

トピックス

NAFLD の予防的治療にビタミン B₁₂ および葉酸の投与は有効か？Is administration of vitamin B₁₂ and folic acid effective in the prophylactic treatment of NAFLD ?

NAFLD (非アルコール性脂肪肝疾患) とは

脂肪肝とは肝臓に中性脂肪が蓄積して起こる肝疾患を指し、飲酒が原因で起こるアルコール性脂肪肝疾患 (alcoholic fatty liver disease: AFLD) とほとんどアルコールを摂取しないにも関わらず起こる非アルコール性脂肪肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD) に分類することができる。米国肝臓学会 (AASLD) の NAFLD/NASH 診断治療ガイドラインでは NAFLD の定義として①画像もしくは組織学的に肝臓に脂肪蓄積 (肝細胞の 5% 以上) を認め、②アルコール、薬剤、遺伝子疾患による二次性脂肪肝を除外する、とされている。飲酒が原因か否かはアルコール摂取量がエタノール換算で男性 30 g/日、女性 20 g/日が基準として判断する¹⁾。NAFLD は 8～9 割が単に肝臓に脂肪が蓄積して起こる NAFL (非アルコール性脂肪肝) であり、進行すると 1～2 割が炎症や繊維化を伴い、NASH (非アルコール性脂肪肝炎) となる。NAFLD は世界で 25% の有病率を持ち、アジア 27.37%、中東 31.79%、北米 24.13%、南米 30.45%、欧州 23.71%、アフリカ 13.48% と報告されている¹⁾。小児期における成長途上の肥満の流行、糖尿病の増加、およびその他の要因を考慮すると、NAFLD の有病率は、進行した肝疾患を持つ人の割合とともに増加し続けると予測されている²⁾³⁾。

正常肝から NAFL, NASH 進行に関与する因子

NASH の発症機構はいまだよく解明されていない。しかし、欧米から Two hits theory が広く提唱され、受け入れられてきた⁴⁾。Two hits theory とは過剰な栄養摂取、糖尿病、インスリン抵抗性といった背景が要因で第一のヒットが起こり、肝細胞に中性脂肪が蓄積し、脂肪肝 (NAFL) となる。その後、脂質過酸化、酸化ストレス、サイトカイン、鉄沈着により第二のヒットが起こり、NASH を発症するという流れである。だが、最近ではさまざまな因子が複雑に絡み合って発症する

という Multiple parallel hits theory がより広く受け入れられている⁵⁾。Multiple parallel hits theory とは、肝組織内のみならず、肝臓と脂肪組織、腸管といった肝外臓器との相互作用が NASH の発症に寄与していると考えられ、アディポサイトカイン、腸内細菌叢、エンドトキシン、酸化ストレス、食事、遺伝因子などさまざまな因子が並行して作用するというものである。

NASH の診断と治療

NASH の診断は未だに特異的なバイオマーカーは存在せず、患者の自覚症状や身体所見もほとんど存在しないため NASH 患者の発見は困難で、肝硬変や肝癌に進展してから発見されることが多い。現在、NAFLD および NASH の確定診断には、肝生検による病理解析が必要である。また、NASH では大滴性脂肪変性、好中球を中心とした炎症性細胞浸潤、肝細胞の風船様腫大線維化などが特徴的とされている¹⁾⁶⁾。

NASH の治療法として食事・運動療法、薬物療法が有用であるとされ、5% の体重減少により、QOL の改善が見込まれる。さらに 7% 減少させることで、肝脂肪化や肝細胞の炎症性細胞浸潤、風船様腫大の減少がみられ、10% では肝繊維化も改善されることが示されている^{7)–10)}。また、食事療法ではカロリー制限、糖質制限による体重減少などの方法が選択されている¹¹⁾。一方、PPAR アゴニストであるエラフィブラノール、サログリタゾール、ピオグリタゾンなどが薬物療法として有用性があるとされている¹²⁾。その他、抗酸化作用のあるビタミン E の大量投与が有効であるとされており、さまざまな研究が進められている。また、NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2020 では「NASH 患者においてビタミン E は血液生化学検査と肝組織を改善させるために投与することを提案する」ことが記載された¹⁾。800 IU/日のビタミン E の投与により NASH 患者の脂肪症、小葉炎症、肝細胞バルーン化、線維症などが改善することが報告されている¹³⁾。だが、ビ

