

令和元年6月21日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09371

研究課題名(和文)超音波画像のテクスチャ解析とエラストグラフィによるNASHの非侵襲的診断法の開発

研究課題名(英文) Non-invasive assessment of nonalcoholic fatty liver disease: shear wave elastography and ultrasound-guided attenuation parameter

研究代表者

黒田 英克 (Kuroda, Hidekatsu)

岩手医科大学・医学部・特任准教授

研究者番号：70382596

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：2D-SWE、UGAPと肝生検を同日に施行したNAFLD133例の解析を行った。肝線維化stage別の肝弾性値は、線維化進行に伴い段階的な上昇を示した ( $p<0.0001$ )。肝脂肪化grade別の減衰係数は、脂肪化変化に伴い高値を示した ( $p<0.0001$ )。得られたLogistic回帰式は、予測値  $P=1/(1+e^{-x})$ ,  $x=0.478 \times$  肝弾性値(kPa)+20.242  $\times$  減衰係数(dB/cm/MHz)-14.196で、同式のNASH診断に関するAUROCは0.889であった。2D-SWEとUGAPの複合評価により、高精度なNASH診断予測モデルが構築された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超音波を駆使し、エラストグラフィと減衰イメージングの2つのモダリティの長所を活かすことで、NASHの組織性状変化をリアルタイムかつ低侵襲に定量化する試みは、これまでになく新しい技術開発の基盤となり独創性が高い。また、本研究が臨床応用されれば、低侵襲、低コストで繰り返し可能な超音波検査がNASH診断の主軸となり、肝生検をする事なくNASHの早期拾い上げや早期治療導入が可能で、スクリーニングへの応用、超音波診断技術の標準化など臨床的価値が非常に高い。さらには、超音波画像のテクスチャ解析は、コンピュータ支援画像診断技術の最先端を担う手法であり、独創性や創造性の高い研究と考える。

研究成果の概要(英文)：We analyzed 133 NAFLD patients. 2D-shear wave elastography (SWE), Ultrasound-guided attenuation parameter (UGAP), and liver biopsy were performed at our institution. The Liver stiffness (LS) of each fibrosis stage was F0/F1/F2/F3/F4: 5.6/6.3/7.8/9.4/14.9 (kPa), respectively, demonstrating a stepwise increase with increasing severity of liver fibrosis ( $p<0.0001$ ). Attenuation coefficient (AC) of in each steatosis grade was S0/S1/S2/S3: 0.43/0.57/0.68/0.72 (dB/cm/MHz), respectively, demonstrating a stepwise increase with increasing severity of liver steatosis ( $p<0.0001$ ). By multiple logistic regression analysis,  $P=1/(1+e^{-x})$ ,  $x=0.478 \times$  LS+20.242  $\times$  AC-14.196 were calculated, which form a calculated composite score for the diagnosis of NASH. The AUROC of this scoring model for predicting NASH was 0.889. Non-invasive ultrasound evaluation using 2D-SWE and UGAP may estimate liver fibrosis and steatosis, and which developed a new scoring system for detecting NASH accurately.

研究分野：消化器、肝疾患、超音波診断

キーワード：NASH 肝線維化 肝脂肪化 超音波エラストグラフィ 超音波減衰イメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) NAFLD は非飲酒者で脂肪肝を呈する原因不明の慢性進行性肝疾患の総称で、生活習慣の変化に伴う肥満の増加を背景に、本邦のみならず国際的にも急増している<sup>1-2)</sup>。NAFLD は、非進行性の単純性脂肪肝と進行性の NASH に分類される。NASH は肝実質の壊死、炎症、線維化変化から肝硬変や肝細胞癌に進展することから注目され、実地診療において NAFLD から NASH を鑑別することが極めて重要な臨床的課題である。しかし、血液検査や画像診断のみで NASH と診断する方法は未だ確立しておらず、確定診断と病期判定には侵襲的な肝生検検査が必須で、肝生検による疼痛や出血リスク、患者数の多さ、サンプリングエラーや診断医による評価の違いなどの課題が指摘されている<sup>3)</sup>。また、NAFLD の予後規定因子として、肝線維化進展が重要であることが報告されており<sup>4)</sup>、肝生検に代わる非侵襲的肝線維化診断・病態診断法の確立が望まれている。

