

招請講演

2. NAFLD, NASHの病態と臨床

大西 三朗 西原 利治

Key words : 肥満, 脂肪肝, インスリン抵抗性, 肝硬変, 肝細胞癌

はじめに

非飲酒者における脂肪肝の頻度は肥満の進展と共に高まる(図1)¹⁾. このため近年の肥満人口の増加に伴って脂肪肝を示す症例は急激に増加し, 脂肪肝の罹患率はすでに成人の1/3~1/4にまで達している. しかも, その半数は肝機能異常(ALT>30 IU/L)を示す非飲酒者(アルコール消費量<20 g/日)によって占められている. このように明らかな飲酒歴がないにもかかわらず, 肝組織所見はアルコール性肝障害に類似した主に大滴性の脂肪沈着を特徴とする肝障害を示す症例は, 非アルコール性脂肪性肝疾患(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)と呼ばれている¹⁾.

NAFLD症例の肝臓の9割は非特異的炎症性細胞浸潤を伴う小葉中心性の中滴性~大滴性脂肪肝を示すに過ぎない(図2)が, 1割の症例ではこのような変化に加えて肝細胞の一つひとつを取り囲む肝細胞周囲性の線維化や風船様に腫大し淡明化した肝細胞, マロリー体形成などの変化を伴う(図3, 表1)²⁾. このような特徴的な組織学的変化を有する非アルコール性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)に罹患した症例を放置すると, 潜行性に肝の線維

化が進み, 10年程の経過で症例の2割が肝硬変に至る³⁾. 肝硬変からさらに肝不全や肝細胞癌に進展することを考えると, NAFLDの症例が単純性脂肪肝であるのか, NASHであるのかを肝生検標本を用いて病理学的に判別することは症例の予後や積極的な治療介入の必要性を検討する上で大変重要である⁴⁾.

NASHの疾患概念は1998年に確立され, すでに10年が経つ. NASHの主な誘因は肥満であるが, 消化管手術など多様な誘因に伴う二次性NASHの存在も知られている(表2). その発症機序は誘因によって少しずつ異なるため, 未だ詳細な発症機序の明らかでないものがほとんどである. そこで, 二次性NASHと主治医が判断した場合には, 病名を単にNASHと記載するのではなく, 「消化管手術に伴うNASH」のように病因を伺わせる表記を行い, 治療現場に無用な混乱をもたらすことのないように配慮することが望ましい⁵⁾.

原発性NASHの病態とその背景因子である遺伝的素因についての知見も, 近年, わずかずつではあるが蓄積されつつある. 本稿では今までに得られたコンセンサスの大要と近年得られた新たな知見を基に, 今後新たな展開が期待される病態理解に基づいた治療の方略をご紹介します.

おおにし さぶろう, さいばら としじ: 高知大学消化器内科学

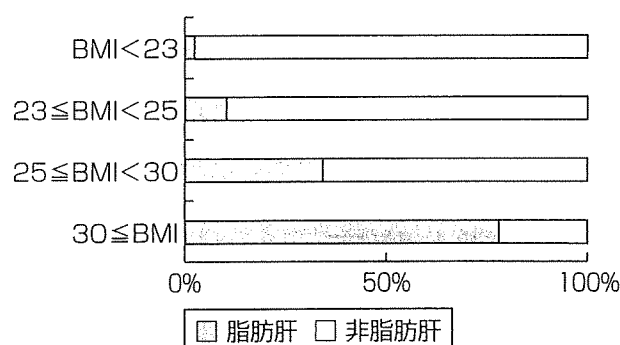


図 1. 肥満と脂肪肝の合併頻度

1. NASHとアルコール性肝炎

Ludwigによる脂肪肝炎 (steatohepatitis) についての報告は 1980 年になされた²⁾。脂肪肝炎をきたす病態は大酒家に認められる極めて重篤なアルコール性肝障害であるアルコール性肝炎と、飲酒量がエタノール換算で 20 g/日以下である NASH の二つに大きくわけられる^{1,5)}。NASH 症例が飲酒歴に乏しく良好な栄養状態を示すのに対して、急性期のアルコール性肝炎では大量の飲酒歴に加えて、発熱や腹水・黄疸などの合併症を伴い易く、1 カ月以内での死亡率が高いなどの特徴的な所見が認められる。このように二つの病態の臨床像は大きく異なるために、正しい病歴を得ることができれば両者を鑑別することはさほど困難ではない。しかし、病歴を得ることが困難な場合に、病理学的所見のみで NASH とアルコール性肝炎の回復期とを正確に鑑別することは極めて困難である。このため、現時点では肝組織像にアルコールが影響を及ぼさないとされる 20 g/日以下の症例に限って、NAFLD や NASH との診断がなされている^{1,5)}。

2. NASH の疫学

Ludwigによる脂肪肝炎 (steatohepatitis) の検討は非飲酒女性についてのみ行われたために、NASH は女性に多いとの誤解が一時的に生じた。

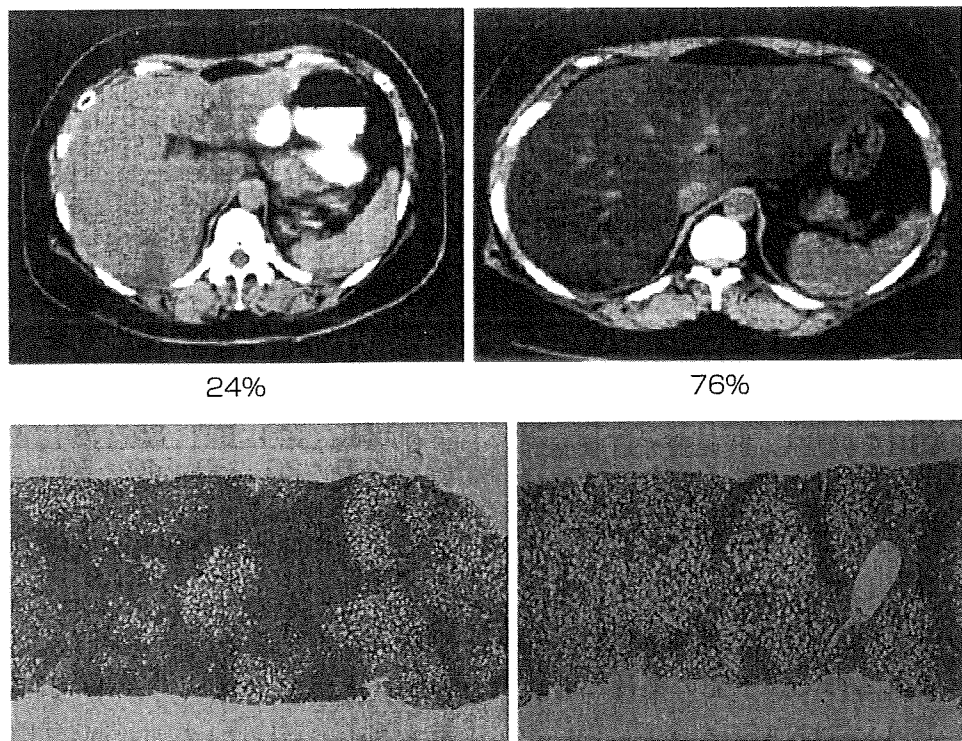
しかし、本邦における本症の有病者数に性差はない (図 4)。ただ、本邦では 20 g/日以上 の飲酒者が男性に圧倒的に多いことを考慮すると、NASH は本来男性に多い疾患である可能性が高い。このような推論は、本症が肥満、特に内臓脂肪型肥満と密接に関連した疾患である事実とも符合する (図 5)。このように考えれば、皮下脂肪型肥満が多く内臓脂肪型肥満が少ない若年女性で NASH・NAFLD が少なく、閉経と共に内臓脂肪の増加が生じて動脈硬化性病変が増加するのと類似した機序により NASH・NAFLD の有病率が上昇するであろうことは容易に理解できる。

30 歳代に比して肥満人口の多い 40～60 歳代以降の男性で NASH 症例が少ないことは注目に値する (図 4)。本邦の 40 歳代以降の男性では 30 歳代に比して 20 g/日以上 の飲酒習慣を持つ頻度が高まるために、肥満に伴う肝障害症例が過小評価されて、アルコール性肝障害と見なされていることを示唆する所見と考えられる。今後、肥満に伴う飲酒者の肝障害について予後評価が必要と考えられる所以である。

3. 脂肪肝をきたしやすい日本人の遺伝的特性

BMI ≥ 30 を肥満の基準とする国際比較では、日本と韓国は肥満頻度の低い国の代表である (図 6)。肥満人口が 400 万人弱に留まる本邦では、2,000 万人に迫る糖尿病とその予備群との間に大きな量的乖離を生じている。このため WHO はアジア太平洋地域では肥満の基準として BMI ≥ 25 を用いるように勧告してきた。しかし、どうしてもそのように大きな乖離が生じるか、その原因は明らかではなかった。

最近、genome-wide な検索から adiponutrin の遺伝子多型 I148M を持つと肝臓の脂肪含量が 2 倍に増加することが明らかにされた⁶⁾。スペイン人を除く白人ではこの遺伝子多型を持つ頻度



