

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19823

研究課題名(和文) NASH、NASH発癌における非侵襲的検査による早期診断の確立

研究課題名(英文) Establishment of the early diagnosis by the non-invasive test in NASH and the NASH cancerogenesis

研究代表者

日高 勲 (HIDAKA, Isao)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70593440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：非侵襲的な画像診断装置による非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の診断法の確立を目指し、肝生検による組織診断と非侵襲的検査を比較検証した。NASHでは非アルコール性脂肪肝と比較し、Real-time tissue elastography(RTE)によるMeanは有意に低値で、LF indexが有意に高値であることが判明した。またDual Scanによる内臓脂肪面積(VFA)も有意に高値であった。線維化進展例の鑑別に有用なパラメータについても検証したところ、線維化進展例でも同様の結果であった。NASH、線維化進展例の拾い上げに、非侵襲的肝硬度測定装置RETや内臓脂肪面積測定は有用である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は近年増加傾向にある疾患であるが、ただの脂肪肝と異なり、線維化を呈する病態であり、進行すると肝硬変や肝細胞癌を発症する。本研究において、脂肪肝患者からのNASHの拾い上げに腹部超音波検査に搭載されている非侵襲的肝硬度測定装置による肝硬度計測や内臓脂肪の測定が有用である可能性を見出した。さらに研究を継続し、論文発表を目指す。診断法として確立されれば、NASHの早期発見により脂肪肝からの肝硬変や肝細胞癌の発症抑制につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：We studied it aiming at establishment of the diagnostic procedure of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) with the noninvasive imaging device. We compared the non-invasive test with the tissue diagnosis by the liver biopsy. The Mean by Real-time tissue elastography(RTE) was significantly low level in comparison with the non-alcoholic fatty liver in NASH, and the LF index was significantly high level. Also, the visceral fat area (VFA) by Dual Scan was significantly high level, too. Furthermore, We tested it about the parameter that was useful for the differentiation of the fibrosis extension case. Even a fibrosis extension case was a similar result.

So, Noninvasive liver hardness measuring assembly RET and visceral fat area measurement are useful in NASH, the pickup of the fibrosis extension case.

研究分野：医学、臨床内科学、肝臓内科

キーワード：非アルコール性脂肪性肝炎 線維化進展 非侵襲的診断 肝硬度測定 内臓脂肪 RTE

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の中で、炎症が起こり、線維化を呈する病態であり、進行すると肝硬変や肝細胞癌 (HCC) を発症する。我が国には約 100 万人の NASH 患者が存在すると推計されており、肝癌の予防、早期発見にはできるだけ早期に NASH 患者を拾い上げることが重要である。現在、NASH の確定診断には、肝生検が必須であるが、侵襲的であり、非侵襲的な NASH 診断法の確立が急務である。

(2) また、近年 NASH からの肝発癌が増加傾向であり、高リスク群の拾い上げが重要である。NASH からの HCC 発癌においては肝線維化進展のほかに、肥満も独立した発癌リスクであると報告されており、内臓脂肪蓄積と発癌の関連が注目されている。

<引用文献>

日本肝臓学会編：NASH・NAFLD の診療ガイド 2010

Tokushige K, et al. J Gastroenterol, 2011

Calle E.E. et al. N Engl J Med, 2003

2. 研究の目的

(1) Fibro Scan や Real-time tissue elastography (RTE)、Dual Scan といった非侵襲的な画像診断装置による NAFLD からの NASH の診断法の確立を目指す。また、新規血清線維化マーカーについても併せて検証する。

(2) さらに、非侵襲的肝線維化測定による線維化と発癌の関連性について検討するとともに、Dual Scan による内臓脂肪蓄積と NASH 肝発癌の関連についても明らかにする。

3. 研究の方法

(1) NAFLD 症例における非侵襲的検査による NASH 早期診断確立の検討

2014 年 10 月から 2018 年 11 月までに当院で肝生検を施行した肝硬変を除く NAFLD 症例 72 例を対象とし、体重、BMI、新規線維化マーカーを含む血液検査項目および Fibro Scan による肝硬度、RTE による各種特徴量、LF index、Dual Scan による内臓脂肪面積のうち、NAFL (非アルコール性脂肪肝) と NASH の鑑別に有用なパラメータを検索する。

