

令和元年6月10日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08656

研究課題名(和文)慢性肝疾患における治療経過観察・発癌予測に対する超音波を用いた肝線維化評価の検討

研究課題名(英文) Study of liver stiffness evaluation using ultrasound for follow-up observation and hepatocellular carcinoma carcinogenesis prediction in chronic liver disease.

研究代表者

刑部 恵介 (Osakabe, Keisuke)

藤田医科大学・保健学研究科・准教授

研究者番号：30290167

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、超音波を用いた肝硬度測定がウイルス性慢性肝疾患の線維化診断、治療経過観察の有用性、さらに肝細胞癌の発癌予測を検討することである。肝硬度測定は、病理組織を用いた線維化評価と遜色のない結果であった。また経過観察での検討でも治療効果を反映した結果であった。さらに肝硬度測定は、肝細胞癌の発癌予測に寄与する因子であることも示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超音波を用いた肝硬度測定は、病理組織による肝線維化評価と比較すると、各線維化ステージと関連しており、さらにカットオフ値の設定も可能であった。また経過観察での検討でも治療群では経過に伴い肝硬度値が改善するなど治療効果を反映した結果であった。一方、治療を行っていない群では、肝硬度は変化することはなく、高値化する症例も存在した。さらに肝硬度による肝細胞癌の発癌予測の検討では、肝硬度の高値化は発癌に寄与する因子の一つであることが示唆された。以上のことより、非侵襲的に検査を行える超音波を用いた肝硬度測定法は、慢性肝疾患の各種診断に有用であることが示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to examine the usefulness of liver stiffness measurement (LSM) in the diagnosis of fibrosis and follow-up of treatment in chronic liver disease, and the usefulness of carcinogenesis prediction of hepatocellular carcinoma. LSM was equivalent to fibrosis assessment using pathological tissue. In addition, the results of the follow-up examination reflected the treatment effect. Furthermore, LSM was also suggested to be a factor contributing to the prediction of carcinogenesis of hepatocellular carcinoma.

研究分野：臨床生理検査学

キーワード：線維化評価 慢性肝炎 肝硬変 治療効果 肝細胞癌

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

ウイルス性肝炎の治療にはインターフェロン療法や核酸アナログ療法などが行われている。その治療経過観察時には、治療対象となる個々のウイルス量などを測定することで治療効果を判定している。さらに、そのウイルス量の増減が肝障害の程度を反映するわけではないため、血液データによる線維化マーカーにより肝障害(肝線維化)の程度を評価している。しかし、この線維化マーカーは、線維化以外の要因の影響を受けることが問題として残っている。

肝線維化などを中心とした評価法の gold standard は肝生検による評価であることに周知の事実である。しかし、その一方で肝生検は侵襲性が強く、判読者の主観に左右される部分も有した評価法である。

2000年初頭に開発された超音波を用いた Fibroscan によると線維化評価は直接肝臓を検査するため、より特異性が高いとされている。しかし、Fibroscan は専用プローブが通常のプローブと異なり大型であるため、肋間の狭い患者では安定した計測ができない場合があり、さらに測定原理上、腹水が多い症例においても測定が困難となるなど Fibroscan による評価法の問題点も明らかとなった。

その後、非侵襲的に肝線維化を評価する手法として Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) が開発された。ARFI を用いた Virtual Touch Quantification (VTQ) は収束超音波パルスによって組織を歪ませ、そこで生じたせん断弾性波の伝播速度 (Velocity of shear wave;  $V_s$ , m/sec) を測定し『硬さ』として評価する技術である。この手法は探触子の形状が通常のもと同じであるため、Fibroscan とは異なり腹水の影響を受けることなく、いずれの症例にも施行可能なため通常のルーチンワークの延長で測定可能であることが特徴である。

## 2. 研究の目的

各種画像検査の中で、超音波検査は非侵襲的であるため繰り返し検査を行うことができることが最大の利点である。そこで、本研究では超音波を用いて直接肝臓を評価する肝硬度測定法を用いて、経過観察時におけるモニターとしての有用性および発癌予測の可能性を目的とした。