(2) 腹部超音波検査は、低侵襲、低コストで繰り返し施行が可能で、肝脂肪化を高感度に検出する優れた検査法である。一般に、肝実質の脂肪化、炎症、線維化といった病理組織学的に変化に伴い、肝実質エコーの形態的变化を来す。しかし、その診断能は、検者の経験的、定性的な読影技術に強く依存し、さらには炎症や肝線維化の診断に関しては未だ確立されていない。

(3) 本研究で用いる超音波エラストグラフィである shear wave elastography (SWE) は、音響放射圧による組織の微細な変位を検出することで組織弾性値を測定する技術で、これまで我々は、びまん性肝疾患における肝組織性状診断と肝弾性値に関する研究を継続的に展開し、慢性肝疾患の肝線維化診断における SWE の有用性を明らかにしてきた<sup>5)</sup>。一方、デジタル画像の解析技術の進歩に伴い、生体の音響特性を利用し定量的な診断情報を得ようとする試みが展開されている。なかでもテクスチャ解析は、イメージ内の指定領域を模様構成要素や配置規則内容によって特徴付ける解析手法で現在注目集めている。今回我々は、肝脂肪化を高精度に推定可能な超音波アプリケーションを構想し、肝実質 B-mode 像の RF data から肝実質の総体的な脂肪減衰係数 (dB/cm/MHz) を推定する超音波減衰パラメータ (Ultrasound-Guided Attenuation Parameter: UGAP) の開発に取り組んできた<sup>6)</sup>。SWE と UAGP の複合評価により、新たな肝組織性状診断、NAFLD 早期囲い込み可能なモダリティを構築できる可能性が考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、超音波エラストグラフィと超音波減衰イメージングの2つのモダリティを用いて、肝実質の脂肪化、炎症、線維化といった病理組織学的、物理的变化と超音波信号情報との関係を明らかにし、NASH の鑑別が可能な非侵襲かつ定量的超音波診断手法の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) UGAP の肝脂肪化診断能の評価を目的として、2016年4月から2018年12月までに、当科で UGAP、2D-SWE、血液検査、肝生検を同日に施行した NAFLD133 例の解析を行った。2D-SWE 非成功例 8 例、また、病理評価不能ないし同意書未取得であった 4 例は対象から除外した。本研究は岩手医科大学医学部倫理委員会の承認 (H26-124) を得て、GE Healthcare との共同研究で行った。

#### (2) UGAP の測定アルゴリズム

UGAP は、Oguri らの Reference Phantom Method<sup>6)</sup> に準じ、減衰係数 (Attenuation Coefficient: AC) [dB/cm/MHz] を推定した (図 1)。UGAP の測定アルゴリズムを図 1 に示す。超音波機種は LOGIQ E9 (GE Healthcare) 探触子は C1-6 (凸型) を使用した。送受信周波数を 3.5 MHz に固定し肝 S5 の B-mode 像を取得。取得した RF data を解析用 PC に転送。次に、血管などの構造物を避けて ROI (10 raster) を設置し、Reference data により音場特性補正を行った。最後に、減衰推定範囲を選択し、最小二乗法を用い AC を推定した。測定は 5 回行い、その中央値を最終結果とした。

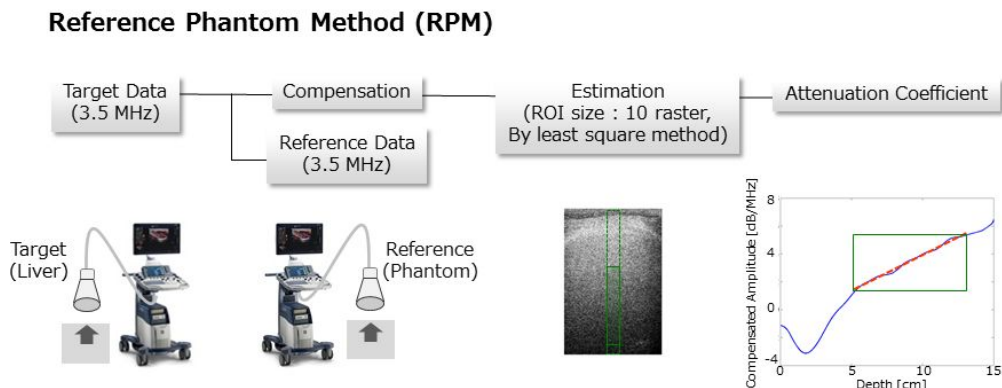


図 1. UGAP の測定アルゴリズム

### (3) 2D-SWE の測定方法

超音波機種は、UGAP と同様で LOGIQ E9 (GE Healthcare) を使用した(図 2)。肝 S5、Depth 3.6 cm 以深に 3.0 × 1.5 cm の ROI を設置。ROI 中央に直径約 1.0 cm の円形測定域を固定設置し、肝生検、血液検査と同日に自然な呼吸停止下で肝右葉の肝弾性値 (Liver Stiffness: LS [kPa]) を測定した。測定は同一部位で 5 回連続して行い、中央値を最終測定結果とした。

