総説

亜鉛と肝疾患

日本大学医学部内科学系消化器肝臓内科学分野　森山光彦

要　約

C型慢性肝疾患の血中亜鉛濃度を測定し，血液生化学的検査所見ないし臨床背景因子と比較検討を行い，亜鉛濃度と肝病態との関係について検索した．この結果では，血清亜鉛濃度はC型肝疾患の進展に伴って有意に低下し，liver damageの程度をよく反映した．また血清亜鉛濃度は，アルブミン，プロトロンビン時間などの肝予備能を示唆する検査所見と有意に相関した．一方AST値やALT値など肝内炎症反応を現す検査所見とは相関は見られなかった．BCAA製剤投与例では，BTR高値にもかかわらず血中亜鉛濃度の低値群が存在することより注意を要する．また亜鉛製剤の投与により，C型慢性肝炎・肝硬変の長期予後を改善することが可能であることが示唆された．

KEY WORDS　慢性C型肝炎，肝硬変，血清亜鉛濃度，BTR, アンモニア

はじめに

亜鉛は健康成人において約2g生体内に含有される必須な微量元素である．この亜鉛は，生体内で約300種類におよぶ金属酵素および金属要求酵素の活性発現に関与しており核酸や蛋白代謝に必須である[1,2]．亜鉛欠乏状態に陥ると，生体では様々な病態を励起される．我々は既に，慢性C型肝疾患においては，慢性肝炎，代償性肝硬変，非代償性肝硬変と病態の進展と共に，血中亜鉛濃度が低値を示すことを報告している[3]．特にChild-Pugh分類Cの肝不全の症例は，極めて強い低亜鉛代謝状態に陥っており，亜鉛補充療法の施行により肝不全症状の改善が認められる[4,5]．また我々は，亜鉛含有製剤（Promac 1.0g/day：ゼリア製薬工業，東京）を慢性C型肝炎および肝硬変に投与し，ASTおよびALT値の改善効果が認められたことを報告している[6]．この項では，慢性C型肝炎および肝硬変における亜鉛代謝について述べる．さらにこれらの肝疾患に対する栄養療法のひとつとしての亜鉛補充療法の効果について，慢性C型肝炎および肝硬変の病態や肝機能検査値・血小板数の推移，並びに肝がん発生率などの長期予後に，亜鉛含有製剤（Promac 1.0g/day）の長期投与が，どのような影響を与えたかについて主に述べる．

1. C型慢性肝炎・肝硬変と亜鉛代謝

a. C型慢性肝疾患における亜鉛代謝

当施設の外来を受診した，血中HCV RNA陽性の無症候性キャリアー7例，C型慢性肝炎115例ないし肝硬変57例について，外来受診時に採血して亜鉛濃度を測定した．これらの対象例は，アルコール多飲者，自己免疫性肝疾患，HBs抗原（enzyme-rinked immunosorbent assay; EIA, アボット社）陽性例を除いた症例である．さらに1999年より2004年までに当科にて血管造影検査を施行し，HCV抗体（第三世代，EIA, オルソ社）陽性の原発性肝細胞癌（肝癌）と診断された123例についても，凍結保存血清より血中亜鉛濃度を測定し肝病態と血清亜鉛濃度との関係について検索した．

