

非肥満非アルコール性脂肪性肝疾患患者の栄養学的研究 —食事性コレステロールの重要性と薬物療法への展開—

安武健一郎

西九州大学健康福祉学部健康栄養学科, 842-8585 佐賀県神埼市神埼町尾崎 4490-9

Nutritional investigation of non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease: The significance of dietary cholesterol and the application to medication

Kenichiro Yasutake

Department of Health and Nutrition Sciences, Faculty of Health and Social Welfare Sciences,
Nishikyushu University, 4490-9 Kanzaki Saga 842-8585, Japan.

Abstract

The onset and progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) seem to be affected by nutritive intake; however, detailed examinations have not been performed in non-obese NAFLD patients. The purpose of this study was to identify potential nutritive factors that affect NAFLD, its related nutritional problems and the application to medication. We investigated the distribution of abdominal fat, dietary intake, and biochemical data in patients with NAFLD and compared non-obese with obese patients. There was no significant difference in the percentage of patients with diabetes or dyslipidemia between the obese and non-obese groups. Waist circumference, total abdominal fat levels, and subcutaneous fat levels were significantly higher in the obese group, while visceral fat levels were not significantly different between the two groups. Immunoreactive insulin (IRI) and homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) were significantly lower in the non-obese group, suggesting that the non-obese patients were not overtly insulin resistant. Although serum adiponectin and TNF- α levels were similar in both groups, leptin levels were significantly higher in the obese group. Total energy and carbohydrate intake tended to be higher in the obese group. A characteristic feature was that dietary cholesterol intake was significantly higher in the nonobese group.

In non-obese NAFLD patients: 1) although visceral fat was increased, insulin resistance and/or dysregulated secretion of adipocytokines was not necessarily shown; 2) intakes of total energy and carbohydrates were not excessive, although dietary cholesterol was superabundant was significantly lower compared with those in obese patients; 3) characteristic fat intake may be associated with the formation of NAFLD; and 4) cholesterol absorption inhibitor may offer a novel treatment for NAFLD.

Key Words: Cholesterol, insulin resistance, non-alcoholic fatty liver disease, nutrition, obesity, Niemann-Pick C1 like 1, ezetimibe

【緒言】

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は、飲酒歴がないにも関わらず肝細胞に中性脂肪が蓄積する疾患であり、本邦においても増加傾向である。NAFLD患者の約10%は、炎症や線維化が進行する非ア

アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis : NASH) となり、肝硬変や肝細胞癌へと進行する (1, 2)。NAFLDでは、しばしば肥満やインスリン抵抗性が関与し、メタボリックシンドロームの一局所症状ともみなされているが、非肥満者のNAFLD患者に遭遇することも多く、そのような患者においてもNASH、肝硬変、肝細胞癌への進行がみられる (3,4)。よって、NAFLDの病因や進展を研究するためには、肥満の有無による背景因子等の相違について理解しておく必要がある。非肥満NAFLD発症の原因は不明であるが、肥満NAFLDと同様に栄養素摂取をはじめとした栄養学的因子が少なからず関与していると予想される。しかし、非肥満NAFLDを対象とした栄養学的研究は非常に少なく、調査を行った研究報告でも一定の見解は得られていない (5-7)。これは、NAFLDが肥満や耐糖能障害、脂質代謝異常など多因子に影響されており、NAFLDの進展における栄養状況の貢献度が明確に表にでてこないからではないかと思われる。肥満という因子を取り除いた非肥満NAFLD患者について検討することは、NAFLDに影響する潜在的栄養学的因子の同定につながると考えられる。我々は非肥満NAFLD患者に焦点をあて、病態の本質的な成因および効果的な治療法選択の解明の一助として、栄養学的に検討を行った。さらにその結果を踏まえて、新たな薬物療法の可能性についても検討した。

