

令和元年6月11日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09564

研究課題名(和文) 夜間低酸素血症によるNASH線維化進展機構の解明とその新規対処法の確立

研究課題名(英文) Establishment of new treatment strategy for NASH by elucidating the mechanisms of fibrosis progression due to nocturnal intermittent hypoxia.

研究代表者

廣野 玄 (HIRONO, Haruka)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・准教授

研究者番号：80386268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性の脂肪肝をNAFLD(非アルコール性脂肪性肝疾患)と言う。その中でも殆どが問題のない単純性脂肪肝であるが、一部、炎症性変化を強く伴い肝硬変へ移行しうるNASH(非アルコール性脂肪肝炎)も存在する。NAFLDのもっとも重要な原因は肥満であるが、肥満とは別にして閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)患者に見られる夜間間欠的低酸素血症の病態もその原因の一つと考えられている。OSASの治療の第一選択はCPAP(持続陽圧呼吸療法)であり、それによって夜間の低酸素血症を改善させる。この研究において、NAFLDを合併したOSAS 50名を用い、CPAP治療の肝障害への有効性を立証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NASHを含めたNAFLDの最も有効な治療法は減量であるが、実際に実行できることは少なく、今のところ有効な薬物療法は存在しない。NAFLDにはOSASを合併していることがあり、肝障害の原因として肥満とは別に夜間間欠的低酸素血症も肝障害の原因の一つであることが知られてきた。今回、我々はCPAPによる低酸素血症の改善がNAFLDの肝障害を有意に改善させたことを実証した。

NAFLDにおいて、まず問診にてOSASの有無を確認し、終夜睡眠ポリグラフィ(PSG)検査で陽性であれば積極的にCPAPの導入を行うことによりNAFLDの進行を抑える可能性があり、この研究の社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：The fatty liver disease which is not related to drinking is so called NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease). Most of it is the simple fatty liver, not resulting in a big trouble. However, a part of it could be NASH(non-alcoholic steatohepatitis), which has mimicking pathology of alcoholic liver injury and has a potential of progression to liver cirrhosis. Though the most important cause of NAFLD is obesity, chronic intermittent nocturnal hypoxia in OSAS (obstructive sleep apnea syndrome) patients is regarded as one of the causes for NAFLD independently without obese factor. The first choice of the treatment of OSAS is CPAP(continuous positive airway pressure), resulting in improvement of nocturnal hypoxia. We demonstrated the effectiveness of CPAP therapy for hypoxic liver injury by using 50 OSAS patients with NAFLD.

研究分野：消化器内科

キーワード：非アルコール性脂肪性肝疾患 睡眠時無呼吸症候群 夜間低酸素血症 CPAP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 肥満は、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease) の進展にもっとも関与する因子であるが、閉塞性睡眠時無呼吸症候群 (OSAS: obstructive sleep apnea syndrome) も合併しやすいことが知られている。最近、OSAS における夜間間欠的低酸素血症の病態が NAFLD の進展に関与していることが指摘されている。しかし、OSAS の治療を行って夜間低酸素状態が改善され、それが NAFLD へ及ぼす治療効果については十分検討されていない。

(2) OSAS は、夜間低酸素血症が一晩中反復して起こっている病態である。一方、肝移植に際して虚血再灌流傷害 (Ischemia-reperfusion injury) という病態がよく知られている。最近、OSAS も夜間にわずかながら同様の病態が起きていることが考えられており、この病態が肝障害に影響を与えている可能性があることが報告されている。

2. 研究の目的

肥満とは独立して、OSAS の夜間間欠的低酸素状態が NAFLD の進展に関与しているのかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

<対象>

2016年10月から2018年9月の期間において、当院の睡眠歯科センターを受診し、終夜睡眠ポリグラフィー (PSG: polysomnography) 検査にて OSAS と診断され、CPAP が開始された 141 名を対象とした。さらに、その中からウイルス性肝炎や特殊肝疾患を除外し、さらに CPAP 治療前と半年後のデータがない症例を除外し、最終的に OSAS 84 名を対象とした。