タミンEの過剰摂取による出血傾向をきたすという報告もあるため、今後長期的な安全性、有用性の確認が必要である。

ビタミン B₁₂ および葉酸摂取が NAFL の進行度に与える影響

多くの研究により、肥満被験者は正常範囲のBMI被験者と比較して葉酸血清レベルが低いことが示されている¹⁴⁾。さらにビタミン欠乏と慢性肝疾患の関連は今までの研究で多く報告されてきたが、ビタミン B₁₂ (B₁₂) および葉酸投与が NAFL の進行に及ぼす影響についてはほとんど報告されていなかった。しかし、近年 NAFL と B₁₂ および葉酸のメチオニン代謝には相関があるとされ、多くの臨床研究が行われている。

Mahmud らのグループは、41 人の NASH 患者を対象とし、NASH の肝繊維化度と B₁₂ および葉酸の血清レベルの評価を行い、葉酸と B₁₂ の両方が NASH の肝線維症に有意な負の相関 ($r = -0.353, p = 0.009$) があることを見いだした¹⁵⁾。さらに Koplay らのグループは 45 人の NAFLD 患者の血清 B₁₂ レベルの評価を行ったところ、NAFLD 患者では対照群の患者よりも B₁₂ レベルが有意に低い ($p < 0.05$) ことが明らかになり、B₁₂ と NASH に関連性があることが示唆された¹⁶⁾。

B₁₂ は、ホモシステインと 5-メチルテトラヒドロ葉酸

からメチオニンとテトラヒドロ葉酸への変換を触媒するメチオニン合成酵素の補酵素として機能している。したがって、B₁₂ および葉酸の不足や欠乏は、ホモシステインからメチオニンへの変換を停滞させ、ホモシステインの蓄積により動脈硬化が引き起こされるため、心筋梗塞などの心臓疾患や脳卒中など脳心血管系疾患のリスクが高まると言われている。血中のホモシステイン濃度が 15 μmol/L 以上になった状態を高ホモシステイン血症といい、B₁₂ および葉酸は、高ホモシステイン血症を抑えることにより、NASH の炎症と線維化を減少させる可能性があることを報告している¹⁷⁾。

Tripathi らは、ウェスタンダイエット食と 15% (w/v) 果糖入り飲料水(WDF)を C57BL/6J マウスに 8, 16, 30 週間自由摂取させて NASH を誘導したモデルマウスを作製し、NAFL (脂肪肝)、軽度 NASH、中度 NASH までを段階的に発生させた。NASH が進行するにつれ B₁₂、葉酸濃度が低下することが明らかになった。さらに、先ほどの NASH モデルマウスを用い、メチオニンを添加したエサにより高ホモシステイン血症モデルマウスを作製し、WDF を 16 週間飲水させ NASH にしたものをコントロール群とし、その後 14 週間にわたり、WDF に B₁₂ (30 μg/100g) + 葉酸 (600 μg/100g)、葉酸 (600 μg/100g) を摂取させ、B₁₂ と葉酸が NASH の線維化に影響を与えるか検討した。その結果、高ホモシステイ

