが示唆される。

栄養状態の評価項目として、本研究ではトランスサイレチン及び TLC も測定したが、肝不全用経腸栄養剤への切り替え後も両項目に改善はみられなかった。トランスサイレチンは肝臓で産生される半減期 2 日の血漿蛋白質で、短期的な肝臓の蛋白合成能を反映するが、血清アルブミン値と同

様に変化はみられなかった。TLC は、術後の患者において高用量 BCAA の静脈内投与により TLC が上昇したとの報告もあるが^{83, 84)}、本研究では切り替え前後の BCAA 投与量が近似していること、及び BCAA 投与量が先行研究で静脈内投与された量より少ないことが、変化が認められなかった要因と考えられる。

肝硬変患者の多くは耐糖能異常を合併している⁸⁵⁾。BCAA 顆粒 3 包（エネルギー量 48 kcal）から肝不全用経腸栄養剤 2 包（エネルギー量 426 kcal）に切り替えると、投与エネルギー量は 1 日あたり 378 kcal 増加することになる。本研究では、主治医及び薬剤師から肝不全用経腸栄養剤群の患者に対し、試験開始時に BCAA 製剤の変更により増加するエネルギー量と同程度のカロリーを 1 日 3 回の食事から減量し、1 日の摂取エネルギー量が過剰にならないように指導した。本研究でヘモグロビン Alc の有意な上昇がみられなかった理由は、肝不全用経腸栄養剤群の患者が指導内容を遵守し、血糖上昇を回避できたためと考えられる。

本研究で実施した BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 回（朝食間及び就寝前）に切り替える LES を組み合わせた薬物療法は、良好な服薬コンプライアンスの維持が可能であり、肝硬変患者の BTR を改善することが明らかになった。BTR は無症候生存期間及び 1 年後の血清アルブミン値に関連し^{80, 82)}、この血清アルブミン値は肝硬変患者の重要な予後指標の一つである⁶⁷⁾。肝硬変患者の血清アルブミン値を改善する薬物療法のさらなる検討が必要と考えられる。

【小括】

BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 回（朝食間及び就寝前）に切り替える LES を組み合わせた薬物療法は、切り替え 6 か月後の BTR を改善した。この治療法は BCAA 顆粒単剤では十分な効果が得られない肝硬変患者に対し、有用な治療選択肢の一つになりうる。

第4章 肝硬変における分岐鎖アミノ酸製剤の2剤併用効果

【緒言】

第3章では、BCAA 顆粒 1 日 3 包投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、BCAA 顆粒 1 日 3 包から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 包（朝食間と就寝前投与）に切り替える栄養状態改善効果を検討した。その結果、切り替え 6 か月後に肝不全の指標である BTR は改善したが、血清アルブミン値の上昇効果は得られなかった。血清アルブミン値は肝硬変患者の重要な予後指標の一つであり、肝硬変患者の 5 年生存率は、血清アルブミン値 3.5 g/dL 以上の患者で 68%、3.5 g/dL 未満の患者では 36%と半減する⁶⁷⁾。したがって、低アルブミン血症を呈する肝硬変患者では、血清アルブミン値を 3.5 g/dL 以上に維持することを目標に、積極的な栄養学的介入が必要である。

本邦で肝硬変患者に保険適応のある経口 BCAA 含有処方箋医薬品には、主に BCAA 顆粒（リーバクト®配合顆粒）と肝不全用経腸栄養剤（アミノレバン®EN 配合散）の 2 種類があり、両薬剤は保険適応となる対象患者が異なることから、日常診療において併用されることはない。肝不全用経腸栄養剤は、添付文書では 1 日 3 包まで使用可能である。しかしながら、アミノ酸特有の苦味の問題に加え、1 包（50 g 散）溶解後の液量は約 200 mL であり、腹水により腹部膨満感のある肝硬変患者にとって肝不全用経腸栄養剤 1 日 3 包の服用を継続することは、服薬コンプライアンスの確保が困難である⁷⁶⁾。したがって、肝硬変患者の血清アルブミン値の改善効果を得るためには、良好な服薬コンプライアンスを維持し、欧米の各種栄養ガイドライン^{74, 75)}が推奨している LES を組み合わせ、かつ BCAA 投与量をさらに増量した薬物療法が重要と考えられた。藤田医科大学病院肝胆膵内科では 2004 年より、BCAA 顆粒 1 日 3 包に加えて、肝不全用経腸栄養剤を LES として 1 包追加する薬物療法を実施してきた。この 2 種類の BCAA 製剤を併用する薬物療法は、1 日あたりの BCAA 投与量が 17,562 mg であり、BCAA 顆粒 3 包（1 日あたり BCAA 12,000 mg）と比較して、BCAA 投与量を約 1.5 倍に増量した治療法である（表 9）。

本章では、BCAA 顆粒 1 日 3 包を投与しても低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、LES として肝不全用経腸栄養剤を 1 包併用した薬物療法の血清アルブミン値改善効果について調査した。

表9 分岐鎖アミノ酸製剤の成分含有量

	BCAA顆粒 3包	肝不全用経腸栄養剤 1包	2剤併用
総アミノ酸 (g)	12.0	13.5	25.5
総BCAA (mg)	12,000	5,562	17,562
L-バリン (mg)	3,432	1,602	5,034
L-ロイシン (mg)	5,712	2,037	7,749
L-イソロイシン (mg)	2,856	1,923	4,779
炭水化物 (g)	-	31.5	31.5
脂質 (g)	-	3.7	3.7
総エネルギー (kcal)	48	213	261

BCAA: 分岐鎖アミノ酸

【方法】

対象患者

対象は、藤田医科大学病院肝胆膵内科に通院または入院している肝硬変患者のうち、2004年6月から2014年3月の期間に、BCAA 顆粒 1 日 3 包を 3 か月以上投与しても低アルブミン血症が改善せず、肝不全用経腸栄養剤 1 包を LES として追加した患者 40 例を、診療録を用いて後ろ向き調査した。併用開始前の BCAA 顆粒投与期間を 3 か月以上としていたのは、BCAA 顆粒の添付文書に「本剤を 2 か月以上投与しても低アルブミン血症の改善が認められない場合は、他の治療に切り替えるなど適切な処置を行うこと」と記載されているためである。なお、腎機能障害を合併している患者は、尿中への蛋白質漏出により低アルブミン血症が助長されるため、栄養剤による血清アルブミンの改善効果が適切に評価できない可能性があり、除外した。

BCAA 製剤

対象患者に投与されていた BCAA 顆粒（リーバクト®配合顆粒、味の素株式会社、東京）（1 包あたり L-バリン 1,144 mg、L-ロイシン 1,904 mg、L-イソロイシン 952 mg 含有）は、1 日 3 回食後に 1 回 1 包ずつ経口投与されていた。肝不全用経腸栄養剤（アミノレバン®EN 配合散、大塚製薬株式会社、東京）（1 包あたり L-バリン 1,602 mg、L-ロイシン 2,037 mg、L-イソロイシン 1,923 mg、総アミノ酸 13.5 g に加え、炭水化物 31.5 g、脂質 3.7 g、少量の無機物、及びビタミン含有、エネルギー量 213 kcal）は、BCAA 顆粒 1 日 3 包に加えて 1 日 1 包就寝前に経口投与されていた。なお、調査期間中の対象患者の診療録に、服薬遵守率の低下、及び食事摂食量の変化に関する記述は認められなかった。

研究デザイン

評価項目は、肝硬変患者の栄養状態を反映し、重要な予後指標である血清アルブミン値とした。本研究は対照群のない後ろ向き調査であり、肝不全用経腸栄養剤の併用開始 6 か月前、併用開始時、及び併用開始 6 か月後の 3 時点でデータを収集した。肝硬変患者では、ラジオ波焼灼療法

（radiofrequency ablation；以下 RFA）、肝動脈化学塞栓術（transcatheter arterial chemoembolization；以下 TACE）、肝切除術などの HCC の治療を施行することや、食道静脈瘤の破裂に伴う上部消化管出血を合併することが多く、その直後は血清アルブミン値が低下する。また、低アルブミン血症を是正するためにアルブミン輸注を実施すると、一時的に血清アルブミン値が上昇する。したがって、調査期間中にこれらの血清アルブミン値に影響を及ぼす要因がなかった患者 23 例（以下、変動要因非曝露群）と血清アルブミン値に影響を及ぼす要因があった患者 17 例（以下、変動要因曝露群）に分けて、サブグループ解析を実施した（図 12）。また、変動要因曝露群 17 例のうち、併用開始 6 か月前から併用開始時までに血清アルブミン値に影響を及ぼす要因がなかった患者 9 例（以下、開始前の変動要因非曝露群）と血清アルブミン値に影響を及ぼす要因があった患者 8 例（以下、開始前の変動要因曝露群）に分けたサブグループ解析を実施した（図 12）。さらに、肝硬変の重症度を 3 段階に分ける Child-Pugh 分類に従って対象患者を CP-A、CP-B、及び CP-C の 3 群に分け、肝硬変の重症度による肝不全用経腸栄養剤の影響についても検討した。