## 3. 研究の方法

本大学病院にて受診されている慢性肝疾患患者を対象として、通常の診療内で行われている各血液生化学的検査、超音波検査に加えて  $V_s$  測定を行った。 $V_s$  値測定は、安静呼気にて右肋間走査にて肝臓を描出し、ROI を設定し、同一の深度で 10 回計測し、中央値を計測値として使用した。なお、 $V_s$  値測定時の血液データを加え慢性肝疾患に対する治療効果判定および経過観察における有用性について検討した。

### C 型慢性肝疾患の経過観察における $V_s$ 値の有用性

C 型慢性肝疾患患者を対象に治療を行った症例について、経過観察時にお  $V_s$  値の変化を肝機能データ、間接的線維化マーカーである血小板および直接的線維化マーカーであるヒアルロン酸と比較した。さらに血液生化学的データをもとに算出される各種線維化インデックス (APRI、FIB-4) と比較を行った。

### B 型慢性肝疾患における $V_s$ 値の有用性

B 型慢性肝疾患患者を対象に  $V_s$  値による線維化評価能について各種血液データと比較を行った。

### B 型慢性肝疾患における治療経過観察における $V_s$ 値の有用性

B 型慢性肝疾患患者を対象に、経過観察時にお  $V_s$  値の変化を各種血液データと比較を行った。

### B 型慢性肝疾患の発癌予測における $V_s$ 値の有用性

B 型慢性肝疾患患者を対象に肝細胞癌の発癌予測における  $V_s$  値の有用性について検討した。

## 4. 研究成果

### C 型慢性肝疾患の経過観察における $V_s$ 値の有用性<sup>1)</sup>

インターフェロン・リバビリン併用療法を行った 87 例を対象に経過観察時における  $V_s$  値の有用性について検討を行った。治療効果の内訳は著効 (SVR) 群 41 例、再燃 (Relapsers) 群 26 例、無効 (NVR) 群 20 例である (表 1)。

$V_s$  値計測は治療前、治療終了直後、治療終了 1 年後、治療終了 2 年後で計測を行い比較検討した。

治療前におけるそれぞれの  $V_s$  値は SVR 群: 1.27 (1.11-1.49) Relapsers 群: 1.39 (1.15-1.57) NVR 群: 1.80 (1.54-2.01) であり、NVR 群は SVR 群、Relapsers 群に比べ有意に高値を示した ( $p=0.0007$ ,  $p=0.0036$ )。治療終了直後における  $V_s$  値は SVR 群: 1.19 (1.01-1.37) Relapsers 群: 1.23 (1.12-1.55) NVR 群: 1.64 (1.43-2.06) であり、NVR 群は SVR 群、Relapsers 群に比べ有意に高値を示した ( $p<0.0001$ ,  $p=0.0124$ )。治療終了 1 年後における  $V_s$  値は SVR 群: 1.10 (1.00-1.22) Relapser 群: 1.20 (1.12-1.80) NVR 群: 1.66 (1.30-1.95) であり、NVR 群および Relapser 群は SVR 群に比べ有意に高値を示した ( $p=0.0013$ ,  $p=0.0192$ )。治療終了 2 年後における  $V_s$  値は SVR 群: 1.05 (0.95-1.16) Relapser 群: 1.41 (1.08-2.01) NVR 群: 1.61 (1.36-2.37) であり、NVR 群および Relapser 群は SVR 群に比べ有意に高値を示した ( $p=0.0004$ ,  $p=0.0096$ )。

SVR 群 (図 1-A) では治療終了直後、治療終了 1 年後、治療終了 2 年後の  $V_s$  値は治療前に比

べ有意に低値を示し (p=0.0004, p=0.0001, p<0.0001) 治療終了後2年は治療終了直後に比べ有意に低値を示した (p=0.0022)。一方、Relapsers 群 (図1-B) ではいずれに間にも有意差は認められなかった。