また、発癌と関連する線維化進展と関連するパラメータについても検証する。

(2) NAFLD における治療経過と内臓脂肪の関連の検討

その後当院で引き続き治療を継続した症例を対象に、定期的に Dual Scan を実施し、AST/ALT の推移と内臓脂肪面積の関連についても検証する。

(3) NASH 発癌と内臓脂肪蓄積との関連の検討

2019 年 12 月までに Dual Scan による内臓脂肪面積が測定可能であった HCV 発癌 98 例と NASH 発癌として nonBnonC 発癌 83 例を対象として、体重や内臓脂肪蓄積の差異、生活習慣病の合併率、酸化ストレスマーカー 80HdG を解析した。

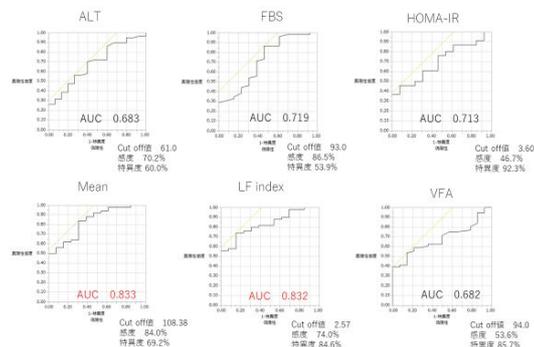
4. 研究成果

(1) 対象 72 例中 Matteoni 分類による NASH が 57 症例であった。NASH では NAFL と比較し、BMI は高値であり (27.34 vs 25.09, $P=0.05$)、血液検査項目では ALT (109.5 vs 61.7)、FBS (105.5 vs 94.8)、HOMA-IR (3.45 vs 2.33) が有意に高値 ($P<0.05$) であった。RTE による Mean (94.52 vs 110.79, $P<0.001$) は有意に低値、SD (63.78 vs 56.02, $P=0.001$)、%AREA (34.93 vs 20.13, $P<0.001$)、COMP (35.11 vs 24.49, $P<0.001$)、LF index (3.17 vs 2.20, $P<0.001$) は有意に高値であった。また Dual Scan による内臓脂肪面積 (VFA) も NASH で有意に高値 (101.2 vs 80.0, $P<0.05$) であった (表 1)。一方で FibroScan による肝硬度 (LS) に有意差を認めなかった。ROC 解析による AUC は ALT 0.683, FBS 0.719, HOMA-IR 0.713, RTE Mean 0.833, LF index 0.832, VFA 0.682 と RTE が優れていた。RTE による肝硬度測定は NAFLD からの NASH の拾い上げに有用であることが判明した (図 1)。

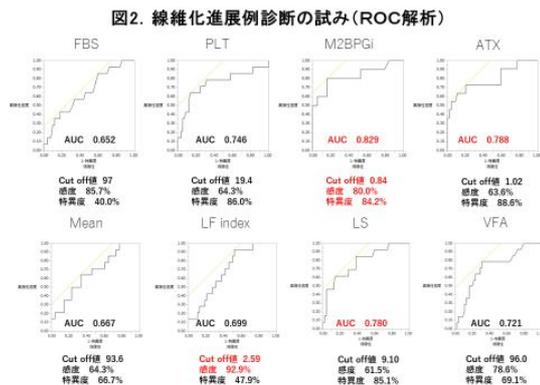
表 1: NASH (Matteoni type3以上) に関連する因子

	NASH 57例	NAFL 15例	P値
BW (Kg)	71.2	65.9	0.156
BMI	27.34	25.09	0.050
AST	70.4	45.7	0.052
ALT	109.5	61.7	0.033
PLT	23.82	24.64	0.567
FBS	105.5	94.8	0.016
IRI	13.23	9.92	0.071
HOMA-IR	3.45	2.33	0.035
MZBP-Gi	0.879	0.570	0.286
ATX	0.855	0.746	0.224
VFA (Dual Scan)	101.2	80.0	0.022
MEAN (RTE)	94.52	110.79	<0.001
SD (RTE)	63.78	56.02	0.001
%AREA (RTE)	34.93	20.13	<0.001
COMP (RTE)	35.11	24.49	0.001
LF index (RTE)	3.17	2.20	<0.001
LS (FibroScan)	7.92	6.58	0.271