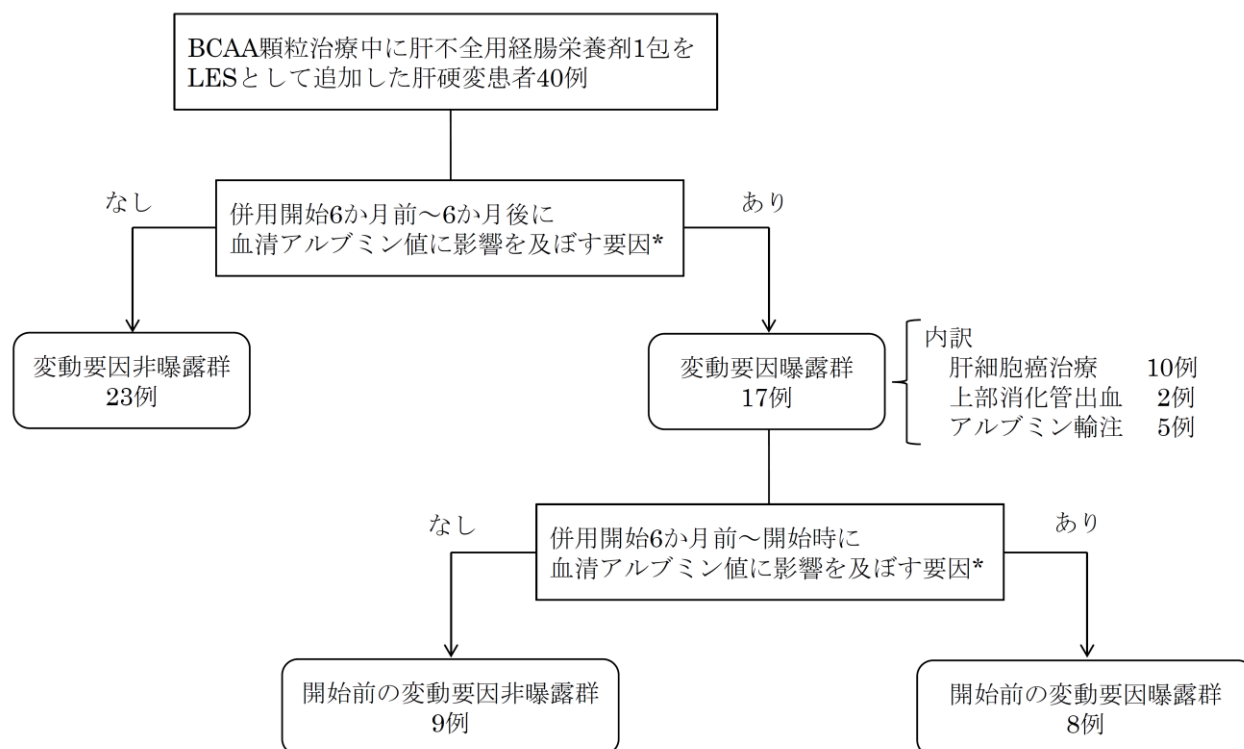


図12 対象患者の分類

BCAA: 分岐鎖アミノ酸、LES: 就寝前エネルギー投与

*肝細胞癌の治療、上部消化管出血、アルブミン輸注

統計解析

肝不全用経腸栄養剤の併用開始時における各群の患者背景及び臨床検査値の差は、 χ^2 検定またはMann-Whitney U 検定を用いて解析した。また、同一群の2時点における血清アルブミン値の差はWilcoxonの符号付順位検定を用いて解析した。統計解析は全てSPSSソフトウェア（米国ニューヨーク州アーモック、SPSS Statistics Version 20.0）を用いて実施し、有意水準は $P < 0.05$ （両側検定）とした。

研究倫理

本研究は、藤田医科大学医学研究倫理審査委員会の承認を受けており（承認番号 HM13-054）、日本のGCPとヘルシンキ宣言に準拠して実施した。

【結果】

対象患者の患者背景

併用開始時の患者背景及び臨床検査値を表 10 に示した。血清アルブミン値に影響を及ぼす要因の有無により、変動要因非曝露群 23 例と変動要因曝露群 17 例についても比較した。血清アルブミン変動要因曝露群は非曝露群と比較して、Child-Pugh 分類の Grade が重篤な患者が多く、HCC 合併患者が多く、総ビリルビン値が高値であった（それぞれ $P=0.011$ 、 $P=0.001$ 、 $P=0.006$ ）（表 10）。

表10 併用開始時の患者背景と臨床検査値

	全症例	血清アルブミン値に影響を及ぼす要因の有無		P値
	(n = 40)	変動要因非曝露群 (n = 23)	変動要因曝露群 (n = 17)	非曝露群vs.曝露群
性別 (男/女)	29/11	17/6	12/5	0.816 ^a
年齢 (歳)	64.9 ± 11.7	65.2 ± 11.9	64.6 ± 11.5	0.935 ^b
身長 (cm)	161 ± 11	160 ± 11	163 ± 9	0.342 ^b
体重 (kg)	61.0 ± 14.3	28.9 ± 14.2	64.1 ± 13.9	0.121 ^b
BMI	23.3 ± 3.8	22.9 ± 3.8	23.8 ± 3.8	0.388 ^b
肝疾患の成因				
B型肝炎	2	2	0	
C型肝炎	21	11	10	
アルコール性肝炎	11	7	4	
原発性胆汁性胆管炎	2	1	1	0.603 ^a
自己免疫性肝炎	1	1	0	
非アルコール性脂肪性肝炎	2	1	1	
特発性門脈圧亢進症	1	0	1	
Child-Pugh分類 (A/B/C)	8/22/10	7/14/2	1/8/8	0.011 ^a
HCCの合併 (有/無)	16/24	4/19	12/5	0.001 ^a
HCCステージ (I/II/III/IV)	6/5/5/0	2/0/2/0	4/5/3/0	0.288 ^a
調査期間中のHCC治療 (RFA/TACE/肝切除)	10	0	10	-
調査期間中の上部消化管出血	2	0	2	-
調査期間中のアルブミン輸注	5	0	5	-
糖尿病の合併 (有/無)	14/26	10/13	4/13	0.191 ^a
白血球数 (μL)	4113 ± 1764	4217 ± 2248	3971 ± 775	0.498 ^b
総リンパ球数 (μL)	1095 ± 534	1206 ± 601	950 ± 404	0.110 ^b
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	8.4 ± 5.8	9.3 ± 7.2	7.2 ± 2.7	0.516 ^b
ヘモグロビンA1c (%)	5.4 ± 1.0	5.5 ± 0.9	5.3 ± 1.1	1.000 ^b
血清アルブミン (g/dL)	2.8 ± 0.5	2.9 ± 0.4	2.7 ± 0.5	0.126 ^b
総ビリルビン (mg/dL)	2.0 ± 1.7	1.4 ± 0.8	2.8 ± 2.2	0.006 ^b
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (IU/L)	52 ± 19	50 ± 21	55 ± 18	0.290 ^b
アラニンアミノトランスフェラーゼ (IU/L)	35 ± 16	31 ± 14	40 ± 17	0.165 ^b
血清クレアチニン (mg/dL)	0.92 ± 0.39	0.94 ± 0.34	0.89 ± 0.44	0.448 ^b
C反応性タンパク質 (mg/dL)	0.6 ± 1.0	0.8 ± 1.0	0.6 ± 0.9	0.935 ^b

数値は症例数または平均値±標準偏差を示す。

BMI: 体格指数、HCC: 肝細胞癌、RFA: ラジオ波焼灼療法、TACE: 肝動脈化学塞栓療法

^a χ^2 検定、^b Mann-Whitney *U*検定

血清アルブミン値の推移

全症例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.83 ± 0.46 g/dL) は、併用開始6か月前 (3.14 ± 0.47 g/dL) と比較して有意に低下した ($P < 0.001$) (図 13)。一方、併用開始6か月後の血清アルブミン値 (2.95 ± 0.42 g/dL) は併用開始時と比較して有意な変化はみられなかった ($P = 0.084$) (図 13)。

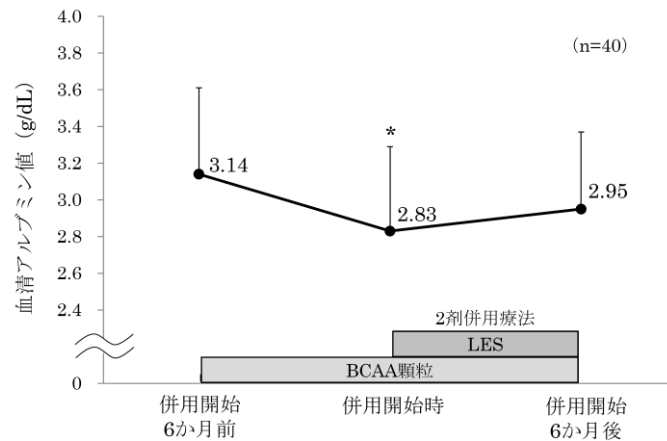


図13 BCAA顆粒と肝不全用経腸栄養剤の併用における血清アルブミン値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 併用開始6か月前 (Wilcoxonの符号付順位検定)