なお、NVR 群 (図1-C) では治療終了1年後は治療終了直後に比べ有意に高値を示し (p=0.0313) 治療終了2年後は治療終了直後に比べ有意に低値を示した (p=0.0469)。

以上のことより、Vs 値はC型慢性肝疾患の治療効果を反映した指標になるものと推測された。

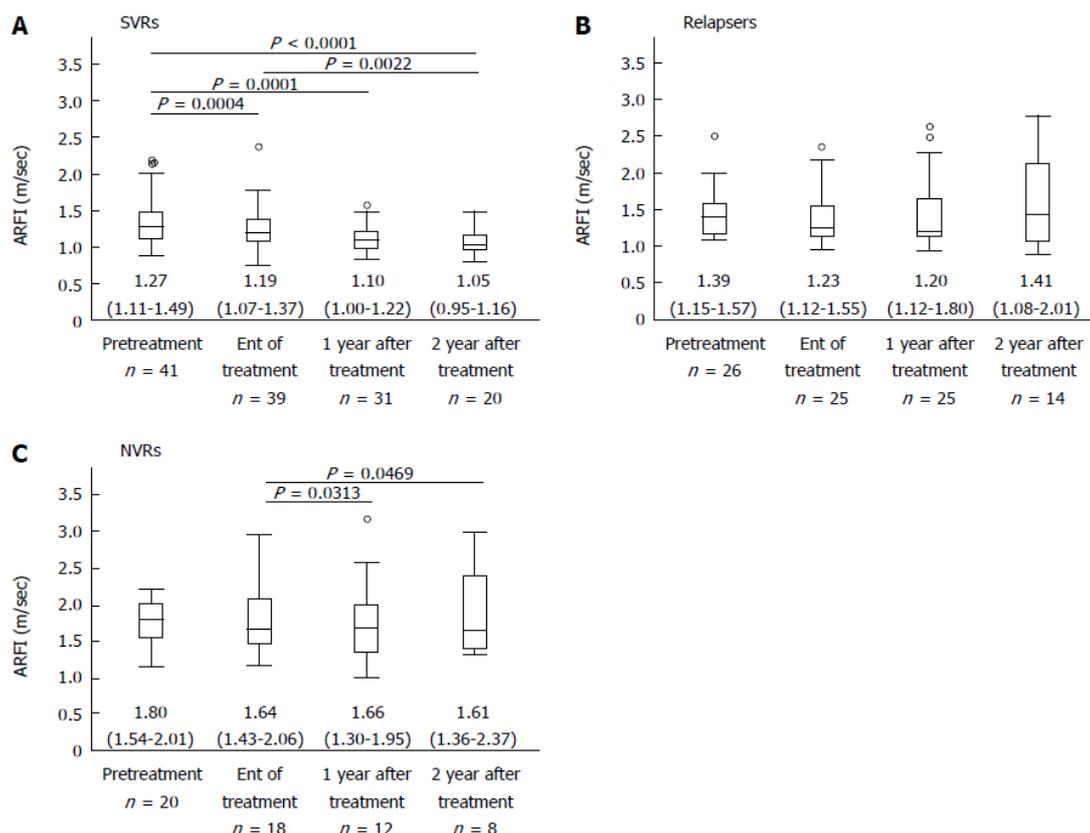


図1 C型慢性肝疾患の治療経過観察における Vs 値の経時的変

### B型慢性肝疾患における Vs 値の有用性<sup>2)</sup>

2009年～2015年までに当院にて Vs 測定を行ったB型肝炎患者339例を対象として、線維化診断能について検討した。

Vs 値と各線維化マーカーを比較するAPRI、ヒアルロン酸、FIB-4との間に有意な正相関 ( $r = 0.578, 0.497, 0.438$ ) をプロトロンビン時間 (PT)、血小板 (Plt)、アルブミン、コリンエステラーゼ (ChE) とは有意な負相関 ( $r = -0.486, -0.336, -0.320, -0.387$ ) を認めた (表1)。

