

平成 22 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19500688

研究課題名 (和文) 慢性肝疾患の栄養療法に関する研究

研究課題名 (英文) Research of nutritional treatment for chronic liver disease

研究代表者 沖田 美佐子 (OKITA MISAKO)

奈良女子大学・生活環境学部・特任教授

研究者番号：70079242

研究成果の概要 (和文)：ペグインターフェロンとリバビリンの併用療法中の C 型慢性肝炎患者を対象にビタミン E、C と併用した亜鉛やエイコサペンタエン酸の補給を行い、治療中における副作用の軽減を認め、栄養療法が補助療法として有用であることを明らかにした。また、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)患者に対して魚類摂取の栄養指導を行うとともにビタミン E、C の投与を行った結果肝病態の改善を認め、栄養療法の重要性を示唆した。

研究成果の概要 (英文)：①Nutritional treatment with EPA or zinc for chronic hepatitis C patients was evaluated. ALT was improved by zinc administration and decrease of lymphocyte counts was prevented by EPA supplementation. Zinc and EPA supplementation were suggested to be useful in the therapy for chronic hepatitis C. ②In nonalcoholic steatohepatitis, fish intake and vitamin E and C supplementation were suggested to be helpful for the treatment.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008 年度	500,000	150,000	650,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：臨床栄養学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：C 型慢性肝炎、非アルコール性脂肪肝炎、エイコサペンタエン酸、亜鉛、ビタミン E、血中脂肪酸組成、免疫能

1. 研究開始当初の背景

肝癌による死亡率は 2007 年には男性では癌死の第 4 位、女性では 6 位とやや低下しつつあるものの、なおわが国の疾病対策の重大課題の一つである。肝細胞癌の約 90%は肝炎ウイルス感染によるもので、そのうち約 80%は C 型肝炎ウイルスの感染による持続的な

炎症性変化を背景として発症するものである。

C 型肝炎に対する治療として第一に選択されるのが持続的ウイルス排除(sustained virological response:SVR)を最終目標としたインターフェロン (IFN) 治療である。pegylated (PEG)-IFN α ・2b・リバビリン併用

療法により、SVRは上昇したが、依然、約半数の患者でSVRが得られないのが現状である。また、IFNとリバビリンの併用療法では溶血性貧血や血球減少、食欲低下などの副作用が高頻度に合併し、治療継続が困難な症例も少なくない。これらの副作用を軽減し治療の継続および治療効果の向上を目指すところに、補助療法としての栄養療法の役割が期待される。

C型慢性肝疾患の病態進展、肝発癌機序はいまだ明らかではないが、酸化ストレスの関与が強く指摘されている。とくに脂質過酸化は肝障害発生の重要な因子と考えられている。また、肝の炎症局所における大量の活性酸素種(reactive oxygen species:ROS)の産生や肝への鉄過剰蓄積によって生じるROSが直接遺伝子を傷害するといった報告から、慢性的な酸化ストレス状態が肝線維化の促進や発癌の有力な因子と考えられている。

これまでの我々の研究経過の中で、肝硬変では顕著な多価不飽和脂肪酸欠乏が認められることを報告してきた。肝硬変における多価不飽和脂肪酸の減少の要因として、食事からの摂取量の減少、肝における不飽和化反応の障害とともに酸化亢進があげられる。C型慢性肝炎例においても赤血球膜リン脂質における高度不飽和脂肪酸すなわちアラキドン酸、エイコサペンタエン酸(EPA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)の低下や血漿 α -トコフェロールの減少と過酸化脂質の増加を認め、炎症時には多価不飽和脂肪酸の酸化が亢進しているものと推測された。また、IFN α -2b・リバビリン併用療法中のC型慢性肝炎例に対するビタミンEとビタミンCの投与は単核球リン脂質中のEPA比率のさらなる減少を阻止しうることを明らかにし、抗酸化ビタミン投与の有用性を示した。さらにC型慢性肝炎例の単核球リン脂質のアラキドン酸/EPA比と血清ALT値との間に有意の正相関を認め、n-3系脂肪酸であるEPAの補給効果が期待された。

