

## NAFLDにおける緑色野菜ジュースの飲用が血清 ALT 値に及ぼす影響

田淵真愉美\* 久保木真\*\* 水道裕久\*\*\* 河原和枝\*\*\*\* 富岡加代子\*\*\*\*\*  
川上貴代\* 平松智子\* 塚本幾代\*\*\*\*\*

**要旨** 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は、外来診療や健診で高頻度に認められる疾患である。近年、NAFLD における抗酸化療法が試みられているが、ビタミン C 摂取の効果に関する報告はほとんどない。本研究では、外来受診した NAFLD 患者を対象に、通常の食事に加えて緑色野菜ジュースを 8 週間飲用させ、身体状況、臨床検査値、栄養素等摂取状況、血中脂肪酸組成、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の分析を行い、緑色野菜ジュースの飲用が血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 値および血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度に及ぼす影響について検討した。緑色野菜ジュースの飲用により、9 例中 6 例に ALT の低下が認められた。緑色野菜ジュースの飲用は、ビタミン C の摂取量を増大させ、特に肥満度が軽度 (BMI < 30) の NAFLD 患者では血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の上昇によって脂肪酸代謝を改善させ、肝機能を改善させる可能性が示唆された。

**キーワード**：非アルコール性脂肪性肝疾患、緑色野菜ジュース、ビタミン C、血漿  $\alpha$ -トコフェロール、脂肪酸組成

## I. 緒言

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は、明らかな飲酒歴がないにもかかわらず、アルコール性肝障害に類似した脂肪性肝障害がみられる疾患であり<sup>1)</sup>、脂肪沈着のみを認める単純性脂肪肝と脂肪化に壊死・炎症や線維化を伴う脂肪性肝炎 (非アルコール性脂肪肝炎: NASH) に分かれる<sup>2,4)</sup>。NAFLD はその大部分が肥満や糖尿病、脂質異常症などの代謝性疾患を合併しており、外来診療や健診において高頻度に認められる疾患であるが、これまで予後良好な疾患として放置されることも多く、積極的な治療が行われることは少なかった。しかし、近年では NAFLD においては、単純性脂肪肝から炎症や線維化を伴う NASH に進展し、さらに、NASH では肝硬変から肝癌へ進行することも明らかとなり<sup>5)</sup>、NAFLD 患者への早期介入と早期治療が求められるようになった。

NAFLD の治療法は、非薬物療法と薬物療法に大別されるが、未だ確立したものはない。それゆえ、食事や運動などの生活習慣の改善による肥満、糖尿病、脂質異常症、高血圧の是正が治療の原則となっている。食事療法については食事量の調整のみでなく、脂肪や炭水化物エネルギー比率の適正化、魚に多く含まれるイコサペンタエン酸 (EPA) などの脂肪酸やビタミン C や E などの抗酸化ビタミン、抗酸化物質を多く含む食品の摂取、食物繊維の摂取などが推奨されている。その他にも、肥満の是正を目的とした外科的治療があり、主として欧米において小腸バイパス術や胃バンディング術などが施行されている<sup>6)</sup>。一方、薬物療法にはインスリン抵抗性改善薬や脂質異常症治療薬、抗酸化療法等による治療法が試みられている<sup>7-9)</sup>。その他にも、食事療法と薬物療法を組み合わせた治療法も報告されている<sup>10)</sup>。

近年、酸化ストレスによる単純脂肪肝から NASH

\* 岡山県立大学保健福祉学部栄養学科

\*\* 倉敷成人病センター肝臓病治療センター

\*\*\* サンスター株式会社研究開発部

\*\*\*\* 川崎医療福祉大学医療技術学部臨床栄養学科

\*\*\*\*\* 奈良女子大学生活環境学部食物栄養学科

\*\*\*\*\* 広島国際大学医療栄養学部医療栄養学科

〒719-1197 岡山県総社市窪木111

〒710-8522 岡山県倉敷市白楽町250

〒569-1195 大阪府高槻市朝日町3-1

〒701-0193 岡山県倉敷市松島288

〒630-8506 奈良市北魚屋東町

〒737-0112 広島県呉市広古新開5-1-1

の進展への影響は特に注目されており、生体内で起こる酸化ストレスに対する抗酸化能を強化するために様々な抗酸化療法が試みられている。その中でもビタミンCとEは天然に存在する抗酸化物質としてその安全性と有用性が報告されている。Hasegawaら<sup>11)</sup>の研究では6カ月間のダイエット食で改善の乏しかったNASH患者に12カ月間のビタミンE ( $\alpha$ -トコフェロール 300mg/day) を投与することにより、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 値および、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 値が改善したことを報告している。NASHでは、血漿  $\alpha$ -トコフェロールの低下も報告されている<sup>12)</sup>。また、C型慢性肝炎患者に対しても、ビタミンE (500mg/day) の投与あるいはビタミンE(500mg/day) とビタミンC(750mg/day) の併用によって、血清ALT値の有意な低下が報告されている<sup>13)</sup>。しかし、これらの報告は、NASHまたはウイルス性肝炎の患者が対象であり、しかも成人の摂取基準の約100倍に相当する大量のビタミンEを投与したものであり、NAFLD患者を対象とした抗酸化ビタミン摂取の効果、特に、ビタミンC摂取の効果に関する報告はほとんどない。ビタミンCは、生体内でビタミンEを再還元することによって、ビタミンEの有効量を増加させることが知られている<sup>14)</sup>。ビタミンCを摂取することで、血中のビタミンE濃度が上昇し、これまで報告されているビタミンEと同様な効果が得られる可能性がある。ビタミンCを多く含み、簡便に摂取することができる野菜ジュースがNAFLDの改善に有効であれば、今後外来診療や栄養指導において普及していくことが期待される。