Vs 値に独立して影響を与える因子を検討するため、Vs 値と相関関係を示した線維化ステージ分類、AST、ヒアルロン酸、APRI、FIB-4、PT を変数として多変量解析を行うと線維化ステージ分類のみが選択された (表2)。

Vs 値と肝線維化ステージの間に正の相関関係を認めた ( $p = 0.648, p < 0.0001$ )。

また、各線維化 stage 別の Vs 値は F0-1 (n=10): 1.19 (1.00-1.59) F2 (n=18): 1.29 (1.20-1.59) F3 (n=11): 1.54 (1.39-2.24) F4 (n=7): 2.31 (1.94-2.69) であった (図2)。

各線維化ステージ間の比較では、F4 は F0-1、F2 に比べ有意に高値を示した

表1 Vs 値と血液検査所見との比較

	$\rho$	p-value
Plt ( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )	-0.336	<0.0001
PT (%)	-0.486	<0.0001
アルブミン (g/dL)	-0.320	<0.0001
総ビリルビン (mg/dL)	0.243	<0.0001
AST (IU/L)	0.479	<0.0001
ALT (IU/L)	0.381	<0.0001
$\gamma$ GTP (IU/L)	0.347	<0.0001
ChE (IU/L)	-0.387	0.0019
ヒアルロン酸 (ng/mL)	0.497	<0.0001
APRI	0.578	<0.0001
FIB-4	0.438	<0.0001

表2 Vs 値に影響を与える因子の検討

	$\beta$	95% C.I.	p-value
線維化ステージ	0.537	0.047~0.405	0.0161
PT	0.113	0.024~0.113	N.S.
AST	-0.026	0.002~-0.026	N.S.
ヒアルロン酸	0.170	0.001~0.170	N.S.
APRI	0.309	0.173~0.309	N.S.
FIB-4	-0.065	0.104~-0.065	N.S.

( $p=0.0155$ ,  $0.0027$ ) また、F3はF2に比べ高値を示す傾向であった ( $p=0.0864$ )。

各 stage における Vs 値のカットオフ値は F2 以上: 1.16 (感度: 55.6%、特異度 97.1%、正診率 88.3%、ROC: 0.758) F3 以上: 1.36 (感度: 64.0%、特異度 88.9%、正診率 74.2%、ROC: 0.837) F4: 1.82 (感度: 80.6%、特異度 100%、正診率 83.7%、ROC: 0.905) と判定された。

以上のことより、B 型慢性肝疾患の線維化診断においても Vs 値測定は有用であることが示唆された。

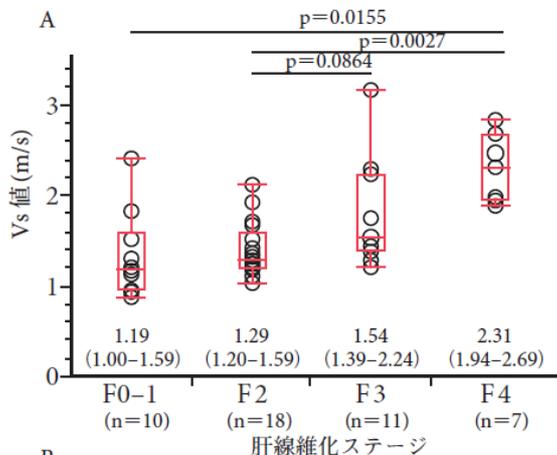


図2 Vs 値と病理組織所見との比較

### B 型慢性肝疾患の経過観察における Vs 値の有用性

2009年～2017年までに当院にて Vs 値を複数回測定した B 型慢性肝炎ウイルス持続感染者 270 例を対象として、Vs 値の経時的変化について検討を行った。なお、対象の内訳は治療群 (核酸アナログ療法): 88 例、無症候性キャリア群: 10 例、慢性肝炎群: 24 例、非活動性キャリア群: 148 例である。Vs 値計測は治療群に関しては治療前、治療開始 1 年後、2 年後、3 年後、4 年後、5 年後、6 年後、7 年後で計測を行い比較検討した。なお、未治療群は初回から 7 年まで毎年計測を行った。

