

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19900

研究課題名（和文）インピーダンス法を用いた肝脂肪率の新規評価手法

研究課題名（英文）A new rapid method for the measurement of liver steatosis by Bioelectrical Impedance

研究代表者

原 貴信（HARA, Takanobu）

長崎大学・病院（医学系）・助教

研究者番号：40770441

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）：肝生検は肝移植グラフトの脂肪肝の有無を評価するのに必要な手技であるが、24時間どこでも可能な検査ではない。体脂肪計にも用いられる非侵襲的で簡便な生体電気インピーダンス（BI）法により、脂肪肝の評価が可能かを検討した。100 kHz周波数でのBI値は96.6-201.6 の範囲だった。組織学的な脂肪肝の程度と肝内中性脂肪量は相関していた（ $R=0.7$, $p<0.01$ ）。BI値は、肝臓のコレステロール、組織学的な脂肪率と正の相関を示したが、中性脂肪量のみが有意な相関であった（ $R=0.7$, $p=0.04$ ）。BI法はシンプルで非侵襲的な方法であり、脂肪肝の程度の評価に適用できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝移植において高度脂肪肝グラフトは移植後のグラフト機能不全が有意に多いことが知られている。脂肪肝の評価は肝生検による迅速病理診断で行われているが、グラフトを損傷する、診断に時間を要する、生検1カ所のみで全体の肝脂肪率を類推している、という問題がある。本研究でヒト肝においてBIと肝内の中性脂肪含有量との関連が明らかとなった。組織学的な死亡率をBI値から類推するためには高度脂肪肝症例の蓄積が必要ではあるものの、組織学的診断が困難な状況でも迅速・簡単な測定を実現する器械開発のきっかけとなった。

研究成果の概要（英文）：Liver biopsy is a gold standard for assessing steatosis in deceased donor liver transplantation (DDLT) but not always possible. Bioelectrical impedance (BI) analysis is noninvasive, reproducible method that might helpful for assessing steatosis. We analyzed the correlation between BI and Histopathology.

BI at 100 kHz frequency was ranged from 96.6 to 201.6 . The mean amount of liver cholesterol was 3.0 ± 0.2 mg/g and the triglyceride was 20.9 ± 11.9 mg/g. BI was correlated with amount of liver triglyceride ($R=0.7$, $p<0.01$). BI showed positive correlation with liver fat content, and pathological findings but not significant. We need more severe fatty liver to analyze. BI analysis is a simple, noninvasive method that could easily be applicable in evaluation of the liver quality in DDLT.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：脂肪肝 インピーダンス法

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

1．研究開始当初の背景

肝移植医療におけるドナー不足はグローバルな課題であり、昨今では脂肪肝もグラフトとして使用される傾向にある。しかしながら 60%以上の高度脂肪肝は移植後のグラフト機能不全が有意に高く、国内外の施設は肝脂肪率 30%以下を使用基準としていることが多い。術中に脂肪肝が疑われた場合、肝生検による迅速病理診断でグラフト使用の可否を判断するが、グラフトを損傷する、診断に時間を要する、1カ所の生検結果のみで肝全体の脂肪率を類推している、ことが問題として挙げられる。また、病理医が不在の場合は術者が肝臓の視触診により経験的に判断せざるを得ない。客観的に肝脂肪率を判断することが必要であるものの、低侵襲かつ簡便な測定手法は確立されていない。

2．研究の目的

肝脂肪率の程度は脳死ドナー手術における肝移植グラフトの選別、肝切除術の際の術式選択において極めて重要であるが、病理組織診断による評価はグラフトを損傷し、診断に時間を要することが問題である。一方、体脂肪計として広く利用され、最近では鮮魚の脂の乗り（目利き）にも応用されているインピーダンス法は肝表面より微小な電流を流して測定するもので、非侵襲的に複数個所の診断が可能である。“肝実質のインピーダンス値”と、“肝組織から抽出した脂質量・病理組織標本で顕微鏡下に診断した脂肪率”との相関を明らかにし、インピーダンス値から肝脂肪率を導き出す低侵襲かつ簡便な肝脂肪率の測定手法開発を目的とした。