n-3系多価不飽和脂肪酸は抗炎症作用や脂肪合成抑制作用を有するとされ、肝炎から肝線維化、肝癌発症に至る肝病態進展を抑制すると期待できる。一方、慢性肝炎では血清亜鉛値の低下が指摘されており、亜鉛にはSODを介する免疫細胞の活性化なども報告されている。亜鉛欠乏の解消がC型慢性肝炎の病態改善と関連していることが推測でき、EPAや亜鉛の補給が治療効果を上げ、患者の改善につながると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 以上のようなこれまでの研究経過を踏まえ、本研究課題では第一にC型慢性肝炎のPEG-IFN α -2b・リバビリン併用療法における副作用の軽減を目指した栄養療法、とくに

抗酸化ビタミンと抗酸化ミネラルである亜鉛やn-3系脂肪酸であるEPAの同時補給の有用性の検討を行った。

(2) 慢性肝疾患の栄養療法の第二の課題は非アルコール性脂肪性肝疾患(nonalcoholic fatty liver disease:NAFLD)である。近年わが国では肥満者が増大し、全健診受診者の1/4(男性では30%)が肝障害を有し、メタボリックシンドロームと密接な関連が指摘されているNAFLDの増加が問題視されている。NAFLDは単純性脂肪肝と非アルコール性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis:NASH)に分けられ、NAFLDのおよそ90%は単純性脂肪肝と考えられている。しかし、残りの約10%はNASHと推定され、NASHは単なる脂肪肝と異なり放置すれば肝線維化が進行し肝硬変から肝発癌の恐れのある疾患であり、早期の診断と適切な治療が望まれている。ところが単純性脂肪肝とNASHの鑑別診断には肝生検による組織診断が必須である。肝生検は侵襲を伴うためその施行は十分ではなく、NASHも単純性脂肪肝として見過ごされる場合が多い。最近、caspase-3によって産生されるCK18 M30断片の血清レベルが肝組織の炎症像をよく反映することが報告された。血清CK18 M30値の変化がリンパ球浸潤、炎症を反映することに注目し、NAFLD・NASHの栄養評価項目との関連性や栄養療法の効果判定におけるCK18 M30の有用性を検証したいと考えた。

NASHにおける炎症には、ウイルス肝炎と同様に肝脂肪蓄積や酸化ストレスの関与が強く示唆されている。また、肥満に伴う脂肪酸代謝異常がNASH発症因子との報告もある。脂肪酸や抗酸化ビタミンなどの食品成分は炎症性疾患との関わりが深く、これらの栄養因子がNAFLDの病態やNASH発生あるいは抑制に少なからぬ機能を発揮すると推測される。わが国の食生活は魚類、大豆製品の多食、豊富な野菜類と緑茶の飲用といったように欧米に比し特徴的である。このような日本型食生活を活用して、抗酸化能が高くn-3系多価不飽和脂肪酸が補給できる肝臓病栄養療法を推進するための基礎資料を提供することを目指して研究を推進した。

3. 研究の方法

(1) C型慢性肝炎の栄養療法に関する研究

① 亜鉛補給の有効性

PEG-IFN α -2b・リバビリン併用療法を受けるC型慢性肝炎例(n=9)にビタミンE(300mg/day)・C(600mg/day)とともにポラプレジンク(プロマック、日本ゼリア)150mg/dayを48週にわたって投与した。ポラプレジンク非投与群をcontrol(n=12)として、臨床検査値、免疫能、赤血球膜リン脂質脂肪酸組成、TBARSの経過を比較観察した。

② EPA 補給の免疫能に及ぼす効果

PEG-IFN α -2b・リバビリン併用療法を受ける C 型慢性肝炎例(n=12) にビタミン E (300mg/day)・C(600mg/day)とともに EPA ethyl ester(エパデール、持田製薬) 1.8g/day を 48 週間投与した。EPA 比投与群を control 群(n=12)として臨床検査値、免疫能、赤血球膜リン脂質脂肪酸組成に及ぼす EPA 補給効果を観察した。