本研究では、外来通院中のNAFLD患者において、緑色野菜ジュースの摂取が、血清ALT値と血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度に及ぼす影響について検討した。さらに、赤血球膜リン脂質脂肪酸組成に及ぼす影響についても分析を行い、NAFLDの治療における緑色野菜ジュース飲用の効果について検討を行った。

## II. 方法

### 1. 対象

川崎医科大学附属病院肝胆膵内科を外来受診し、NAFLDと診断された患者9例を対象とした。NAFLDの診断は腹部超音波検査にて脂肪肝化を認

め、アルコール摂取量が20g/日以下であること、血液検査にて自己免疫性肝疾患やBおよびC型ウイルス性肝炎が認められないこととした。Table 1に示す緑色野菜ジュースを1日に2缶 (320g) ずつ通常の食事に加えて8週間飲用させた。8週間後に血清ALT値の低下を認めた6例をResponder群とし、低下の認められなかった3例をNon-responder群とした。実施にあたっては、全対象者からインフォームド・コンセントを得た。

**Table 1. Energy and major nutrients provided by the green vegetable juice in the study**

	(two cans /day)	
Energy	(kcal)	106
Protein	(g)	2.0
Fat	(g)	0.64
Cholesterol	(mg)	0
Carbohydrate	(g)	26.0
Dietary fiber	(g)	2.6
Na	(mg)	89.4
K	(mg)	654
Ca	(mg)	64.4
P	(mg)	49.4
Fe	(mg)	0.48
Mg	(mg)	27.8
Zn	(mg)	0.79
Cu	(mg)	0.146
Vitamin A efficacy	(IU)	160
$\beta$ -carotene	(mg)	0.266
Vitamin B <sub>1</sub>	(mg)	0.06
Vitamin B <sub>2</sub>	(mg)	0.10
Niacin	(mg)	0.52
Vitamin C	(mg)	146
Vitamin E efficacy	(mg)	0.96

One can contains 160g of green vegetable juice.

### 2. 測定項目

**2.1 身体計測および臨床検査** 身体計測および血液検査は、野菜ジュース飲用開始前と飲用開始後の4週後と8週後の受診時に実施した。臨床検査

値は川崎医科大学附属病院において測定した。

**2.2 栄養素等摂取状況調査** 食事調査は3日間の食事記録法により行った。エネルギー、栄養素ならびに脂肪酸摂取量は五訂増補版日本食品標準栄養成分表対応栄養計算ソフト（エクセル栄養君 ver.4.5, (株) 建帛社）を用いて算出した。

**2.3 赤血球膜リン脂質脂肪酸組成の分析** EDTA 採血した血液 2ml を遠心分離し、血漿を分離した。パUFFERコートを除いた赤血球層を 0.9% 塩化ナトリウム溶液で 3 回洗浄し、さらに 5mM リン酸バッファー (4°C, pH6.8) で 3 回洗浄後、氷冷した 0.9% 塩化ナトリウム溶液に懸濁し、-80°C で凍結保存した。赤血球膜からの脂質抽出ならびに脂肪酸分析は Okita ら<sup>15)</sup> の既報に従って行った。

**2.4 血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の測定** 血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の分析は Milne ら<sup>16)</sup> の既報に従って行った。

### 3. 脂肪酸生合成指標の算出方法

不飽和化酵素活性の指標は、赤血球膜リン脂質の脂肪酸の比（生成脂肪酸 / 前駆脂肪酸）により求めた。Delta 5 desaturase (D5D) index は 20:4n-6/20:3n-6 として算出した。また、16:0/18:2n-6 を脂質生合成酵素活性指標 (lipogenic index) とした。

### 4. 統計処理

結果は平均値 (mean)  $\pm$  標準偏差 (SD) で示した。統計解析は IBM SPSS Statistics 20 を使用した。相関は Spearman の相関係数で解析した。群間差の検定は Mann-Whitney の U 検定または Wilcoxon の検定を用いて行った。危険率 5% 未満を有意差ありと判定した。

## III. 結果

Figure 1 に示すように、対象者の血清 ALT 値は、野菜ジュースの飲用開始時において、全例が基準値よりも高値を示したが、8 週間の飲用後、9 例のうち 6 例に減少がみられ、この 6 例を Responder 群とし、ALT 値の減少が見られなかった 3 例を Non-responder 群とした。

Table 2 に Responder、Non-responder 群の身体状況及び臨床検査値を示した。ボディ・マス・インデックス (BMI)、腹囲、体脂肪率は、Responder 群においても Non-responder 群においても 8 週間で