### (4) 肝病理組織学検査

2D-SWE を施行した肝 S5 より 14G、22 mm 針を用い肝生検を施行した。

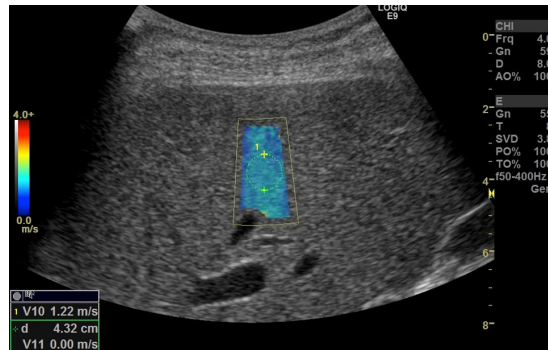


図 2. 2D-SWE の測定画面

肝病理組織学的診断は、NAFLD Activity Score (NAS)<sup>7)</sup>と Fibrosis Staging に準じて本学病理専門医が判定し、15 mm 未満または門脈域 6 力所未満例は、肝病理所見の評価不能例として解析対象外とした。Matteoni 分類<sup>8)</sup>Type3、4 を NASH と診断し、LS と AC の 2 つの因子からロジスティック回帰分析による判別式を算出し、NASH 診断能を評価した。

## 4. 研究成果

### (1) UGAP の肝脂肪化診断能

肝脂肪化 grade 別の AC は、S0(17)/S1(87)/S2(30)/S3(16) : 0.43/0.57/0.68/0.72 (dB/cm/MHz) と脂肪化変化に伴い高値を示した ( $p < 0.0001$ )。AC と肝脂肪化割合の間に、有意な正の相関関係を認めた ( $R^2 = 0.4952$ ,  $p < 0.0001$ )。ROC 解析を用い UGAP の肝脂肪化診断能を検討すると、S3 を識別する AUROC は 0.933、S2 以上を識別する AUROC は 0.921、S1 以上を識別する AUROC は 0.891 で UGAP の高い脂肪化診断能を認めた。

### (2) 2D-SWE の肝線維化診断能

肝線維化 stage 別の LS は、F0(43) : 5.6 kPa、F1(31) : 6.3 kPa、F2(28) : 7.8 kPa、F3(15) : 9.4 kPa、F4(16) : 14.9 kPa で、線維化進行に伴い LS は段階的に上昇を示した ( $p < 0.0001$ )。LS と FIB-4 index 間に、有意な正の相関関係を認めた ( $R^2 = 0.2537$ ,  $p < 0.0001$ )。ROC 解析を用い 2D-SWE の肝線維化診断能を検討すると、F4 を識別する AUROC は 0.984、F3 以上を識別する AUROC は 0.915 で SWE の高い診断能を認めた。

(3) LS と AC の間に有意な相関関係は認めなかった。得られたロジスティック回帰式は、予測値  $P = 1 / (1 + e^{-x})$ ,  $x = -0.478 \times \text{LS (kPa)} + 20.242 \times \text{AC (dB/cm/MHz)} - 14.196$  であり、同式の NASH 診断に関する AUROC は 0.889 であった。

(4) 2D-SWE と UGAP の複合評価により、低侵襲に肝線維化と脂肪化の同時推定が可能となり、高精度な NASH 診断予測モデルが構築された。

### < 引用文献 >

- 1) Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med*. 2005;22(9):1141-5.
- 2) Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J Gastroenterol*. 2012;47(5):586-95.
- 3) Leoni S, Tovoli F, Napoli L, et al. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. *World J Gastroenterol*. 2018;14;24(30):3361-3373.
- 4) Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features, Is Associated With Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(2):389-97.
- 5) Kuroda H, Kakisaka K, Tatemichi Y, et al. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using acoustic radiation force impulse imaging in chronic hepatitis patients with hepatitis C virus infection. *Hepatogastroenterology*. 2010;57(102-103):1203-7.
- 6) Oguri T, et al. 89th JSUM meeting. 2016.
- 7) Brunt EM1, Kleiner DE, Wilson LA, et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*. 2011;53(3):810-20.
- 8) Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1413-9.