各群における初回時 Vs 値の比較では治療群は 1.39 (1.16-1.91) 無症候性キャリア群は 1.17 (1.06-1.27) 慢性肝炎群は 1.22 (1.07-1.57) 非活動性キャリア群は 1.07 (0.99-1.22) であり、治療群と慢性肝炎群は非活動性キャリア群に比べ有意に高値を示した ( $p<0.0001$ ,  $p=0.0258$ )。

治療群における経過観察の Vs 値の変化についてみると、治療前は 1.39 (1.16-1.91) 治療開始 1 年後は 1.24 (1.05-1.55) 2 年後は 1.17 (1.06-1.40) 3 年後は 1.17 (1.08-1.26) 4 年後は 1.13 (1.06-1.24) 5 年後は 1.13 (1.03-1.28) 6 年後は 1.18 (1.05-1.27) 7 年後は 1.08 (1.01-1.23) であった (図 3)。なお、無症候性キャリア群、慢性肝炎群、非活動性キャリア群ではいずれも初回時より変化は見られなかった。

以上のことより、Vs 値は B 型慢性肝疾患の治療効果を反映した指標になるものと推測された。

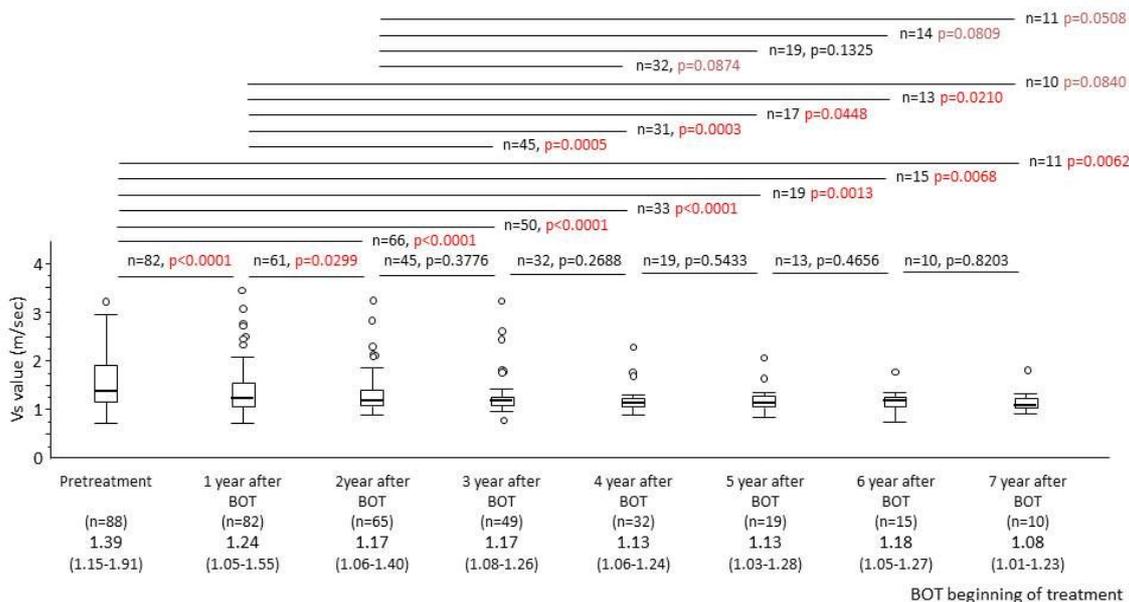


図3 治療群における Vs 値の経時的変化

### B 型慢性肝疾患の発癌予測における Vs 値の有用性

2009年～2017年までに Vs 値を測定しえた B 型慢性肝炎ウイルス持続感染者 393 例を対象とし発癌に寄与する因子について、血液検査データおよび Vs 値について検討した。なお、発癌患者は 45 例 (11.4%) である。