これらの対象例について，外来受診時に血液生化学的検査および血清亜鉛濃度，血清鉄濃度およびフェリチン濃度を測定した．また肝癌例については，初回の血管造影検査時に採血し凍結保存した血清より血清亜鉛濃度を測定した．以上の結果より血清亜鉛濃度と臨床背景因子，血液生化学的検査所見，HCV RNA量（Amplicor HCV Monitor, Roche Diagnostic K.K.）ないしHCV genotype（Amplicor HCV Monitor genotype, Mitsubishi kagaku BCL社）との関係について検討した．また血液生化学的検査との関連は，aspartate aminotransferase（AST），alanine aminotransferase（ALT），total bilirubin, ALP, γ-glutamyl transpeptidase（γ-GTP），total protein（TP），albumin（alb），serum ammonia（NH3），branched-chain amino acids（BCAA）and tyrosine molar ratio（BTR; Daiyacolor・BTR Enzymatic Methods, Ono Pharmaceutical Co., Ltd.），白血球数（WBC），赤血球数（RBC），ヘモグロビン濃度（Hb），血小板数，Hepaplastintest（HPT）and prothrombin time（PT）を測定した．腫瘍マーカーとしてalpha-fetoprotein（AFP; enzyme rinked immunosorbent assay：EIA）とprotein induced by vitamin K absence or antagonist-II（PIVKA-II：EIA）を測定した．さらに肝線維化マーカーとして，血清ヒアルロン酸（Latex Immunoturbidmetric method, Mitsubishi Kagaku Iatron, Inc），IV型コラーゲン・7S（Radioimmunoassay, Mitsubishi Kagaku Iatron, Inc），プロコラーゲンIII型ペプチド（P-III-P：Immunoradiometric assay, Mitsubishi Kagaku Iatron, Inc）を測定し，各々と血中亜鉛濃度とを比較検討した．

血清亜鉛濃度の測定にはZ-6100 polarized zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer（HITACHI）を用いた原子吸光分析法にて行い，血清鉄濃度はNitroso-PSAP法（Quickauto-Neo Fe, SHINO-TEST CORPORATION）にて，血清フェリチン濃度はCLIA法（Lumispot Eiken Feritin, EIKEN CHEMICAL CO., LTD）にて測定した．統計解析には，chi-square testないしFisher's Protected Least Significant difference post hoc testを用いて行った．p値が0.05未満を有意とした．また累積生存率の比較には，Kuplan-Meier法を用いて行った．

2. 結果

a. 血清亜鉛濃度と肝病態との関係

この結果では，C型肝疾患の血清亜鉛濃度の中央値は，健常者：86μg/ml（range：68-109），無症候性キャリアー：53μg/ml（48-65），慢性肝炎：67μg/ml（45-109），肝硬変：51μg/ml（27-69），肝硬変合併肝癌:49μg/ml（26-89），肝硬変非合併肝癌；58μg/ml（35-80）であった[3]．肝硬変の血清亜鉛濃度は無症候性キャリアーないし慢性肝炎に比較して有意に低値を呈した．肝硬変合併肝癌は，無症候性キャリアー，慢性肝炎ないし肝硬変非合併肝癌に比較して有意に血清亜鉛濃度は低値を呈した．次に，Child-Pugh分類別の血清亜鉛濃度の中央値は，A（27例）：57.7μg/ml（median; 38-69），B（17例）：50.6μg/ml（37-63），C（13例）：36.5μg/ml（24-44）であり，Child-Pugh分類のC群は，A群ないしB群に比較して有意に血清亜鉛濃度が低値であった[8]．この中で極めて特徴的であるのは，Child-Pugh分類のC群には，血清亜鉛濃度が20μg/ml程度の極めて低亜鉛状態の症例が多数存在することである．このように肝硬変では，病態の進展とともに，亜鉛代謝も強い低亜鉛状態に進展する．一方肝癌例においても，肝硬変合併例は非合併例に比較して，有意に血清亜鉛濃度は低値を呈した．これより肝癌では背景肝により血清亜鉛濃度が規定されることを確認し得た[3]．