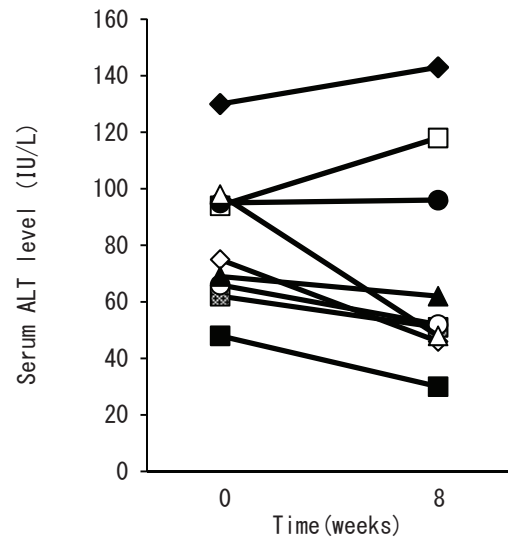


Figure 1. Changes of plasma ALT level during green vegetable juice supplementation for 8 weeks. ALT, alanine aminotransferase.

有意な変化は見られなかったが、Non-responder 群は Responder 群に比し、いずれも高値であり、高度の肥満を認めた。ALT 値は、Responder 群では 4 週後にすでに有意に低下し、8 週後には、飲用開始時の約 70% まで有意に低下した。Non-responder 群の ALT 値は、8 週後の有意な低下が認められず、4 週と 8 週において Responder 群より有意の高値を示した。血清 AST 値は、9 例中 7 例に減少がみられ、Responder 群では、8 週後には飲用開始時に比べ約 80% まで有意に減少した。Non-responder 群の AST 値は、開始時、4 週、8 週いずれの時期においても Responder 群よりも有意の高値を示し、8 週後も減少が認められなかった。Gamma-glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ GT), コリンエステラーゼ、血糖値、中性脂肪 (TG)、LDL- コレステロール及び HDL- コレステロール値は、両群とも有意な変化が見られなかった。血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度は Non-responder 群では有意な変化はなかったが、Responder 群では 8 週後に開始時の約 1.3 倍まで有意な上昇が認められ、Non-responder 群に比し、有意に高値であった。

Table 3 に栄養素等摂取状況を示した。エネルギー摂取量は、Responder 群では 4 週と 8 週後で減少傾向がみられたものの有意な差ではなかった。Non-responder 群では 0、4、8 週いずれの時期においても、Responder 群に比し有意に高値のエネルギー

Table 2. Anthropometric measurement and clinical data in the NAFLD

		Normal range		NAFLD		
				Green vegetable juice supplementation		
				0W	4W	8W
BMI	(kg/m <sup>2</sup> )		Responders	25.6 ± 2.5	25.5 ± 2.1	25.4 ± 2.3
			Non-responders	31.1 ± 4.6	31.3 ± 4.8	31.2 ± 4.9
Waist circumference	(cm)		Responders	88.1 ± 4.9	87.6 ± 3.3	86.2 ± 3.7
			Non-responders	97.0 ± 7.4	98.5 ± 6.3 ‡	98.7 ± 8.1 ‡
Body fat composition	(%)		Responders	30.0 ± 5.8	30.0 ± 5.9	29.8 ± 5.5
			Non-responders	35.4 ± 6.7	34.6 ± 7.3	34.5 ± 6.4
ALT	(IU/L)	4-42	Responders	70 ± 17	54 ± 16 *	48 ± 10 *
			Non-responders	106 ± 21	111 ± 8 ‡	119 ± 24 ‡
AST	(IU/L)	10-35	Responders	40 ± 5	35 ± 6	33 ± 6 *
			Non-responders	60 ± 6 ‡	67 ± 9 ‡	70 ± 20 ‡
γGT	(IU/L)	5-60	Responders	68 ± 56	80 ± 63	71 ± 55
			Non-responders	121 ± 68	116 ± 69	139 ± 93
Cholinesterase	(IU/L)	222-448	Responders	418 ± 51	409 ± 44	410 ± 53
			Non-responders	335 ± 84	324 ± 98	333 ± 110
Fasting blood glucose	(mg/dL)	70-100	Responders	116 ± 17	103 ± 7	104 ± 6
			Non-responders	133 ± 43	115 ± 40	134 ± 63
Triacylglycerol	(mg/dL)	40-150	Responders	142 ± 73	134 ± 73	169 ± 146
			Non-responders	159 ± 39	123 ± 31	137 ± 26
LDL-cholesterol	(mg/dL)	<140	Responders	134 ± 41	128 ± 35	131 ± 49
			Non-responders	114 ± 29	112 ± 29	112 ± 24
HDL-cholesterol	(mg/dL)	41-85	Responders	59 ± 25	56 ± 23	54 ± 24
			Non-responders	56 ± 6	51 ± 5	54 ± 5
plasma α-tocopherol	(μg/mL)		Responders	11.4 ± 0.7	13.0 ± 1.9	14.7 ± 1.4 * †
			Non-responders	12.7 ± 2.6 ‡	11.6 ± 1.5	11.8 ± 1.5 ‡

Values are means ± SD.

\*p<0.05; compared with 0 week, †p<0.05; compared with 4 week (Wilcoxon's test).

‡p<0.05; compared with Responders (Mann-Whitney U test).