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計9件)

- 1) Fujiwara Y, Kuroda H, Abe T, Ishida K, Oguri T, Noguchi S, Sugai T, Kamiyama N, Takikawa Y. The B-Mode Image-Guided Ultrasound Attenuation Parameter Accurately Detects Hepatic Steatosis in Chronic Liver Disease. *Ultrasound Med Biol.* 査読有, 2018;44(11):2223-2232.
- 2) Abe T, Kuroda H, Fujiwara Y, Yoshida Y, Miyasaka A, Kamiyama N, Takikawa Y. Accuracy of 2D shear wave elastography in the diagnosis of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Ultrasound.* 査読有, 2018;46(5):319-327.
- 3) Kakisaka K, Suzuki Y, Fujiwara Y, Abe T, Yonezawa M, Kuroda H, Ishida K, Sugai T, Takikawa Y. Evaluation of ballooned hepatocytes as a risk factor for future progression of fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol.* 査読有, 2018;53(12):1285-1291.
- 4) Endo K, Kuroda H, Oikawa T, Okada Y, Fujiwara Y, Abe T, Sato H, Sawara K, Takikawa Y. Efficacy of combination therapy with transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation for intermediate-stage hepatocellular carcinoma. *Scand J Gastroenterol.* 査読有, 2018;53(12):1575-1583.
- 5) Endo K, Kuroda H, Kakisaka K, Oikawa T, Sawara K, Ishida K, Sugai T, Takikawa Y. Hepatic Angiomyolipoma Staining in the Post-vascular Phase of Contrast-enhanced Ultrasound Due to the Presence of Macrophages. *Intern Med.* 査読有, 2018;1;57(9):1247-1251.
- 6) Kakisaka K, Suzuki Y, Kataoka K, Okada Y, Miyamoto Y, Kuroda H, Takikawa Y. Predictive formula of coma onset and prothrombin time to distinguish patients who recover from acute liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 査読有, 2018;33(1):277-282.
- 7) Kakisaka K, Yoshida Y, Suzuki Y, Sato T, Kuroda H, Miyasaka A, Takikawa Y. Serum markers for mitochondrial dysfunction and cell death are possible predictive indicators for drug-induced liver injury by direct acting antivirals. *Hepatol Res.* 査読有, 2018;48(1):78-86.
- 8) Kuroda H, Abe T, Kakisaka K, Fujiwara Y, Yoshida Y, Miyasaka A, Ishida K, Ishida H, Sugai T, Takikawa Y. Visualizing the hepatic vascular architecture using superb microvascular imaging in patients with hepatitis C virus: A novel technique. *World J Gastroenterol.* 査読有, 2016;14;22(26):6057-64.
- 9) Kakisaka K, Kuroda H, Abe T, Suzuki Y, Yoshida Y, Kataoka K, Miyamoto Y, Ishida K, Takikawa Y. Hepatic Hemodynamics and Elevation of Liver Stiffness as Possible Predictive Markers of Late-onset Hepatic Failure. *Intern Med.* 査読有, 2016;55(9):1091-5.