b. 慢性肝炎および肝硬変例における血液生化学的検査所見と血清亜鉛濃度の関係

臨床背景因子との関係では，血清亜鉛濃度は，

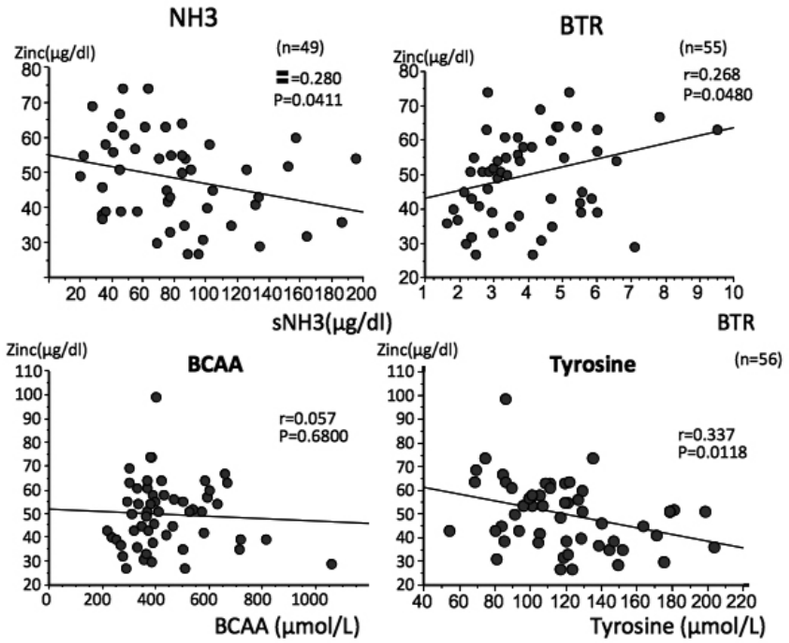

図１　C 型肝硬変例における血清亜鉛濃度と NH3, BTR, BCAA ないし Tyrosine 濃度との比較

男性（59.0μg/ml, 26-109）と女性（55.0μg/ml, 26-97）間では有意差は認めなかった（P=0.08）．一方年齢別に比較すると，有意に 60 歳以上の群（56.0μg/ml, 26-89）が未満の群（63.0μg/ml, 26-109）に比較して低値を呈した（P ＜ 0.0001）．

血清亜鉛濃度は，アルブミン濃度，RBC, HB, 血小板数，PT, HPT と相関関係が認められた．血清亜鉛濃度が低値である例は，AST 値および ALT 値が高値を呈する傾向が認められた．血清亜鉛濃度と HCV genotype（1b：64.0μg/ml, 2a：63.0μg/ml, 2b:56.5μg/ml, P=0.19）および HCV RNA 量（100kiu/ml 以上：63.0μg/ml，100kiu/ml 未満：64.5μg/ml, P=0.08）との関連性は認められなかった．肝内線維化マーカーとの関係では，血清亜鉛濃度と血清ヒアルロン酸濃度との間に有意な相関関係が認められたが（r=0.43, P ＜ 0.0001），血清プロコラーゲン III ペプチド（P-III-P：r=0.31, P=0.001）ないし IV 型コラーゲン 7S 濃度（r=0.33, P=0.002）には有意な相関関係は認められなかった．

次に，肝硬変例についてのみ検討すると，血中アンモニア値とは有意差は見られず，BTR 値および BCAA 濃度とも有意な相関関係は認められなかったが，血清チロシン濃度とのみ有意な相関関係が認められた（図 1）．

3. 慢性肝炎および肝硬変に対する亜鉛補充療法の効果

試験参加の同意が得られた C 型慢性肝炎および肝硬変について，患者の自由意志により Promac 投与群と非投与群の 2 群に分類した．これらの 2 群のうち観察開始より 4 年以上の経時的な経過観察が可能であったのは，Promac 投与群 34 例（CH：27 例，LC：7 例）と非投与群 24 例（CH：19 例，LC：5 例）であった．これらの 2 群について，AST 値，ALT 値，血小板数の推移および累積肝がん発生率を前向きに比較した．