ルギー摂取量であった。たんぱく質摂取量 (g/kg IBW) には、両群とも変化が見られなかったが、たんぱく質エネルギー比率は、Responder 群において、8週後に有意に上昇した。脂質、糖質エネルギー比率については、両群とも、有意な変化は見られなかった。ビタミンC摂取量は、Responder 群では、4週および8週後に有意に増加し、0週の約2.3倍となった。しかし、Non-responder 群では、野菜ジュースを飲用しているにもかかわらず、有意な上昇は見られなかった。ビタミンEの摂取量は、両群とも8週間で有意な変化は見られなかった。脂肪酸の摂取については、飽和脂肪酸 (SFA)、一価不飽和脂肪酸 (MUFA)、多価不飽和脂肪酸 (PUFA)、n-6系多価不飽和脂肪酸 (n-6 PUFA) においては、両群とも有意な変化は認められなかった。

Table 4に野菜ジュース飲用期間中の Responder 群および Non-responder 群の赤血球膜リン脂質脂肪酸組成を示した。Responder 群では、8週後に 18:2n-6、20:4n-6、20:5n-3、Total PUFA、Total n-6 PUFA、PUFA/SFA、D5D index が有意に上昇し、16:0 および lipogenic index は有意に低下した。一方、Non-responder 群では8週間の緑色野菜ジュース飲用による赤血球膜リン脂質脂肪酸組成の有意な変化は認められなかった。Responder 群と比較して、Non-responder 群において、8週後の 18:2n-6 が有意に低値を示し、lipogenic index は有意に高値を示した。また、Figure 2に示すように、Responder 群では、開始時から8週後の変化率において、赤血球膜リン脂質脂肪酸の 20:5n-3 と PUFA 摂取量あたりのビタミンC摂取量との間に有意の正相関が認め

Table 3. Dietary consumption of energy, nutrients, and fatty acids in the NAFLD

	/day	NAFLD			
			Green vegetable juice supplementation		
			0W	4W	8W
Energy	(kcal/kg IBW)	Responders	35.4 ± 4.1	34.6 ± 4.7	33.0 ± 5.3
		Non-responders	45.1 ± 8.2 ‡	45.1 ± 6.5 ‡	46.7 ± 9.7 ‡
Protein	(g/kg IBW)	Responders	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.1 *	1.2 ± 0.1
		Non-responders	1.4 ± 0.4	1.8 ± 0.3 ‡	1.7 ± 0.2 ‡
Protein energy ratio	(%)	Responders	11.5 ± 1.4	15.3 ± 2.6	14.3 ± 1.1 *
		Non-responders	12.5 ± 1.9	15.7 ± 6.3	14.9 ± 2.8
Fat energy ratio	(%)	Responders	23.6 ± 8.8	23.3 ± 7.1	24.0 ± 8.4
		Non-responders	30.9 ± 5.9	23.5 ± 7.0	28.4 ± 3.1
Carbohydrate energy ratio	(%)	Responders	61.7 ± 10.5	59.2 ± 5.5	61.9 ± 7.6
		Non-responders	55.7 ± 8.1	59.4 ± 7.7	55.9 ± 4.7
Vitamin C	(mg)	Responders	107 ± 69	251 ± 61 *	245 ± 80 *
		Non-responders	95 ± 37	236 ± 68	350 ± 152
Vitamin E	(mg)	Responders	8.5 ± 2.3	9.7 ± 4.1	9.7 ± 1.1
		Non-responders	13.9 ± 5.0	10.9 ± 3.6	13.2 ± 3.9
Dietary fiber	(g/1,000kcal)	Responders	6.4 ± 2.7	8.5 ± 3.1	7.4 ± 3.3
		Non-responders	6.5 ± 2.5	8.5 ± 2.0	6.6 ± 0.7
SFA	(g)	Responders	15.8 ± 14.4	12.6 ± 6.9	13.3 ± 8.8
		Non-responders	20.9 ± 8.3	16.7 ± 7.0	20.7 ± 4.0
MUFA	(g)	Responders	15.9 ± 9.2	16.8 ± 9.6	15.7 ± 8.0
		Non-responders	29.7 ± 10.3	20.6 ± 9.6	25.3 ± 9.2
PUFA	(g)	Responders	13.4 ± 6.9	14.6 ± 7.7	13.7 ± 5.6
		Non-responders	22.4 ± 6.7	18.5 ± 7.4	20.1 ± 10.3
n-6 PUFA	(g)	Responders	10.7 ± 5.1	10.9 ± 6.2	10.9 ± 4.0
		Non-responders	17.1 ± 6.9	13.8 ± 7.6	16.8 ± 10.0
n-3 PUFA	(g)	Responders	2.8 ± 2.0	3.8 ± 1.6 *	3.0 ± 1.9
		Non-responders	6.3 ± 1.5 ‡	5.1 ± 1.5	3.6 ± 1.8

Values are means ± SD.

\* $p < 0.05$ ; compared with 0 week, (Wilcoxon's test).

‡ $p < 0.05$ ; compared with Responders (Mann-Whitney  $U$  test).

SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

られた ( $r=0.829$ ,  $p=0.042$ )。赤血球膜リン脂質脂肪酸の D5D index の変化率と血清 ALT 値の変化率との間には、有意の負相関が認められた (Figure 3、All subjects :  $r=-0.783$ ,  $p=0.013$ , Responder 群 :  $r=-0.886$ ,  $p=0.019$ )。

血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度とビタミン C 摂取量、血清 ALT 値、および赤血球膜リン脂質脂肪酸組成との相関を Table 5 に示した。血漿  $\alpha$ -トコフェロール値は、ビタミン C 摂取量 ( $r=0.506$ ,  $p=0.014$ ) および VC/PUFA 摂取量 ( $r=0.633$ ,  $p=0.001$ ) と有意に正に相関し、血清 ALT 値と有意に負に相関した ( $r=-0.389$ ,  $p=0.045$ )。また、血漿  $\alpha$ -トコフェロー

ル濃度は赤血球膜リン脂質脂肪酸組成の 18:2n-6、20:4n-6、20:5n-3、total n-6、total MUFA、total PUFA、P/S と有意な正相関を認め、16:0、18:0、Total SFA、Lipogenic index と有意な負相関を認めた。

#### IV. 考察

外来通院中の NAFLD 患者が通常の食事に加えて緑色野菜ジュースを 8 週間飲用した結果、9 例中 6 例 (67%) に血清 ALT 値の低下が認められた。

血清 ALT 値の改善が認められた群では、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の有意な上昇が認められた。

Table 4. Fatty acid composition of erythrocyte membrane phospholipids (mol%)

Fatty acid		NAFLD		
		Green vegetable juice supplementation		
		0W	4 W	8 W
Myristic acid (14:0)	Responders	2.02 ± 0.43	1.38 ± 0.72	2.15 ± 1.61
	Non-responders	2.10 ± 0.40	2.58 ± 0.71 ‡	2.19 ± 0.17
Palmitic acid (16:0)	Responders	34.00 ± 1.45	30.70 ± 4.81 *	28.51 ± 3.79 *
	Non-responders	33.03 ± 1.03	32.79 ± 1.14	32.80 ± 1.21
Stearic acid (18:0)	Responders	20.15 ± 2.57	19.61 ± 1.77	18.46 ± 1.51 †
	Non-responders	19.80 ± 0.90	19.32 ± 1.52	20.61 ± 1.54
Oleic acid (18:1)	Responders	17.65 ± 1.36	18.08 ± 1.19	18.08 ± 1.37
	Non-responders	18.49 ± 0.72	19.42 ± 0.89	18.55 ± 0.15
Linoleic acid (18:2n-6)	Responders	6.37 ± 1.13	7.15 ± 0.94 *	8.51 ± 0.79 *, †
	Non-responders	7.08 ± 1.03	6.72 ± 0.52	6.12 ± 0.50 ‡
Dihomo-γ-linolenic acid (20:3n-6)	Responders	0.71 ± 0.20	0.76 ± 0.27	0.81 ± 0.32
	Non-responders	0.85 ± 0.33	0.72 ± 0.10	1.03 ± 0.30
Arachidonic acid (20:4n-6)	Responders	5.93 ± 1.28	6.82 ± 2.23	7.77 ± 2.05 *
	Non-responders	6.45 ± 0.75	5.71 ± 0.82	6.36 ± 1.40
Eicosapentaenoic acid (20:5n-3)	Responders	0.81 ± 0.33	1.00 ± 0.42	1.19 ± 0.30 *
	Non-responders	0.77 ± 0.32	0.82 ± 0.60	0.91 ± 0.25
Docosapentaenoic acid (22:5n-3)	Responders	0.86 ± 0.33	1.07 ± 0.34	0.82 ± 0.40 †
	Non-responders	0.75 ± 0.25	0.69 ± 0.12 ‡	0.78 ± 0.12
Docosahexaenoic acid (22:6n-3)	Responders	3.31 ± 1.00	3.81 ± 0.74	3.69 ± 0.45
	Non-responders	3.18 ± 1.07	3.30 ± 0.80	3.24 ± 0.22
Total SFA	Responders	59.56 ± 3.98	55.07 ± 5.97	53.21 ± 5.50
	Non-responders	57.69 ± 0.65	58.25 ± 0.64	58.52 ± 1.27
Total MUFA	Responders	21.22 ± 0.89	22.02 ± 2.03	22.72 ± 2.11
	Non-responders	21.80 ± 0.70	22.64 ± 1.43	21.88 ± 0.29
Total PUFA	Responders	19.22 ± 4.20	22.92 ± 4.90 *	24.08 ± 3.62 *
	Non-responders	20.50 ± 1.34	19.11 ± 1.31	19.60 ± 1.54
Total n-6 PUFA	Responders	14.08 ± 2.66	16.96 ± 3.62 *	18.30 ± 2.96 *
	Non-responders	15.43 ± 1.05	14.22 ± 0.60	14.50 ± 1.86
Total n-3 PUFA	Responders	5.14 ± 1.62	5.96 ± 1.46	5.79 ± 0.94
	Non-responders	5.08 ± 1.13	4.89 ± 0.73	5.10 ± 0.33
PUFA/SFA	Responders	0.33 ± 0.10	0.43 ± 0.14 *	0.46 ± 0.12 *
	Non-responders	0.36 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.03
n-6/n-3	Responders	2.84 ± 0.45	2.89 ± 0.42	3.19 ± 0.46
	Non-responders	3.15 ± 0.77	2.94 ± 0.35	2.86 ± 0.53
D5D index (20:4n-6/20:3n-6)	Responders	8.55 ± 1.39	9.17 ± 1.88	10.17 ± 2.08 *
	Non-responders	8.17 ± 2.45	7.93 ± 0.36	6.28 ± 0.55 ‡
Lipogenic index (16:0/18:2n-6)	Responders	5.50 ± 1.12	4.41 ± 1.11 *	3.39 ± 0.64 *, †
	Non-responders	4.73 ± 0.69	4.89 ± 0.22	5.39 ± 0.58 ‡