<分類>

対象の OSAS を以下の 3 群に分類した。アルコール摂取量が男性 30g/日以下、女性 20g/日以下で腹部超音波検査にて脂肪肝を認めないものを 正常群 20 名、同様の飲酒量だが脂肪肝を認めるものを NAFLD 群 50 名、飲酒量がそれ以上のものを アルコール摂取群 14 名とした。

<研究方法>

- (1) OSAS 84 名における 正常群、 NAFLD 群、 アルコール摂取群において、以下の項目を比較検討した。
 - ・臨床背景：性別・年齢・BMI・メタボリックシンドロームの合併症の有無。
 - ・動脈硬化関連因子：中性脂肪・LDL-C・HDL-C・高感度 CRP・HbA1c・HOMA-IR。
 - ・肝胆道系酵素・生化学：AST・ALT・ γ -GTP・アルブミン・尿酸。
 - ・肝線維化マーカー：M2BPGi・IV 型コラーゲン 7S・FIB-4 index・AST/ALT 比・血小板数。
 - ・肝フィブロスキャン (FibroScan® 502 touch) データ：CAP 値 (肝脂肪度)・LSM 値 (肝硬度)。
- (2) OSAS+NAFLD 50 名において、CPAP 治療前後の (1) と同様の項目を比較検討した。
- (3) 今までの検討で CPAP 治療により AST、ALT 値の有意な低下が認められたが、体重減少が関与しているのか、CPAP によるものなのか不明であり、CPAP は実際には使用率が関係している。以上より OSAS+NAFLD 50 名において、体重の変化量および CPAP 治療のコンプライアンスである CPAP の平均使用率が、それぞれ独立して治療半年後の ALT 値の低下量に相関を示しているかどうかを多変量解析 (単・重回帰分析) にて検討した。また、CPAP の平均使用率は図 3 に示した。
- (4) 実際、NAFLD+OSAS の症例で、CPAP 治療前後の体重変化がなく (BMI の変化量が ± 1 未満)、CPAP の使用率は良好 (図 3 で 0.5 以上とした) で、もともと ALT 値が 30U/L 以上の高い 17 名を抽出し、CPAP 治療前後で (2) と同様の項目を比較検討した。

4. 研究成果

- (1) OSAS における正常群、NAFLD 群、アルコール摂取群の比較 (図 1)
中性脂肪はアルコール摂取群、HOMA-IR は NAFLD 群に有意に高い結果が得られた (図 1-1)。AST、ALT は NAFLD 群、 γ -GTP、尿酸値はアルコール摂取群に有意に高い値が得られ、フィブロスキャンのデータでは CAP 値 (肝脂肪度) は NAFLD 群、LSM 値 (肝硬度) はアルコール摂取群に有意に高い値が得られ (図 1-2)、予想通りの結果であった。
- (2) OSAS+NAFLD 50 名の CPAP 治療前後の比較 (図 2)
CPAP の半年間の治療により、AST、ALT 値の有意な低下を認めた。しかし肝脂肪度 (CAP 値) に変化は見られず、他の項目にも変化は見られなかった。体重は治療後減少傾向を認めた。
- (3) CPAP による ALT 値の低下量に相関をしめす因子 (図 4)
単変量モデルにおいては予想どおり、CPAP 治療前後の「体重の変化量」、「BMI の変化量」は CPAP による ALT 値の変化量に有意に相関を示していた (それぞれ $p=0.001$ 、 $p=0.002$)。また、「CPAP の平均使用率」も有意に相関を示していた ($p=0.031$)。次に重回帰モデルにおいて、CPAP 治療前後の「体重の変化量」を一致させて調節変数とした場合、「CPAP の平均使用率」は CPAP による ALT 値の低下量に相関を示す傾向が認められた ($p=0.051$)。
- (4) OSAS+NAFLD (ALT 高値) +CPAP 使用良好+体重変化がない症例 (図 5)
CPAP 治療前後に BMI の変化はないが、AST・ALT の有意な低下を認めた (それぞれ $p=0.0167$ 、 $p=0.0276$)。しかし肝脂肪度 (CAP 値) に変化は見られず、他の項目も変化はなかった。