(2) 非アルコール性脂肪性肝疾患の栄養療法

① 非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis:NASH) 患者における魚類摂取の効果

肝生検により NASH と診断された 5 例(男性 4 例、女性 1 例、51.4 \pm 11.2 歳)を対象とし、3 日間の食事記録による食事調査をもとに魚類の摂取を推奨した食事指導を 6 ヶ月間実施した。指導開始時と 3 ヶ月及び 6 ヶ月後に臨床検査値と肝細胞アポトーシス指標として血清 cytokeratin(CK)18 断片 (M30 antigen) の測定および赤血球膜リン脂質脂肪酸組成の分析を行った。

② 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)患者における食事療法と抗酸化ビタミンおよび EPA 投与の影響

肝生検により NASH と診断された患者を食事指導 (Diet 群)、ビタミン E,C 投与 (Vit 群)、ビタミン E,C+EPA 投与 (EPA 群) に割付け、治療開始時と 3 ヶ月後で各種栄養指標を分析した。

(3) 健診受診者における脂肪肝、メタボリックシンドローム有病者の栄養指標、臨床検査値、血漿脂肪酸組成、血清サイトカインおよび CK18 断片値とその意義

① 肥満とメタボリックシンドロームの予測因子の解析

健診受診男性 94 名をメタボリックシンドローム有病者 (MS 群 : n=24)、腹部肥満者 (OB 群 : n=43) および正常者 (Control 群 : n=27) に分け、臨床検査値、血漿コレステロールエステル脂肪酸組成、脂肪酸不飽和化酵素推定値、栄養素等摂取量について分析し、肥満、メタボリックシンドロームへの進展予測因子を検索した。

② 健診受診者における脂肪肝有病者の血清 CK18 M30 分析

健診受診男性 77 名を腹部超音波検査により脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease :NAFLD) と診断された者 (NAFLD 群 : n=42) と非脂肪肝群 (Control 群 : n=35) に分け、CK18 M30、M65、臨床検査値、血漿リン脂質脂肪酸組成を分析し、NAFLD に

おける CK18 M30 測定の意義を検討した。

4. 研究成果

(1) C 型慢性肝炎の栄養療法に関する研究

① 亜鉛補給の有効性

亜鉛投与群では投与 12 週後に control 群に比し、ALT 値の有意の低下を観察した。投与開始 24 週後には亜鉛群では 9 例中 9 例で、control 群では 12 例中 8 例 (67%) で、また 48 週後には投与群 7 例中 7 例 (100%)、control 群 10 例中 6 例 (60%) で ALT 値が正常域まで低下した。さらに、亜鉛群では赤血球膜リン脂質の多価不飽和脂肪酸減少の抑制と血漿 TBARS の低下が認められた。これらの結果から亜鉛の有する抗酸化作用が肝細胞障害の抑制に働くものと推測された。

J Nutr Sci Vitaminol 53: 213-218, 2007

② EPA 補給の免疫能に及ぼす効果

EPA 投与群では投与 12 週後に血清 ALT 値が正常化したのは 12 例中 8 例であったが、control 群では 12 例中 6 例であった。治療開始 12 週後にリンパ球数は control 群では有意に減少したが、EPA 群では明らかな減少を認めなかった。Th1 は 4 週後に control 群においてのみ減少を認めた。EPA 群では Th1/Th2 比が 12 例中 9 例で上昇したが、control 群では 12 例中 3 例のみ上昇をみた。赤血球膜リン脂質のアラキドン酸/EPA 比は白血球数及び好中球数と負の相関を示した。EPA 群ではヘモグロビン量が 24 週後に改善した。

これらの結果は C 型肝炎の PEG-IFN α -2b・リバビリン併用療法における EPA の投与が免疫能の改善を通して補助的手段として有用であることを示唆するものであった。

Lipids 43: 325-333, 2008

(2) 非アルコール性脂肪性肝疾患の栄養療法

① 非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis:NASH) 患者における魚類摂取の効果

開始時には健常対照群に比し有意の低値であった魚類の摂取量は食事指導開始 6 ヶ月後には有意に増加し、EPA、ドコサペンタエン酸、DHA の摂取量も有意に増加し、n-6/n-3 系多価不飽和脂肪酸比は有意に低下した。血清 CK18 M30 レベルは 3 ヶ月以降有意に改善し、ALT、AST 値は 6 ヶ月後には全例で改善を認めた。さらに、赤血球膜リン脂質脂肪酸組成において、開始時に健常対照群に比し低値であったリノール酸、アラキドン酸、DHA は 3 ヶ月以降有意に増加し、健常対照者と同レベルに達した。