%は脂肪滴を有する肝細胞の頻度

図 2. NAFLD における過剰な脂肪沈着

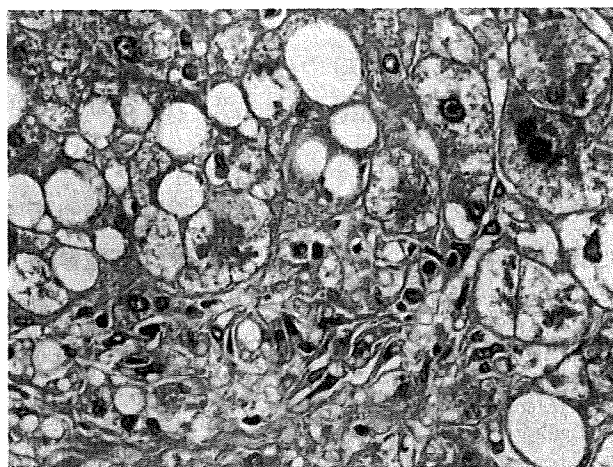


図 3. 脂肪肝炎の病理像

は少なく、スペイン人におけるNAFLDの頻度を高めている可能性が示された。そこで、我々は日本人のNASH症例を対象にこの遺伝子多型の保有率を検討したところ、9割の症例で検出されることが明らかとなった。しかも、変異型の遺伝子多型を有するNASH症例はBMI<30でもNASHを発症するのに対して、野生型のhomozygoteに発症したNASHは欧米人に比肩する高度の

表 1. NASH の主要病理所見

1. 脂肪肝の局在と程度
2. 線維化の様式と程度
3. 炎症性細胞浸潤
4. 肝細胞の変性と壊死
巨大ミトコンドリアと風船様肝細胞
5. マロリー体や核糖原

肥満を合併することも判明した(表3)。この成績は、欧米人に比して肥満の程度の軽い日本人になぜ脂肪肝を背景因子とするNAFLDやNASHが高頻度に発症するのかという問いに答えるものであり、長年の疑問を解きほぐす一助となることが期待される。

4. NASHをきたす高危険群

NAFLDは成人の14%を占める慢性肝疾患で、上述のように肝硬変や肝細胞癌の発症母地となるNASHという疾患概念を内包する。このためNAFLDを今までのように肥満に伴う肝機能異常

表2. Ludwigによる非アルコール性脂肪肝炎の分類

アルコール性	非アルコール性 (NASH)	
	原発性	二次性
	肥満と関係する病態	薬剤性・小腸バイパス手術・その他

として漫然と経過観察することは許されない⁷⁾。では、単純性脂肪肝の肝組織像を示す症例がどのようにしてNASHを発症し、肝硬変や肝細胞癌に進展するのであろうか。肝臓の線維化進展を抑制するためには、どのような症例をNASHあるいはその高危険群として絞り込み、肝生検を行えば良いのであろうか。NASH症例の6割は下記の3群の中に含まれるので、下記の条件に合致する検診受診者についてはNASHを念頭においた精査や生活指導が必要である。

NASHはNAFLDの1割を占め、その15%はBMI $\geq$ 35である。他方、検診受診者におけるBMI $\geq$ 35の頻度は0.2%と推定されている。単純計算すればBMI $\geq$ 35以上の症例の75%がNASHに罹患している計算になる。従って、BMI $\geq$ 35で肝障害のある非飲酒者はNASHである確率が極めて高い高危険群とみなすことが可能で、速やかに減量を始めとする生活習慣改善に着手することが求められる。当然のことながら、高度の肥満を伴う飲酒者もまた、同様の生活習慣改善プログラムへの参加が求められることは言うまでもないが、興味あることに肝臓外来を受診するこのような症例の血小板数は20万/ μ l以上がほとんどである。おそらく進行した肝病変を有する症例は、肥満に伴う何らかの合併症により他科の治療を受けているものと推定される。

では、35>BMI $\geq$ 30の症例はどうであろうか。このような症例はNASHの23%、検診受診者の3%を占める。検診を受診した35>BMI $\geq$ 30の非飲酒者の半数はALT>30を示し、ALT高値を示す症例のほぼ全例で脂肪肝の合併が観察されることからNAFLDと考えられる。NASH症例

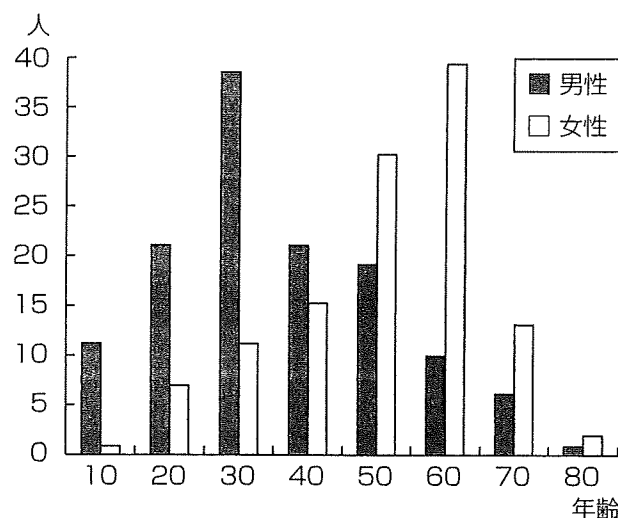
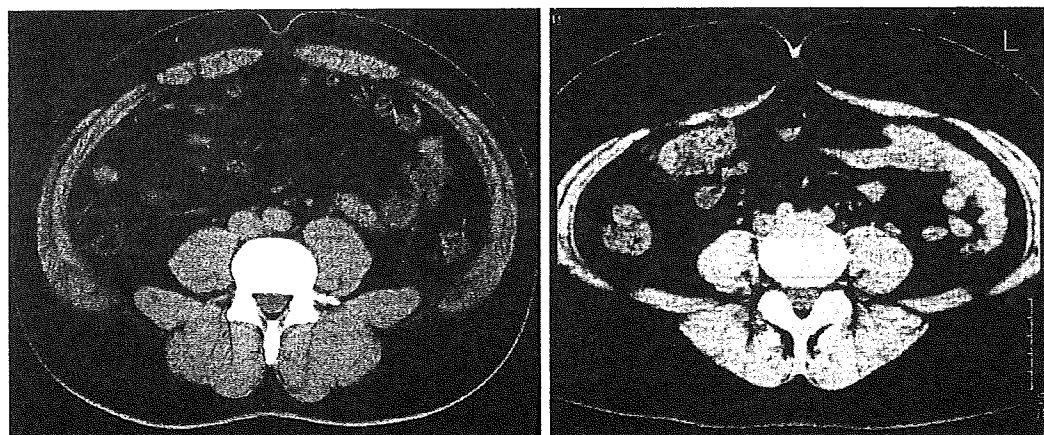


図4. NASHの年齢別分布

ではメタボリックシンドロームの合併が多く(図7)、メタボリックシンドロームを伴う肝障害を示す35>BMI $\geq$ 30の非飲酒者は3人に1人程度がNASHに罹患していると推定される。従って、このような症例にも積極的に生活習慣改善プログラムへの参加を促す必要がある。肥満や肝障害が改善されない場合には、肝臓の線維化マーカーや血小板数(<20万/ μ l)などを参考に肝生検の適応を考慮する必要がある(図8)⁵⁾。

肝障害が進展するとしばしば血小板の減少が観察される。従って、30>BMI $\geq$ 25であっても血小板数<20万/ μ lであればNASHの高危険群ではなかろうか。この集団はNASHの19%、健診受診者の25%を占める。30>BMI $\geq$ 25で血小板数<20万/ μ lの健診受診者の内、ALT>30 IU/Lを示す症例は3割で、その2/3は脂肪肝を伴っている。このため30>BMI $\geq$ 25であっても血小板数<20万/ μ lであれば、メタボリックシンドロームと脂肪肝を伴う非飲酒者では、7~8人に1人程度がNASHであると推定される。経時的に血小板数が減少するような症例では肝臓の線維化進行が予想されるために、脂肪肝の程度は軽くとも積極的に肝臓の線維化マーカーや腹部超音波検査を施行して脾腫の有無などを参考に肝生検の適応を考えなければならない。