発癌群は非発癌群に比べ男性が多く ( $p=0.005$ ) さらに年齢 ( $p<0.0001$ )、AFP ( $p<0.0001$ )、PIVKA- ( $p<0.0001$ )、ヒアルロン酸 ( $p=0.0003$ )、FIB-4 ( $p<0.0001$ )、Vs 値 ( $p<0.0001$ ) で有意に高値を示した。また、ALB ( $p=0.0007$ )、PLT ( $p<0.0001$ ) では発癌群は非発癌群に比べ有意に低値

を示した。発癌の有無に独立して影響を与える因子を検討するため、発癌と関係のあった項目を変数として多変量解析を行うと Vs 値、年齢、PLT、FIB-4 が選択され、Vs 値、年齢が最も良好であった。

以上のことから、Vs 値は肝細胞癌の早期診断に寄与する良好な因子と示唆された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Osakabe K, Ichino N, Nishikawa T, Sugiyama H, Kato M, Shibata A, Asada W, Kawabe N, Hashimoto S, Muraio M, Nakano T, Shimazaki H, Kan T, Nakaoka K, Takagawa Y, Ohki M, Kurashita T, Takamura T, and Yoshioka K. Changes of shear-wave velocity by interferon-based therapy in chronic hepatitis C. World Journal Gastroenterology. 査読有. Vol.21 No.35 p10215-10223. 2015.

Ichino N, Osakabe K, Sugimoto K, Suzuki K, Yamada H, Takai H, Sugiyama H, Yuki take J, Inoue T, Ohashi K, Hata T, Hamajima N, Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, and Yoshioka K. The NAFLD Index: A Simple and Accurate Screening Tool for the Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Rinsho Byori. 査読有. 2015 Jan;63(1):32-43.  
Yuka Ochi, Senju Hashimoto, Naoto Kawabe, Michihito Muraio, Takuji Nakano, Toshiki Kan, Kazunori Nakaoka, Masashi Ohki, Takamitsu Kurashita, Tomoki Takamura, Sayuri Nomura, Toru Nishikawa, Aiko Fukui, Keisuke Osakabe, Naohiro Ichino, and Kentaro Yoshioka. HLA-DQ gene polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma and hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection. Hepatology research. 査読有. 2016 2017 Jul;47(8):755-766.

刑部 恵介, 市野 直浩, 西川 徹, 杉山 博子, 加藤 美穂, 朝田 和佳奈, 豆谷 果奈, 川部 直人, 橋本 千樹, 吉岡 健太郎. Virtual Touch Quantification による肝硬度測定の有 用性 B 型慢性肝炎を対象に. 超音波検査技術. 査読有. 41 巻 5 号 Page475-484. 2016.

[学会発表](計9件)

Keisuke Osakabe, Naohiro Ichino, Toru Nishikawa, Hiroko Sugiyama, Tadayoshi Hata, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto, and Kentaro Yoshioka. Comparison between FibroScan and virtual touch quantification for liver stiffness measurement in HCV patients. The 32nd World Congress of the International Federation of Biomedical Laboratory Science. 2016/8/31-9/4.Kobe.

Naohiro Ichino, Keisuke Osakabe, Toru Nishikawa, Hiroko Sugiyama, Tadayoshi Hata, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto, and Kentaro Yoshioka. Controlled attenuation parameter for non-invasive assessment of hepatic steatosis in chronic hepatitis C. The 32nd World Congress of the International Federation of Biomedical Laboratory Science. 2016/8/31-9/4.Kobe.

Keisuke Osakabe, Naohiro Ichino, Toru Nishikawa, Hiroko Sugiyama, Wakana Asada, Ayako Takahashi, Kana Mametani, Takuji Nakano, Kazunori Nakaoka, Masashi Ohki, Sayuri Nomura, Tomoki Takamura, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto and Kentaro Yoshioka. Asian Pacific Association for the Study of the Liver Single Topic Conference. 2018/5/11-13. Yokohama.