Values are means ± SD.

\* $p < 0.05$ ; compared with 0 week, † $p < 0.05$ ; compared with 4 week (Wilcoxon's test).

‡ $p < 0.05$ ; compared with Responders (Mann-Whitney  $U$  test).

SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

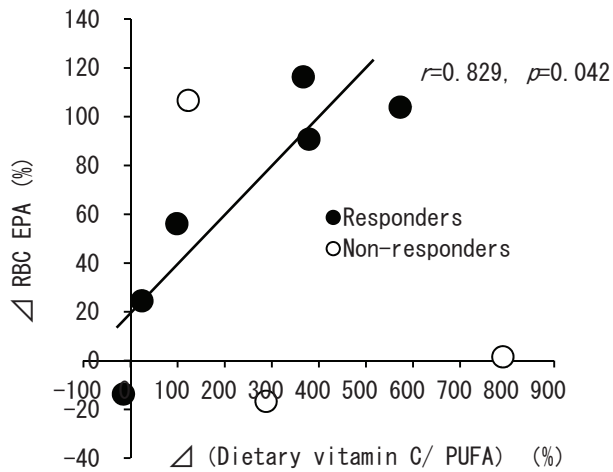


Figure 2. Correlation between the changes of RBC EPA and dietary vitamin C/PUFA ratio during 8 weeks of green vegetable juice supplementation in responders ( $r=0.829$ ,  $p=0.042$ ), non-responders (n.s.), and all subjects (n.s.). RBC, red blood cell; EPA, Eicosapentaenoic acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

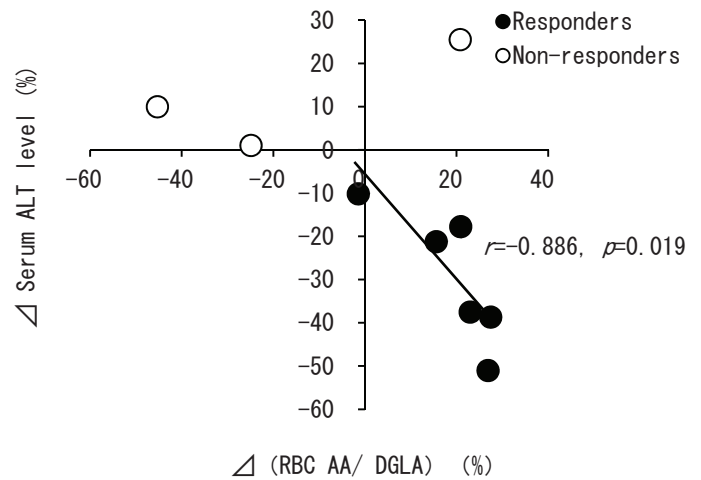


Figure 3. Correlation between changes of the serum ALT level and RBC AA / DGLA ratio during 8 weeks of green vegetable juice supplementation in responders ( $r=-0.886$ ,  $p=0.019$ ), non-responders (n.s.), and all subjects ( $r=-0.783$ ,  $p=0.013$ ). ALT, alanine aminotransferase; RBC, red blood cell; AA, arachidonic acid; DGLA, dihomo- $\gamma$ -linolenic acid.

Table 5. Correlation between plasma  $\alpha$ -tocopherol levels and vitamin C intake, serum ALT level and fatty acid composition of erythrocyte membrane phospholipids in all subjects

	<i>r</i>	<i>p</i>
Vitamin C intake	0.506	0.014
Vitamin C/ PUFA intake	0.633	0.001
Serum ALT level	-0.389	0.045
Fatty acids in erythrocyte membrane phospholipids		
Palmitic acid (16:0)	-0.566	0.002
Stearic acid (18:0)	-0.451	0.018
Linoleic acid (18:2n-6)	0.591	0.001
Arachidonic acid (20:4n-6)	0.465	0.015
Eicosapentaenoic acid (20:5n-3)	0.390	0.045
Total SFA	-0.471	0.013
Total MUFA	0.450	0.018
Total PUFA	0.423	0.028
Total n-6 PUFA	0.514	0.006
PUFA/SFA	0.452	0.018
Lipogenic index (16:0/18:2n-6)	-0.629	0.000

SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度と血清 ALT との間には負の相関が認められ、さらに、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度は、ビタミン C 摂取量と正の相関が認められた。これらの結果から、緑色野菜ジュースの飲用によるビタミン C 摂取量の増加は、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の増加をもたらす、その結果、血清 ALT 値の低下が起こったことが示唆された。 $\alpha$ -トコフェロールは生体内で抗酸化作用を示し、ビタミン C などの還元作用によって再生されることが知られている。本研究では、1日2缶の緑色野菜ジュースの飲用によりビタミン C 摂取量が146mg 付加され、ビタミン C の摂取量が約2.3倍に増加したために、ビタミン E の摂取量には変化がなかったにもかかわらず、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度が増加したと考えられた。さらに、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度は、全対象者において赤血球膜リン脂質脂肪酸組成中のエイコサペンタエン酸 (EPA) と正の相関を示した。ヒトの赤血球膜リン脂質の脂肪酸組成は肝細胞の脂肪酸組成を反映することが知られており<sup>17)</sup>、本研究における赤血球膜リン脂質の EPA の上昇は、肝臓中の EPA の上昇を示唆している。EPA をはじめとする n-3 PUFA は、脂質合成遺伝子の発現抑制による肝脂肪化抑制作用<sup>18)</sup> や n-6 PUFA からの炎症性サイトカイン産生抑制作用<sup>19)</sup> を有することが報告されている。本研究でも実際に、Responder 群において lipogenic index の有意な低下が認められた。EPA の上昇による肝臓における脂肪合成の抑制や炎症性サイトカイン産生抑制の結果、肝細胞の炎症・壊死は抑制され、血清 ALT 値が低下したのではないかと推測された。一方、Non-responder 群では、Responder 群と同様に緑色野菜ジュースを飲用したにもかかわらず、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の上昇が認められなかった。これは、Non-responder 群では、Responder 群に比し肥満度、体脂肪率、腹囲がともに高値であったことが関与していると考えられた。高度の肥満者では、非肥満者に比べ血中のマロンジアルデヒド (MDA) や 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) などの酸化ストレス指標が上昇していることが報告されている<sup>20)</sup>。したがって、Non-responder 群では、内臓脂肪の蓄積により体内の酸化ストレスレベルが上昇し、ビタミン C の摂取量が血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度に影響を与えるのに十分ではなかったことが推測された。

また、血清 ALT 値の変化率と赤血球膜リン脂質の D5D index の変化率に負の相関が見られた。D5D index は肥満やメタボリックシンドロームにおいて低下することが報告されている<sup>21)</sup>。Responder 群では、8週間の緑色野菜ジュース飲用後に D5D index の有意な上昇が認められ、Non-responder 群に比し有意に高値を示した。D5D index の上昇は、肥満やメタボリックシンドロームの改善を示唆し、緑色野菜ジュースの摂取による脂肪酸代謝の改善が血清 ALT 値の低下、すなわち肝機能の改善をもたらすことが示された。

食事調査の結果から Responder 群では、緑色野菜ジュース飲用期間中にたんぱく質エネルギー比率の増加が認められた。NAFLD ではたんぱく質の摂取不足により肝臓でのリポたんぱく合成能が低下し、肝への脂肪蓄積が促進されることが報告されている。このため、たんぱく質摂取量の増加は肝脂肪の減少を誘導し、肝の脂肪化を改善させた可能性も考えられる。

本研究は限られた例数ではあるが、NAFLD における緑色野菜ジュースの飲用が摂取エネルギーを増やすことなくビタミン C の摂取量を増大させ、特に肥満度が軽度 (BMI < 30) の NAFLD 患者では、血漿  $\alpha$ -トコフェロール濃度の上昇によって脂肪酸代謝を改善させ、肝機能を改善させる可能性があることを示唆した。今後、より多くの症例数での検討が必要である。

## 参考文献

- 1) Anglo P (2002) Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 346 (16) : 1221-31.
- 2) Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ (1980) Nonalcoholic steatohepatitis : Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 55 (7) : 434-8.
- 3) Schaffner F, Thaler H (1986) Nonalcoholic fatty liver disease. *Prog. Liver Dis* 8 : 283-98.
- 4) Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ (1999) Nonalcoholic fatty liver disease : A spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 116 (6) : 1413-9.
- 5) Marrero JA, Fontana RJ, Su GL, Conjeevaram HS, Emick DM, Lok AS (2002) NAFLD may be