1. 非肥満NAFLD患者の栄養学的解析

【方法】

2006年10月～2007年10月に、検診による肝機能異常のため、国立病院機構九州医療センター消化器科を受診し、腹部エコー、腹部CTあるいは肝生検にてNAFLDと診断された症例のうち、空腹時血糖 (Fasting plasma glucose; FPG) 140mg/dL以上または中性脂肪300mg/dL以上を除外した56例 (男26例/女30例) を登録した。BMI 25kg/m²以上を肥満の基準とし、12例を非肥満群、44例を肥満群に群別した。栄養調査、身体計測、血液生化学検査は、NAFLDの診断1週間後に実施した。コントロールとして、非肥満健康者ボランティア (n=15, 男/女=5/7) について同様の検査を行った。

栄養調査は、対象患者によって連続3日間の食事摂取量について記録する食事記録法で実施した。食事記録は、管理栄養士による問診で補正された後に栄養価計算ソフト「エクセル栄養君®」(建帛社、東京) によって分析された。栄養素摂取量の表示・解析は標準体重1kgあたりで解析した。栄養調査時に朝食前の空腹状態で採血し、血液生化学検査成績を収集した。さらに、承諾の得られた28症例については、臍上レベルでCT撮影し、FAT SCAN® (N2 System; 内蔵脂肪面積計測PCソフトウェア) を用いて腹部脂肪面積を解析した。

Table 1. Background of the patients

	Obese	Non-obese	
Patient number	44	12	NS
(male/female)	(22/22)	(4/8)	NS
Age	53.5 ± 12.3	47.2 ± 14.8	NS
Diabetes mellitus	25.0% (11/44)	25.0% (3/12)	NS
Dyslipidemia	50.0% (22/44)	41.7% (5/12)	NS

NS, not significant

【結果・考察】

両群のBMIは、非肥満群で23.0 ± 1.9kg/m²、肥満群で29.3 ± 3.1kg/m²であった。年齢、男女数、糖

尿病および脂質異常症の合併率においては、いずれも差を認めなかった (Table 1)。

腹部脂肪測定値は、非肥満群において、腹囲、腹部総脂肪面積、皮下脂肪面積が有意に低値であった。内臓脂肪面積は、肥満群ほどではないが非肥満群でやや高値であり、両群間に差を認めなかった (Figure 1)。内臓脂肪の増加はアディポサイトカイン分泌やインスリン感受性に関連するため (7-9)、非肥満患者における NAFLD の発症と進展にも重要な意味をもっていると考えられる。今後、より多くの非肥満 NAFLD 患者の内臓脂肪蓄積がどのように形成されるのかを明らかにしていかななくてはならない。

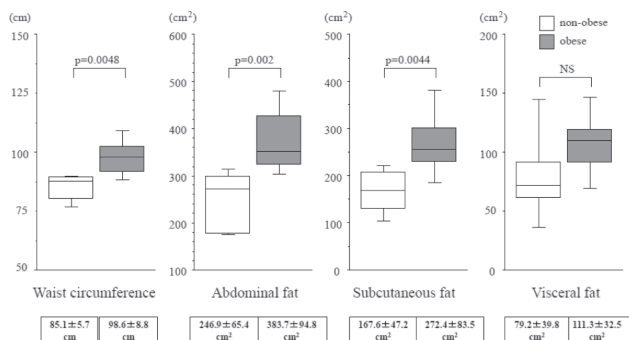


Fig. 1. Comparison of waist circumference, abdominal fat, subcutaneous fat, and visceral fat between the obese and non-obese groups. Waist circumference (cm) is measured at the navel level. Total abdominal fat, subcutaneous fat, and visceral fat areas (cm²) are evaluated in computed tomography at the navel level.