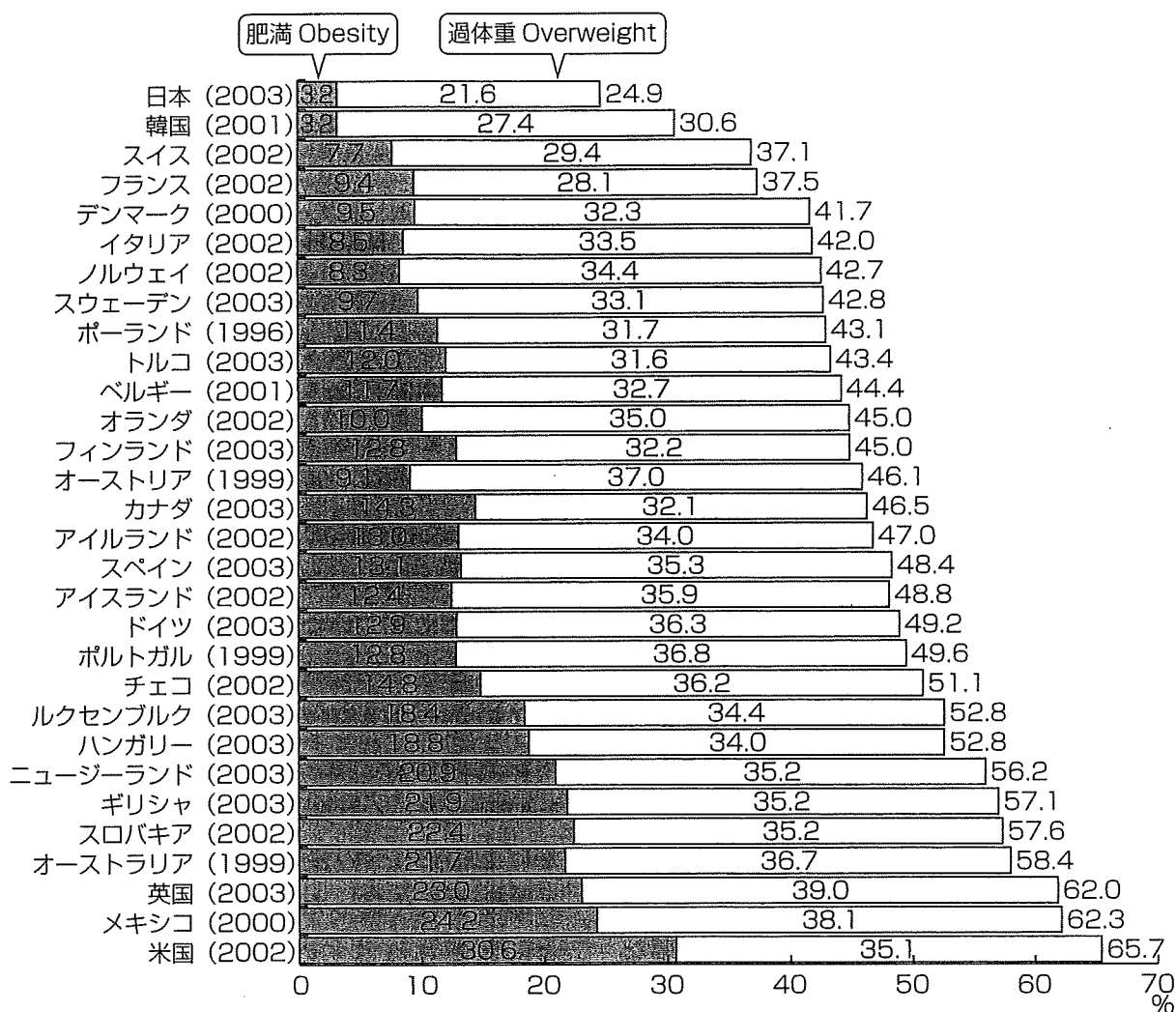
上記以外の残り4割のNASHは通常の健診受診



内臓脂肪性肥満

皮下脂肪性肥満

図 5. NASH では高率に内臓脂肪性肥満を伴う

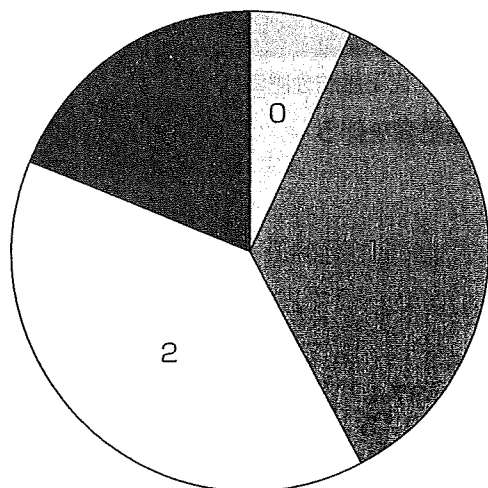


(注) 肥満比率は BMI30 以上, 過体重比率は BMI25 ~ 30 の人口比率である。BMI=体重 (kg)/身長 (m)²
オーストラリア, ニュージーランド, 英国, 米国は自己申告情報ではなく健康調査にもとづく数値。

図 6. 肥満頻度の国際比較
成人肥満比率の各国比較 (OECD 諸国, 2003 年までの最近年)

表 3. 症例の 9 割が変異型遺伝子を有する日本人の NASH

遺伝子型	野性型/変異型	野性型/野性型
BMI	28.1 + / - 4.3	34.1 + / - 3.7
Liver volume (ml)	1,090 + / - 231	1,752 + / - 107
Liver CT number	30.2 ± 13.2	19.5 + / - 8.7
Hepatic steatosis score	2.09 + / - 0.54	2.86 + / - 0.36



数値は合併する空腹時高血糖, 高血圧, 脂質異常の数を示す

図 7. NASHにおけるメタボリックシンドロームの合併率

者が多数存在する領域と重なって分布するため, 通常の健診受診者についてNASHの発見を目的とする高危険群の設定を行うことは容易ではない。

5. 肝生検により単純性脂肪肝と診断されたNAFLD症例の取り扱い

NASHでは高頻度に風船様肝細胞が観察される。他方, 風船様肝細胞を欠くNAFLD症例の多くは単純性脂肪肝と診断される。これは風船様肝細胞の存在がNAFLDの予後を規定する重要な因子であるためである^{1, 2, 5)}。しかし, 単純性脂肪肝と診断された症例も経過を追うとその1~4割の症例がNASHに進展すると報告されている⁸⁾。なぜこのように進展率に大きなばらつきが認められるのであろうか。典型例の風船様肝細胞の

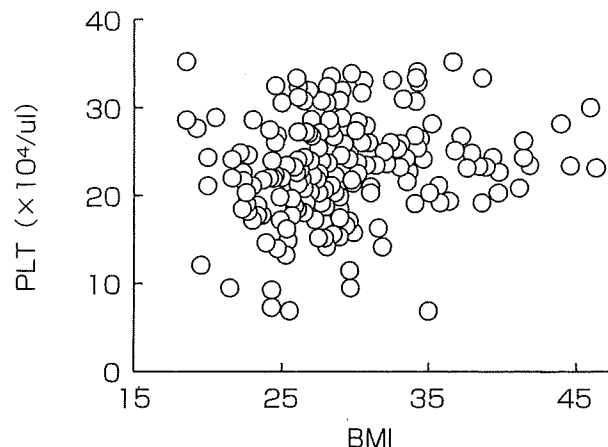


図 8. NASH 症例の BMI と血小板数

診断は極めて容易であるが, 風船様変化の程度が軽くて判断に迷う症例もしばしば認められるからと考えられる。単純性脂肪肝からNASHへの進展の頻度には, 真に単純性脂肪肝からNASHに進展した症例に加えて, NASHであるにもかかわらず最初の標本にNASHと診断するに足る病変部位が含まれていなかったために単純性脂肪肝と診断されたNASH症例も含まれる。

このため, NASHの診断を厳格にした検討では単純性脂肪肝と誤って判断された症例が次回NASHと正しく診断される可能性があるため, 見かけ上NASHへの移行率が高くなる。逆に, NASHの診断を緩く扱った検討では本来単純性脂肪肝と診断されるはずのNASHが増加するので, 2度目の肝生検で単純性脂肪肝と診断される症例が増加する一方, 単純性脂肪肝からNASHへの進展は低く見積もられることになる。その結果, NASHの診断を厳格に取り扱う傾向の強い施設ではNASHの見落としが増加し, 経過観察中に

NASHへの移行を示す症例が多くなりやすく、診断を緩く扱った施設では単純性脂肪肝症例の混入によりNASHの予後が良好との報告につながり易いものと考えられる。

従って、肝生検により単純性脂肪肝と診断された症例についても、NASH症例であるにもかかわらず単純性脂肪肝と診断された可能性を常に考慮して、減量などの生活習慣改善と高血圧、耐糖能異常、脂質異常などの合併症の治療を行いつつ、経過観察を怠らないように努めなければならない。第45回日本肝臓学会総会で行われたコンセンサスシンポジウムでの討議の結果は、肝臓専門医の間でも肝生検により単純性脂肪肝と診断されたNAFLD症例の取り扱いに温度差のあることを示唆しており、今後、このような症例の予後について真摯な検討が待たれる⁵⁾。

6. NASHの予後

本邦におけるNASHの予後は未だ明らかでないが、多数例での検討がなされた欧米では10年程するとNASHの2割程度が肝硬変に移行すると考えられている⁹⁾。本邦のNASHの症例数は100万人程度なので、20年後には現在のC型肝炎による肝硬変罹患症例数に匹敵する数のNASH関連肝硬変が潜行性に出現することになりかねない¹⁰⁾。本邦における肝発癌は現在、年間3万例程度であり、その約3%に当たる1,000症例程度がNASHによるものではないかと推定されている。従って、NASHにおける発癌率は0.1%/年と計算される。しかし、本邦におけるNASH関連肝細胞癌の7割以上が肝硬変を合併することや発症時の平均年齢が70歳であることを考慮すれば、NASH関連肝細胞癌の発症頻度は現在のNASH症例数を基に計算するのではなく、20年前のNAFLDを母集団として発生したとして発症率を算出する方がより真の値に近いと考えられる。なぜならば、1985年頃の健診受診者におけるNAFLDの頻度はウイルス肝炎とアルコール性肝障害の頻度を考

慮すれば、成人の1~2%、多くても100~200万人に過ぎなかったと推定されるからである。それが今やNAFLD症例は1,300~1,400万人と急増している。従って、近年急増したNASH症例をすべて母集団に組み入れた発癌率0.1%/年は明らかに過小評価である。

当時のNAFLD罹患者数を成人の1%に当たる100万人とすれば、10万人程度であったNASH症例の一部が20年の経過によって肝硬変に進展し、今年1,000人に肝細胞癌が発生したと考えることができる。現在のNAFLDの症例数を1,300万人と仮定すると、20年後には毎年13,000例程度の肝細胞癌が発生すると危惧される。今後、C型肝炎ウイルスを背景とする肝細胞癌症例は漸減するので、20年後には肝細胞癌の半数近くがNASHを背景とするものによって占められる可能性も危惧される。

7. NAFLD・NASHにおける高インスリン血症

過食すると過剰なエネルギーは肝臓で脂肪酸に変換される一方、合成された脂肪酸は酸化を受けてケトン体に変換されるほか、VLDLとして肝静脈へと放出される。この脂肪酸の合成と消費のバランスは肝細胞内のATPレベルに依存しており、インスリンを始めとする種々の因子の影響下にある。肥満を生じて高インスリン血症をきたすと、脂肪酸の合成は亢進する一方、脂肪酸酸化やVLDLの合成は抑制される。NASHの背景因子として最も重要な所見である脂肪肝は、このようにして惹起される。