これらの結果から、魚類の摂取を推奨した食事指導は NASH 患者の脂肪酸代謝を正常化することによって病態を改善するものと推測された。

日本臨床栄養学会誌 31: 1-8, 2010

② 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)患者における食事療法と抗酸化ビタミンおよびEPA投与の影響

身体計測値のうちBMIと体重減少率がVit群で低下傾向を示したものの、全群で食事摂取状況の変化は認められなかった。血清ALT、AST値はVit群で低下傾向を示した。TNF- α はVit群が低下傾向を示したが、他の群では変化はみられなかった。体脂肪率の変化とALT改善率の間に有意の正の相関を認めた。

これらの結果から、NASHにおいても適正体重を目指した減量、とくに体脂肪率の減少が重要と考えられた。

日本臨床栄養学会誌 31: 32-37, 2010

(3) 健診受診者における脂肪肝、メタボリックシンドローム有病者の栄養指標、臨床検査値、血漿脂肪酸組成、血清サイトカインおよびCK18断片値とその意義

① 肥満とメタボリックシンドロームの予測因子の解析

血漿コレステロールエステルの脂肪酸組成では、メタボリックシンドローム群(MS群)がcontrol群に比し、パルミチン酸、オレイン酸、 γ -リノレン酸の高値とリノール酸の低値を示した。腹囲85cm以上の腹部肥満者(OB群)で18:3n-6/18:2n-6で算出した推定delta 6 desaturase(D6D)活性値の有意の高値と20:4n-6/20:3n-6で算出した推定D5D活性値の低値を認めた。MS群では推定delta 9-16 desaturase(D9-16D: 16.1n-7/16:0)及びD6Dの有意の高値とD5Dの低値を認めた。ロジスティック解析により、正常対照群から肥満への移行ならびに肥満からMSへの進展にはD5Dの低値とD9-16Dの高値が予測因子となることが示唆された。多変量解析の結果、D5D活性がEPA摂取量と関連することが示された。

以上の結果から、推定D5D活性の低下が腹部肥満の要因として、また推定D9-16D活性の上昇がMSへの進展因子となることが示唆された。

J Nutr Sci Vitaminol 55:400-406, 2009

② 健診受診者における脂肪肝有病者の血清CK18 M30分析

血清CK18 M30およびM65 antigenレベルはNAFLD群でcontrol群に比し明らかに高値であった(図1)。NAFLD群ではM30、M65いずれもBMI(図2)、血清AST、ALT値及び血清リン脂質のdihomo- γ -linolenic acidと有意の正の相関(図3)を、AST/ALT比とは負の相関($p < 0.01$)を示した。また、NAFLD群においてM30 antigenレベルとTNF- α との間に有意の正相関(図4)を認めた。