両群間の血液生化学検査における糖代謝検査成績は、空腹時血糖 (fasting blood sugar; FBS) に差を認めなかったが、血中インスリン値 (Immunoreactive insulin; IRI), HOMA-IR (Homeostasis model assessment of insulin resistance) が非肥満群で有意に低値であり、各平均値は基準値内であった (Figure 2)。

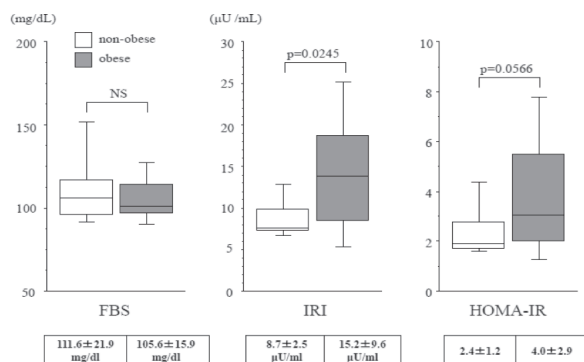


Fig. 2. Comparison of fasting blood sugar (FBS), immunoreactive insulin (IRI), and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) between the obese and non-obese groups.

肥満群では明らかなインスリン抵抗性を認める一方、非肥満群ではインスリン抵抗性を認めていない。この結果は、内臓脂肪面積の結果に反するようでもある。我々は、肥満群におけるインスリン抵抗性が、エネルギーの過剰摂取や運動不足、筋肉量低下などの内臓脂肪以外の因子が加わって惹起されるのではないかと考えている。既報において、非肥満 NAFLD はインスリン抵抗性を必ずしも発症しないとされており、本研究結果と合致する (10, 11)。現時点では非肥満 NAFLD の報告数が少ないため、今後の詳細な研究が待たれる。

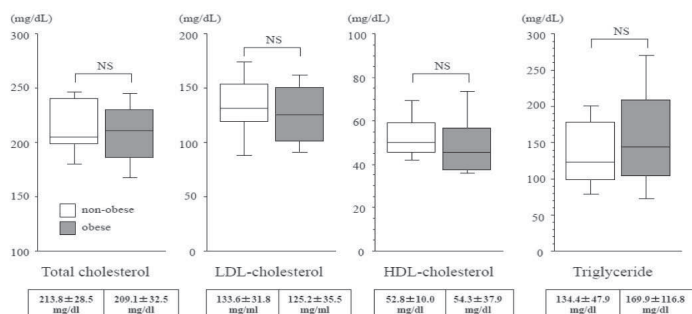


Fig. 3. Comparison of total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, and triglyceride concentration in sera between the obese and non-obese groups.

肝機能および脂質代謝検査成績では、両群間に有意差を認めなかった (Figure 3)。

アディポカインの検査成績では、Adiponectin, tumor necrosis factor- α (TNF- α) 値は両群ともに基準値内であり差を認めなかったが、Leptin 値については肥満群で高値傾向であった (Figure 4)。

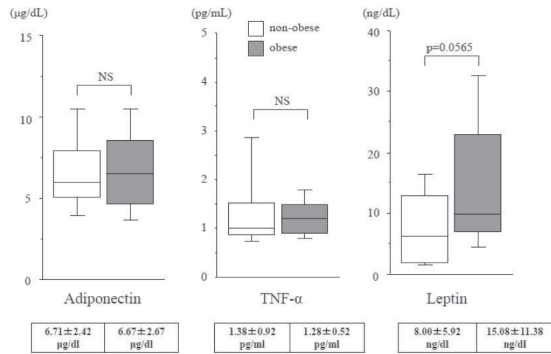


Fig. 4. Comparison of adiponectin, TNF- α , and leptin concentration in sera between the obese and non-obese groups.

Leptin は、AMPK と PPAR α を介して脂肪酸酸化を亢進させることが報告されており (12)、肥満群においては Leptin 抵抗性の可能性が示唆された。Leptin 抵抗性のメカニズムはまだ明らかになっていないが、多くの施設において Leptin 受容体シグナルの阻害因子として suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3) に関する研究が開始されている (13, 14)。今後 Leptin に対する低反応性に関わる因子を検討していかねばならない。

