

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10624

研究課題名（和文）NAFLD経過における脂肪肝表現型と肝線維化に関する研究

研究課題名（英文）Study of fatty liver phenotype and liver fibrosis in the course of NAFLD

研究代表者

指宿 りえ（Ibusuki, Rie）

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：90747015

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：一般住民におけるNAFLDの、脂肪肝の発生・持続・消失という経過に着目し、脂肪肝の表現型と肝線維化（進展度）に関わる環境・宿主要因について明らかにするために研究を行った。対象者は、健診で腹部超音波検査を実施した35～69歳の男女4,909名である。NAFLD/NASHの発症・肝線維化に関与するPNPLA3の遺伝子多型を用いて、NAFLD肝線維化における宿主要因、及び環境要因との相互作用について横断研究を行った。その結果、NAFLD肝線維化において、PNPLA3遺伝子多型と高血圧及び、脂質異常症との交互作用が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の一部は、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）から線維化が進行して肝硬変、肝がんに進展することで、肝線維化は病態の上で重要な役割を有している。NAFLDの肝線維化には遺伝子多型（SNPs）による感受性も関与し、PNPLA3は、GWASにおいて肝線維化との関連が報告されているが、環境要因とこれら宿主要因との相互作用に関する報告は限られている。本研究における肝線維化に関わる遺伝子多型と環境要因についての解明は、進展例のスクリーニングや予防において重要であり、一次予防対策を講じるうえで個別化予防においても有用な、新規のエビデンスを提示した。

研究成果の概要（英文）：The study was conducted to clarify environmental and host factors involved in fatty liver phenotype and liver fibrosis (degree of progression) in NAFLD in the general population, focusing on the course of fatty liver development, persistence, and resolution. The subjects were 4,909 men and women aged 35-69 years who underwent abdominal ultrasonography during health examinations. 4,909 men and women aged 35-69 years were included in the cross-sectional study on the interaction between host and environmental factors in NAFLD liver fibrosis, using PNPLA3 gene polymorphisms involved in NAFLD/NASH development and liver fibrosis. The results showed an interaction between PNPLA3 polymorphisms and hypertension and dyslipidemia in NAFLD liver fibrosis.

研究分野：分子疫学、栄養疫学

キーワード：NAFLD 肝線維化 PNPLA3

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease ; NAFLD) は、明らかな飲酒歴がなく、又は飲酒量がエタノール換算で男性 : 30g/日、女性 : 20g/日未満で、一般的に腹部超音波検査により脂肪肝が検出される病態である。NAFLD は、非アルコール性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver : NAFL) と非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis ; NASH) に分類され、一部は NASH から肝硬変、肝癌へ進展する。現在、NAFLD/NASH の脂肪肝の程度や進展度は、肝線維化を測定することで評価し、肝線維化の進行は、ALT 値、体重、糖尿病との関連が報告されている (Nakahara T et al, *J Gastroenterol.* 2014.)。日本人の健診受診者における NAFLD の頻度は、男性で 30 ~ 40% , 女性は 10 ~ 20% であり、そのうち NAFLD の 10 ~ 20% が、NASH と報告されており、NASH 有病率は成人の 2 ~ 8% と推定されている。そして、NAFLD の性年齢別有病率は、日本の肥満人口をそのまま反映し、年齢と共に徐々に増加して、男性では 40 歳代、女性では 60 歳代がピークの分布を示す特徴がある (Eguchi et al, *J Gastroenterol.* 2012.) NAFLD を放置すれば徐々に肝臓の線維化が進展するとされ (Angulo P, et al. *Gastroenterology.* 2015.) その進展予防とスクリーニングは非常に重要である。遺伝要因では、PNPLA3 の遺伝子多型が NAFLD/NASH の発症・肝線維化に関与するだけでなく、男性に比べて女性では PNPLA3 の遺伝子多型が強く関連していることが報告されている (Sookoian S, et al, *Hepatology.* 2011.)。しかしながら、肝線維化に関わる環境要因と宿主要因に関する報告は限られている。

2. 研究の目的

本研究では、一般住民における NAFLD の、脂肪肝の発生・持続・消失という経過に着目し、脂肪肝の表現型と肝線維化 (進展度) に関わる環境・宿主要因について明らかにし、一次予防対策のエビデンスを提示することである。

3. 研究の方法

本研究は、文部科学省科学研究費によるコーホート・生体試料プラットフォームから支援を受け、提供された疫学情報と血液試料を用いた。対象者は、日本多施設共同コーホート研究 (J - MICC Study) の研究協力者で、平成 17 ~ 20 年度にあまみ島嶼地域、平成 24 年度に鹿児島県本土地域でベースライン調査を実施した一般住民 7,638 名の健診受診者のうち、健診で腹部超音波検査を実施した 35 ~ 69 歳の男女 4,909 名である。ベースライン調査では喫煙・飲酒習慣、食生活、運動習慣、現既往歴、家族歴、ストレスなど多様な環境要因項目を質問票調査で収集、更に血液採取 (パフィー、血清、血漿) 尿採取、脈波 (CAVI) を用いた動脈硬化の測定を行った。また、腹部超音波検査を含め健診結果を研究に活用する同意も得てある。健診項目として、一般的な血液・生化学検査、脂質、糖代謝、血圧に加え、本人の希望により腹部超音波検査が施行されている。本研究は本研究科疫学研究等倫理委員会の承認を得て行った。