非飲酒者における肝障害はBMI $\geq$ 25の肥満者を中心に観察され、非肥満者における肝障害の頻度が2%であるのに比して、肥満者における肝障害の頻度は20%に達する¹¹⁾。同様に、空腹時インスリン値 $<10\mu\text{U/ml}$ の検診受診者における肝障害の頻度が2%であるのに比して、空腹時インスリン値 $\geq 10\mu\text{U/ml}$ の検診受診者におけ

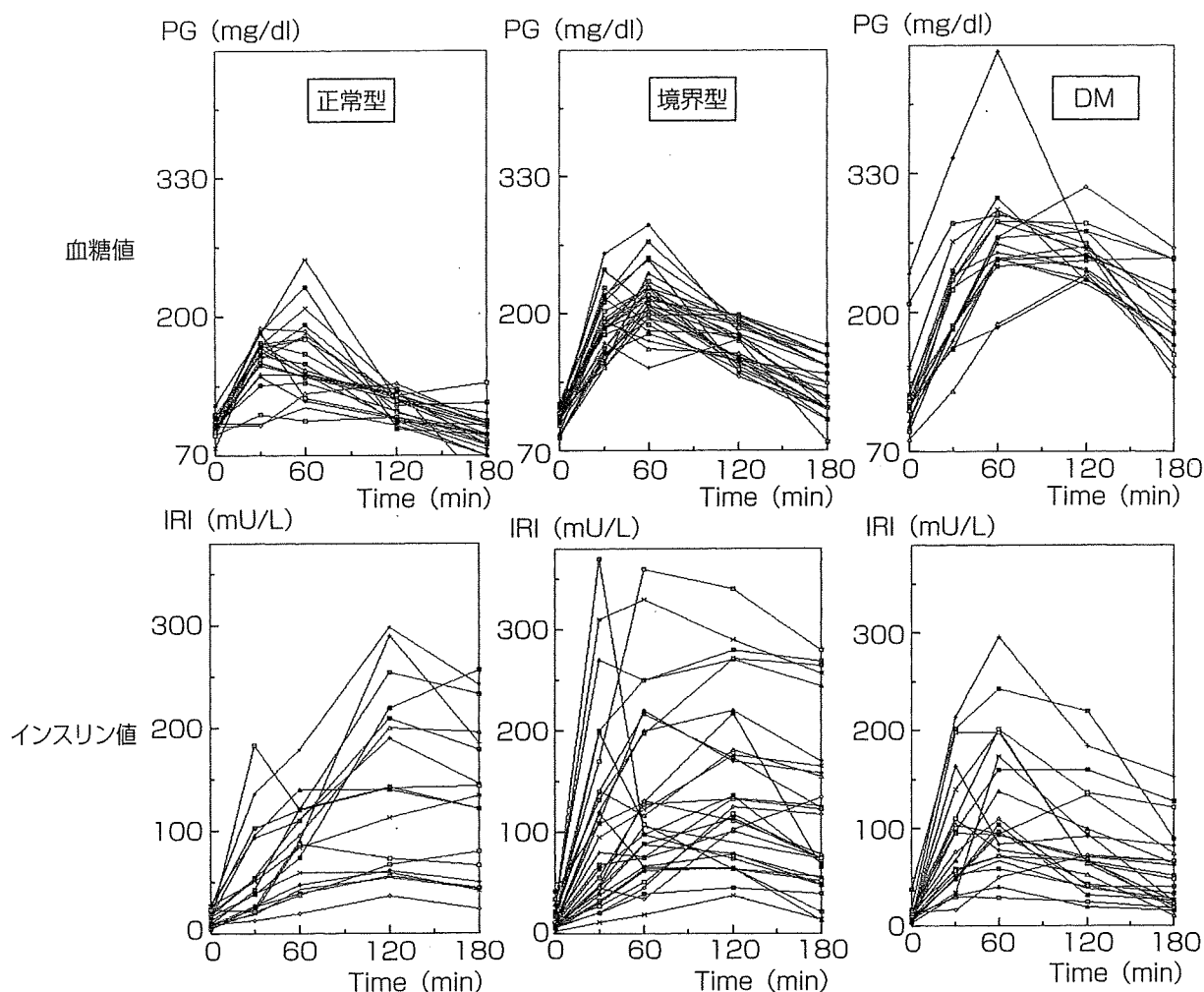


図 9. NASH における 75 g 経口糖負荷試験

る肝障害の頻度は 20% に達する。75 g 経口糖負荷試験の成績からは NASH 症例の大半では肝臓におけるインスリン抵抗性の獲得が観察され、筋肉におけるインスリン抵抗性の獲得と共に耐糖能が低下していた (図 9)。この成績は NAFLD や NASH 症例では肝細胞は常に高濃度のインスリンに曝されていることを意味し、NAFLD や NASH 症例では脂肪酸合成が亢進しやすく、肝臓における脂肪酸酸化が抑制されやすい状況に常にあることを示唆している。

8. 脂肪酸クリアランス能の低下と NASH

肝臓における脂肪酸クリアランスを脂肪酸アナログである ^{123}I 標識 BMIPP を用いて検討した

(図 10) ところ、脂肪酸クリアランスの低い症例が NASH 症例の 5% に観察された¹²⁾。そこで、脂肪酸クリアランスの低下した症例に PPAR- α の agonist であるベザフィブラートを投与したところ、脂肪酸クリアランスは改善され脂肪肝も改善された (図 11)。この成績は持続的高インスリン血症による肝細胞での中性脂肪の過剰産生と分泌抑制のみならず、肝細胞における脂肪酸クリアランス能に障害を持つ症例も NASH の高危険群であることを示している。

9. NASH における性差

インスリン以外にも、肝の脂肪酸代謝に影響を与えて肝臓に脂肪酸の集積をもたらす多くの

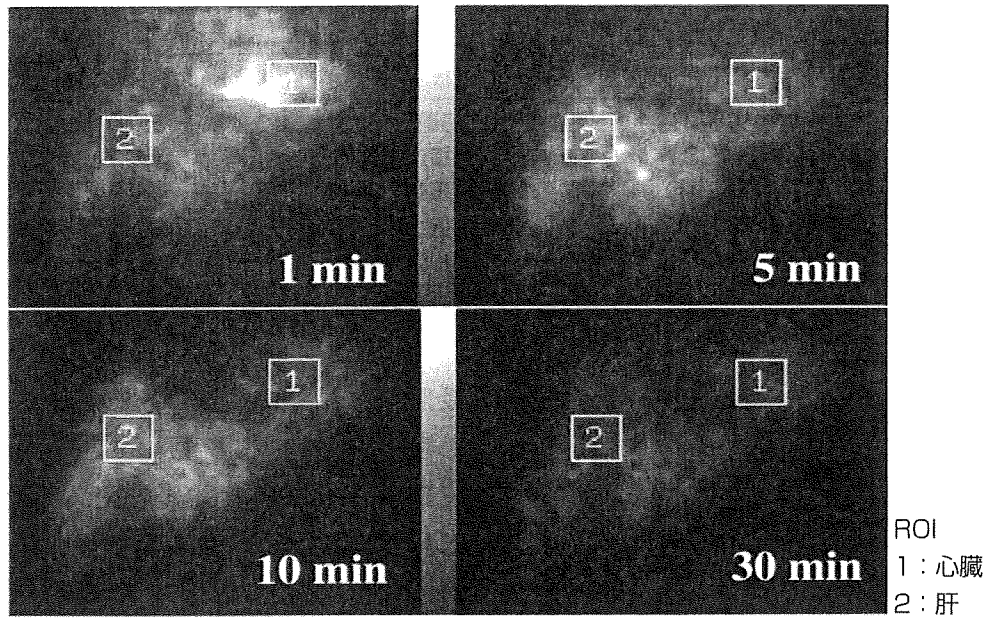
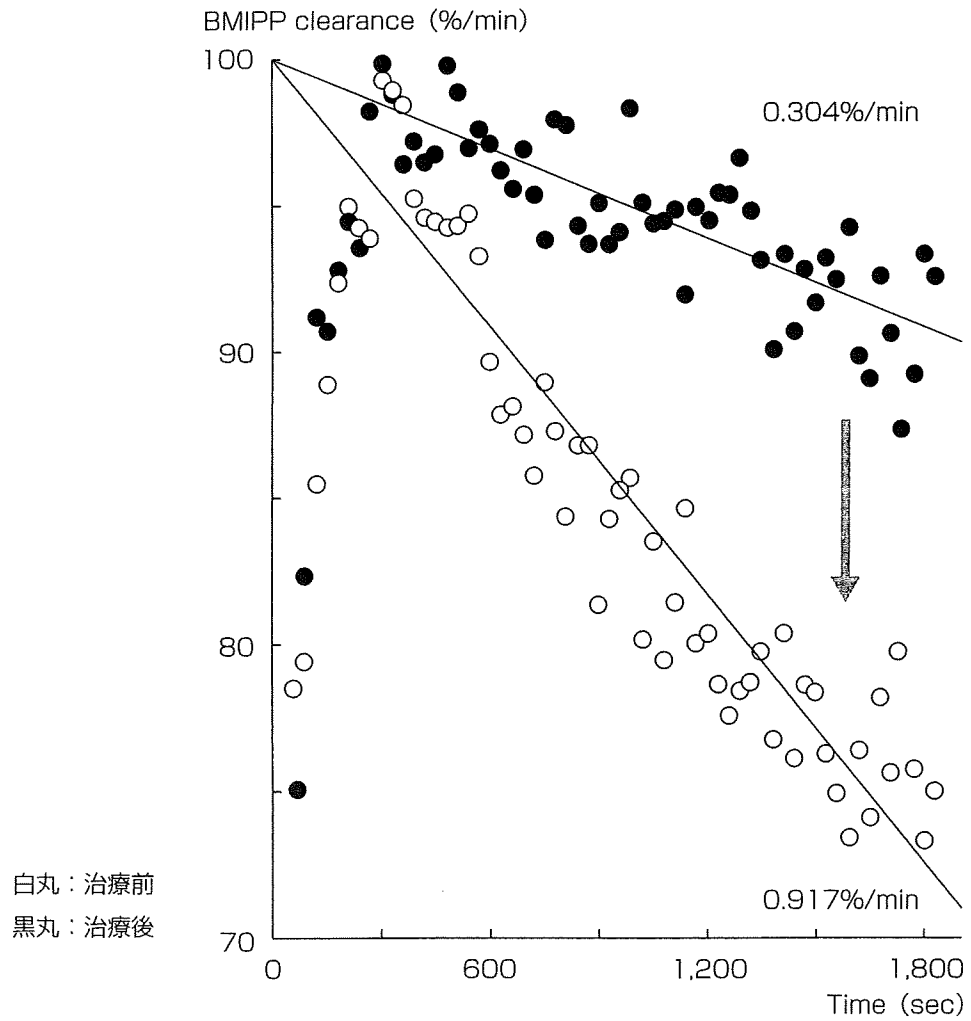