栄養素摂取量は、肥満群において総エネルギー、炭水化物が有意に高値であり、これが肥満の要因と考えられた (Figure 5)。

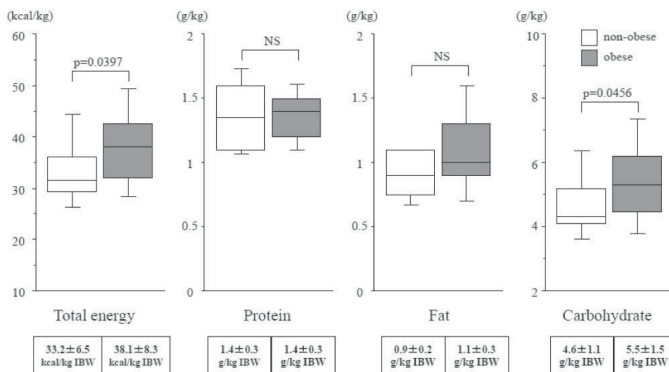


Fig. 5. Comparison of nutritional intake (total energy, protein, fat, and carbohydrate) between the obese and non-obese groups.

非肥満群では、エネルギー、蛋白質、脂質、炭水化物に明らかな過剰摂取を認めなかったが、食事性コレステロールは、有意に高値であり、多価不飽和脂肪酸は有意な低値で、かつ基準値を逸脱していた (Figure 6)。

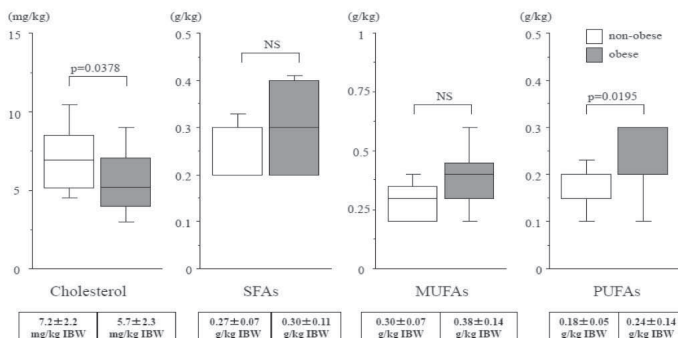


Fig. 6. Comparison of nutritional intake (cholesterol, saturated fatty acids (SFAs), monounsaturated fatty acids (MUFAs), and polyunsaturated fatty acids (PUFAs)) between the obese and non-obese groups.

特に、食事性コレステロールにおいては、肥満群でも健常者と比較して有意な高値であった (Figure 7)。

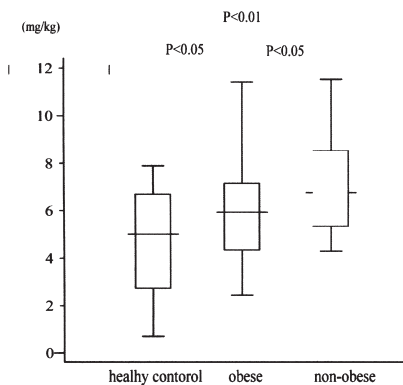


Fig. 7. Comparison of cholesterol intake between the healthy control and obese and non-obese groups.

Musso らは、NASH 患者における食事性コレステロール過剰摂取を報告している (5)。他のグループは、動物モデルにおいて高コレステロール食によって非肥満 NASH を誘発されることを示しており (15,16)、本研究結果と合致する。高コレステロール食は、代謝産物である oxysterol の過剰産生につながり、これが LXR α の過剰発現、活性化を惹起する。実際に、我々は、非肥満 NAFLD 患者肝での LXR α 発現レベルが、肥満 NAFLD に比較して高値であることを報告している (17)。この事実は、肝細胞内の oxysterol レベルが非肥満性患者において、より高値であることを間接的に示している。LXR α は転写調節因子であり、その標的遺伝子の 1 つが脂肪酸合成の主要因子 SREBP-1c である (18)。食事性コレステロールの増加が、LXR α ~ SREBP-1c 経路を經由して、肝細胞での脂肪酸 *de novo* 合成を誘導するものと考えられる。以前我々は、非肥満 NAFLD 患者では SREBP-1c の発現が増加していることも報告している (19,20)。したがって、特に非肥満 NAFLD 患者では、腸管におけるコレステロールの吸収阻害が新たな治療法となる可能性がある。