血清CK18 M30レベルの測定はNAFLD

における病態の進展度を予測する有用な指標となりうることが示唆された。

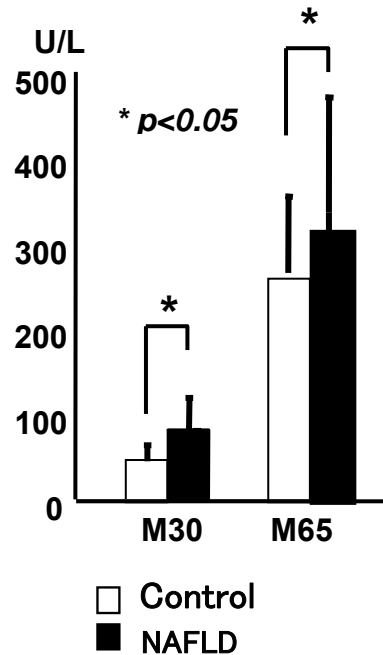


図1 NAFLD群およびControl群における血漿CK18 M30及びM65濃度の比較

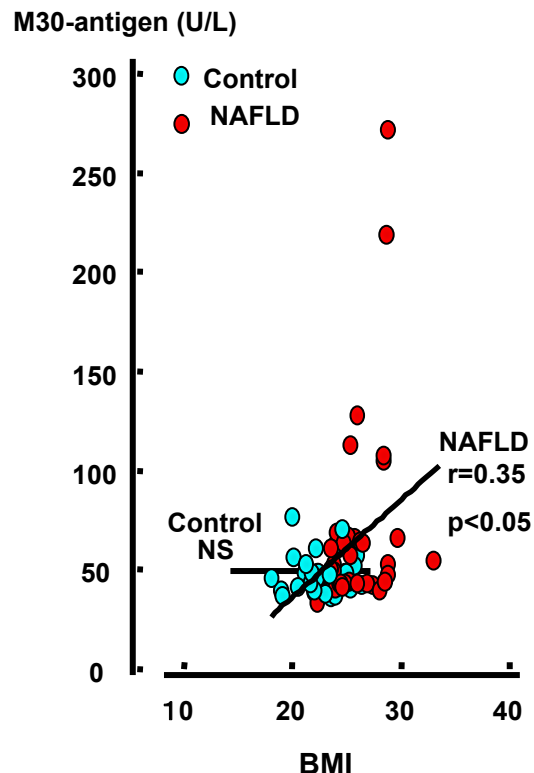


図2 血漿CK18 M30とBMIの関連性

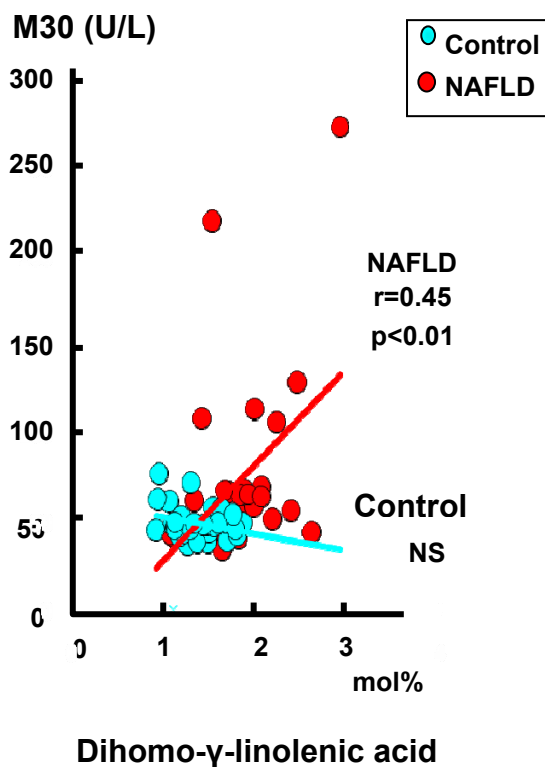


図3 CK18 M30と血漿リン脂質のDihomo- γ -linolenic acidの関連性

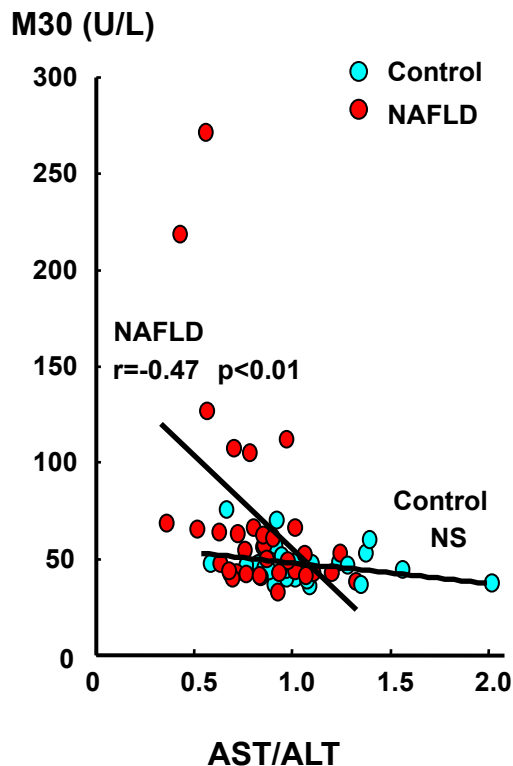


図4 血漿CK18 M30と血清AST/ALT比の関連性

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

① 川島愛子、菅原詩緒理、稗万美子、沖田美佐子、萬谷育子、北出光輝、吉治仁志、福井博、塚本幾代：非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 患者における魚類摂取の効果。日本臨床栄養学会誌 **31** (1,2,3), 1-8, 2010. 査読有