LES: 就寝前エネルギー投与、BCAA: 分岐鎖アミノ酸

HCC 治療、上部消化管出血、アルブミン輸注が血清アルブミン値に与える影響

血清アルブミン変動要因非曝露群 23 例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.93 ± 0.38 g/dL) は、併用開始6か月前 (3.32 ± 0.45 g/dL) と比較して有意に低下し ($P = 0.006$)、併用開始6か月後の血清アルブミン値 (3.15 ± 0.34 g/dL) は併用開始時と比較して有意に上昇した ($P = 0.014$) (図 14)。一方、血清アルブミン変動要因曝露群 17 例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.69 ± 0.52 g/dL) は、併用開始6か月前 (2.90 ± 0.41 g/dL) と比較して有意に低下したが ($P = 0.033$)、併用開始6か月後の血清アルブミン値 (2.67 ± 0.36 g/dL) は併用開始時と比較して変化はみられなかった (図 14)。

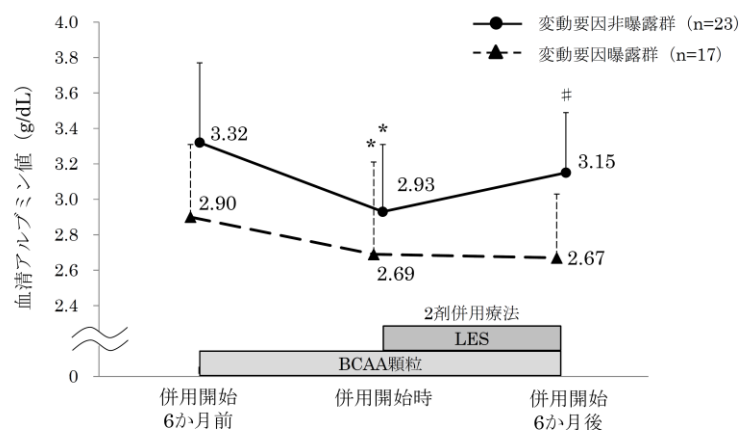


図14 変動要因の有無による血清アルブミン値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 併用開始6か月前、# $P < 0.05$ vs. 併用開始時 (Wilcoxonの符号付順位検定)

LES: 就寝前エネルギー投与、BCAA: 分岐鎖アミノ酸

血清アルブミン変動要因曝露群 17 例のうち、併用開始 6 か月前から併用開始時までの血清アルブミン値に影響を及ぼす要因の有無で 2 群に分けて解析を実施した (図 15)。開始前の血清アルブミン変動要因曝露群 8 例の血清アルブミン値は、併用開始 6 か月前 (3.04 ± 0.26 g/dL)、併用開始時 (2.90 ± 0.26 g/dL)、併用開始 6 か月後 (2.80 ± 0.30 g/dL) であり有意な変化はみられなかった (図 15)。また、開始前の血清アルブミン変動要因非曝露群 9 例の血清アルブミン値は、併用開始 6 か月前 (2.76 ± 0.50 g/dL)、併用開始時 (2.50 ± 0.63 g/dL)、併用開始 6 か月後 (2.58 ± 0.38 g/dL) であり、有意な変化はみられなかった (図 15)。

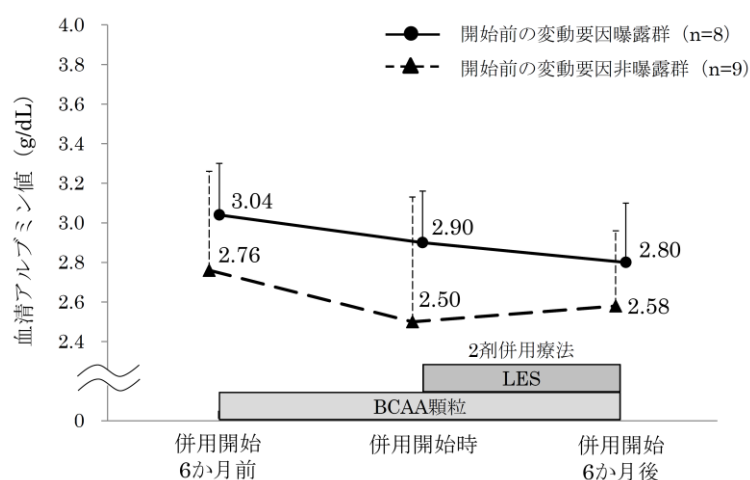


図15 開始前の変動要因の有無による血清アルブミン値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

LES: 就寝前エネルギー投与、BCAA: 分岐鎖アミノ酸

肝硬変重症度と血清アルブミン値

全 40 例を Child-Pugh 分類に従って 3 群に分けたサブグループ解析を実施した (図 16)。CP-A 8 例の血清アルブミン値は、併用開始 6 か月前 (3.34 ± 0.33 g/dL)、併用開始時 (3.29 ± 0.25 g/dL)、併用開始 6 か月後 (3.30 ± 0.23 g/dL) であり、変化はみられなかった (図 16)。CP-B 22 例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.81 ± 0.37 g/dL) は、併用開始 6 か月前 (3.20 ± 0.50 g/dL) と比較して有意に低下し ($P=0.008$)、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値 (2.99 ± 0.36 g/dL) は併用開始時と比較して有意な変化はみられなかった (図 16)。CP-C 10 例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.49 ± 0.46 g/dL) は、併用開始 6 か月前 (2.83 ± 0.41 g/dL) と比較して有意に低下し ($P=0.020$)、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値 (2.61 ± 0.40 g/dL) は併用開始時と比較して有意な変化はみられなかった (図 16)。

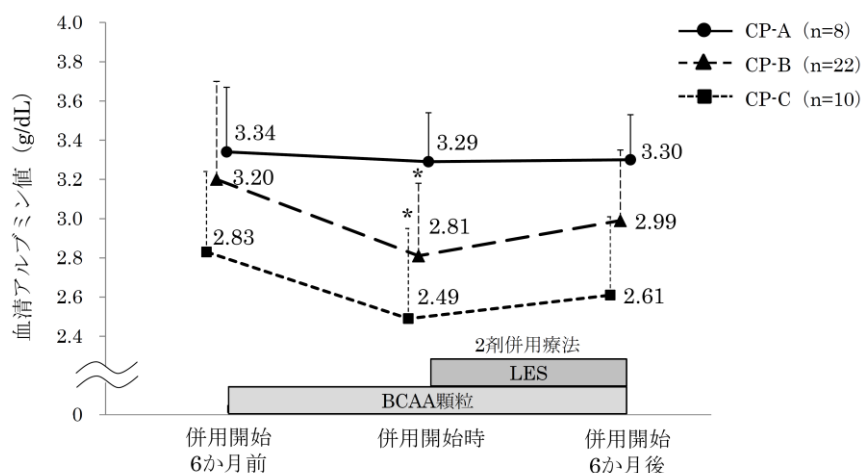


図16 Child-Pugh分類3群の血清アルブミン値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 併用開始6か月前 (Wilcoxonの符号付順位検定)

CP-A: Child-Pugh Grade A, CP-B: Child-Pugh Grade B, CP-C: Child-Pugh Grade C

LES: 就寝前エネルギー投与、BCAA: 分岐鎖アミノ酸

血清アルブミン変動要因非曝露群 23 例を Child-Pugh 分類に従って 3 群に分けた解析を実施した (図 17)。CP-A 7 例の血清アルブミン値は、併用開始 6 か月前 (3.30 ± 0.34 g/dL)、併用開始時 (3.27 ± 0.26 g/dL)、併用開始 6 か月後 (3.34 ± 0.21 g/dL) であり、有意な変化はみられなかった (図 17)。CP-B 14 例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.81 ± 0.34 g/dL) は、併用開始 6 か月前 (3.41 ± 0.48 g/dL) と比較して有意に低下し ($P = 0.008$)、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値 (3.07 ± 0.38 g/dL) は併用開始時と比較して有意に上昇した ($P = 0.045$) (図 17)。CP-C 2 例の血清アルブミン値は、併用開始 6 か月前 (2.80 g/dL)、併用開始時 (2.60 g/dL)、併用開始 6 か月後 (3.00 g/dL) であったが、症例数が少なく統計解析は実施しなかった。