2. コレステロール吸収阻害による非肥満 NAFLD の薬物療法の可能性

上記のように、NAFLD の発生には、食事性コレステロール過剰の関与が考えられたため、コレステロール吸収を阻害する薬物療法を非肥満 NAFLD 患者に対して検討した。

【方法】

- 1) 対象は、2007 年 10 月～2008 年 6 月に、検診による肝機能異常のため、国立病院機構九州医療センター 消化器科を受診し、腹部エコー、腹部 CT によって NAFLD と診断された BMI 25 kg/m² の肥満を伴わない 8 症例 (男 6 / 女 2)。
- 2) 小腸におけるコレステロール、植物ステロールの吸収阻害および肝臓のコレステロール含量低下を目的に (21)、Niemann-Pick C 1 like 1 (NPC1L1) 阻害剤のエゼチミブを 10 mg/day 処方し、12 ヶ月の体重、ALT 値、LDL-cholesterol (LDL-C) 値の推移について観察を行った。

【結果・考察】

対象の背景と身体状況を Table 2 に示す。

すべての患者が 12 ヶ月間、毎日エゼチミブ 10 mg を服薬し、その他の服薬処方に変更はなかった。エゼチミブの開始後 6 ヶ月後において、体重に変化はなかったが (Figure 8A)、ALT 値はベースライン値と比較して有意に低下し、その後、12 ヶ月後まで維持された。また、4 例では 6、12 ヶ月後において基準値内 (<30 IU/L) まで低下した (Figure 8B)。

Table 2
Clinical characteristics of patients, before and during ezetimibe treatment

	Baseline	6 months	12 months
Body mass index (kg/m ²)	23.03 ± 2.04	22.81 ± 2.34	22.84 ± 2.17
ALT (IU/L)	70.13 ± 24.61	36.64 ± 19.41*	34.25 ± 12.61*
GGT (IU/L)	115.00 ± 62.28	69.50 ± 28.49	68.38 ± 28.28
Total cholesterol (mg/dL)	212.00 ± 49.01	192.25 ± 30.68*	191.38 ± 28.61*
Triglyceride (mg/dL)	98.88 ± 34.22	89.88 ± 31.56	94.88 ± 30.62
HDL-cholesterol (mg/dL)	59.13 ± 11.81	58.25 ± 12.09	61.50 ± 12.51
LDL-cholesterol (mg/dL)	137.50 ± 34.59	113.13 ± 29.68*	111.00 ± 29.65*
HOMA-IR	2.31 ± 0.25	2.24 ± 0.14	2.17 ± 0.31

Data are shown as mean ± SD
ALT, alanine aminotransferase; GGT, γ -glutamyl transpeptidase; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance
*p < 0.05 compared with baseline

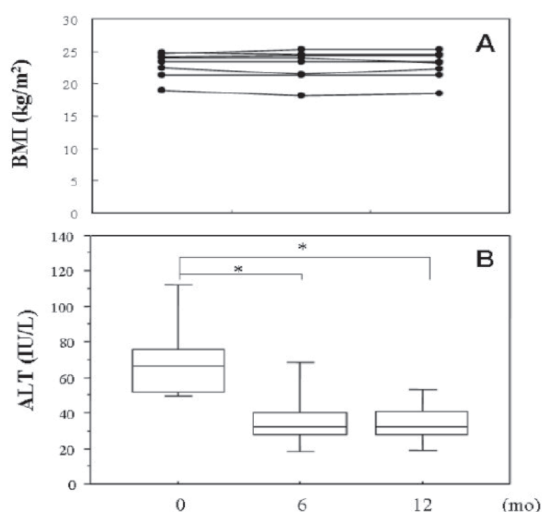


Fig. 8. Changes of body mass index (BMI) (A) and serum alanine aminotransferase (ALT) levels (B) during ezetimibe treatment. Values at baseline, 6 months and 12 months are presented. *p < 0.05.