図 10. BMIPP を用いた脂肪酸酸化の画像化



治療により肝臓での脂肪酸の酸化が著明に改善

図 11. タモキシフェン誘発性 NASH に対するベザフィブラートの効果

表 4. NASH の遺伝的背景

遺伝子名	SNP	機能	Odds Ratio
β AdRc	W64R	俟約遺伝子	3.00
MTP	G493T	中性脂肪移送関連蛋白	3.02
IL-1 β	T511C	炎症惹起物質	4.73
resistin	C420G	インスリン抵抗性惹起物質	2.31
MnSOD	T1183C	フリーラジカルスキャベンジャー	2.38

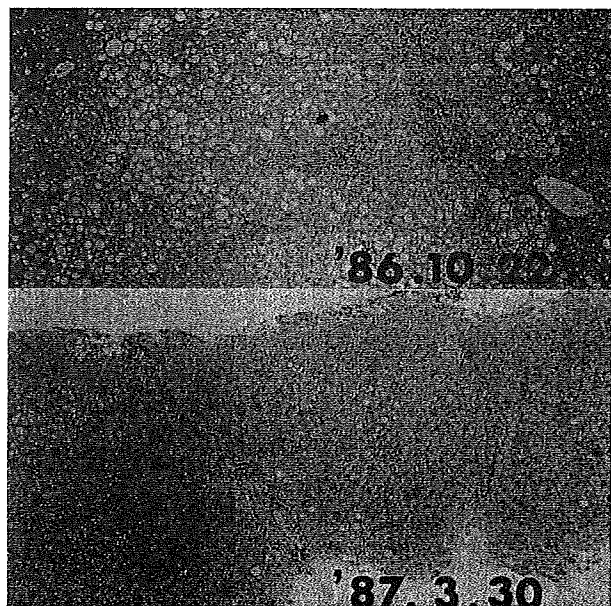


図 12

受診者においても肝障害の頻度は女性 6% に対して男性 26% と男性優位である。肝障害を伴う症例の多くは BMI $\geq$ 25 の肥満を伴っており、同じ程度の肥満でも内臓脂肪性肥満を伴う症例に肝障害の頻度が高い。内臓脂肪性肥満は性差の最たるものの一つであり、女性でもエストロゲン量が激減する閉経期以降は内臓脂肪性肥満が増加する。このため閉経前には NASH 症例が少ないにもかかわらず、閉経後に NASH 症例が急増するのではないかと考えられる (図 4)。

閉経後に高中性脂肪血症を伴う NAFLD を発症した症例や遺伝的に肝臓における脂肪酸酸化能が低下している症例は、フェノフィブラートによる治療の良い適応と考えられる。

10. NASH の治療戦略

遺伝的・環境的因子が NASH の発症に影響するものと考えられる (表 4)。その一つがエストロゲンである。エストロゲン拮抗剤であるタモキシフェンを投与すると肝細胞における脂肪酸 β 酸化能が低下する。例えば、過体重者 (25>BMI $\geq$ 23) にタモキシフェンを投与すると、3 割程度の症例に脂肪肝を誘発することができる。従って、生来、脂肪酸クリアランスが十分でない症例がエストロゲン欠乏状態に陥ればより高度な脂肪肝を生じて、NASH の高危険群となることが容易に予想できる¹³⁾。

男性の肝障害の頻度は女性の約 2 倍であることが知られており、肝発癌率も男性で高い。その原因としては飲酒やウイルス肝炎の関与が想定されてきたが、これらの関与を除外した検診

生活習慣の改変を伴う減量は、現時点における NASH に対するほぼ唯一の確立された治療法である¹⁴⁾。順調に減量を行うことができれば、肝臓の組織学的改善をもたらすことも可能である (図 12)。しかし、1.5 kg/週以上の過度の減量は時に NASH の増悪をきたすことがあるので、留意が必要である。また、NAFLD の QOL や生命予後を低下させる要因に対して介入が必要である点については、十分なコンセンサスがすでに形成されており、糖尿病や高血圧、脂質異常に対する薬物療法は広く行われていると考えられる。これを受けて、第 45 回日本肝臓学会総会の NASH についてのコンセンサスミーティングでは、食事・運動併用療法による治療効果が得られない

表 5. NASH のコンセンサスミーティングの結果 (一部)

Recommendation			
• NAFLD では QOL や生命予後を低下させる要因に対する介入が必要である。			
同意する 84% 同意しない 2% どちらでもない 14%			
Consensus statement			
• 放置すれば、肝臓の線維化は進展する			
NAFLD		NASH	
同意する	39%	同意する	86%
同意しない	21%	同意しない	6%
どちらでもない	40%	どちらでもない	8%

場合は、病態に応じた治療を考慮するとの recommendation と、今後新たに開発される NASH に対する治療法の有効性を証明するにはよりエビデンスレベルの高い検証が必要であるとの consensus statement が採択された (表 5)⁵⁾。

肝臓におけるアディポカインやサイトカインのバランスの破綻、過剰な酸化ストレスなどは NASH における肝病変の進展に重要な役割を果たすことが報告されている¹⁵⁾。しかし、残念ながら現時点では減量以外に推奨に値する長期的な治療法は確立されておらず、QOL を損なわない臨床応用可能な治療法・治療薬の開発が望ましいとの見解も同時に採択された。日本で最初のコンセンサスミーティングが開催されたことは、今後の NASH 治療研究における方向性を明確とする上で重要な一歩であり、今後の展開が待たれる。

文 献

- 1) 日本肝臓学会編：NASH・NAFLD の診療ガイド。文光堂，東京，2006。
- 2) Ludwig J, et al: Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc 55: 434-438, 1980.
- 3) Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH: Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. Hepatology 37: 1202-1219, 2003.
- 4) Shimada M, et al: Hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic steatohepatitis. J Hepatol 37: 154-160, 2002.
- 5) Consensus Statement, 第 45 回日本肝臓学会総会 コンセンサスミーティング 4 NASH 肝臓: (in preparation)
- 6) Romeo S, et al: Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. Nat Genet 40: 1461-1465, 2008.
- 7) ADAMS LA, et al: The Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Population-Based Cohort Study. Gastroenterology 129: 113-121, 2005.
- 8) Adams LA, et al: The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. J Hepatol 43: 132-138, 2005.
- 9) Ekstedt M, et al: Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. Hepatology 44: 865-873, 2006.
- 10) 青柳 裕, 他: 本邦の肝硬変の成因と現状, 肝硬変の成因別実態 2008. 恩地森一監修. 中外医学社, 東京, 2008, 1-14.
- 11) 大西三朗, 西原利治: NAFLD, NASH の病態と臨床. 日本内科学会誌 98 (臨時増刊号): 48-53, 2009.
- 12) Fukumoto M, et al: In vivo imaging of hepatic fatty acid metabolism in patients with nonalcoholic steatohepatitis using semiquantitative ¹²³I-BMIPP liver scan. Hepatol Res 33: 105-109, 2005.
- 13) Nemoto Y, et al: Altered expression of fatty acid-metabolizing enzymes in aromatase-deficient mice. J Clin Invest 105: 1819-1825, 2000.
- 14) Gasteyger C, et al: Effect of a dietary-induced weight loss on liver enzymes in obese subjects. Am J Clin Nutr 87: 1141-1147, 2008.
- 15) Tokushige K, et al: Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. J Hepatol 46: 1104-1110, 2007.