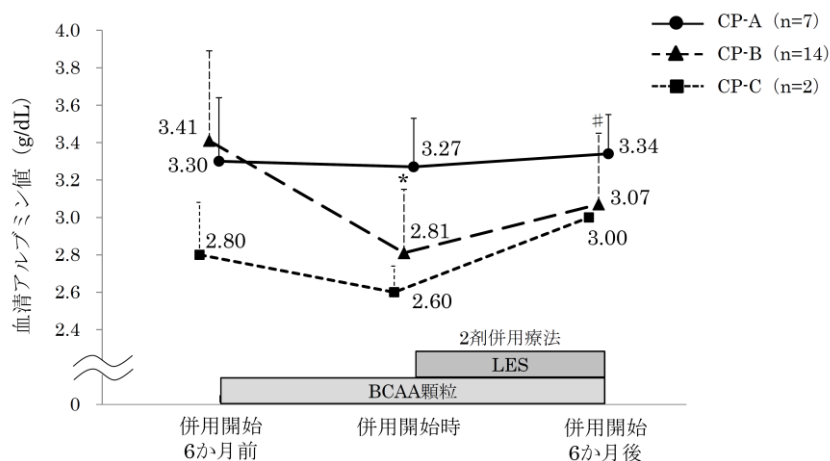


図17 変動要因非曝露群におけるChild-Pugh分類3群の血清アルブミン値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 併用開始6か月前、# $P < 0.05$ vs. 併用開始時 (Wilcoxonの符号付順位検定)

CP-A: Child-Pugh Grade A, CP-B: Child-Pugh Grade B, CP-C: Child-Pugh Grade C

LES: 就寝前エネルギー投与、BCAA: 分岐鎖アミノ酸

血清アルブミン変動要因曝露群 17 例を Child-Pugh 分類に従って 3 群に分けた解析を実施した (図 18)。CP-A は 1 例のみであり、統計解析は実施できなかった (図 18)。CP-B 8 例の血清アルブミン値は、併用開始 6 か月前 (2.86 ± 0.32 g/dL)、併用開始時 (2.83 ± 0.46 g/dL)、併用開始 6 か月後 (2.82 ± 0.26 g/dL) であり、変化はみられなかった (図 18)。CP-C 8 例の併用開始時の血清アルブミン値 (2.46 ± 0.51 g/dL) は、併用開始 6 か月前 (2.84 ± 0.46 g/dL) と比較して有意に低下し ($P=0.034$)、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値 (2.51 ± 0.39 g/dL) は併用開始時と比較して有意な変化はみられなかった (図 18)。

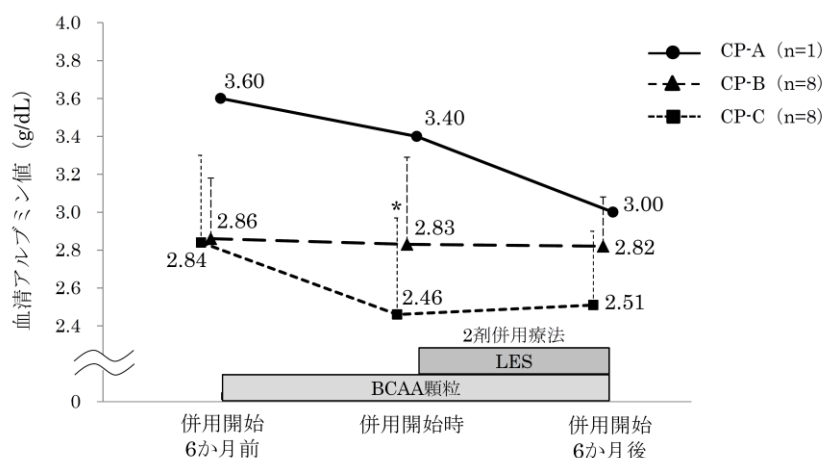


図18 変動要因曝露群におけるChild-Pugh分類3群の血清アルブミン値の推移

数値は平均値、エラーバーは標準偏差を示す。

* $P < 0.05$ vs. 併用開始6か月前 (Wilcoxonの符号付順位検定)

CP-A: Child-Pugh Grade A, CP-B: Child-Pugh Grade B, CP-C: Child-Pugh Grade C

LES: 就寝前エネルギー投与、BCAA: 分岐鎖アミノ酸

他の治療法が血清アルブミン値に与える影響

血清アルブミン値に影響を与える可能性のある治療としては、慢性 B 型肝炎に用いられる核酸アナログ製剤、自己免疫性肝炎に用いられる副腎皮質ステロイド、アルコール性肝障害に対する禁酒などがあるが、調査期間中に開始した症例はみられなかった。併用開始時に慢性 C 型肝炎に対して低用量インターフェロン単剤治療を開始した症例が 1 例あったが、この症例の血清アルブミン値は併用開始時 3.2 g/dL、併用開始 6 か月後 3.2 g/dL であり変化はみられなかった。

その他の臨床検査値と有害事象

肝不全用経腸栄養剤の併用期間中、総リンパ球数、血小板数、総ビリルビン、コリンエステラーゼ、血清アンモニア、ヘモグロビン A1c に有意な変化はみられなかった (未発表データ)。また、対象患者の調査期間中の診療録に、BCAA 顆粒及び肝不全用経腸栄養剤との因果関係が否定できない有害事象の記述はみられなかった。

【考察】

本研究では、BCAA 顆粒を 3 か月以上投与しても低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者を対象に、肝不全用経腸栄養剤を LES として追加投与した薬物療法の栄養状態改善効果を後ろ向きに調査した。その結果、調査期間中に血清アルブミン値に影響を及ぼす要因がなかった 23 例において、肝不全用経腸栄養剤の併用により血清アルブミン値が有意に上昇した。血清アルブミン値は肝硬変患者の重要な予後予測因子であり、血清アルブミン値が 3.5 g/dL 以上の代償性肝硬変患者は生命予後が良好であることが報告されている^{86, 87)}。したがって、BCAA 製剤 2 剤を併用する今回の薬物療法は、BCAA 顆粒単剤では効果不十分である非代償性肝硬変患者に対し、有効な治療選択肢の一つになるものと考えられる。

第 3 章で検討した BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤 2 包へ切り替える薬物療法では、BTR は改善したが血清アルブミン値の上昇効果は得られなかった。HCV 関連慢性肝疾患患者を対象とした先行研究では、BTR<3.75 の患者群の 1 年後の血清アルブミン値は有意に低下するのに対し、BTR $\geq$ 3.75 の患者群のそれは維持されることが報告されている⁸²⁾。第 3 章では切り替え 6 か月後の BTR は 4.36 まで改善したことから、肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 包へ切り替える薬物療法は血清アルブミン値を維持することが予測されるが、その効果は実証されていない。本章では BCAA 製剤 2 剤併用療法の血清アルブミン値上昇効果が実際に認められたことから、BCAA 顆粒を 3 か月以上投与しても低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対する栄養療法として、第 3 章で検討した薬物療法より効果的であり、その効果は BCAA 投与量の増量と、肝不全用経腸栄養剤 1 包を LES として用いたことに起因しているものと考えられる。

肝硬変患者では、肝臓でのグリコーゲン貯蔵量が減少していることから、夜間など長時間の空腹時に糖新生が十分に機能せず、容易に飢餓状態になる。肝硬変患者は体内で糖質の利用に代わり脂質及び蛋白質の異化が亢進するため、健常人より異化状態への進行が速く、予後不良をもたらす^{67, 88)}。これに対し、炭水化物を豊富に含有する LES の投与は肝硬変患者の窒素バランスを改善し、蛋白質の異化亢進とケトン体上昇を是正する^{89, 90)}。LES に用いる食材としてこれまで様々な軽食や栄養補助食品が検討され⁹¹⁻⁹⁴⁾、その中でも肝不全用経腸栄養剤は通常食と比較して肝硬変患者の血清アルブミン値とエネルギー代謝を改善することが報告されている⁹⁵⁾。本研究では、肝不全用経腸栄養剤 1 包の LES を含めた BCAA 製剤の 2 剤併用療法が、血清アルブミン値を上昇する効果を有することを実証した。

一方、血清アルブミン値に影響を及ぼす要因があった 17 例では、血清アルブミン値の上昇効果はみられなかった。肝硬変患者では HCC を合併する患者が多く、RFA、TACE、肝切除術などの侵襲を伴う HCC の治療後、及び上部消化管出血の発症後は、多くの患者で肝機能の悪化と血清アルブミンの低下がみられる。また、アルブミン輸注は血清アルブミン値 2.5 g/dL 未満の患者に適応され、投与後は一時的に血清アルブミンが上昇する。したがって、これらの血清アルブミン値に影響を及ぼす要因があった患者を含めた検討では、血清アルブミン値の上昇効果を適正に評価するのは困難であり、これらの患者を区別してサブグループ解析を実施した。血清アルブミン値に影響を及ぼす要因があった 17 例で血清アルブミン値が上昇しなかった理由として、以下の二つが挙げられる。1 番目に、併用開始時の 2 群の患者背景を比較すると、血清アルブミン値に影響を及ぼす要因があった 17 例は要因がなかった 23 例と比較して、Child-Pugh スコア、HCC 合併率、総ビリル