② 川上貴代、村上泰子、富岡加代子、沖田美佐子：非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 患者における食事療法と抗酸化ビタミンおよび EPA 投与の影響。日本臨床栄養学会誌 **31** (1,2,3), 32-37, 2010. 査読有

③ Aiko Kawashima, Shiori Sugawara, Misako Okita, Takemi Akahane, Kenichi Fukui, Maiko Hachiuchi, Chieko Kataoka, Ikuyo Tsukamoto: Plasma fatty acid composition, estimated desaturase activities, and nutritional intake in Japanese men with abdominal obesity or metabolic syndrome. *J Nutr Sci Vitaminol* **55**, 400-406, 2009. 査読有

④ Aiko Kawashima, Ikuyo Tsukamoto, Tomoko Koyabu, Yasuko Murakami, Takayo Kawakami, Naoko Kakibuchi, Kouichi Takaguchi, Keiji Kita, Misako Okita: Eicosapentenoic acid supplementation for chronic hepatitis C patients during combination therapy of pegylated interferon α -2b and ribavirin. *Lipids* **43**, 325-333, 2008. 査読有

⑤ Yasuko Murakami, Tomoko Koyabu, Aiko Kawashima, Naoko Kakibuchi, Takayo Kawakami, Kouichi Takaguchi, Keiji Kita, Misako Okita: Zinc supplementation prevents the increase of transaminase in chronic hepatitis C patients during combination therapy with pegylated interferon α -2b and ribavirin. *J Nutr Sci Vitaminol* **53**, 213-218, 2007. 査読有

〔学会発表〕(計17件)

① Mayumi Hayashi, Misako Okita, Ikuyo Tsukamoto, Kayoko Tomioka, Takayo Kawakami, Yasuko Murakami, Makoto Hiramatsu, Tatsuya Itoshima: Significance of serum cytokeratin-18 fragment levels in middle-aged males with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). 19th International Congress of Nutrition (Bangkok) Oct 7, 2009.

② Kayoko Tomioka, Misako Okita, Mayumi Hayashi, Yasuko Murakami, Takayo Kawakami, Miharuru Kakimoto, Toshiko Nakayama, Makoto Hiramatsu, Tatsuya Itoshima, Ikuyo Tsukamoto: Dihomo- γ -linoleic acid level in plasma phospholipids of middle-aged male with abdominal obesity and fatty liver. 19th Int Congress Nutr (Bangkok) Oct 7, 2009.

③ 川島愛子、菅原詩緒理、沖田美佐子、萬谷育子、塚本幾代：非アルコール性脂肪肝炎

(NASH)患者における魚類摂取の効果. 第56回日本栄養改善学会学術総会(札幌)2009年9月3日

④ 菅原詩緒理、川島愛子、稗万美子、沖田美佐子、塚本幾代: 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) における栄養素摂取状況と脂肪酸代謝. 第56回日本栄養改善学会学術総会(札幌)2009年9月3日

⑤ 富岡加代子、田村加奈子、村上泰子、林真愉美、川上貴代、片山敬子、森美和子、沖田美佐子: 血中トランス脂肪酸と腹部肥満および脂肪肝に関する考察. 第56回日本栄養改善学会学術総会(札幌)2009年9月3日

⑥ 川島愛子、菅原詩緒理、山崎真理子、沖田美佐子、赤羽たけみ、塚本幾代: 肥満男性における栄養素摂取状況と血中脂肪酸組成の検討. 第61回日本家政学会(西宮)2009年8月31日

⑦ Aiko Kawashima, Ikuyo Tsukamoto, Misako Okita, Tomoko Koyabu, Yasuko Murakami, Takayo Kawakami, Naoko Kakibuchi, Kouichi Takaguchi, Keiji Kita: Effects of EPA supplementation on immunological parameters in chronic hepatitis C patients. 15th Int Congress Dietetics (Yokohama) Sep 8, 2008.