この結果では，Promac 投与群の血中亜鉛濃度は，投与前値に比較して投与開始 5 年目以降において約 30%程度の増加が認められ，非投与群に比較し

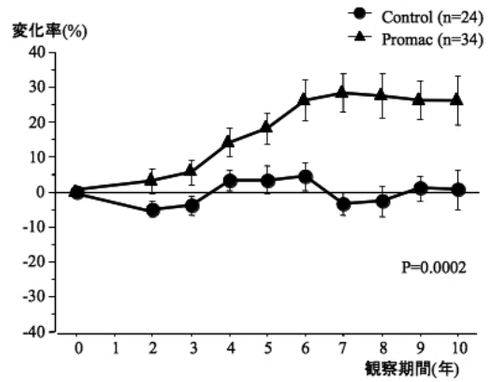

図２　Promac 投与群と非投与群の血中亜鉛濃度の推移の比較

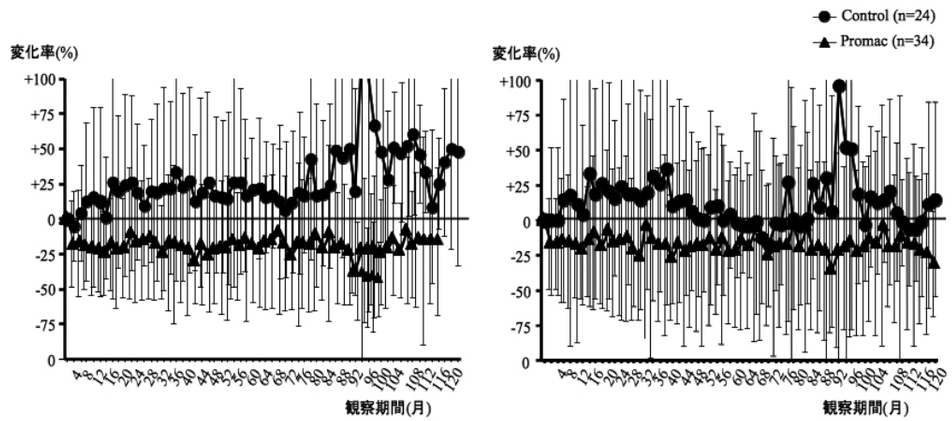

図３　Promac 投与群と非投与群の AST および ALT 値の推移

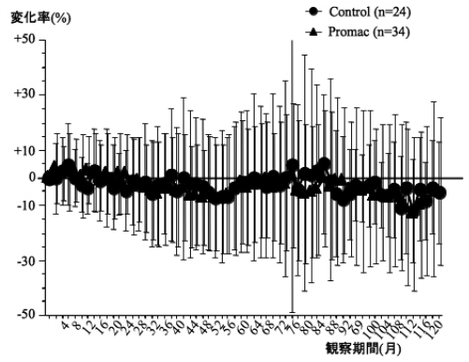

図４　Promac 投与群と非投与群の血小板数の推移

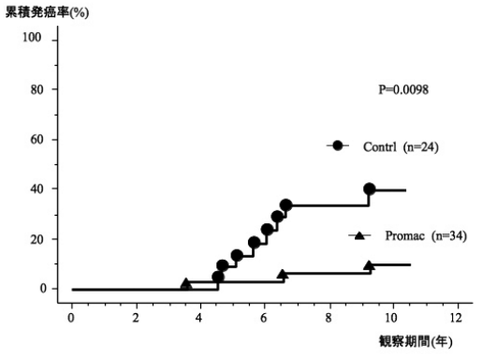

図5a　Promac 投与群と非投与群の累積発癌率の比較

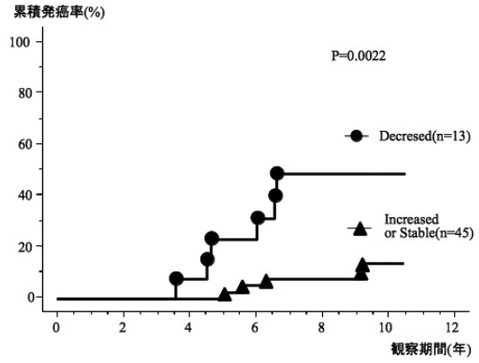

図5b　血中亜鉛濃度の推移別に見た累積発癌率の比較

て有意な上昇が認められている（P=0.0002, 図2）.

次に臨床的に長期予後の比較検討を行った. Promac 投与群は，観察期間は中央値 8.3 年（4.241-10.408）であり，非投与群は 10.1 年（4.970-10.507）である. AST 値および ALT 値の推移を比較すると，両群間には有意差は認められないが，明らかに Promac 投与群は非投与群に比較して AST 値ないし ALT 値は低下傾向が認められる（図3）. 血小板数の推移の比較では，両群間には有意差は認められていない（図4）.