ビン値が有意に高いことから、肝硬変が進行している患者が多く、効果が得られにくかった可能性が考えられる。2 番目に、肝不全用経腸栄養剤の追加またはアルブミン輸注により血清アルブミン値が上昇する一方、HCC 治療または上部消化管出血により血清アルブミンが減少し、双方の影響が相殺して血清アルブミン値が変化しなかった可能性が考えられる。

BCAA 製剤 2 剤併用療法を実施すべき対象患者の肝硬変重症度を明らかにするため、本研究では血清アルブミン値に影響を及ぼす要因がなかった 23 例をさらに Child-Pugh 分類により 3 群に分けて、血清アルブミン値上昇効果を検討した。その結果、CP-A 7 例と CP-C 2 例では血清アルブミン値に有意な上昇はみられなかったが、CP-B 14 例で併用開始 6 か月後に有意に上昇することが明らかになった。このことから、本研究で検討した BCAA 製剤 2 剤併用療法を実施すべき対象患者の肝硬変重症度について、二つの先行研究を参考に以下に考察する。一つ目の研究は日本で実施された 622 例の肝硬変患者を対象とした多施設共同無作為化比較試験で、BCAA 顆粒を 2 年間投与した患者群の血清アルブミン値は投与していない対象群と比較して有意に高く、被験者の約 36%は CP-A であった⁶⁹⁾。二つ目の研究はイタリアで実施された 174 例の無作為化二重盲検比較試験で、BCAA 顆粒を 1 年間投与した患者群の血清アルブミン値はプラセボ群と同じで上昇はみられず、被験者は全例 CP-B または CP-C であった⁷¹⁾。本研究は BCAA 顆粒を 3 か月以上投与しても血清アルブミン値が 3.5 g/dL 未満の患者を対象とし、対象患者の 80%は CP-B または CP-C の非代償性肝硬変であった。したがって、BCAA 顆粒のみで血清アルブミン値 3.5 g/dL 以上に維持できない患者は CP-B 及び CP-C に多いと考えられる。また、本研究では BCAA 製剤 2 剤を併用することにより CP-B の患者で血清アルブミン値に有意な上昇がみられたが、CP-A の患者ではみられず、CP-C の患者は 2 例のみで統計解析は実施できなかった。CP-A の患者で上昇がみられなかった理由は、併用開始時の血清アルブミン値の低下が軽度であり、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値の上昇幅が小さかったことが考えられる。CP-C の患者については、今後症例数を増やして統計学的に検証する必要がある。以上のことから、本研究で検討した肝不全用経腸栄養剤 1 包を LES にて追加する BCAA 製剤の 2 剤併用療法は、BCAA 顆粒の投与では低アルブミン血症が改善しない CP-B の肝硬変患者に対し、血清アルブミン値を改善する効果的な治療法であることが明らかになった。

第 3 章と本章では、対象とした母集団の患者背景が異なる。第 3 章の対象患者は代償性肝硬変 71%、非代償性肝硬変 29%、開始時の血小板数 $9.7 \pm 3.7 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、血清アルブミン値 $3.1 \pm 0.2 \text{ g/dL}$ であるのに対し、本章の対象患者は代償性肝硬変 20%、非代償性肝硬変 80%、開始時の血小板数 $8.4 \pm 5.8 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、血清アルブミン値 $2.8 \pm 0.5 \text{ g/dL}$ である。すなわち、本章の対象患者は第 3 章のそれより肝硬変が進行し、アルブミン合成能が低下している患者が多く含まれていた。第 3 章の薬物療法では血清アルブミン値の改善効果は得られなかったが、本章の検討では CP-B の肝硬変患者においてその改善効果が認められたことから、本章で検討した BCAA 製剤 2 剤併用療法は、病態が進行した非代償性肝硬変患者により適した治療法であると考えられる。

本研究で調査した BCAA 製剤 2 剤併用療法は、肝不全用経腸栄養剤の追加により 1 日あたり 213 kcal のエネルギーが負荷されることになる。しかしながら、肝不全用経腸栄養剤の併用開始 6 か月後のヘモグロビン A1c は、併用開始時と比較して有意な上昇はみられなかった。その理由として、過剰摂取を予防するために、必要エネルギー量が充足している患者に対しては、併用開始時に医師及び薬剤師から同程度の摂取エネルギー量を食事から減量するように指導していたことが考えられ

る。また、肝不全用経腸栄養剤を用いた LES は、悪化していた耐糖能異常を是正する副次的効果も報告されている⁹⁶⁾。したがって、本研究では対象患者の 35% (14 例) が糖尿病を合併していたが、食事摂取量の指導及び LES の副次的効果により血糖の悪化がみられなかったものと考えられる。その他、調査期間中の診療録に、BCAA 製剤との因果関係が疑われる有害事象の記録はなかった。以上のことから、本研究で検討した BCAA 製剤 2 剤併用療法は、安全性の高い治療法であると考えられる。

本研究では、血清アルブミン値に影響を及ぼす要因がなかった 23 例において、2 種類の BCAA 製剤を併用することにより、血清アルブミン値の上昇効果が確認できた。しかしながら、併用開始 6 か月後の血清アルブミン値は 3.15 ± 0.34 g/dL であり、肝硬変患者の目標値である 3.5 g/dL 以上には到達していなかった。血清アルブミン値は肝硬変患者の重要な予後予測因子であり、3.5 g/dL 以上の代償性肝硬変患者で生命予後が良好であることが報告されている^{86, 87)}。今回検討した BCAA 製剤 2 剤併用療法を継続していても血清アルブミン値の上昇効果が得られない患者には、肝性脳症に適応のある BCAA 点滴製剤の投与やアルブミン輸注についても検討する必要があると考えられる。

【小括】

BCAA 顆粒の投与では低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、肝不全用経腸栄養剤を LES にて追加する BCAA 製剤 2 剤併用療法は、血清アルブミン値を改善する効果を有し、特に Child-Pugh 分類 Grade B の患者で効果的であった。肝硬変患者では血清アルブミン値が予後に大きく関係することが知られており、この薬物療法は非代償性肝硬変患者に有用な治療選択肢の一つになりうる。

総括

本邦の 2015 年の慢性肝炎患者数は約 950 万人と推定され、慢性肝炎は長期化すると肝硬変に進展する。肝硬変は腹部膨満感、肝性脳症による意識障害、骨格筋量減少などの QOL を低下させる症状を呈するだけでなく、食道静脈瘤の破裂、肝細胞癌など死に至る疾患を高率に合併することから、肝硬変の予防及び症状管理は重要課題となっている。本研究では、肝疾患患者の生命予後改善を目指した薬物療法の検討を目的として、治療薬のない NAFLD に対するビタミン E の有効性、及び慢性肝疾患患者の低アルブミン血症を改善するための BCAA 製剤の効果的な投与方法について検証した。

第 1 章では、本邦で 2000 年以降、食事の欧米化や運動不足により急増している NAFLD 患者の治療薬について検討した。本章では NAFL から NASH への進展には酸化ストレスが深く関与していることに注目し、抗酸化作用のあるビタミン E を 1 年間経口投与した NAFLD 患者を後ろ向きに調査した。その結果、ビタミン E 投与後に肝・胆道系酵素、肝線維化スコアリング、及び肝組織の硬度が改善することが明らかになった。また、これらの効果は、NAFLD の発症や NASH への進展に関与する疾患感受性遺伝子 PNPLA3 のリスクアレルを保有する患者群においても得られることを確認した。したがって、NAFLD 患者の肝炎鎮静化と肝硬変への進展予防に期待できる治療薬として、ビタミン E が効果的であることが実証された。

第 2 章では、本邦の慢性肝疾患の中で最も罹患者数の多い HCV 感染患者と対照者の骨格筋量を定量し、HCV 感染及び肝硬変の進行の程度と骨格筋量の関係を調査した。その結果、先行研究と異なり、HCV 感染のみで骨格筋量は減少しないことが明らかになった。また、男性 C 型肝硬変患者では肝硬変の進行とともに骨格筋量が減少し、その減少は Child-Pugh 分類の Grade A で著しく進行することが明らかになった。骨格筋量の減少は QOL 及び生命予後に影響するため、その治療と予防は重要である。肝硬変の栄養療法には BCAA が用いられるが、BCAA 製剤の保険適応は非代償性肝硬変である Child-Pugh 分類 Grade B 及び Grade C に限定されている。この結果から、代償性肝硬変である Grade A の時期から BCAA 製剤を投与する必要性が示唆された。