図1-1: OSASにおける正常群、NAFLD群、アルコール摂取群の比較

	全例 84人	正常群 20人	NAFLD群 50人	アルコール摂取群 14人	p値
性別, 男性, n(%)	61(72.6)	12(60)	35(70)	14(100)	0.0294
年齢, 歳	56.6 ± 13.4	61.5 ± 10.3	54.7 ± 14.1	56.7 ± 14.0	0.1598
BMI, kg/m ²	26.50 ± 4.71	23.05 ± 0.97	27.57 ± 0.61	27.61 ± 1.56	<0.001
中性脂肪, mg/dL	135.7 ± 83.1	91.0 ± 58.6	138.3 ± 66.9	180.8 ± 123.6	0.0018
LDL-C, mg/dL	130.2 ± 32.9	125.9 ± 29.4	133.9 ± 35.9	122.9 ± 26.0	0.4366
HDL-C, mg/dL	59.8 ± 15.6	68.5 ± 17.7	55.9 ± 12.9	61.5 ± 16.7	0.0076
高感度CRP, mg/dL	0.1509 ± 0.2873	0.0396 ± 0.0413	0.1545 ± 0.2423	0.2892 ± 0.5066	0.0024
HbA1c, %	6.06 ± 0.69	5.82 ± 0.35	6.16 ± 0.78	6.06 ± 0.68	0.4075
HOMA-IR	1.96 ± 1.67	1.14 ± 1.14	2.31 ± 1.70	1.71 ± 1.66	<0.001
糖尿病合併	8(9.5)	0(0)	6(12)	2(14.3)	0.2430
脂質異常症合併	22(26.2)	2(10)	16(32)	4(28.6)	0.1632
高尿酸血症合併	6(7.1)	1(5)	2(4)	3(21.4)	0.0746
高血圧症合併	37(44.0)	10(50)	20(40)	7(50)	0.6633

データは平均 ± 標準偏差, 人数(%)で表示.

図1-2: OSASにおける正常群、NAFLD群、アルコール摂取群の比較

	全例 84人	正常群 20人	NAFLD群 50人	アルコール摂取群 14人	p値
AST, U/L	26.2 ± 9.4	21.2 ± 4.2	28.2 ± 10.9	26.1 ± 5.6	<0.01
ALT, U/L	32.4 ± 18.0	18.7 ± 5.6	37.6 ± 19.1	33.6 ± 15.9	<0.001
γ-GTP, U/L	48.4 ± 45.0	23.7 ± 15.3	45.6 ± 40.0	93.8 ± 57.7	<0.001
アルブミン, g/dL	4.56 ± 0.32	4.57 ± 0.07	4.57 ± 0.35	4.52 ± 0.09	0.8956
尿酸, mg/dL	5.80 ± 1.26	5.18 ± 1.02	5.81 ± 1.17	6.67 ± 1.40	0.0080
M2BPGi	0.496 ± 0.233	0.460 ± 0.206	0.507 ± 0.226	0.512 ± 0.300	0.7117
IV型コラーゲン・7S, ng/mL	3.07 ± 0.63	3.09 ± 0.54	3.07 ± 0.69	3.04 ± 0.59	0.9132
FIB-4 index	1.20 ± 0.67	1.36 ± 0.49	1.14 ± 0.75	1.20 ± 0.62	0.0970
血小板数, 万/μL	24.84 ± 6.25	24.00 ± 5.47	25.28 ± 6.49	24.51 ± 6.76	0.6714
AST/ALT比	0.919 ± 0.312	1.190 ± 0.240	0.826 ± 0.295	0.863 ± 0.241	<0.001
CAP, dB/m	285.3 ± 59.4	225.7 ± 41.3	304.2 ± 51.7	302.3 ± 52.2	<0.001
LSM, kPa	4.47 ± 1.76	3.72 ± 0.88	4.80 ± 2.21	5.00 ± 2.29	0.0319