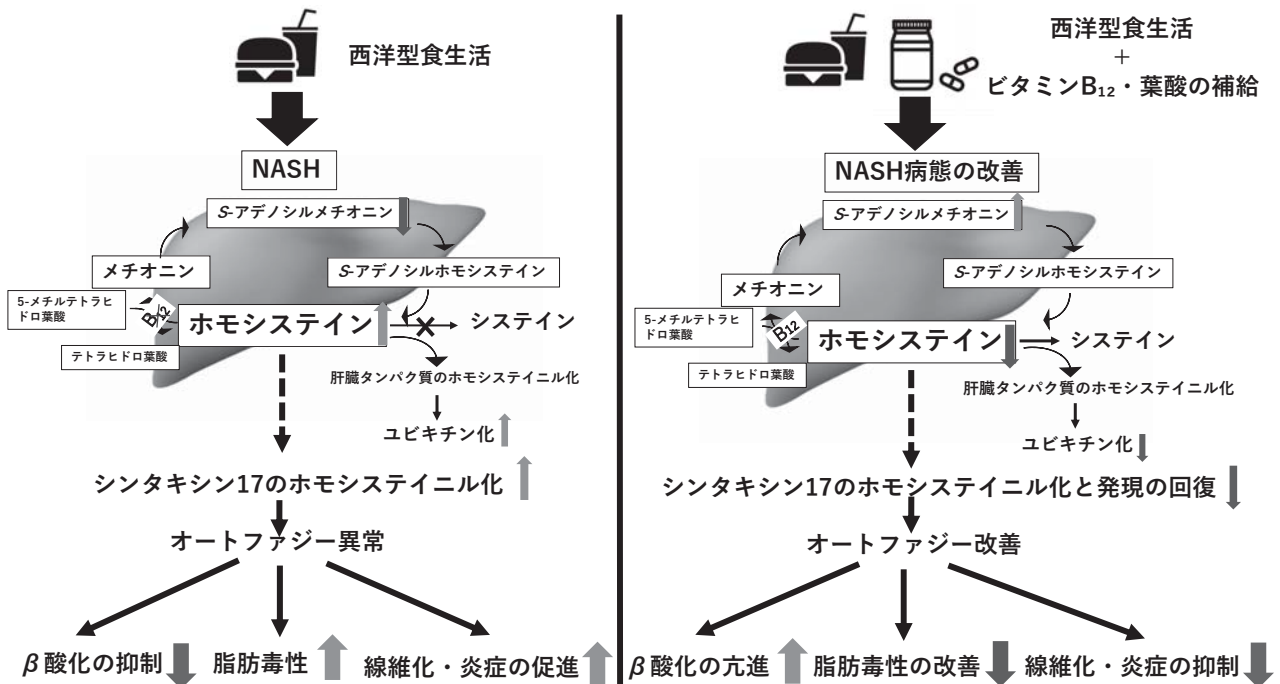


図1 ビタミン B₁₂ と葉酸補給による NASH 病態改善過程

ン血症が NASH の進行に関連し、肝脂肪化、炎症および線維症に関与しており、さらに B₁₂ と葉酸の両方、または葉酸単独で与えることで、繊維化、炎症系、ケモカイン遺伝子の発現の有意な抑制が確認された。また、HE 染色や NAS スコアで NASH 症状を改善することも示した。

ホモシステインは、上述したとおり、脳心血管系疾患のリスク因子の一つである。最近では、タンパク質中のシステイン残基にホモシステインが付加するというホモシステイニル化タンパク (Homocysteinylation protein) が生じ、このタンパク質のホモシステイニル化は限られているが、タンパク質の構造を変化させるため本来の機能を失い様々な疾患に悪影響を及ぼすとされている¹⁸⁾。

先述の研究において、なぜ高ホモシステインが NASH 進行に関与するか明らかにするために、ホモシステイニル化タンパク質の発現を検討した。SNARE タンパク質の 1 種で、オートファジーに重要な役割を担う stx17 の発現を調べたところ、総 stx17 タンパク量は NASH 進行に伴い減少する一方で、ホモシステイニル化およびユビキチン化された stx17 は増加した。しかし、B₁₂ と葉酸投与によりホモシステイニル化およびユビキチン化 stx17 の発現が減弱したことを見いだした。したがって、NASH の進行により、ホモシステインが蓄積し、ホモシステイニル化 stx17 が増加することで、オートファジーの重要な役割である β-酸化、ミトコンドリアの新陳代謝などが損なわれるが、B₁₂ と葉酸を摂取することでホモシステインが代謝され、ホモシステイニル化 stx17 が正常化し、β-酸化が亢進することで、肝組織の改善がみられたと考えられた (図 1)。

以上のことから、B₁₂ と葉酸が、特に NASH の予防的治療または第一選択療法として有用である可能性があることが示唆された。本稿ではモデルマウスを使用しているが、実際にヒトを対象とした臨床あるいは疫学研究も行われている。今後、NASH と診断された人々の最良の治療方法を決定するには、さらに大規模な臨床研究を経て判断する必要がある。

Key words :vitamin B₁₂, folic acid, NAFLD (nonalcoholic fatty liver disease), Hyperhomocysteinemia, syntaxin-17