第 2 章では肝硬変の進行とともに骨格筋量が低下することを確認したが、これは血液中の BCAA 濃度が低下し、骨格筋からアミノ酸が供給され、筋蛋白の崩壊が進行した結果である。第 3 章及び第 4 章では骨格筋量の減少を予防・改善するため、血清アルブミン値の上昇を目的とした経口 BCAA 製剤の効果的な投与方法について検討した。第 3 章では、BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、BCAA 顆粒から肝不全用経腸栄養剤 1 日 2 回（朝食間及び就寝前）へ切り替える前向き臨床試験を考案し、実施した。その結果、肝不全の指標である BTR が切り替え 6 か月後に改善することが明らかになったが、肝硬変患者において予後との関係が報告されている血清アルブミン値の上昇効果は得られなかった。第 4 章では、日常診療において併用されることのない 2 種類の BCAA 製剤を組み合わせ、第 3 章で検証した薬物療法より BCAA 投与量を増量した薬物療法の効果を検討した。本研究では、BCAA 顆粒投与中に低アルブミン血症が改善しない肝硬変患者に対し、BCAA 顆粒を継続したまま肝不全用経腸栄養剤 1 包を就寝前に追加する薬物療法を実施した肝硬変患者を後ろ向きに調査した。その結果、血清アルブミン値に影響を及ぼす要因（HCC 治療、上部消化管出血、アルブミン輸注）のなかった患者に限定したサブグループ解析において、肝硬変がより進行した Child-Pugh 分類 Grade B の患者で血清アルブミン値の上

昇効果が認められた。

慢性肝疾患は早期に適切な治療が実施されない場合、慢性肝炎から肝硬変や肝細胞癌に進展し、血清アルブミンの低下による腹水や BCAA 不足による肝性脳症など、QOL を低下させる症状や骨格筋量減少を引き起こし、生命予後に影響を及ぼす。慢性肝炎に移行する肝疾患のうち、B 型肝炎に対しては核酸アナログ製剤、C 型肝炎に対しては経口直接作用型抗ウイルス薬が上市され、多くの患者で肝硬変への進展が抑制されている。一方、NAFLD は近年患者数が増加しているが、保険適応となる治療薬は存在しない。本研究では NAFLD に対して保険適応外となるビタミン E の治療効果を検証することができた。また、肝硬変・肝不全患者の栄養状態改善を目的に投与される BCAA 製剤は主に 2 種類あるが、単独投与では十分な効果が得られない症例もある。2 種類の BCAA 製剤は、適応症が異なることから通常日常診療で併用されることはないが、本研究ではこれらを組み合わせた併用療法の効果的な投与量及び投与方法を検討し、血清アルブミン値の改善効果を実証することができた。慢性肝疾患の複雑な病態から、より効果的な薬物療法を確立していくことは、科学的根拠に基づいた医療の提供の一助となる。本研究の成果は、慢性肝疾患患者の QOL 向上、及び生命予後の改善に大いに貢献できるものと考えられる。

謝辞

本研究の実施及び本論文の作成にあたり、終始ご指導、ご鞭撻を賜りました本学病院薬学研究室 亀井浩行教授に心より感謝致します。また、本論文をご精読頂き有用なご助言を賜りました本学 薬効解析学研究室 永松正教授、臨床薬物治療学Ⅰ 早川伸樹教授、衛生化学研究室 神野透人教授に深謝致します。また、有用なご助言を頂きました本学病院薬学研究室 半谷眞七子准教授に感謝致します。さらに、本研究の実施にあたり終始懇切なるご意見、ご指導を賜りました藤田医科大学 肝胆膵内科 吉岡健太郎元教授、藤田医科大学 消化器内科Ⅱ 橋本千樹教授、川部直人准教授に心より御礼申し上げます。最後に、臨床研究にご協力を頂きました藤田医科大学 消化器内科Ⅱの先生方と全ての患者様に深く感謝致します。

引用文献

1. 肝がん白書平成 27 年度, 日本肝臓学会 (2015)
2. 大塚基之, 加藤直也, 吉田英雄, 吉田晴彦, 白鳥康史, 小俣政男: HCV と肝臓, **52**, 295-300 (2002)
3. NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2014, 日本消化器病学会 (2014)
4. **Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, Van Natta M, Clark J, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, and Robuck PR:** Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis, *The New England Journal of Medicine*, **362**, 1675-1685 (2010)
5. Nutritional status in cirrhosis. Italian Multicentre Cooperative Project on Nutrition in Liver Cirrhosis, *Journal of Hepatology*, **21**, 317-325 (1994)
6. **Yamato M, Muto Y, Yoshida T, Kato M, and Moriwaki H:** Clearance rate of plasma branched-chain amino acids correlates significantly with blood ammonia level in patients with liver cirrhosis, *International Hepatology Communications*, **3**, 91-96 (1995)
7. **Moriwaki H, Miwa Y, Tajika M, Kato M, Fukushima H, and Shiraki M:** Branched-chain amino acids as a protein- and energy-source in liver cirrhosis, *Biochemical and Biophysical Research communications*, **313**, 405-409 (2004)
8. **Gowda C, Compber C, Amorosa VK, and Lo Re V, 3rd:** Association between chronic hepatitis C virus infection and low muscle mass in US adults, *Journal of Viral Hepatitis*, **21**, 938-943 (2014)
9. **Hanai T, Shiraki M, Nishimura K, Ohnishi S, Imai K, Suetsugu A, Takai K, Shimizu M, and Moriwaki H:** Sarcopenia impairs prognosis of patients with liver cirrhosis, *Nutrition*, **31**, 193-199 (2015)
10. **Owen OE, Trapp VE, Reichard GA, Jr., Mozzoli MA, Moctezuma J, Paul P, Skutches CL, and Boden G:** Nature and quantity of fuels consumed in patients with alcoholic cirrhosis, *The Journal of Clinical Investigation*, **72**, 1821-1832 (1983)
11. 肝硬変診療ガイドライン 2015, 日本消化器病学会 (2015)
12. **Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, and Harrison SA:** Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study, *Gastroenterology*, **140**, 124-131 (2011)
13. **Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, and Bacon BR:** Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions, *The American Journal of Gastroenterology*, **94**, 2467-2474 (1999)
14. **Bhala N, Angulo P, van der Poorten D, Lee E, Hui JM, Saracco G, Adams LA, Charatcharoenwitthaya P, Topping JH, Bugianesi E, Day CP, and George J:** The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis: an international collaborative study, *Hepatology*, **54**, 1208-1216 (2011)
15. **Lewis JH, Mortensen ME, Zweig S, Fusco MJ, Medoff JR, and Belder R:** Efficacy and safety of

- high-dose pravastatin in hypercholesterolemic patients with well-compensated chronic liver disease: Results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial, *Hepatology*, **46**, 1453-1463 (2007)
16. **Foster T, Budoff MJ, Saab S, Ahmadi N, Gordon C, and Guerci AD:** Atorvastatin and antioxidants for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: the St Francis Heart Study randomized clinical trial, *The American Journal of Gastroenterology*, **106**, 71-77 (2011)
 17. **Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Holmqvist M, Bodemar G, and Kechagias S:** Statins in non-alcoholic fatty liver disease and chronically elevated liver enzymes: a histopathological follow-up study, *Journal of Hepatology*, **47**, 135-141 (2007)
 18. **Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, Pagourelas ED, Theocharidou E, Karagiannis A, and Mikhailidis DP:** Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: a post-hoc analysis, *Lancet*, **376**, 1916-1922 (2010)
 19. **Mahady SE, Webster AC, Walker S, Sanyal A, and George J:** The role of thiazolidinediones in non-alcoholic steatohepatitis - a systematic review and meta analysis, *Journal of Hepatology*, **55**, 1383-1390 (2011)
 20. **Boettcher E, Csako G, Pucino F, Wesley R, and Loomba R:** Meta-analysis: pioglitazone improves liver histology and fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, **35**, 66-75 (2012)
 21. **Shyangdan D, Clar C, Ghouri N, Henderson R, Gurung T, Preiss D, Sattar N, Fraser A, and Waugh N:** Insulin sensitizers in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review, *Health Technology Assessment*, **15**, 1-110 (2011)
 22. **Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, and Sanyal AJ:** The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association, *Hepatology*, **55**, 2005-2023 (2012)
 23. **Herbert T, Alexander RM:** Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis, *Hepatology*, **52**, 1836-1846 (2010)
 24. **Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, and Smith AD:** Liver biopsy, *Hepatology*, **49**, 1017-1044 (2009)
 25. **Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, and Peck-Radosavljevic M:** Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis, *Liver International*, **33**, 1138-1147 (2013)
 26. **Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Mizuno Y, Shimazaki H, Kan T, Nakaoka K, Takagawa Y, Ohki M, Ichino N, Osakabe K, and Yoshioka K:** Factors correlating with acoustic radiation force impulse elastography in chronic hepatitis C, *World Journal of Gastroenterology*, **20**, 1289-1297 (2014)