### 〔学会発表〕(計18件)

- 1) 黒田英克, 阿部珠美, 滝川康裕. NAFLDの病態評価における超音波組織性状診断法の意義 - 肝線維化と脂肪化の複合評価によるNASH診断の試み-. 第42回日本肝臓学会東部会. 2018年.
- 2) 黒田英克, 藤原裕大, 阿部珠美, 三上有里子, 大栗拓真, 野口幸代, 神山直久, 石田秀明, 滝川康裕. 超音波エラストグラフィと超音波減衰量イメージングを用いたNASH診断予測モデル構築の試み. 日本超音波医学会第91回学術集会. 2018年.
- 3) 黒田英克, 滝川康裕. 超音波エラストグラフィと超音波減衰量イメージングを用いた非アルコール性脂肪肝炎診断予測モデル構築の試み. 第54回日本肝臓学会総会. 2018年.
- 4) 大栗拓真, 神山直久, 野口幸代, 黒田英克, 阿部珠美, 藤原裕大, 三上有里子, 滝川康裕. 超音波エコー信号の平均標準偏差比による慢性肝疾患の視認性向上と定量化のための考察. 日本超音波医学会第91回学術集会. 2018年.
- 5) 野口幸代, 神山直久, 大栗拓真, 黒田英克, 阿部珠美, 藤原裕大, 三上有里子, 滝川康裕. 特徴選択を用いた機械学習による肝線維と肝脂肪割合の推定に関する検討. 日本超音波医学会第91回学術集会. 2018年.
- 6) 阿部珠美, 黒田英克, 藤原裕大, 三上有里子, 石田秀明, 大栗拓真, 野口幸代, 神山直久, 滝川康裕. 慢性肝疾患の肝線維化評価における2D-SWEの有用性:TEとの比較試験. 日本超音波医学会第91回学術集会. 2018年.
- 7) 藤原裕大, 黒田英克, 阿部珠美, 大栗拓真, 野口幸代, 神山直久, 滝川康裕. 非侵襲的脂肪肝定量診断における超音波減衰パラメーターとCAPの前向き比較試験. 日本超音波医学会第91回学術集会. 2018年.
- 8) Kuroda H, Takikawa Y. The safety and efficacy of microwave thermosphere ablation system for hepatocellular carcinoma: Initial clinical experience. Asian Pacific Association for the Study of the Liver. 2018, YOKOHAMA, Japan.
- 9) 黒田英克, 藤原裕大, 阿部珠美, 三上有里子, 武田智弓, 滝川康裕. 超音波エラストグラフィと造影超音波検査を用いた急性肝組織障害の評価と予後予測. 日本超音波医学

会第 90 回学術集会. 2017 年.

- 10) 黒田英克, 藤原裕大, 阿部珠美, 三上有里子, 武田智弓, 石田秀明, 滝川康裕. Smart 3D SMI を用いた C 型慢性肝疾患に伴う血管改築過程の可視化と線維化診断への試み. 日本超音波医学会第 90 回学術集会. 2017 年.
- 11) 黒田英克. 肝硬度と血流指標による急性肝組織障害の評価と予後予測. 日本超音波医学会第 53 回東北地方会学術集会. 2017 年.
- 12) 三上有里子, 黒田英克, 藤原裕大, 阿部珠美, 武田智弓, 石田秀明, 大栗拓真, 野口幸代, 神山直久, 諏訪部章, 滝川康裕. C 型慢性肝疾患の線維化診断における 2D-SWE の有用性: 肋間別測定精度と Color map の用途. 日本超音波医学会第 90 回学術集会. 2017 年
- 13) 藤原裕大, 大栗拓真, 黒田英克, 阿部珠美, 三上有里子, 武田智弓, 野口幸代, 神山直久, 滝川康裕. 超音波減衰量イメージングによる非侵襲的肝脂肪定量法の有用性. 日本超音波医学会第 90 回学術集会. 2017 年
- 14) 野口幸代, 神山直久, 大栗拓真, 黒田英克, 阿部珠美, 藤原裕大, 三上有里子, 滝川康裕. 多変量解析による超音波測定値からの肝線維・脂肪化の推定. 日本超音波医学会第 90 回学術集会. 2017 年
- 15) 大栗拓真, 神山直久, 野口幸代, 黒田英克, 阿部珠美, 藤原裕大, 三上有里子, 滝川康裕. 超音波減衰量パラメトリックイメージの検討 - 減衰係数計測時のモニタ画像として. 日本超音波医学会第 90 回学術集会. 2017 年
- 16) 阿部 珠美, 黒田英克, 藤原 裕大, 三上 有里子, 武田 智弓, 滝川 康裕. 慢性肝疾患の線維化評価における Shear Wave Elastography の有用性 - M2BPGi の比較と複合指標の検証 - 日本超音波医学会第 90 回学術集会. 2017 年
- 17) Oikawa T, Sawara K, Kuroda H, Takikawa Y. Sorafenib treatment for advanced hepatocellular carcinoma-the effectiveness, safety and controversial point. The 2017 Gastrointestinal Cancers Symposium. 2017. SanFrancisco, USA.
- 18) Fujiwara Y, Kuroda H, Abe T, Takikawa Y. The B-mode Image-guided Ultrasound Attenuation Parameter Accurately Detects Hepatic Steatosis in Chronic Liver Disease. The Radiological Society of North America's 104th Scientific Assembly and Annual Meeting. 2017, Chicago, USA.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。