⑧ 川島愛子、稗万美子、竹内優、沖田美佐子、塚本幾代: 脂肪肝における栄養素等摂取状況と血中脂肪酸組成の検討. 第55回日本栄養改善学会学術総会(鎌倉)2008年9月6日

⑨ 三河麻里、富岡加代子、林真愉美、村上泰子、川上貴代、中山敏子、沖田美佐子: メタボリックシンドロームの血清活性酸素消去能 (ORAC) の検討. 第55回日本栄養改善学会学術総会(鎌倉)2008年9月6日

⑩ 林真愉美、沖田美佐子、塚本幾代、富岡加代子、川上貴代、村上泰子、平松信、糸島達也: 脂肪肝における血清サイトケラチン-18の上昇. 第62回日本栄養・食糧学会大会(坂戸)2008年5月4日

⑪ 富岡加代子、川上貴代、村上泰子、林真愉美、沖田美佐子、塚本幾代、平松信、糸島達也: 健診における肥満者の血漿脂肪酸組成の検討. 第62回日本栄養・食糧学会大会(坂戸)2008年5月4日

⑫ 川島愛子、竹内優、沖田美佐子、塚本幾代、赤羽たけみ、福居健一、橋内麻衣子、片岡智栄子、白井康代: 健診受診者における栄養素摂取状況とメタボリックシンドロームとの関連. 第62回日本栄養・食糧学会大会(坂戸)2008年5月4日

⑬ 赤羽たけみ、川島愛子、福居健一、橋内麻衣子、片岡智栄子、白井康代、沖田美佐子、塚本幾代、福井博: メタボリックシンドロームにおける易血栓性に関連する因子の検討. 第105回日本内科学会総会・講演会(東京)、2008年4月11日

⑭ 川上貴代、笹埜三世里、鈴木麻衣、森本

祥代、春名瑞保、大室里衣、木下真貴、村上泰子、富岡加代子、稲田暢、山田剛太郎、沖田美佐子: 非アルコール性脂肪性肝炎患者における食事療法と抗酸化ビタミンおよびEPA投与の影響. 第29回日本臨床栄養学会(京都)、2007年11月17日

⑮ 川島愛子、塚本幾代、小薮智子、村上泰子、川上貴代、富岡加代子、垣渕直子、高口浩一、喜田恵治、沖田美佐子: パネルディスカッション「EBMからみたファーマコロジカル・ニュートリションの臨床応用」—C型慢性肝炎の治療における抗酸化ビタミンとエイコサペンタエン酸の補給効果—. 第29回日本臨床栄養学会(京都)、2007年11月17日

⑯ Aiko Kawashima, Ikuyo Tsukamoto, Tomoko Koyabu, Yasuko Murakami, Takayo Kawakami, Misako Okita, Naoko Kakibuchi, Kouichi Takaguchi, Keiji Kita: EPA supplementation for the treatment of chronic hepatitis C. 10th Asian Congress of Nutrition (Taipei), Sep 12, 2007.

⑰ Takayo Kawakami, Miwa Kawanaka, Aiko Kawashima, Yasuko Murakami, Gohichi Niiyama, Gotaro Yamada, Misako Okita: Serum lysophospholipids and fatty acid moieties in liver cirrhosis. 10th Asian Congress of Nutrition (Taipei) Sep 12, 2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沖田 美佐子 (OKITA MISAKO)
奈良女子大学・生活環境学部・特任教授
研究者番号: 70079242

(2) 研究分担者

塚本 幾代 (TSUKAMOTO IKUYO)
奈良女子大学・生活環境学部・教授
研究者番号: 20144636

富岡 加代子 (TOMIOKA KAYOKO)
岡山県立大学・保健福祉学部・准教授
研究者番号: 90368671

川上 貴代 (KAWAKAMI TAKAYO)
岡山県立大学・保健福祉学部・准教授
研究者番号: 10254567

村上 泰子 (MURAKAMI YASUKO)
福山大学・生命工学部・講師
研究者番号: 90326413

横山 純子 (YOKOYAMA JUNKO)
奈良女子大学・生活環境学部・特任准教授
研究者番号: 60389038