27. **Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, and Nakajima A:** Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography, *Radiology*, **256**, 640-647 (2010)
28. **Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B, Diehl AM, and Nightingale KR:** Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease, *Journal of Hepatology*, **55**, 666-672 (2011)
29. **Fierbinteanu Braticевич C, Sporea I, Panaitescu E, and Tribus L:** Value of acoustic radiation force impulse imaging elastography for non-invasive evaluation of patients with nonalcoholic fatty liver disease, *Ultrasound in Medicine & Biology*, **39**, 1942-1950 (2013)
30. **Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, and Hobbs HH:** Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease, *Nature Genetics*, **40**, 1461-1465 (2008)
31. **Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F, and Okanoue T:** Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese, *PloS One*, **7**, e38322 (2012)
32. **Hotta K, Yoneda M, Hyogo H, Ochi H, Mizusawa S, Ueno T, Chayama K, Nakajima A, Nakao K, and Sekine A:** Association of the rs738409 polymorphism in PNPLA3 with liver damage and the development of nonalcoholic fatty liver disease, *BMC Medical Genetics*, **11**, 172 (2010)
33. **Zain SM, Mohamed R, Mahadeva S, Cheah PL, Rampal S, Basu RC, and Mohamed Z:** A multi-ethnic study of a PNPLA3 gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease, *Human Genetics*, **131**, 1145-1152 (2012)
34. **Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, and Sanyal AJ:** Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **7**, 1104-1112 (2009)
35. **Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, and Lok AS:** A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C, *Hepatology*, **38**, 518-526 (2003)
36. **Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, Jackvony E, Kearns M, Wands JR, Fava JL, and Wing RR:** Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis, *Hepatology*, **51**, 121-129 (2010)
37. **Yoshioka K, Hashimoto S, and Kawabe N:** Measurement of liver stiffness as a non-invasive method for diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease, *Hepatology Research*, **45**, 142-151 (2015)
38. **Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, and Pirola CJ:** A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver

- disease severity, *Journal of Lipid Research*, **50**, 2111-2116 (2009)
39. **Sookoian S and Pirola CJ**: Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology*, **53**, 1883-1894 (2011)
 40. **Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold JM, Ross C, Arnold A, Sleight P, Probstfield J, and Dagenais GR**: Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial, *JAMA*, **293**, 1338-1347 (2005)
 41. **Kachaamy T, Bajaj JS, and Heuman DM**: Muscle and mortality in cirrhosis, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **10**, 100-102 (2012)
 42. **Moctezuma-Velázquez C, García-Juárez I, Soto-Solís R, Hernández-Cortés J, and Torre A**: Nutritional assessment and treatment of patients with liver cirrhosis, *Nutrition*, **29**, 1279-1285 (2013)
 43. **Cheung K, Lee SS, and Raman M**: Prevalence and mechanisms of malnutrition in patients with advanced liver disease, and nutrition management strategies, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **10**, 117-125 (2012)
 44. **Kawabe N, Hashimoto S, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, Kobayashi K, Komura N, Ito H, Niwa A, Narita W, Hanashita J, Ikeda A, and Yoshioka K**: Assessment of nutritional status of patients with hepatitis C virus-related liver cirrhosis, *Hepatology Research*, **38**, 484-490 (2008)
 45. **Carvalho L and Parise ER**: Evaluation of nutritional status of nonhospitalized patients with liver cirrhosis, *Arquivos de Gastroenterologia*, **43**, 269-274 (2006)
 46. **Martin L, Birdsell L, Macdonald N, Reiman T, Clandinin MT, McCargar LJ, Murphy R, Ghosh S, Sawyer MB, and Baracos VE**: Cancer cachexia in the age of obesity: skeletal muscle depletion is a powerful prognostic factor, independent of body mass index, *Journal of Clinical Oncology*, **31**, 1539-1547 (2013)
 47. **Montano-Loza AJ, Meza-Junco J, Prado CM, Lieffers JR, Baracos VE, Bain VG, and Sawyer MB**: Muscle wasting is associated with mortality in patients with cirrhosis, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **10**, 166-173, 173.e161 (2012)
 48. **Iritani S, Imai K, Takai K, Hanai T, Ideta T, Miyazaki T, Suetsugu A, Shiraki M, Shimizu M, and Moriwaki H**: Skeletal muscle depletion is an independent prognostic factor for hepatocellular carcinoma, *Journal of Gastroenterology*, **50**, 323-332 (2015)
 49. **Tandon P, Ney M, Irwin I, Ma MM, Gramlich L, Bain VG, Esfandiari N, Baracos V, Montano-Loza AJ, and Myers RP**: Severe muscle depletion in patients on the liver transplant wait list: its prevalence and independent prognostic value, *Liver Transplantation*, **18**, 1209-1216 (2012)
 50. **Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM, Topinková E, Vandewoude M, and Zamboni M**: Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in

- Older People, *Age and Ageing*, **39**, 412-423 (2010)
51. **Hiraoka A, Aibiki T, Okudaira T, Toshimori A, Kawamura T, Nakahara H, Suga Y, Azemoto N, Miyata H, Miyamoto Y, Ninomiya T, Hirooka M, Abe M, Matsuura B, Hiasa Y, and Michitaka K:** Muscle atrophy as pre-sarcopenia in Japanese patients with chronic liver disease: computed tomography is useful for evaluation, *Journal of Gastroenterology*, **50**, 1206-1213 (2015)
 52. **Shen W, Punyanitya M, Wang Z, Gallagher D, St-Onge MP, Albu J, Heymsfield SB, and Heshka S:** Total body skeletal muscle and adipose tissue volumes: estimation from a single abdominal cross-sectional image, *Journal of Applied Physiology*, **97**, 2333-2338 (2004)
 53. **Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, and Lindeman RD:** Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico, *American Journal of Epidemiology*, **147**, 755-763 (1998)
 54. **Yao J, Zhou X, Yuan L, Niu LY, Zhang A, Shi H, Duan Z, and Xu J:** Prognostic value of the third lumbar skeletal muscle mass index in patients with liver cirrhosis and ascites, *Clinical Nutrition*, **39**, 1908-1913 (2020)
 55. **Chen LK, Liu LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Bahyah KS, Chou MY, Chen LY, Hsu PS, Krairit O, Lee JS, Lee WJ, Lee Y, Liang CK, Limpawattana P, Lin CS, Peng LN, Satake S, Suzuki T, Won CW, Wu CH, Wu SN, Zhang T, Zeng P, Akishita M, and Arai H:** Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia, *Journal of the American Medical Directors Association*, **15**, 95-101 (2014)
 56. **Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, Bhasin S, Morley JE, Newman AB, Abellan van Kan G, Andrieu S, Bauer J, Breuille D, Cederholm T, Chandler J, De Meynard C, Donini L, Harris T, Kannt A, Keime Guibert F, Onder G, Papanicolaou D, Rolland Y, Rooks D, Sieber C, Souhami E, Verlaan S, and Zamboni M:** Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia, *Journal of the American Medical Directors Association*, **12**, 249-256 (2011)
 57. **Hiraoka A, Michitaka K, Ueki H, Kaneto M, Aibiki T, Okudaira T, Kawakami T, Yamago H, Suga Y, Tomida H, Miyamoto Y, Azemoto N, Mori K, Miyata H, Tsubouchi E, Ninomiya T, Hirooka M, Abe M, Matsuura B, and Hiasa Y:** Sarcopenia and two types of presarcopenia in Japanese patients with chronic liver disease, *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, **28**, 940-947 (2016)
 58. **Peng S, Plank LD, McCall JL, Gillanders LK, McIlroy K, and Gane EJ:** Body composition, muscle function, and energy expenditure in patients with liver cirrhosis: a comprehensive study, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **85**, 1257-1266 (2007)
 59. **Riggio O, Angeloni S, Ciuffa L, Nicolini G, Attili AF, Albanese C, and Merli M:** Malnutrition is not related to alterations in energy balance in patients with stable liver cirrhosis, *Clinical Nutrition*, **22**, 553-559 (2003)
 60. **Kim HK, Suzuki T, Saito K, Yoshida H, Kobayashi H, Kato H, and Katayama M:** Effects of exercise and amino acid supplementation on body composition and physical function in