1) NAFLD の肝線維化における環境要因、宿主要因に関する横断研究

対象者は、2005～2006年に日本多施設コホート研究の鹿児島県島嶼地域におけるベースライン調査に参加した健診受診者で、腹部超音波検査にて脂肪肝と判定され、調査票、健診情報、DNAがあるもののうち、genotypeが同定できない、アルコール摂取量が男性で $\geq 30\text{g}/\text{日}$ 、女性で $\geq 20\text{g}/\text{日}$ 、ウイルス性肝炎を除外した35～69歳の男女295名(男98名、女197名)である。環境要因は、NAFLDとの関連が報告されている項目、宿主要因はPNPLA3のC/G多型(rs738409)をTaqMan PCR法で解析した。肝線維化の指標は、FIB4 Indexを用い、 ≥ 1.30 を肝線維化ありと定義した。肝線維化に対するオッズ比(OR)を、ロジスティックモデルを用いて見積もり、性と年齢、環境要因で調整した。遺伝子型頻度は、ピアソンの χ^2 検定を行った。

2) NAFLD の肝線維化に対する環境要因、宿主要因の相互作用に関する横断研究

対象者は、2005～2006年に日本多施設コホート研究の鹿児島県島嶼地域におけるベースライン調査に参加した健診受診者で、腹部超音波検査で脂肪肝と判定され、調査票、健診情報、DNAがあるもののうち、genotypeが同定できない、アルコール摂取量が男性で $\geq 30\text{g}/\text{日}$ 、女性で $\geq 20\text{g}/\text{日}$ 、ウイルス性肝炎を除外した35～69歳の男女825名(男404名、女421名)である。宿主要因はPNPLA3のC/G多型(rs738409)をTaqMan PCR法で解析した。肝線維化の指標はFIB4 indexを用い、 ≥ 1.30 を肝線維化ありと定義した。肝線維化に対するオッズ比(OR)と相互作用はロジスティックモデルを用いて見積もり、性と年齢、関連要因で調整した。遺伝子型頻度は、ピアソンの χ^2 検定を行った。

3) 一般住民女性における NAFLD の経年変化(持続・発生・消失)と進展度に関する前向き研究

対象者は、2005～2009年に鹿児島県島嶼地域におけるJ-MICC研究ベースライン調査に参加した健診受診者で腹部超音波検査を受けた男女3,069名のうち、男性、ウイルス性肝炎、アルコール摂取量が20g以上/日のものを除外し、5年後に第二次調査を受け、10年間の腹部超音波検査結果が利用できた女性228名である。肝線維化マーカーである血清中M2BPGiとTypeコラーゲン7sを用いて、脂肪肝の発生・持続・消失時における肝線維化の程度について、女性228名を対象に前向きに観察した。肝線維化マーカーM2BPGiのカットオフ値を用いて、NAFLD(-)-(-)群を対照として肝線維化に対するオッズ比(OR)および95%信頼区間(CI)を年齢で調整してロジスティックモデルを用いて推定した。NAFLD群の被験者が不十分であったため、IV型コラーゲン7Sのカットオフ値を用いた解析は行わなかった。

4. 研究成果

1) NAFLD の肝線維化における環境要因、宿主要因に関する研究

NAFLD対象者の平均年齢は55.1歳で、肝線維化ありは73.2%であった。対象者のPNPLA3遺伝子多型のgenotypeの分布を示す(表1)。

表 1.対象者の PNPLA3 遺伝子多型の genotype の分布

	NAFLD
	N (%)
CC (Ile / Ile)	79 (26.8)
CG (Ile / Met)	139 (47.1)
GG (Met / Met)	77 (26.1)

OR 上昇に正に関連した項目は、AST の OR が 5.75 (2.46-13.46)、AST/ALT 比の OR は 3.15 (1.29-7.71) であった。環境要因では、高血圧の OR は 1.66 (0.84-3.28) であったが、有意に上昇している項目はなく (表 2)、PNPLA3 遺伝子多型の OR も 1.60 (0.80-3.21) であった (表 3)。NAFLD の肝線維化に関わる環境要因と宿主要因は認められなかった。

表 2.FIB4 index による肝線維化に対する環境要因のオッズ比

	OR	95%CI
BMI	1.29	0.64 - 2.60
喫煙	2.19	0.68 - 7.01
日常生活活動量	1.24	0.67 - 2.33
運動習慣	1.25	0.68 - 2.32
高血圧	1.66	0.84 - 3.28
脂質異常症	0.84	0.43 - 1.63
耐糖能異常	0.65	0.32 - 1.31