8. 非アルコール性脂肪肝炎の臨床の進展

高知大学医学部消化器内科准教授 西原利治

key words weight management, caloric restriction, bariatric surgery, insulin sensitizer, insulin resistance, obesity

動 向

非アルコール性脂肪肝炎（NASH）は脂肪肝とインスリン抵抗性を基盤として発症する原因不明の慢性肝疾患である。肥満者に多く、肝硬変や肝細胞癌の発症母地となる。本邦ではすでに検診受診者の1%が本症に罹患しており、肝機能異常を伴う高度の肥満者におけるNASHの罹患頻度は実に30%を超える¹⁾。このような症例は肝硬変・肝細胞癌への進展過程にあるが、十分な周知がなされていないこともあり症例の発掘は進んでいないのが現状である²⁾。

NASHの6割はメタボリックシンドロームを合併しており、メタボリックシンドロームの4割は肝障害を合併している。このような視点に立つと、内臓肥満やインスリン抵抗性といった疾患背景を共有するNASHとメタボリックシンドロームには共通点も多い。インスリン抵抗性改善剤に高い期待が寄せられているが、NASHを取り巻く課題のすべてを取り除く夢の薬とはなり得ないことも事実である。現時点では本症に対する有効性が確立された治療法はなく、減量を中心とした保存的治療が主に行われているので、生活習慣の是正を通じた肥満解消の必要性を広く周知し、メタボリックシンドロームの予防に努めることが

NASHの抑制に繋がると期待される³⁾。このレビューでは、NASHとメタボリックシンドロームにおいてどのような新たな知見が得られ、それがどのように臨床に応用されようとしているのか、NASHを取り巻く現況について紹介したい。

A. NASHとメタボリックシンドローム

今世紀に入っても過食と運動不足に伴う肥満者の増加に歯止めがかからない。本邦における肥満者は検診受診者の1/4、脂肪肝症例も検診受診者の1/4～1/3を占めるようになった。飲酒やウイルス感染、自己免疫性疾患や先天性代謝異常、それに薬物性肝障害など既知の肝障害をきたす病態を除外しても、肥満者の3割は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）と呼ばれる脂肪肝を伴う原因不明の肝障害に罹患している。このような症例は長期予後が大きく異なるとの理由から、肝組織像に基づき大きく2群に分類されている。非アルコール性脂肪肝炎（NASH）と呼ばれる風船様肝細胞と呼ばれる腫大した肝細胞やMallory体の出現、線維化の進展を伴う症例を特徴とする群と、それ以外の単純性脂肪肝と呼ばれる群である。

肝生検が経時的に行われた103例のNAFLDの

長期経過観察報告⁴⁾では、線維化を認めない単純性脂肪肝25症例中7例が後の肝生検で中等度以上の線維化を示すようになったことが報告された。また、この期間中新たに肝硬変に進展した症例は9例あり、比較的線維化の進展していた症例からの移行が多いものの、最初の肝生検で線維化を全く認めなかった症例からも2例が肝硬変に移行していた。一方、組織学的に改善を認めて線維化を全く認めなくなった症例も16%に及ぶことから、単純性脂肪肝とNASHの両群は相互に移行し得る病態であり、病期の違いを反映するものと理解されている。

10～15年の経過観察を行ったNASH症例に関する別の論文でも、症例の15%が肝硬変に移行したことが示された⁵⁾。この論文でも1990年代になされた従前の報告と同じくNASH症例が肝硬変に進展することが確認されており、脂肪肝からNASHが発症し、線維化の進展を経て肝硬変に至ることについてはもう十分な検証がなされたと考えられる。この論文で新たに明らかにされた点は、NASHの予後を悪化させる要因として肝臓関連死と共に心血管関連死が関与することを示したことにある。

NASHの6割はメタボリックシンドロームを合併しており、メタボリックシンドロームの4割は肝障害を合併している。以前よりNASHの背景には肥満やインスリン抵抗性の存在することが指摘されており、今回の報告は両疾患の背景因子に共通点の多いことを改めて印象づける結果となった⁶⁻⁸⁾。

B. NASHの診断

早期のNASH症例を発見し、生活習慣に介入することがNASHの予後改善には肝要である。NASHに対する治療が有効かどうかを評価するためには、NASHの活動度と病期を正確に記載

し、治療前後で比較することが不可欠である。2005年にこのような目的を達成するために、脂肪肝、風船様肝細胞、炎症性細胞浸潤を定量的に評価するNAFLD活動性スコア(NAS)が提唱された⁹⁾。しかし、診断を侵襲的検査である肝生検のみに頼っているのは、早期治療の機会を失いかねない¹⁰⁾。

NASHの非観血的診断法としてFibroTestやSteatoTestがすでに提唱されている¹¹⁾が、より精度を高める目的でさらに多くの因子を解析するNASH testなども提唱された^{12,13)}。また、造影腹部超音波検査を用いてKupffer細胞の機能異常を検出してNASHへの進展の指標としようとする報告¹⁴⁾や、アポトーシスのマーカーであるcytokeratin-18がNASHで高値を示すとの報告もなされている¹⁵⁾。今後、これらの診断法の有用性などに関する検証が必要である。また、NASHの診断のみならず、病期や活動度といった定量的指標を非観血的に評価できる検査が開発されれば、治療や予後の推定という観点から大変有用な手段となるであろう¹⁶⁾。また、このような病理学的指標によりNASHの長期予後予測が可能なのか、それとも病理学的な病期にTNF- α などの炎症性サイトカインを分泌するマクロファージの脂肪組織への浸潤の程度やレプチンなどを分泌する脂肪細胞の活性化を加えた指標を考える必要があるのか、これらの点についても今後の検討が待たれる。

C. 脂肪肝の程度を規定する因子

肝臓は内臓脂肪、皮下脂肪とならんで多量の脂肪を貯蔵できる臓器である。動物は糖を蓄える能力に乏しいので、過食と運動不足による肥満が生じるとこれらの臓器に脂肪が沈着する。脂肪肝の程度を規定しているのは、脂肪酸の合成と利用、血中から肝細胞への脂肪酸・中性脂肪の取り込み

と肝細胞からのVLDL分泌のバランスである。NAFLD活動度スコアは脂肪肝の程度、風船様肝細胞の頻度、炎症の程度の3因子から決定されるため、体脂肪の分布¹⁷⁾を理解することと共に肝細胞への脂肪沈着が生じる機構を理解することはNASHの活動度を低減する方策を探る一助になると考えられる¹⁸⁻²¹⁾。

NAFLDをきたした肝臓ではdiacylglycerolやtriglycerol、遊離コレステロール量が増加し、n-3系の多価不飽和脂肪酸量が減少している²²⁾。脂肪酸は肝細胞に対して強い障害性を有する²³⁾ため、肝細胞に脂肪酸負荷が生じた時には代償的にdiacylglycerol acyl transferaseの活性が高まり中性脂肪の合成を生じ、肝細胞傷害を緩和すると考えられる^{24,25)}。実際、高度肥満のNAFLD症例では脂肪酸合成能が亢進していると報告されている²⁶⁾。脂肪酸合成に関与する遺伝子群は転写因子であるSREBP-1cやcannabinoid受容体の下流にあることから、高インスリン血症やcannabinoid受容体の活性化を介した脂肪酸合成亢進がNAFLDの発症に関与する可能性も示唆されている^{27,28)}。

D. 肝細胞傷害を惹起する因子

脂肪酸の肝細胞への沈着は活動度を規定する一因子である^{22,29,30)}。しかし、n-3系の多価不飽和脂肪酸/n-6系の多価不飽和脂肪酸比の低下に示されるような脂質構成の偏倚が細胞傷害性の強い脂肪酸の集積に直ちに繋がって肝細胞傷害障害をきたすということの良いのでしょうか。このような状況下ではすでに述べたように代償的にdiacylglycerol acyl transferaseの活性が高まっており、中性脂肪を合成することにより脂肪酸による肝細胞傷害が緩和されていると考えられる^{24,25)}。したがって、細胞傷害性の強い脂肪酸の集積のみでは、風船様肝細胞の出現やMallory

体の出現を十分に説明することが困難である²¹⁾。風船様肝細胞やMallory体の出現が示唆する別のシナリオを考えてみよう³¹⁾。

例えば、脂肪酸によるERストレスなどによってシャペロン蛋白の産生障害や機能障害が生じると細胞内蛋白質に正しい三次元構造を取らせることが困難となり³²⁾、プロテオソームで処理しきれないほどの変性蛋白質が細胞内に蓄積する可能性はどうか。リソソームに過剰な負荷がかかるとリソソームからのカテプシンBの逸脱が生じ、酸化ストレスを受けているミトコンドリアからのチトクロームcが逸脱することにより、肝細胞はアポトーシスに陥るとの仮説も成立し得る³³⁾。その過程で風船様肝細胞やMallory体が高頻度に出現するといったシナリオの方が状況をより良く説明できるのではなかろうか。

E. 脂肪組織における炎症を規定する因子

アディポカインは脂肪細胞の活性化に重要な役割を果たしている。TNF- α 、レプチン、IL-6、アディポネクチン、PAI-1などおなじみの因子に加えて、ANG II、レジスチン、アディプシンやヴィスタチンなど次々と新たなアディポカインの発見と機能解析が進められている³⁴⁾。その結果、インスリン抵抗性などの代謝異常出現に重要な役割を果たしている脂肪細胞から分泌されるレプチンやIL-6、脂肪組織内に浸潤したマクロファージから分泌されるTNF- α などの炎症性サイトカインの発現が肥満に伴って亢進していることが明らかとなった²⁹⁾。なかでもマクロファージの増殖因子であるレプチン³⁵⁾は脂肪組織へのマクロファージの浸潤あるいは脂肪細胞のマクロファージ様細胞への分化を通じて、脂肪組織での免疫応答に深く関与しているのではないかと考えられている³⁶⁾。他方、アディポネクチンは中枢神経系に作用して食欲を亢進する一方、脂肪細胞の分化

を促して血清脂質異常を改善すると共にインスリン抵抗性を著明に改善することが知られている。また、肝星細胞の増殖を抑制し肝線維化を防ぐ可能性が示されている。今後、アディポネクチンの分泌を促進する薬剤をどのような形でNASH治療に導入すれば良いか、検討が続けられている³⁷⁻⁴³⁾。

F. 肝内における炎症を規定する因子

門脈に流入する多量のエンドトキシンはKupffer細胞を介して肝内で散発的に局所的な炎症を惹起して、食餌性抗原に対する腸管トランスを維持していると考えられる。しかし、このような軽微な局所的な炎症は持続することなく、通常であれば短時間の内に終息する。このような炎症の終息に肝細胞が関与しているのではないかと指摘は古くからあり、好中球の遊走を阻害し、IL-1やTNF- α の分泌を抑制するのみならず、リンパ球の増殖阻害など多岐にわたって抗炎症作用を発揮するn-3系の多価不飽和脂肪酸の関与が想定されてきた。NAFLDを発症した肝臓ではn-3系の多価不飽和脂肪酸の量が減少し、n-3系の多価不飽和脂肪酸/ n-6系の多価不飽和脂肪酸比の低下をきたしたために、NAFLDの肝内に炎症がいったん生じると持続しやすいという可能性は念頭に置く価値がある⁴⁴⁾。