データは平均 ± 標準偏差

図2: OSAS + NAFLD 50名のCPAP治療前後の比較

	n	治療前	治療半年後	p値
体重, kg	50	75.6 ± 13.4	74.8 ± 13.0	0.076
BMI, kg/m ²	50	27.6 ± 4.4	27.4 ± 4.4	0.153
中性脂肪, mg/dL	47	139.5 ± 67.8	126.0 ± 54.8	0.105
LDL-C, mg/dL	50	133.9 ± 35.9	134.2 ± 45.7	0.949
HDL-C, mg/dL	50	55.9 ± 12.9	56.1 ± 11.4	0.866
高感度CRP, mg/dL	49	0.154 ± 0.242	0.152 ± 0.205	0.953
HbA1c, %	50	6.16 ± 0.78	6.06 ± 0.55	0.120
HOMA-IR	47	2.28 ± 1.73	2.46 ± 1.63	0.369
AST, U/mL	50	28.2 ± 10.9	24.7 ± 7.5	0.005
ALT, U/mL	50	37.6 ± 19.1	33.1 ± 22.4	0.021
γ-GTP, U/mL	50	45.6 ± 40.0	42.5 ± 40.1	0.299
アルブミン, g/dL	50	4.57 ± 0.35	4.54 ± 0.37	0.445
尿酸, mg/dL	50	5.81 ± 1.17	5.79 ± 1.29	0.836
M2BPGi	50	0.507 ± 0.226	0.539 ± 0.314	0.365
IV型コラーゲン・7S, ng/mL	50	3.07 ± 0.69	3.09 ± 0.60	0.684
血小板数, 万/μL	49	25.28 ± 6.49	24.78 ± 6.43	0.257
AST/ALT比	50	0.83 ± 0.30	0.87 ± 0.29	0.040
CAP, dB/m	48	304.0 ± 52.2	303.9 ± 44.1	0.987
LSM, kPa	48	4.61 ± 1.78	4.70 ± 1.94	0.617

図3: CPAPの平均使用率を数値化(index化)した.

定義: 6ヶ月間のCPAPの平均使用率

平均使用率

$$= \frac{(\text{各月分のCPAP使用日数率}) \times (\text{そのうち1日4時間以上CPAPをした比率})}{6(\text{ヶ月})}$$

図4: CPAPによるALT値の低下量に相関をしめす因子

単変量モデル	n	回帰係数	標準誤差	標準化回帰係数	有意確率
体重の変化量	50	2.051	0.600	0.443	0.001
BMIの変化量	50	5.578	1.664	0.436	0.002
CPAPの平均使用率	50	-11.878	5.354	-0.305	0.031
ASTの変化量	50	1.318	0.134	0.818	<0.001
γ-GTPの変化量	50	0.306	0.083	0.469	0.001
HbA1c値の変化量	50	11.076	4.064	0.366	0.009
HOMA-IRの変化量	47	0.521	1.496	0.052	0.729
M2BPGiの変化量	50	4.126	7.657	0.078	0.593
中性脂肪の変化量	47	0.030	0.036	0.124	0.407
LDL-Cの変化量	50	-0.027	0.063	-0.061	0.674
CAP値の変化量	48	0.020	0.047	0.064	0.667
LSM値の変化量	48	1.871	1.656	0.164	0.264

重回帰モデル (調整変数: 体重の変化量)	n	回帰係数	標準誤差	標準化回帰係数	有意確率
CPAP平均使用率	50	-9.890	4.928	-0.254	0.051

図5: OSAS+NAFLD(ALT高値)+CPAP 使用良好+体重変化がない症例

	CPAP 治療前	CPAP 治療半年後	p値
患者数, 人	17	-	-
性別, 男性, n(%)	13(76.4)	-	-
年齢, 歳	57.1 ± 12.2	-	-
BMI, kg/m ²	27.02 ± 4.36	27.03 ± 4.37	0.9691
AST, U/L	33.3 ± 9.8	28.5 ± 7.5	0.0167
ALT, U/L	48.6 ± 18.4	40.9 ± 19.1	0.0276
γ-GTP, U/L	45.2 ± 24.1	45.6 ± 29.9	0.5549
アルブミン, g/dL	4.51 ± 0.36	4.50 ± 0.35	0.9071
中性脂肪, mg/dL	124.3 ± 33.0	139.4 ± 48.8	0.1046
LDL-C, mg/dL	145.8 ± 34.0	139.8 ± 34.5	0.3002
HDL-C, mg/dL	58.3 ± 12.8	57.1 ± 13.9	0.5143
尿酸, mg/dL	5.59 ± 0.86	5.45 ± 1.14	0.3776
高感度CRP, mg/dL	0.1087 ± 0.1202	0.0881 ± 0.0671	0.5878
HbA1c, %	6.28 ± 0.92	6.16 ± 0.62	0.7154
HOMA-IR	2.37 ± 1.31	2.87 ± 2.18	0.2908
M2BPGi	0.519 ± 0.215	0.556 ± 0.148	0.2151
IV型コラーゲン・7S, ng/mL	3.35 ± 0.70	3.40 ± 0.53	0.7018
FIB-4 index	1.19 ± 0.54	1.14 ± 0.48	0.2293
血小板数, 万/μL	25.44 ± 7.30	24.65 ± 5.70	0.4372
AST/ALT比	0.710 ± 0.124	0.735 ± 0.147	0.2983
CAP, dB/m	306.1 ± 58.2	319.8 ± 43.3	0.1743
LSM, kPa	4.59 ± 0.97	4.79 ± 1.42	0.6173