表 3.FIB4 index による肝線維化に対する PNPLA3 遺伝子多型のオッズ比

	F (+) / F (-)	OR	95%CI
CC	89/129	1.00	-
CG & GG	38/39	1.60	0.80 - 3.21

2) NAFLD の肝線維化に対する環境要因、宿主要因の相互作用に関する研究

NAFLD 対象者の平均年齢は 55.4 歳で、肝線維化ありは 43.8% であった。肝線維化に対する環境要因のオッズ比は、いずれも関連は認められなかった (表 1)。NAFLD に関わる環境要因は肝線維化には関与せず、別の機序が関与していることが推察された。

表 1. 肝線維化に対する環境要因のオッズ比

	OR	95% CI
BMI	0.81	0.57 - 1.16
喫煙習慣	1.11	0.64 - 1.93
日常生活活動量	0.99	0.71 - 1.37
運動習慣量	1.09	0.78 - 1.53
高血圧	1.24	0.89 - 1.73
脂質異常症	0.96	0.68 - 1.35
耐糖能異常	0.73	0.50 - 1.06

PNPLA3 遺伝子多型 CC & CG 群に対する GG 群の肝線維化のオッズ比は上昇していた (1.53, 1.06-2.20) (表 2)。高血圧ありに対する肝線維化の OR は、CC & CG 群で 0.96 (0.60-1.53)、GG 群で 2.87 (1.29-6.41) であり、相互作用 ($p=0.048$) が認められ、脂質異常症に対しても相互作用 ($p=0.015$) が認められた (表 3)。PNPLA3 遺伝子多型と高血圧及び脂質異常症との間には、NAFLD における肝線維化に対する相互作用が認められた。

表 2. FIB4 index による肝線維化に対する PNPLA3 遺伝子多型のオッズ比

	F(+)/F(-)	OR	95% CI	<i>p</i> for trend
CC	79/209	1.00	- -	
CG	165/390	1.05	0.71 - 1.58	0.041
GG	117/226	1.58	1.01 - 2.48	
CC & CG	244/599	1.00	- -	
GG	117/226	1.53	1.06 - 2.20	

表 3. 肝線維化に対する PNPLA3 遺伝子多型と環境要因の相互作用

	CC & CG		GG		<i>P</i> for interaction
	OR	95% CI	OR	95% CI	
BMI	1.01	0.61 - 1.66	0.53	0.23 - 1.25	0.514
喫煙習慣	1.24	0.61 - 2.54	1.77	0.55 - 5.70	0.610
日常生活活動量	0.93	0.59 - 1.47	1.77	0.80 - 3.90	0.282
運動習慣量	1.15	0.73 - 1.80	1.22	0.55 - 2.69	0.666
高血圧	0.96	0.60 - 1.53	2.87	1.29 - 6.41	0.048
脂質異常症	0.66	0.41 - 1.06	2.08	0.92 - 4.68	0.015
耐糖能異常	0.75	0.44 - 1.27	0.38	0.15 - 0.97	0.540

3) NAFLD/NASH の経年変化 (持続・発生・消失) と進展度に関する前向き研究

M2BPGi のカットオフ値による肝線維化ありの OR は、NAFLD (-)-(+)で 6.91 (1.19-40.0)、NAFLD (+)-(+)で 2.51 (1.17-5.41)、NAFLD (+)-(-)で 3.87 (1.31-11.4) といずれの群でも統計学的に有意に上昇していた。脂肪肝は消失しても、肝線維化は進展していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Rie Ibusuki, Ippei Shimoshikryo, Daisaku Nishimoto, Hironori Miyahara, Koichi Tokushige, Toshiro Takezaki
2. 発表標題 Gene and environmental factors for liver fibrosis among Japanese general population with NAFLD.
3. 学会等名 INTERNATIONAL EPIDEMIOLOGICAL ASSOCIATION'S WORLD CONGRESS OF EPIDEMIOLOGY 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 指宿りえ、下敷領一平、西本大策、宮原宏典、徳重浩一、嶽崎俊郎
2. 発表標題 NAFLD肝線維化に対する環境・宿主要因の相互作用に関する研究：第2報
3. 学会等名 第32回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 指宿りえ、下敷領一平、西本大策、嶽崎俊郎
2. 発表標題 非アルコール性脂肪性肝疾患の経時的変化に関するコホート研究
3. 学会等名 第78回日本公衆衛生学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R Ibusuki, I Shimoshikiryo, K Shimatani, D Nishimoto, S Maenohara, T Takezaki.
2. 発表標題 Advancement of hepatic fibrosis among general women with/without NAFLD
3. 学会等名 12th European Public Health Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 指宿りえ, 下敷領 一平, 西本大策, 嶽崎俊郎
2. 発表標題 NAFLD肝線維化における環境・宿主要因に関する研究
3. 学会等名 第30回日本疫学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 指宿りえ, 西本大策, 徳重浩一, 宮原広典, 嶽崎俊郎, 田ノ上史郎, 郡山千早
2. 発表標題 一般住民における代謝関連性脂肪肝 (MAFLD) と関連要因に関する横断研究
3. 学会等名 第34回日本疫学会総会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	嶽崎 俊郎 (Takezaki Toshiro) (50227013)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任教授 (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------