¹International Food and Agricultural Science, Graduate School of Tokyo University of Agriculture

²Faculty of International Agriculture and Food Studies, Tokyo University of Agriculture

Yuina Tahara¹, Naoya Yasuda¹, Jun Yamauchi^{1,2}, Tadasu Furusho^{1,2}, Yuri Tanioka^{1,2}

¹東京農業大学国際食料農業科学研究科国際食農科学専攻

²東京農業大学国際食料情報学部国際食農科学科

田原 裕衣菜¹, 安田 直也¹, 山内 淳^{1,2}, 古庄 律^{1,2}, 谷岡 由梨^{1,2}

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2023.07.12 受付)

文 献

- 1) 日本消化器病学会・日本肝臓学会 NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2020 (改訂第 2 版)
https://www.jsge.or.jp/guideline/guideline/pdf/naflfnash2020_2_re.pdf (2023-07-23-*)
- 2) Cotter TG, Rinella M (2020) Nonalcoholic fatty liver disease 2020: The state of the disease. *Gastroenterology* **158**, 1851–1864
- 3) Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M (2016) Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* **64**, 73–84
- 4) Day CP, James OF (1998) Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* **114**, 842–845
- 5) Tilg H, Moschen AR (2010) Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* **52**, 1836–1846
- 6) 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* **26**, 1413–1419
- 7) Elliot B, Tapper, Michelle Lai (2016) Weight loss results in significant improvements in quality of life for patients with nonalcoholic fatty liver disease: A prospective cohort study. *Hepatology* **27**, 1184–1189
- 8) Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, Jackvony E, Kearns M, Wands JR, Fava JL, Wing RR (2010) Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* **51**, 121–129
- 9) Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, Friedman SL, Diago M, Romero-Gomez M (2015) Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* **149**, 367–378
- 10) Hydes, T.J.; Ravi, S.; Loomba, R.; Gray, M.E (2020) Evidence-based clinical advice for nutrition and dietary weight loss strategies for the management of NAFLD and NASH. *Gastroenterology* **26**,

- 383–400
- 11) Vancells Lujan P, Viñas Esmel E, Sacanella Meseguer E (2021) Overview of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the role of sugary food consumption and other dietary components in its development. *Nutrients* **18**, 1442
 - 12) Boeckmans J, Buyl K, Natale A, Vandenbempt V, Branson S, De Boe V, Rogiers V, De Kock J, Rodrigues RM, Vanhaecke T (2019) Elafibranor restricts lipogenic and inflammatory responses in a human skin stem cell-derived model of NASH. *Pharmacol Res* **144**, 377–389
 - 13) Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, Van Natta M, Clark J, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR; NASH CRN. (2010) Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* **18**, 1675–1685
 - 14) Hirsch, S.; Poniachick, J.; Avendano, M.; Csendes, A.; Burdiles, P.; Smok, G.; Diaz, J.C.; de la Maza, MP (2015) Serum folate and homocysteine levels in obese females with non-alcoholic fatty liver. *Nutrition* **21**, 137–141
 - 15) Mahamid M, Mahroum N, Bragazzi NL, Shalaata K, Yavne Y, Adawi M, Amital H, Watad A (2018) Folate and B₁₂ Levels Correlate with Histological Severity in NASH Patients. *Nutrition* **10**, 440
 - 16) Koplay M, Gulcan E, Ozkan F (2011) Association between serum vitamin B12 levels and the degree of steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Investigative Medicine* **59**, 1137–1140
 - 17) Tripathi M, Singh BK, Zhou J, Tikno K, Widjaja A, Sandireddy R, Arul K, Abdul Ghani SAB, Bee GGB, Wong KA, Pei HJ, Shekeran SG, Sinha RA, Singh MK, Cook SA, Suzuki A, Lim TR, Cheah CC, Wang J, Xiao RP, Zhang X, Chow PKH, Yen PM (2022) Vitamin B12 and folate decrease inflammation and fibrosis in NASH by preventing syntaxin 17 homocysteinylation. *J Hepatol* **77**, 1246–1255
 - 18) Chen SM, Tang XQ (2022) Homocysteinylation and sulphydration in diseases. *Curr Neuropharmacol* **20**, 1726–1735