データは平均 ± 標準偏差, 人数(%)で表示

< 考察 >

以上の結果から、OSAS + NAFLD において、体重減少が最も ALT 値を下げる因子であったが、CPAP による夜間低酸素血症の改善も同様の効果が認められた。

< 結論 >

OSAS において、夜間低酸素血症が NAFLD の進展に関与していることが示唆された。

< 結語 >

NAFLD において、まず問診にて OSAS の有無を確認し、PSG 検査で陽性であれば積極的に CPAP の導入を行うことにより、NAFLD の進行を抑える可能性がある。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

Ohkoshi S, Hirono H, Nakahara T, Ishikawa H. Dental pulp cell bank as a possible future source of individual hepatocytes. World J Hepatol, 査読有, vol. 10, 2018, pp. 702-707.

Ohkoshi S, Hara H, Hirono H, Watanabe K, Hasegawa K. Regenerative medicine using dental pulp stem cells for liver diseases. World J Gastrointest Pharmacol Ther. 査読有, vol. 8, 2017, pp1-6.

[学会発表] (計 4 件)

廣野 玄, 大越 章吾, 夜間低酸素血症の影響を考慮にいれた NAFLD の治療指針の提案, 第 55 回日本肝臓学会総会 (東京) 2019 年 5 月 31 日

廣野 玄、大越 章吾、夜間低酸素血症が NAFLD に及ぼすインパクト、第 54 回日本肝臓学会総会（大阪） 2018 年 6 月 14 日

Ohkoshi S. Differentiation of dental pulp-derived mesenchymal stem cells into hepatocytes and their repopulation in nude rat liver. 26th United European Gastroenterology Week, Vienna（国際学会）, 2018 年

廣野玄、渡邊和彦、長谷川勝彦、大越章吾、河野正己、いびき症に潜む動脈硬化危険因子～睡眠から発する検診メッセージ～（肝フィブrosis検査を用いたアプローチ）、2017 年度 新潟市医師会地域医療研究助成発表会、2017 年

〔図書〕(計 1 件)

大越 章吾、医歯薬出版株式会社、専門医から伝えたい 歯科医院に知ってほしい 肝疾患のこと、2019 年、総ページ数 112

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：大越 章吾

ローマ字氏名：(OHKOSHI, shogo)

所属研究機関名：日本歯科大学新潟生命歯学部

部局名：内科学講座

職名：教授

研究者番号（8 桁）：70231199

研究分担者氏名：長谷川 勝彦

ローマ字氏名：(HASEGAWA, katsuhiko)

所属研究機関名：日本歯科大学新潟生命歯学部

部局名：内科学講座

職名：准教授

研究者番号（8 桁）：60328870

研究分担者氏名：河野 正己

ローマ字氏名：(KOHNO, masaki)

所属研究機関名：日本歯科大学新潟生命歯学部

部局名：睡眠歯科センター

職名：教授

研究者番号（8 桁）：20170201

研究分担者氏名：松田 康伸

ローマ字氏名：(MATSUDA, yasunobu)

所属研究機関名：新潟大学大学院保健学研究科

部局名：検査技術科学専攻

職名：准教授

研究者番号（8 桁）：40334669

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：渡邊 和彦

ローマ字氏名：(WATANABE, kazuhiko)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。