累積肝がん発生率は，Promac 投与群は非投与群に比較して有意に低率を呈している（P=0.0098, 図5a）. 次に promac 投与開始後の最終観察時点までの期間において，血中亜鉛濃度が投与開始時に比較して，ほぼ持続的に5μg/ml 以上の上昇例を増加群（increased），± 5μg/ml を不変群（stable），5μg/ml 以下の低下例を低下群（decreased），の3群に分類して，肝がん累積発生率を比較してみた. 観察期間の中央値はIncrease 群 10.1 年(4.970-10.471), Stable 群 9.3 年（4.241-10.408), Decreased 群 8.0 年（4.507-8.027）である. この結果では, decreased 群は stable および increased 群に比較して累積肝がん発生率は, 有意に低率を呈していた（P=0.0002, 図5b).

4. まとめ

C 型肝疾患においては，血清亜鉛濃度は病態の進展と共に低値を呈した. 特に肝予備能を示唆する検査所見と強い相関関係が認められた. 次に HCV の存在と血清亜鉛濃度との関係について検索した. HCV genotype 別ないしは HCV RNA 量は，血清亜鉛濃度とは関連性がなく，HCV の存在自体は血清亜鉛濃度に影響を与えないことが示唆された[3]. しかしながら，無治療が原則である ASC 例の血中亜鉛濃度が，健常者と比較して有意に低値を呈した. この事実より，HCV の存在が直接亜鉛濃度に影響しているものではないとしても，何らかの関連があることも推測される. HCV の replication に関与する NS3 proteinase は亜鉛含有酵素（a zinc-containing enzyme）[7,8] であることや，NS5A 蛋白は a zinc metalloprotein であることが報告されている[9]. したがって，今後の C 型慢性肝炎の経口抗ウイルス剤治療においても，血清亜鉛濃度の検出とそれに対する対処が必要となるかもしれない. さらに ASC 例についても，血清亜鉛濃度のモニターが必要と思われる. 亜鉛と肝内線維化の進展についても密接な関係がある. すなわち，血清亜鉛濃度を上昇させるような薬剤の投与や遺伝子治療により，線維化の進展を抑制することが報告されている[10,11]. 我々の検討では，肝線維化のマーカーであるヒアルロン酸と血清亜鉛濃度の間には，有意な相関関係が認められ，血清亜鉛濃度の低値群は高値群に比較して血清ヒアルロン酸値などの肝線維化マーカーは低値を呈した[3].

5. 亜鉛補充療法の必要性

LC における Child-pugh 分類別に比較した血清亜鉛濃度は，A,B,C と病態が進展するに従って低値を呈する. また BTR と血清亜鉛濃度との関係については，一般には BTR が低下するとともに血清亜鉛濃度も低下し，BTR および BCAA 濃度と血清亜鉛濃度は，有意な相関関係が認められる. しかしながら我々の検討では，BCAA 濃度と血清亜鉛濃度は有意な相関は認められず，チロシン濃度と有意な相関関係が認められた. 臨床的に BCAA 含有製剤を投与している例が多い非代償性肝硬変では，BCAA 濃度の低下と共に血清亜鉛濃度も低下するが，Child 分類 C などの肝不全状態では，BCAA 含有製剤投与により，BTR が高値でありながらも血清亜鉛濃度が低値である例が存在する（図1）. 実際に臨床の場においては，肝不全に進展すると BCAA を多量に含有した特殊アミノ酸製剤の使用を開始することが多い. 一方亜鉛は，グリシンやシスティン，ヒスチジンなどと結合するが，BCAA 製剤を含有した特殊アミノ酸製剤には，グリシンなどが比較的多く含まれている製剤がある. したがって血中アルブミン濃度の減少とともに，特殊アミノ酸製剤の長期間の使用により，亜鉛はグリシンやシスティン，ヒスチジンと結合し尿中への排泄が増加する可能性が推測され，血中の亜鉛濃度が低下していくことが推定される. また長期間の利尿剤投与もまた，亜鉛の尿中への排出を促進していることが推定される. したがって，BCAA 製剤を含有した特殊アミノ酸製剤の長期間投与や利尿剤の長期投与は，血中亜鉛濃度の低下を招いてしまう，というパラドックスが存在することになる. 臨床医は，特にこの点に注意を払う必要がある.