- a common underlying liver disease in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Hepatology* 36 (6) : 1349-54.
- 6) Morino M, Toppino M, Forestieri P, Angrisani L, Allaix ME, Scopinaro N (2007) Mortality after bariatric surgery analysis of 13,871 morbidly obese patients from a national registry. *Ann Surg* 246 (6) : 1002-9.
- 7) Huang MA, Greenson JK, Chao C, Anderson L, Peterman D, Jacobson J, Emick D, Lok AS, Conjeevaram HS (2005) One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis : a pilot study. *Am J Gastroenterol* 100 (5) : 1072-81.
- 8) Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S (2003) Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 98 (11) : 2485-90.
- 9) Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, Balas B, Gastaldelli A, Tio F, Pulcini J, Berria R, Ma JZ, Dwivedi S, Havranek R, Fincke C, DeFronzo R, Bannayan GA, Schenker S, Cusi K (2006) A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 355 (22) : 2297-307.
- 10) Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, David E, Rizzetto M, Marchesini G (2005) A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 100 (5) : 1082-90.
- 11) Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A (2001) Plasma transforming growth factor-beta1 level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis : a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 15 (10) : 1667-72.
- 12) Erhardt A, Stahl W, Sies H, Lirussi F, Donner A, Häussinger D (2011) Plasma levels of vitamin E and carotenoids are decreased in patients with Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) . *Eur J Med Res* 16 (2) : 76-8.
- 13) Murakami Y, Nagai A, Kawakami T, Hino K, Kitase A, Hara Y, Okuda M, Okita K, Okita M (2006) Vitamin E and C supplementation prevents decrease of eicosapentaenoic acid in mononuclear cells in chronic hepatitis C patients during combination therapy of interferon alpha-2b and ribavirin. *Nutrition* 22 (2) : 114-22.
- 14) Halpner AD, Handelman GJ, Harris JM, Belmont CA, Blumberg JB (1998) Protection by vitamin C of loss of vitamin E in cultured rat hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 359 (2) : 305-9.
- 15) Okita M, Hayashi M, Sasagawa T, Takagi K, Suzuki K, Kinoyama S, Ito T, Yamada G (2001) Effect of a moderately energy-restricted diet on obese patients with fatty liver. *Nutrition* 17(7-8) : 542-7.
- 16) Milne DB, Botnen J (1986) Retinol, alpha-tocopherol, lycopene, and alpha- and beta-carotene simultaneously determined in plasma by isocratic liquid chromatography. *Clin Chem* 32 (5) : 874-6.
- 17) Elizondo A, Araya J, Rodrigo R, Poniachik J, Csendes A, Maluenda F, Díaz JC, Signorini C, Sgherri C, Comporti M, Videla LA (2007) Polyunsaturated fatty acid pattern in liver and erythrocyte phospholipids from obese patients. *Obesity* 15 (1) : 24-31.
- 18) Li JJ, Huang CJ, Xie D (2008) Anti-obesity effects of conjugated linoleic acid, docosahexaenoic acid, and eicosapentaenoic acid. *Mol Nutr Food Res* 52 (6) : 631-45.
- 19) Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, Bartali B, Corsi A, Lauretani F, Martin A, Andres-Lacueva C, Senin U, Guralnik JM (2006) Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *J Clin Endocrinol Metab* 91 (2) : 439-46.
- 20) De Tursi Rispoli L, Vázquez Tarragón A, Vázquez Prado A, Sáez Tormo G, Mahmoud Ismail A, Gumbau Puchol V (2013) Oxidative stress; a comparative study between normal and morbid obesity group population. *Nutr Hosp* 28

(3) : 671-5.

- 21) Warensjö E, Risérus U, Vessby B (2005)  
Fatty acid composition of serum lipids predicts  
the development of the metabolic syndrome in  
men. *Diabetologia* 48 (10) : 1999-2005.

## Effects of Green Vegetable Juice Supplementation on Serum ALT Level in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease

MAYUMI TABUCHI\*, MAKOTO KUBOKI\*\*, HIROHISA SUIDO\*\*\*,  
KAZUE KAWAHARA\*\*\*\*, KAYOKO TOMIOKA\*\*\*\*\*,  
TAKAYO KAWAKAMI\*, SATOKO HIRAMATSU\*,  
IKUYO TSUKAMOTO\*\*\*\*\*

\**Department of Nutritional Science, Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University,  
111 Kuboki, Soja, Okayama 719-1197, Japan*

\*\**Kurashiki Medical Center, 250 Bakuro-cho, Kurashiki, Okayama 710-8522, Japan*

\*\*\**Sunstar Inc., 3-1 Asahimachi, Takatsuki, Osaka 569-1195, Japan*

\*\*\*\**Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medical Professions, Kawasaki University of Medical Welfare,  
288 Matsushima, Kurashiki, Okayama 701-0193, Japan*

\*\*\*\*\**Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Human Life and Environment, Nara Women's  
University, Kita-uoya-higashi machi, Nara 630-8506, Japan*

\*\*\*\*\**Department of Clinical Dietetics and Human Nutrition, Faculty of Clinical Dietetics and Human Nutrition,  
Hiroshima International University, 5-1-1 Hirokoshinkai, Kure, Hiroshima 737-0112, Japan*

**Abstract** Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a disease to be found in ambulatory care and health check-up frequently. In late years antioxidant therapy in NAFLD is tried, but there are few reports about the effect of vitamin C intake. In this study, NAFLD outpatients were given green vegetable juice in addition to a daily diet to be drunk for eight weeks, and we analyzed anthropometric measurements, clinical data, dietary intakes, fatty acid composition in erythrocyte membrane phospholipid and plasma  $\alpha$ -tocopherol concentration to examine the effect of supplementation of green vegetable juice on serum ALT level and plasma  $\alpha$ -tocopherol concentration. After the supplementation of green vegetable juice, serum ALT level was decreased in six of nine patients. It is suggested that green vegetable juice supplementation increases intake of vitamin C, and particularly in NAFLD patients that an obesity index is mild (BMI<30), fatty acid metabolism may be improved by the increase in plasma  $\alpha$ -tocopherol concentration and liver function may be also improved.

**Keywords** : NAFLD, green vegetable juice, vitamin C, plasma  $\alpha$ -tocopherol, fatty acid composition