ALT値の減少率は6ヵ月後で49.33 ± 16.09%, 12ヶ月後で45.25 ± 24.19%であり, LDL-C値の減少率は, 6ヵ月後で17.10 ± 11.36%, 12ヶ月後で18.28 ± 15.86%であった (Figure 9)。

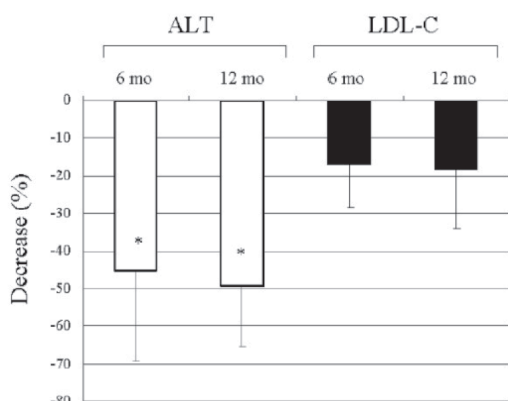


Fig. 9. Changes of serum alanine aminotransferase (ALT) and LDL-cholesterol (LDL-C) levels during ezetimibe treatment. Decrease (%) from baseline is presented at 6 and 12 months after the treatment initiation. *p < 0.05 compared with baseline.

動物モデルにおいて, NPC1L1阻害剤はコレステロールの吸収阻害により肝脂肪化を抑制することが報告されている (22, 23)。今回, ヒトの非肥満NAFLD症例にエゼチミブを投与することで, 血中のLDL-C値のみならず, ALT値が著明に減少した。これらのことは, 非肥満NAFLDの病態形成に細胞内コレステロールの貯留と, それに伴うコレステロール~LXR α ~SREBP1c 脂肪酸合成経路の亢進が重要な役割を果たしていることを示唆している。したがって, エゼチミブなどのコレステロール代謝モジュ

レーターは、非肥満NAFLDの新たな治療薬になりうると考えられた。

【総括】

非肥満NAFLD患者では、内臓脂肪量がある程度増加しているが、インスリン抵抗性はほとんどなく、アディポサイトカインの分泌異常もみられなかった。非肥満NAFLD患者の栄養調査結果では、総エネルギーおよび炭水化物の過剰摂取を認めない一方、コレステロール摂取量は、肥満NAFLD、健常者ボランティアと比較して有意に高値であり特徴的であった。これらの食事傾向が、非肥満NAFLDの病態形成に関与している可能性があり、実際にNiemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) 阻害剤のエゼチミブを使用した試験によって、肝障害が抑制された。以上のことより、非肥満NAFLDに対するコレステロール制御は、新たな治療法として有望である。

【謝辞】

本研究に際し、終始懇切なご指導、ご鞭撻を賜りました福岡大学薬学部臨床薬物治療学教室 中島学教授、遠城寺宗近 准教授に心より深甚たる謝意を表します。また、同様にご指導、ご鞭撻を賜りました独立行政法人国立病院機構九州医療センター消化器内科 中牟田誠 医長にも心より謝意を表します。

さらに、本論文について査読の上、貴重なご意見、御校閲を賜りました福岡大学薬学部機分析学教室 藤岡稔大 教授、福岡大学薬学部臨床心身治療学教室 小山進 准教授に謹んで感謝いたします。最後に、本研究を遂行するにあたり、御協力、御助言を賜りました、独立行政法人国立病院機構九州医療センター消化器内科 福泉公任隆 医長、原田直彦 医長、宮原稔彦 医師、吉本剛志 医師、武元良祐 医師、早田福子 栄養管理室長、春田典子 栄養主任、嶋由紀 管理栄養士、増田香織 管理栄養士、藤野達也 検査技師、青柳葉子 検査技師に謹んで感謝申し上げます。