次に，亜鉛補充療法の注意点としては，亜鉛は経口投与すると胃内にてミセル化され，小腸に存在する亜鉛 / 銅レセプターを介して吸収される. 理論上は，胃内 PH が 1.3 前後の低値の高酸状態では，可溶化率（ミセル化）が進行するが, 胃内 PH が 4.0 以上になると可溶化率の程度が減少し，PH7.0 を超えるとほぼ可溶化されなくなることが指摘されている. さらに胃酸分泌抑制薬の長期投与では，鉄の2価への還元が減じピコリン酸の3価鉄との結合量が増加して，結果的に亜鉛の吸収量が減じる. したがって，プロトンポンプインヒビターなどの強い制酸作用を有する薬剤との併用は，極めて亜鉛の吸収を阻害することが予想される.

表1　血液生化学検査値と血清亜鉛濃度との比較

Parameter	R	P
AST	-0.202	0.0215
ALT	0.013	0.8815
ALP	-0.293	0.0008
LAP	-0.017	0.8625
γ-GTP	0.203	0.0230
T.Bilirubin	-0.468	<0.0001
T.protein	0.276	0.0024
Albumin	0.681	<0.0001
WBC	0.245	0.0066
RBC	0.614	<0.0001
Hemoglobin	0.512	<0.0001
Platelet count	0.608	<0.0001
Prothrombin time	0.507	<0.0001
Hepaplastin test	0.571	<0.0001
α-feetoplotein	-0.377	<0.0001
Iron concentration	-0.057	0.5435
Ferritin concentration	-0.135	0.1351

また一部のCaブロッカーなどの降圧薬や利尿剤も，キレート形成により亜鉛の小腸からの吸収を阻害することが知られている．特に高齢者や進展したLC例では，合併症などにより上記薬剤を使用している症例も少なからず存在することより，併用薬の確認は重要である．また併用せざるを得ない場合には，亜鉛製剤の服薬時間を調整することが血中亜鉛濃度を増加させるうえで重要である．

6．まとめ

CH, LCにおける血清亜鉛濃度は，病態の進展と共に低値を呈し肝予備能を示唆する検査所見と有意な相関関係が認められる．この理由は，①亜鉛は血液中ではその1/3をα2-macroglobulinと，残り2/3をAlbと結合して存在している．したがって疾患の進展とともに血中Alb濃度が低下するために，亜鉛濃度も相対的に低下すること[12,13]，②門脈―大循環系シャントに伴う尿中排泄量の増加によること[14]，③小腸粘膜など腸管粘膜の変化に伴う吸収障害によること[15-17]，④有効肝細胞数の減少に伴う肝内亜鉛含量の低下によること，⑤食生活・環境の偏り，などが挙げられる．亜鉛濃度の低下は，オルニチントランスカルバミラーゼの活性低下を励起し，その結果として尿素サイクルによるアンモニアの処理能を低下させ，BCAA含有製剤を投与しても肝性脳症の改善が十分ではないという現象を励起してしまう．したがって臨床医は特にこの点に注意を払い，LCに対するBCAA含有製剤の投与の際は，必ず血中亜鉛濃度のモニターをすべきであり，血中亜鉛濃度が低下している場合には，速やかに亜鉛補充療法を行うべきであると考える．

次にC型CH例においては，亜鉛補充療法を長期間施行することにより，CHないしLCであっても，長期間の後には血中ALT値やAST値の改善が期待されることが示唆された．AST値ないしALT値を低値に保つことは，LCやC型CHからの肝発癌抑止の重要なポイントである．実際に投与開始4年以上の経過観察をし得た例では，亜鉛補充などによる血清亜鉛濃度の上昇例は有意に累積肝がん発生率が低率であった．