図 1. 各項目による NASH 診断の試み (ROC 解析)



さらに線維化進展を伴った NASH の非侵襲的な囲い込みを行うために、Brunt 分類による stage3 以上の線維化進展と関連する因子についても検討した。線維化進展例は 13 例で、非線維化進展例と比較し、FBS は有意に高値(110.4 vs 1017, $P<0.05$)で、PLT は有意に低値(20.16 vs 24.79, $P<0.01$)で、線維化マーカーである M2BPGi (1.28 vs 0.59)およびオウトタキシン (ATX, 1.09 vs 0.77) が有意に高値 ($P<0.001$) であった。RTE では Mean は有意に低値 (90.71 vs 99.47, $P<0.05$)で LF index が有意に高値(3.44 vs 2.85, $P<0.05$)であり、FibroScan による LS も有意に高値 (10.03 vs 6.61, $P<0.01$) であった。さらに VFA も線維化進展例で有意に高値 (115.6 vs 92.0, $P<0.05$) であった。ROC 解析による AUC は FBS 0.652, PLT 0.746, M2BPGi 0.829, ATX 0.788, RTE Mean 0.667, LF index 0.669, LS 0.780, VFA 0.721 と血清線維化マーカーが優れていたが、感度は RTE による LF index が最も高く、Cutoff 値を 2.59 とすると感度は 92.9% であった (図 2)。RTE による肝硬度測定は NASH、線維化進展例の拾い上げに有用であることが判明した。



(2)本研究にて肝生検施行時に、内臓脂肪測定を実施した症例の中で、その後当科で食事療法薬物療法を開始し、経過を追った症例のうち、1 年後に内臓脂肪を測定しえた症例を 26 例認め、26 例中 18 例 (69.3%) で治療前より ALT の改善を認めていた。また、15 例で VFA の減少を、18 例で体重の減少を認めていた。ALT 改善の有無と VFA、体重の減少との関連を検討したところ、VFA 減少は ALT 低下と関連していたが ($P<0.05$) 体重は関連しておらず、内臓脂肪の減少は NAFLD における治療目標となり得る可能性が示唆された。

(3)内臓脂肪面積 (VFA) は HCV 発癌群では 127cm²、NBNC 発癌群では 174cm² と NBNC 群で有意に内臓脂肪が蓄積していた ($p<0.001$)。また、NBNC 群は糖尿病・高脂血症 D の合併が有意に多く、体重も有意に重かった (61.7 vs. 56.9 kg, $p=0.007$)。また、酸化ストレスマーカーである尿 8OHdG についても検討したが、有意な差は認めなかった。さらに HCC に対する分子標的薬の治療効果と内臓脂肪の関係についても検討ところ、ソラフェニブ投与症例では内臓脂肪蓄積が独立した予後良好因子であることが判明し、論文報告した。一般的に内臓脂肪蓄積型肥満は予後不良因子であることが知られているが、ソラフェニブなどの分子標的薬治療を行う進行肝癌症例という限られた状況では予後良好な因子となる場合もある。