Naohiro Ichino, Keisuke Osakabe, Toru Nishikawa, Hiroko Sugiyama, Wakana Asada, Ayako Takahashi, Kana Mametani, Takuji Nakano, Kazunori Nakaoka, Masashi Ohki, Sayuri Nomura, Tomoki Takamura, Naoto Kawabe, Senju Hashimoto and Kentaro Yoshioka. Asian Pacific Association for the Study of the Liver Single Topic Conference. 2018/5/11-13. Yokohama.

刑部 恵介, 市野 直浩, 西川 徹, 加藤 美穂, 杉山 博子, 青山 和佳奈, 影山 仁美, 豆谷 果奈. 超音波を用いた肝硬度測定法の比較. C 型慢性肝炎を対象に. 第 65 回日本医学検査学. 2016/9/2-4. 神戸.

刑部 恵介. 超音波検査の進歩. 肝線維化診断へのアプローチ 肝線維化診断(FibroScan で評価). 第 65 回日本医学検査学会. 2016/9/2-4. 神戸.

刑部 恵介, 市野 直浩, 西川 徹, 杉本 邦彦, 杉山 博子, 高井 洋次, 朝田 和佳奈, 豆谷 果奈, 高橋 礼子, 川部 直人, 橋本 千樹, 吉岡 健太郎. 超音波における肝線維化測定 の基礎的検討. 3 機種 の比較を中心に. 第 42 回日本臨床衛生検査学会. 2017/6/16-18. 福岡.

刑部 恵介, 市野 直浩, 杉山 博子, 朝田 和佳奈, 高橋 礼子, 鈴木 雅大, 安井 駿豊, 杉本 邦彦. 超音波による肝硬度測定と肝線維化面積比の比較. 日本臨床衛生検査技師会第 57 回中部圏支部医学検査学会. 2018/11/24-25. 三重.

刑部 恵介, 市野 直浩, 西川 徹, 杉山 博子, 朝田 和佳奈, 豆谷 果奈, 川部 直人, 橋本 千樹, 吉岡 健太郎. 3 機種による肝線維化測定法の基礎的検討. 第 41 回超音波 Doppler 新技術研究会. 2017/3/25. 東京.

〔図書〕(計1件)

刑部恵介、市野直浩、西川 徹、杉山博子、豆谷果奈、川部直人、橋本千樹、吉岡健太郎. 超音波検査によるび慢性肝疾患の評価 - B モード, ドブラ, 肝硬度測定 -. 臨床病理. 65 巻 p1909-1316. 2017

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：吉岡 健太郎

ローマ字氏名：YOSHIOKA, Kentaro

所属研究機関名：藤田医科大学

部局名：医学部肝胆膵内科

職名：教授

研究者番号：60201852

研究分担者氏名：橋本 千樹

ローマ字氏名：HASHIMOTO, Senjyu

所属研究機関名：藤田医科大学

部局名：医学部肝胆膵内科

職名：准教授

研究者番号：60378049

研究分担者氏名：川部 直人

ローマ字氏名：KAWABE, Naoto

所属研究機関名：藤田医科大学

部局名：医学部肝胆膵内科

職名：准教授

研究者番号：90410729

研究分担者氏名：西川 徹

ローマ字氏名：NISHIKAWA, Toru

所属研究機関名：藤田医科大学

部局名：医学研究科

職名：研究員

研究者番号：20410714

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：市野 直浩

ローマ字氏名：ICHINO, Naohiro

研究協力者氏名：杉山 博子

ローマ字氏名：SUGIYAMA, Hiroko

研究協力者氏名：朝田 和佳奈

ローマ字氏名：ASADA, Wakana

研究協力者氏名：高橋 礼子

ローマ字氏名：TAKAHASHI, Ayako

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。