亜鉛補充による肝発癌抑止の機序は未だ明解ではない．しかしながら現時点においては，以下のごとく理由が考えられる．①酸化鉄の生成を抑えること，②銅の小腸からの吸収を阻害し，かつメタロチオネインと銅を競合することなどにより，①酸化ストレスを軽減して肝細胞障害を軽減し，肝細胞核のDNA障害を抑止すること，②肝内の壊死炎症反応の程度を軽減することなどにより，長期的には肝内亜鉛濃度の増加が肝がん発生抑止に働いていることが推測される．

さらに今後，新規経口抗ウイルス療法によりC型慢性肝炎や肝硬変は，その大多数がHCVの駆除が可能となるが，耐性株の存在やアミノ酸変化についても，亜鉛代謝状態の把握は重要であることが推測される．特に血中亜鉛濃度が低値を呈する非代償症性LCなどの症例には，血清亜鉛濃度のモニターが絶対に必要であり，血清亜鉛濃度が低値例には積極的に亜鉛補充療法を開始すべきである．またLCでは，累積肝癌発生率は亜鉛製剤投与群と非投与群間には有意差は見られなかった．したがって，既に進行したLC例に亜鉛補充療法を開始しても，肝がん発生は抑止しえない可能性がある．したがって肝がん発生抑止には，より早期より亜鉛補充療法を行うことが推奨される．

◆文　献

1）Dibley MJ：最新栄養学. 健帛社, 東京：344, 2002
2）Krebs NF：Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. J Nutr 130（5S Suppl）：1374S, 2000
3）Moriyama M, Matsumura H, Fukushima A, et al：Clinical significance of evaluation of serum zinc concentrations in C-viral chronic liver disease. Dig. Dis Sai 51：2006
4）Yoshida Y, Higashi T, Nouso K, et al：Effects of zinc deficiency/zinc supplementation on ammonia metabolism in patients with decompensated liver cirrhosis. Acta Med 55, Okayama：349, 2001
5）Marchesini G, Fabbri A, Bianchi G, et al：Zinc supplementation and amino acid-nitrogen metabolism in patients with advanced cirrhosis. Hepatology 23：1084, 1996
6）Matsuoka S, Matsumura H, Nakamura H, et al：Zinc Supplementation Improves the Outcome of Chronic Hepatitis C and Liver Cirrhosis. J Clin. Biochem Nut 45：292, 2009
7）Stempniak M, Hostomska Z, Nodes BR, et al：The NS3 proteinase domain of hepatitis C virus is a zinc-containing enzyme. J Virol 71：2881, 1997
8）Love RA, Parge HE, Wickersham JA, et al：The crystal structure of hepatitis C virus NS3 proteinase reveals a trypsin-like fold and a structural zinc binding site. Cell 84：331, 1996
9）Tellinghuisen TL, Marcotrigiano J, Gorbalenya AE, et al：The NS5A protein of hepatitis C virus is a zinc metalloprotein. J Biol Chem 19：279, 48576, 2004
10）Jiang Y. Kang YJ：Metallothionein gene therapy for chemical-induced liver fibrosis in mice. Mol Ther 10：130, 2004
11）Camps J, Bargallo T, Gimenez A, et al：Relationship between hepatic lipid peroxidation and fibrogenesis in carbon tetrachloride-treated rats. effect of zinc administration, Clin Sci（Lond）, 83：695, 1992
12）Boyett JD, Sullivan JF：Distribution of protein-bound zinc in normal and cirrhotic serum. Metabolism 19：148, 1970
13）Boyett JD, Sullivan JF：Zinc and collagen content of cirrhotic liver. Am J Dig Dis 15：797, 1970
14）Scholmerich J, Becher MS, Kottgen E, et al：The influence of portosystemic shunting on zinc and vitamin A metabolism in liver cirrhosis. Hepatogastroenterology 30：143, 1983
15）Wakiyama K, Arakawa Y, Suzuki T, et al：A pathophysiological significance of trace metals in rats with experimental cirrhosis. 肝臓 140：1182, 1986
16）Evans GW, Winter TW：Zinc transport by transferrin in rat portal blood plasma. Biochem Biophys Res Commun 66：1218, 1975
17）Evans GW：Transferrin function in zinc absorption and transport. Proc Soc Exp Biol Med 151：775, 1976