- community-dwelling elderly Japanese sarcopenic women: a randomized controlled trial, *Journal of the American Geriatrics Society*, **60**, 16-23 (2012)
61. **Omran ML and Morley JE**: Assessment of protein energy malnutrition in older persons, Part II: Laboratory evaluation, *Nutrition*, **16**, 131-140 (2000)
 62. **Seiler WO**: Clinical pictures of malnutrition in ill elderly subjects, *Nutrition*, **17**, 496-498 (2001)
 63. **O'Daly BJ, Walsh JC, Quinlan JF, Falk GA, Stapleton R, Quinlan WR, and O'Rourke SK**: Serum albumin and total lymphocyte count as predictors of outcome in hip fractures, *Clinical Nutrition*, **29**, 89-93 (2010)
 64. **Leandro-Merhi VA, Bráz VN, and Aquino JL**: Is total lymphocyte count related to nutritional markers in hospitalized older adults?, *Arquivos de Gastroenterologia*, **54**, 79-82 (2017)
 65. **Alberino F, Gatta A, Amodio P, Merkel C, Di Pascoli L, Boffo G, and Caregaro L**: Nutrition and survival in patients with liver cirrhosis, *Nutrition*, **17**, 445-450 (2001)
 66. **Norman K, Kirchner H, Lochs H, and Pirlich M**: Malnutrition affects quality of life in gastroenterology patients, *World Journal of Gastroenterology*, **12**, 3380-3385 (2006)
 67. **黒木哲夫**: 肝硬変での栄養管理の実際 一般食事療法, **52**, 197-202 (1994)
 68. **Hara K, Yonezawa K, Weng QP, Kozlowski MT, Belham C, and Avruch J**: Amino Acid Sufficiency and mTOR Regulate p70 S6 Kinase and eIF-4E BP1 through a Common Effector Mechanism, *The Journal of Biological Chemistry*, **273**, 14484-14494 (1998)
 69. **Muto Y, Sato S, Watanabe A, Moriwaki H, Suzuki K, Kato A, Kato M, Nakamura T, Higuchi K, Nishiguchi S, and Kumada H**: Effects of oral branched-chain amino acid granules on event-free survival in patients with liver cirrhosis, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **3**, 705-713 (2005)
 70. **Charlton M**: Branched-chain amino acid enriched supplements as therapy for liver disease, *The Journal of Nutrition*, **136**, 295s-298s (2006)
 71. **Marchesini G, Bianchi G, Merli M, Amodio P, Panella C, Loguercio C, Rossi Fanelli F, and Abbiati R**: Nutritional supplementation with branched-chain amino acids in advanced cirrhosis: a double-blind, randomized trial, *Gastroenterology*, **124**, 1792-1801 (2003)
 72. **Yamanaka-Okumura H, Nakamura T, Takeuchi H, Miyake H, Katayama T, Arai H, Taketani Y, Fujii M, Shimada M, and Takeda E**: Effect of late evening snack with rice ball on energy metabolism in liver cirrhosis, *European Journal of Clinical Nutrition*, **60**, 1067-1072 (2006)
 73. **Nakaya Y, Harada N, Kakui S, Okada K, Takahashi A, Inoi J, and Ito S**: Severe catabolic state after prolonged fasting in cirrhotic patients: effect of oral branched-chain amino-acid-enriched nutrient mixture, *Journal of Gastroenterology*, **37**, 531-536 (2002)
 74. **Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients**, *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, **26**, 1sa-138sa (2002)
 75. **Plauth M, Merli M, Kondrup J, Weimann A, Ferenci P, and Müller MJ**: ESPEN guidelines for nutrition in liver disease and transplantation, *Clinical Nutrition*, **16**, 43-55 (1997)
 76. **Sato S, Watanabe A, Muto Y, Suzuki K, Kato A, Moriwaki H, Kato M, and Nakamura T**: Clinical

- comparison of branched-chain amino acid (l-Leucine, l-Isoleucine, l-Valine) granules and oral nutrition for hepatic insufficiency in patients with decompensated liver cirrhosis (LIV-EN study), *Hepatology Research*, **31**, 232-240 (2005)
77. **Campollo O, Sprengers D, and McIntyre N**: The BCAA/AAA ratio of plasma amino acids in three different groups of cirrhotics, *Revista de Investigacion Clinica*, **44**, 513-518 (1992)
 78. **Soeters PB and Fischer JE**: Insulin, glucagon, aminoacid imbalance, and hepatic encephalopathy, *Lancet*, **2**, 880-882 (1976)
 79. **Azuma Y, Maekawa M, Kuwabara Y, Nakajima T, Taniguchi K, and Kanno T**: Determination of branched-chain amino acids and tyrosine in serum of patients with various hepatic diseases, and its clinical usefulness, *Clinical Chemistry*, **35**, 1399-1403 (1989)
 80. **Ishikawa T, Imai M, Ko M, Sato H, Nozawa Y, Sano T, Iwanaga A, Seki K, Honma T, and Yoshida T**: Evaluation of the branched-chain amino acid-to-tyrosine ratio prior to treatment as a prognostic predictor in patients with liver cirrhosis, *Oncotarget*, **8**, 79480-79490 (2017)
 81. **Kato M, Miwa Y, Tajika M, Hiraoka T, Muto Y, and Moriwaki H**: Preferential use of branched-chain amino acids as an energy substrate in patients with liver cirrhosis, *Internal Medicine*, **37**, 429-434 (1998)
 82. **Suzuki K, Suzuki K, Koizumi K, Ichimura H, Oka S, Takada H, and 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, *Hepatology Research*, **38**, 267-272 (2008)
 83. **Nuwer N, Cerra FB, Shronts EP, Lysne J, Teasley KM, and Konstantinides FN**: Does modified amino acid total parenteral nutrition alter immune-response in high level surgical stress, *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, **7**, 521-524 (1983)
 84. **Cerra FB, Mazuski JE, Chute E, Nuwer N, Teasley K, Lysne J, Shronts EP, and Konstantinides FN**: Branched chain metabolic support. A prospective, randomized, double-blind trial in surgical stress, *Annals of Surgery*, **199**, 286-291 (1984)
 85. **García-Compeán D, Jáquez-Quintana JO, Lavallo-González FJ, Reyes-Cabello E, González-González JA, Muñoz-Espinosa LE, Vázquez-Elizondo G, Villarreal-Pérez JZ, and Maldonado-Garza HJ**: The prevalence and clinical characteristics of glucose metabolism disorders in patients with liver cirrhosis. A prospective study, *Annals of Hepatology*, **11**, 240-248 (2012)
 86. **Guéchet J, Serfaty L, Bonnand AM, Chazouillères O, Poupon RE, and Poupon R**: Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis, *Journal of Hepatology*, **32**, 447-452 (2000)
 87. **D'Amico G, Garcia-Tsao G, and Pagliaro L**: Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies, *Journal of Hepatology*, **44**, 217-231 (2006)
 88. **Kotoh K, Nakamuta M, Fukushima M, Matsuzaki C, Enjoji M, Sakai H, and Nawata H**: High relative fat-free mass is important for maintaining serum albumin levels in patients with

- compensated liver cirrhosis, *World Journal of Gastroenterology*, **11**, 1356-1360 (2005)
89. **Zillikens MC, van den Berg JW, Wattimena JL, Rietveld T, and Swart GR**: Nocturnal oral glucose supplementation. The effects on protein metabolism in cirrhotic patients and in healthy controls, *Journal of Hepatology*, **17**, 377-383 (1993)
 90. **Okamoto M, Sakaida I, Tsuchiya M, Suzuki C, and Okita K**: Effect of a late evening snack on the blood glucose level and energy metabolism in patients with liver cirrhosis, *Hepatology Research*, **27**, 45-50 (2003)
 91. **Miwa Y, Shiraki M, Kato M, Tajika M, Mohri H, Murakami N, Kato T, Ohnishi H, Morioku T, Muto Y, and Moriwaki H**: Improvement of fuel metabolism by nocturnal energy supplementation in patients with liver cirrhosis, *Hepatology Research*, **18**, 184-189 (2000)
 92. **Tsuchiya M, Sakaida I, Okamoto M, and Okita K**: The effect of a late evening snack in patients with liver cirrhosis, *Hepatology Research*, **31**, 95-103 (2005)
 93. **Verboeket-van de Venne WP, Westerterp KR, van Hoek B, and Swart GR**: Energy expenditure and substrate metabolism in patients with cirrhosis of the liver: effects of the pattern of food intake, *Gut*, **36**, 110-116 (1995)
 94. **Yamanaka H, Genjida K, Yokota K, Taketani Y, Morita K, Miyamoto KI, Miyake H, Tashiro S, and Takeda E**: Daily pattern of energy metabolism in cirrhosis, *Nutrition*, **15**, 749-754 (1999)
 95. **Nakaya Y, Okita K, Suzuki K, Moriwaki H, Kato A, Miwa Y, Shiraishi K, Okuda H, Onji M, Kanazawa H, Tsubouchi H, Kato S, Kaito M, Watanabe A, Habu D, Ito S, Ishikawa T, Kawamura N, and Arakawa Y**: BCAA-enriched snack improves nutritional state of cirrhosis, *Nutrition*, **23**, 113-120 (2007)
 96. **Aoyama K, Tsuchiya M, Mori K, Kubo Y, Shiraishi K, Sakaguchi E, Yamashita S, and Sakaida I**: Effect of a late evening snack on outpatients with liver cirrhosis, *Hepatology Research*, **37**, 608-614 (2007)