G. NASHの病期を規定する因子

病期は肝臓の線維化の程度で定義される。ウイルス性慢性肝炎では肝内に存在するKupffer細胞やリンパ球の活性化により生じた門脈域における持続炎症が肝細胞壊死をきたし、肝臓の線維化は脱落した肝細胞を補填する形で進行する。これに対して、NASHにおける線維化は中心静脈域を中心とした類銅の線維化から始まり、個々の肝細胞周囲性に線維を伸ばしてゆくことから、肝細胞の

壊死後の修復機転が中心をなすウイルス性慢性肝炎における線維化とは少し趣を異にするように思われる^{15,22,45-48)}。NASHの肝臓の組織像をウイルス性慢性肝炎と比較すると炎症に乏しい。そのかわりに風船様肝細胞やMallory体、巨大ミトコンドリアなどアポトーシスの関与を窺わせる所見がしばしば観察され、肝病変の進展への関与が示唆されている。風船様肝細胞の出現やMallory体の出現に代表されるERストレスが酸化ストレスと相俟ってミトコンドリア障害を誘発して、肝細胞のアポトーシスを亢進させる。肝細胞のアポトーシスが刺激となって肝星細胞の活性化が生じる⁴⁹⁾。活性化肝星細胞は通常、NK細胞により排除されるが⁵⁰⁻⁵³⁾、肝細胞のアポトーシスが高頻度で持続し、レプチンやTGF- β 、インスリンといった線維化を促進するサイトカインの分泌亢進が生じると活性化肝星細胞が生き延びて中心静脈域を中心とした類銅の線維化を推進するのではなかろうか^{32,34)}。NASHの病期進展に影響を及ぼす因子としてマクロファージの脂肪組織への浸潤やTNF- α の産生を考慮するとすれば、マクロファージの浸潤程度と相関することが知られているbody mass index (BMI)²⁹⁾やインスリン抵抗性の指標や糖尿病の程度⁵⁴⁾、レプチン値³⁵⁾など臨床的な指標を組織学的所見に加味して予後を考える必要があるのか、課題は尽きない。

H. NAFLDの治療効果判定と減量の治療効果

脂肪肝、風船様肝細胞、炎症性細胞浸潤を定量的に評価するNAFLD活動性スコア(NAS)が提唱され⁹⁾、治療の方向性は示された。しかし、具体的にどのような治療を行えば効率よくこれらの指標を改善できるか、必ずしも明らかになったとはいえない。本邦における肥満の主原因は過食と運動量の低下である。そこで、誘因となる肥満の

解消を中心とした治療が現在行われており、体重3kgの減量によって腹囲を3cm減少させることを当面の課題とした肥満症に対する啓発運動も展開されている⁵⁵⁾。しかし、NAFLDに対して1年間集中的に食事指導を行った報告によれば、組織学的改善が得られる頻度は61%にとどまる⁵⁶⁾。そこで、NAFLDにおける有用性も報告されている食欲低減剤を食事指導の一助として使用することにより一層の治療効果を期待する声は大きい⁵⁷⁾。

I. 肝硬変を伴ったNASHの予後

肝硬変を伴うNASHについての前向き試験⁵⁸⁾では、非代償性肝硬変に移行する頻度は年率4%と報告されている。この成績は対照群とされた肝硬変を伴うC型肝炎の予後に比して若干低値であった。この差はNASHでは過食が多いため肝硬変が進展してもアルブミン値は保たれやすいことの反映と考えられた。しかし、ひとたびChild-PughスコアがBに進行すれば、肝硬変を伴うC型肝炎と肝硬変を伴うNASHの間で死亡率には差を認めなかった。また、NAFLDの肝臓ではテロメラーゼの短縮が報告されており、発癌の危険が指摘されている⁵⁹⁾。肝硬変を伴うNASHにおける肝発癌率は10年間で10%であり、肝硬変を伴うC型慢性肝炎における発癌率よりも低値と報告されている⁵⁾。この論文で報告された肝硬変を伴うNASHにおける肝発癌率は、本邦で報告されている発癌頻度よりも低値となっている。

NASHが肝硬変に進展すると肝細胞の風船様変化や脂肪肝が軽減するため原因不明の肝硬変(cryptogenic cirrhosis)に分類されることが多く、原因不明の肝硬変からの発癌率はNASHに伴う肝硬変における発癌率より高頻度であることは周知の事実である。したがって、本邦のNASH症例では病期が進行してNASHの特徴である組織学的変化が保たれやすい可能性が高い。また、

欧米では肥満に伴う原因不明の慢性肝障害といえはNASHの頻度が高く第一に予想される疾患なので、軽症例も数多く診断される可能性がある。これに対して本邦では成人の罹患率が1%と欧米に比して低値であり、侵襲的な検査である肝生検がNASHの診断に必須となると、どうしても軽症例での肝生検がためらわれる。本邦では線維化マーカーが高値の症例やアルブミンや血小板数低値の症例など進行した病変が容易に推測される症例における肝生検が多くなりがちとなることは想像に難くない⁶⁰⁾。

J. 肝硬変を伴ったNASHに対する外科的治療

肝硬変を伴ったNASHを対象とした内科治療には限界がある。そこで、Roux-en-Y法による近位胃バイパス術を用いた外科治療が検討されている^{61,62)}。手術に関連する死亡率は1割前後であったが、経時的に肝生検を行って治療効果を検討した論文では肝の線維化が軽減し、9例中8例で肝硬変が緩解している⁶¹⁾。肝不全に陥ったために肝移植の適応となるNASH症例も少なくない。しかし、NASHによる肝硬変が進展して肝不全をきたした症例に肝移植を行うと高頻度に脂肪肝あるいはNASHが再発することは周知の事実で、NASHの再発が肝移植を受けた症例の予後を低下させる可能性が懸念されていた。この点については、移植を受けたNASH症例は3~4年以内に多くの症例で脂肪肝やNASHが再発するものの、術後5~10年間の生存率に関しては他の原因で肝移植を受けた症例の生存率と同等であったとひとまず結論づけられた⁶³⁾。

K. 本邦における外科的治療の現状

肥満に伴う健康障害のため日常生活に著しい障

害を生じているにもかかわらず内科的治療により減量の維持が困難な症例は、以前より外科的治療の適応とされることが多く、一定の成果を上げてきた。しかし、腸管のバイパス手術後に生じる短腸症候群では時にNASHが誘発され、肝硬変へと進展することもあった。また、NASHによる肝不全症例に肝移植を行うとしばしばNASHが再発するといった、術前には予測しなかったような事態にも直面した。LudwigによりNASHの疾患概念が提唱された後もNASHの存在に否定的な意見が数多く出され、疾患概念の確立に18年の年月を要したが、こうした症例の積み重ねの上にNASHの疾患概念は確立されたといっても過言ではない。その後も外科的肥満治療 (bariatric surgery) を必要とする症例は後を絶たず、術式の検討を重ねた結果、概ね6割の症例で術後に肝臓の組織学的改善が得られるまでに改良された⁶⁴⁻⁶⁹⁾。

今日でも上記のような重度の健康障害に苦しむ症例は数多く、安全な治療法の開発に向けた努力が今も続けられている。たとえば、BMI $\geq$ 35の高度肥満者が健康障害のため日常生活に著しい障害を生じている時、内科的治療による減量が奏功しない症例に対しては外科的治療が選択肢となる。低侵襲的な治療法である内視鏡的胃内バルーン留置術や腹腔鏡下胃バンディング術などについては日本肥満学会、日本消化器内視鏡学会ならびに日本内視鏡外科学会が臨床的導入を真剣に目指しており、2008年の日本肥満症治療学会と日本肥満外科治療学会の発足はその流れをさらに加速するものと期待される。

L. インスリン抵抗性を標的とした薬物治療の現況

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) はインスリン抵抗性を基盤として発症する原因不明の慢性肝疾患である。したがって、臨床家の関心はもっぱ

らインスリン抵抗性改善剤がNASHの肝病変を改善できるかという点に向けられている⁷⁰⁻⁷²⁾。現在利用可能なインスリン抵抗性改善剤はメトフォルミンとチアゾリジン系薬剤である。メトフォルミンについてはいくつかの小規模試験を基に^{73,74)}、現在、小児のNASHに対する大規模試験が行われている。成人における肥満蔓延の余波は小児にも及び、過去20年間で小児の肥満頻度は2.5~3倍に増加した。小児期の肥満が高頻度に成人肥満に進展する今日では、成人の肥満対策もさることながら小児の肥満対策も重要である。他方、小規模試験で良好な結果が得られたチアゾリジン系薬剤への期待は高く^{38,39,75,76)}、それだけに注文も多い⁷⁶⁻⁷⁸⁾。チアゾリジン系薬剤の適応症は従前、糖尿病に限られてきた。しかし、糖尿病を伴うNASH症例は本邦のNASH症例の僅か1/3を占めるに過ぎず、適応拡大が望まれてきた。この点については糖尿病を伴わないNASHを対象とした大規模試験がすでに終了しており、成果の公表が切に待たれる。

文献

- 1) 日本肝臓学会, 編. NASH・NAFLDの診療ガイド. 文光堂. 2006.
- 2) Ono M, Saibara T. Clinical features of nonalcoholic steatohepatitis in Japan: Evidence from the literature. *J Gastroenterol*. 2006; 41: 725-32.
- 3) Chitturi S, Farrell GC, Hashimoto E, et al. Asia-Pacific Working Party on NAFLD. Non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: definitions and overview of proposed guidelines. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22: 778-87.
- 4) Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, et al. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*. 2005; 42: 132-8.
- 5) Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006; 44:

- 865-73.
- 6) Ishibashi E, Eguchi Y, Eguchi T, et al. Waist circumference correlates with hepatic fat accumulation in male Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease, but not in females. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008; 23: 908-13.
 - 7) Akabame S, Hamaguchi M, Tomiyasu K, et al. Evaluation of vulnerable coronary plaques and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) by 64-detector multislice computed tomography (MSCT). *Circ J.* 2008; 72: 618-25.
 - 8) Watanabe S, Yaginuma R, Ikejima K, et al. Liver diseases and metabolic syndrome. *J Gastroenterol.* 2008; 43: 509-18.
 - 9) Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005; 41: 1313-21.
 - 10) Kaneda H, Hashimoto E, Yatsuji S, et al. Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 21: 1459-65.
 - 11) Ratzliff V, Bugianesi E, Dixon J, et al. Histological progression of non-alcoholic fatty liver disease: a critical reassessment based on liver sampling variability. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; 26: 821-30.
 - 12) Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis.* 2008; 40: 371-8.
 - 13) Shimada M, Kawahara H, Ozaki K, et al. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102: 1931-8.
 - 14) Iijima H, Moriyasu F, Tsuchiya K, et al. Decrease in accumulation of ultrasound contrast microbubbles in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res.* 2007; 37: 722-30.
 - 15) Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, et al. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2006; 44: 27-33.
 - 16) Fan JG, Saibara T, Chitturi S, et al. Asia-Pacific Working Party for NAFLD. What are the risk factors and settings for non-alcoholic fatty liver disease in Asia-Pacific? *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22: 794-800.
 - 17) Cheung O, Kapoor A, Puri P, et al. The impact of fat distribution on the severity of nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hepatology.* 2007; 46: 1091-100.
 - 18) Takahashi Y, Iida K, Takahashi K, et al. Growth hormone reverses nonalcoholic steatohepatitis in a patient with adult growth hormone deficiency. *Gastroenterology.* 2007; 132: 938-43.
 - 19) Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, et al. Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med.* 2007; 20: 351-8.
 - 20) Hamaguchi M, Kojima T, Itoh Y, et al. The severity of ultrasonographic findings in non-alcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102: 2708-15.
 - 21) Komatsu M, Yazaki M, Tanaka N, et al. Citrin deficiency as a cause of chronic liver disorder mimicking non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2008. in press.
 - 22) Puri P, Baillie RA, Wiest MM, et al. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2007; 46: 1081-90.
 - 23) Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF-alpha expression via a lysosomal pathway. *Hepatology.* 2004; 40: 185-94.
 - 24) Yu XX, Murray SF, Pandey SK, et al. Antisense oligonucleotide reduction of DGAT2 expression improves hepatic steatosis and hyperlipidemia in obese mice. *Hepatology.* 2005; 42: 362-71.
 - 25) Yamaguchi K, Yang L, McCall S, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2007; 45: 1366-74.
 - 26) Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic

- fatty liver disease. *J Clin Invest.* 2005; 115: 1343-51.
- 27) Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, et al. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest.* 2005; 115: 1298-305.
 - 28) Kohjima M, Higuchi N, Kato M, et al. SREBP-1c, regulated by the insulin and AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med.* 2008; 21: 507-11.
 - 29) Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112: 1796-808.
 - 30) Hirasaka K, Kohno S, Goto J, et al. Deficiency of Cbl-b gene enhances infiltration and activation of macrophages in adipose tissue and causes peripheral insulin resistance in mice. *Diabetes.* 2007; 56: 2511-22.
 - 31) Dong H, Wang J, Li C, et al. The phosphatidylethanolamine N-methyltransferase gene V175M single nucleotide polymorphism confers the susceptibility to NASH in Japanese population. *J Hepatol.* 2007; 46: 915-20.
 - 32) Puri P, Mirshahi F, Cheung O, et al. Differential activation and dysregulation of the unfolded protein response in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2008; 134: 568-76.
 - 33) Li Z, Berk M, McIntyre TM, et al. The lysosomal-mitochondrial axis in free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity. *Hepatology.* 2008; 47: 1495-503.
 - 34) Diehl AM, Li ZP, Lin HZ, et al. Cytokines and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut.* 2005; 54(2): 303-6.
 - 35) Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J.* 1998; 12: 57-65.
 - 36) Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, et al. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol.* 2007; 42: 573-82.
 - 37) Adachi M, Brenner DA. High molecular weight adiponectin inhibits proliferation of hepatic stellate cells via activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Hepatology.* 2008; 47: 677-85.
 - 38) Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, et al. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004; 2: 1107-15.
 - 39) Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, et al. The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2007; 46: 424-9.
 - 40) Sakurai M, Takamura T, Ota T, et al. Liver steatosis, but not fibrosis, is associated with insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol.* 2007; 42: 312-7.
 - 41) Shimizu A, Takamura T, Matsuzawa N, et al. Regulation of adiponectin receptor expression in human liver and a hepatocyte cell line. *Metabolism.* 2007; 56: 1478-85.
 - 42) Yoneda M, Iwasaki T, Fujita K, et al. Hypoadiponectinemia plays a crucial role in the development of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus independent of visceral adipose tissue. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007; 31(1 Suppl): S15-21.
 - 43) Balas B, Belfort R, Harrison SA, et al. Pioglitazone treatment increases whole body fat but not total body water in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2007; 47: 565-70.
 - 44) Tokushige K, Takakura M, Tsuchiya-Matsushita N, et al. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *J Hepatol.* 2007; 46: 1104-10.
 - 45) Bridle KR, Li L, O'Neill R, et al. Coordinate activation of intracellular signaling pathways by insulin-like growth factor-1 and platelet-derived growth factor in rat hepatic stellate cells. *J Lab Clin Med.* 2006; 147: 234-41.
 - 46) Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, et al. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2006; 44: 27-33.
 - 47) Miyaaki H, Ichikawa T, Nakao K, et al. Clinicopathological study of nonalcoholic fatty liver disease in Japan: the risk factors for fibrosis. *Liver Int.* 2008; 28: 519-24.

- 48) Hirose A, Ono M, Saibara T, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rat nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2007; 45: 1375-81.
- 49) Watanabe A, Hashmi A, Gomes DA, et al. Apoptotic hepatocyte DNA inhibits hepatic stellate cell chemotaxis via toll-like receptor 9. *Hepatology*. 2007; 46: 1509-18.
- 50) Siegmund SV, Seki E, Osawa Y, et al. Fatty acid amide hydrolase determines anandamide-induced cell death in the liver. *J Biol Chem*. 2006; 281: 10431-8.
- 51) Jeong WI, Park O, Radaeva S, et al. STAT1 inhibits liver fibrosis in mice by inhibiting stellate cell proliferation and stimulating NK cell cytotoxicity. *Hepatology*. 2006; 44: 1441-51.
- 52) Radaeva S, Sun R, Jaruga B, et al. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners. *Gastroenterology*. 2006; 130: 435-52.
- 53) Melhem A, Muhanna N, Bishara A, et al. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC. *J Hepatol*. 2006; 45: 60-71.
- 54) Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2006; 116: 1802-12.
- 55) Yamamoto M, Iwasa M, Iwata K, et al. Restriction of dietary calories, fat and iron improves non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22: 498-503.
- 56) Huang MA, Greenson JK, Chao C, et al. One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Am J Gastroenterol*. 2005; 100: 1072-81.
- 57) Harrison SA, Fincke C, Helinski D, et al. A pilot study of orlistat treatment in obese, non-alcoholic steatohepatitis patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004; 20: 623-8.
- 58) Sanyal AJ, Banas C, Sargeant C, et al. Similarities and differences in outcomes of cirrhosis due to nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C. *Hepatology*. 2006; 43: 682-9.
- 59) Nakajima T, Moriguchi M, Katagishi T, et al. Premature telomere shortening and impaired regenerative response in hepatocytes of individuals with NAFLD. *Liver Int*. 2006; 26: 23-31.
- 60) Kaneda H, Hashimoto E, Yatsuji S, et al. Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 21: 1459-65.
- 61) Kral JG, Thung SN, Biron S, et al. Effects of surgical treatment of the metabolic syndrome on liver fibrosis and cirrhosis. *Surgery*. 2004; 135: 48-58.
- 62) Brolin RE, Bradley LJ, Taliwal RV. Unsuspected cirrhosis discovered during elective obesity operations. *Arch Surg*. 1998; 133: 84-8.
- 63) Contos MJ, Cales W, Sterling RK, et al. Development of nonalcoholic fatty liver disease after orthotopic liver transplantation for cryptogenic cirrhosis. *Liver Transpl*. 2001; 7: 363-73.
- 64) Furuya CK Jr, de Oliveira CP, de Mello ES, et al. Effects of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: preliminary findings after 2 years. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22: 510-4.
- 65) Liu X, Lazenby AJ, Clements RH, et al. Resolution of nonalcoholic steatohepatitis after gastric bypass surgery. *Obes Surg*. 2007; 17: 486-92.
- 66) Barker KB, Palekar NA, Bowers SP, et al. Non-alcoholic steatohepatitis: effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101: 368-73.
- 67) Clark JM, Alkhuraishi AR, Solga SF, et al. Roux-en-Y gastric bypass improves liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Obes Res*. 2005; 13: 1180-6.
- 68) Mattar SG, Velcu LM, Rabinovitz M, et al. Surgically-induced weight loss significantly improves nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Ann Surg*. 2005; 242: 610-7.
- 69) Kakizaki S, Takizawa D, Yamazaki Y, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Japanese patients with severe obesity who received laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass surgery (LRYGB) in comparison to non-Japanese patients.