(4)さらに本研究で採取した肝生検組織を用い、東京医科歯科大学 小川佳宏教授らとの共同研究により NASH のマウスモデルで認める特有の組織像である hepatic crown-like structure が人の肝組織でも ballooning 発現時期に一致し組織診断の一助となる可能性を見出し報告した。また、山口大学 藤澤浩一らとの共同研究で脂肪肝メダカ model において体外式超音波で脂肪肝の評価が可能なることを報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fujisawa Koichi, Takami Taro, Nagatomo Takahiro, Fukui Yumi, Hoshida Hisashi, Saeki Issei, Matsumoto Toshihiko, Hidaka Isao, Yamamoto Naoki, Sakaida Isao	4. 巻 77
2. 論文標題 Usefulness of adult medaka fish as a model for the evaluation of alcoholic fatty liver	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Alcohol	6. 最初と最後の頁 147 ~ 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alcohol.2019.01.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Saeki Issei, Yamasaki Takahiro, Maeda Masaki, Kawano Reo, Hisanaga Takuro, Iwamoto Takuya, Matsumoto Toshihiko, Hidaka Isao, Ishikawa Tsuyoshi, Takami Taro, Sakaida Isao	4. 巻 7
2. 論文標題 No Muscle Depletion with High Visceral Fat as a Novel Beneficial Biomarker of Sorafenib for Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Liver Cancer	6. 最初と最後の頁 359 ~ 371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000487858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fujisawa Koichi, Takami Taro, Fukui Yumi, Nagatomo Takahiro, Saeki Issei, Matsumoto Toshihiko, Hidaka Isao, Yamamoto Naoki, Okamoto Takeshi, Furutani-Seiki Makoto, Sakaida Isao	4. 巻 7
2. 論文標題 Assessment of high-fat-diet-induced fatty liver in medaka	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biology Open	6. 最初と最後の頁 bio031534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/bio.031534	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Michiko Itoh, Takayoshi Suganami, Hideaki Kato, Sayaka Kanai, Ibuki Shirakawa, Takeru Sakai, Toshihiro Goto, Masahiro Asakawa, Isao Hidaka, Hiroshi Sakugawa, Koji Ohnishi, Yoshihiro Komohara, Kenichi Asano, Isao Sakaida, Masato Tanaka and Yoshihiro Ogawa	4. 巻 22
2. 論文標題 CD11c+ resident macrophages drive hepatocyte death-triggered liver fibrosis in a murine model of nonalcoholic steatohepatitis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 JCI insight	6. 最初と最後の頁 ahead of print
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.92902	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 日高 勲、佐伯 一成、岡本 健志、松本 俊彦、石川 剛、高見 太郎、坂井田 功
2. 発表標題 脂肪肝における内臓脂肪蓄積やBMIによるNASH拾い上げの検討
3. 学会等名 第9回肥満と消化器疾患研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日高 勲、佐伯 一成、坂井田 功
2. 発表標題 脂肪肝におけるReal-Time Tissue ElastographyによるNASHの囲い込みの検討
3. 学会等名 日本超音波医学会第92回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯一成、福井悠美、日高 勲、岡本健志、山崎隆弘、坂井田功
2. 発表標題 NASH診断における超音波検査を用いた仮想SAF/FLIP systemの有用性
3. 学会等名 日本超音波医学会第92回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日高 勲、佐伯 一成、坂井田 功
2. 発表標題 脂肪肝からの非侵襲的検査によるNASH拾い上げの試み
3. 学会等名 第23回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日高 勲、大野 高嗣、佐伯 一成、坂井田 功
2. 発表標題 Elastographyによる脂肪肝からのNASH、線維化進展例拾い上げの検討
3. 学会等名 第43回日本肝臓学会西部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 一成、福井 悠美、日高 勲、高見 太郎、坂井田 功、山崎 隆弘
2. 発表標題 超音波検査による仮想NAS (NASH activity score)
3. 学会等名 日本超音波医学会第91回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐伯 一成、日高 勲、岡本 健志、山崎 隆弘、坂井田 功
2. 発表標題 超音波検査を用いた仮想SAF systemによるNASH診断
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日高 勲、佐伯 一成、松本 俊彦、坂井田 功
2. 発表標題 NASH診断におけるElastographyの有用性の検討
3. 学会等名 第53回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日高 勲、坂井田 功
2. 発表標題 DAA治療におけるSVR後の肝線維化改善効果、肝発癌抑制効果の検討
3. 学会等名 第21回 日本肝臓学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Isao Hidaka and Isao Sakaida
2. 発表標題 A study of the effectiveness for improving hepatic fibrogenesis and suppressing hepatocarcinogenesis after sustained virologic response (SVR) in direct acting antiviral (DAA) treatments
3. 学会等名 APDW2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日高 勲、佐伯 一成、岡本 健志、坂井田 功
2. 発表標題 内臓脂肪蓄積の改善はNASH治療として有用である～経時的内臓脂肪測定の見直し～
3. 学会等名 第37回 日本肥満学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 日高 勲、福井 悠美、佐伯 一成、前田 雅樹、松本 俊彦、高見 太郎、坂井田 功
2. 発表標題 NASHの診断、治療における内臓脂肪面積測定の有効性の検討
3. 学会等名 第103回 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	佐伯 一成 (SAEKI Issei)		
研究協力者	藤澤 浩一 (FUJISAWA Koichi)		