【文献】

1. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;/346:/1221-31.
2. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999;/116:/1413-9.
3. Kojima S, Watanabe N, Numata M, et al. Increase in the prevalence of fatty liver in Japan over the past 12 years: analysis of clinical background. *J Gastroenterol* 2003;/38:/954-61.
4. Nonomura A, Enomoto Y, Takeda M, et al. Clinical and pathological features of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2005;/33:/116-21.
5. Musso G, Gambino R, De Michieli F, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003;/37:/909-15.
6. Solga S, Alkhouraishe AR, Clark JM, et al. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2004;/49:/1578-83.
7. Aller R, de Luis DA, Fernandez L, Calle F, Velayos B, Olcoz JL, Izaola O, Sagrado MG, Conde R, Gonzalez JM. Influence of insulin resistance and adipokines in the grade of steatosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*. 2008;/53:/1088-92.
8. Yamashita S, Nakamura T, Shimomura I, Nishida M, Yoshida S, Kotani K, Kameda-Takemuara K, Tokunaga K, Matsuzawa Y. Insulin resistance and body fat distribution. *Diabetes Care*. 1996;/19:/287-91.

9. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med.* 2002 ;/8:/731-7.
10. Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Manesis EK, et al. Metabolic syndrome is associated with severe fibrosis in chronic viral hepatitis and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2008 ;/27:/80-9.
11. Kim HJ, Kim HJ, Lee KE, et al. Metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese, non-diabetic adults. *Arch Intern Med* 2004 ;/164:/2169-75.
12. Suzuki A, Okamoto S, Lee S, et al. Leptin stimulates fatty acid oxidation and peroxisome proliferators-activated receptor α gene expression in mouse C2C12 myoblasts by changing the subcellular localization of the α 2 form of AMP-activated protein kinase. *Mol Cell Biol* 2007 ;/27:/4317-27.
13. Bjørbaek C, El-Haschimi K, Frantz JD, Flier JS. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem.* 1999 ;/274:/30059-65.
14. Kimura A, Kinjyo I, Matsumura Y, Mori H, Mashima R, Harada M, Chien KR, Yasukawa H, Yoshimura A. SOCS3 is a physiological negative regulator for granulopoiesis and granulocyte colony-stimulating factor receptor signaling. *J Biol Chem.* 2004 ;/279:/6905-10.
15. Jeong WI, Jeong DH, Do SH, et al. Mild hepatic fibrosis in cholesterol and sodium cholate diet-fed rats. *J Vet Med Sci* 2005 ;/67:/235-42.
16. Kainuma M, Fujimoto M, Sekiya N, et al. Cholesterol-fed rabbit as a unique model of nonalcoholic, non-obese, non-insulin-resistant fatty liver disease with characteristic fibrosis. *J Gastroenterol* 2006 ;/41:/971-80.
17. Nakamuta M, Kohjima M, Higuchi N, et al. The significance of differences in fatty acid metabolism between obese and non-obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* 2008 ; 22: 663-7.
18. Zelcer N, Tontonoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest* 2006 ;/ 116:/607-14.
19. Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Nakashima M, Nakamuta M. The effects of unsaturated fatty acids on lipid metabolism in HepG2 cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2009 ;/45:/6-9.
20. Kohjima M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Fujino T, Yada M, Yada R, Harada N, Enjoji M, Takayanagi R, Nakamuta M. SREBP-1c, regulated by the insulin and AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med.* 2008 ;/21:/507-11.
21. Kidambi S, Patel SB: Cholesterol and non-cholesterol sterol transporters: ABCG5, ABCG8 and NPC1L1: a review. *Xenobiotica* 2008 ;/38:/1119-1139.
22. Davies JP, Scott C, Oishi K, Liapis A, Ioannou YA. Inactivation of NPC1L1 causes multiple lipid transport defects and protects against diet-induced hypercholesterolemia. *J Biol Chem.* 2005 ;/280:/12710-20.
23. Deushi M, Nomura M, Kawakami A, Haraguchi M, Ito M, Okazaki M, Ishii H, Yoshida M. Ezetimibe improves liver steatosis and insulin resistance in an obese rat model of the metabolic syndrome. *FEBS Lett.* 2007 ;/581:/5664-70.