3．研究の方法

（1）肝インピーダンス測定手法の確立

インピーダンス測定には、数 kHz～100kHz 程度の広い範囲において高精度に測定可能な機器を用いた。肝組織内の脂肪率測定に最適な電流の周波数を導き出すため、複数の組み合わせで比較検討した。

（2）肝切除標本を用いた肝インピーダンス値と脂肪率との解析

肝切除標本のうち、術後病理診断に必要な部分を除いた非腫瘍部を研究に使用。肝組織は測定前に生理食塩水で冷却（4℃）し、測定条件を統一した。肝表面からのインピーダンス測定に加え、肝組織からの脂質抽出・分離・測定、病理組織標本を用いた肝脂肪率診断を行い、相互に比較検討した。

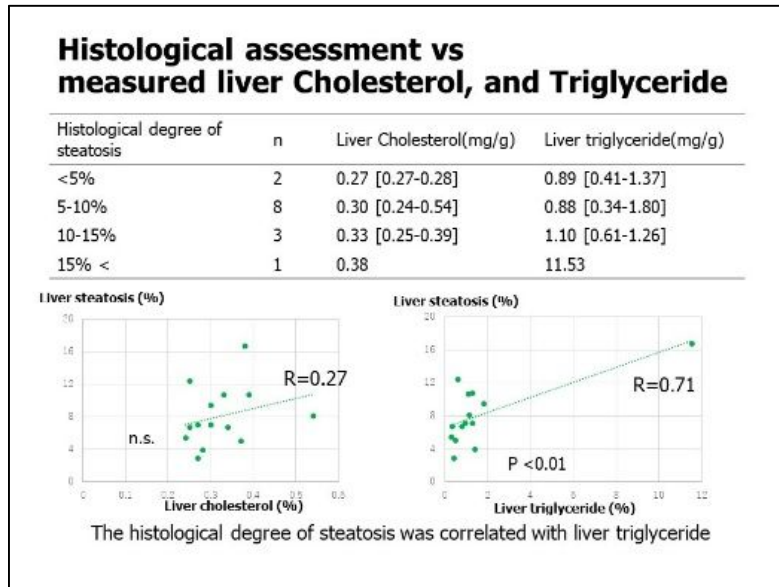
4．研究成果

肝胆道系の良悪性腫瘍のために肝切除術を行われた患者のうち、本研究に参加する旨の同意を書面で得られた 14 例を対象とした。患者背景は男性 6 例、女性 8 例。年齢の中央値は 70 歳 [24-83]、BMI は 23.2 [17.3-29.8]、手術適応は肝細胞癌 6 例、肝内胆管癌 3 例、転移性肝腫瘍 4 例、肝内胆管結石 1 例であった。

インピーダンス値は 2 kHz, 5 kHz, 20 kHz, 50 kHz, 100 kHz を用いて十分に冷却された肝切除検体をそれぞれ測定し、3 回の平均値をとった。肝臓 1 g 当たりの総コレステロール含有量中央値は 3 mg [2.4-5.4]、中性脂肪量は 10.3 mg [2.9-115.3]であった。病理組織標本は Hematoxylin & Eosin 染色のスライドを作成し、顕微鏡下に 3 視野を観察。WinROOF を用いて脂肪率の測定を行い、その平均値を算出した。

(1) 病理組織学的評価と総コレステロール含有量、中性脂肪量の比較検討

最初に病理組織学的評価を肝臓のコレステロール、中性脂肪含有量と比較した。組織学的な脂肪率は5%未満 2 例、5-10%が 8 例、10-15%が 3 例、15%以上が 1 例であった。コレステロールと中性脂肪の両者を組織学的所見と比較したところ、中性脂肪含有量は組織学的所見との相関が認められた。

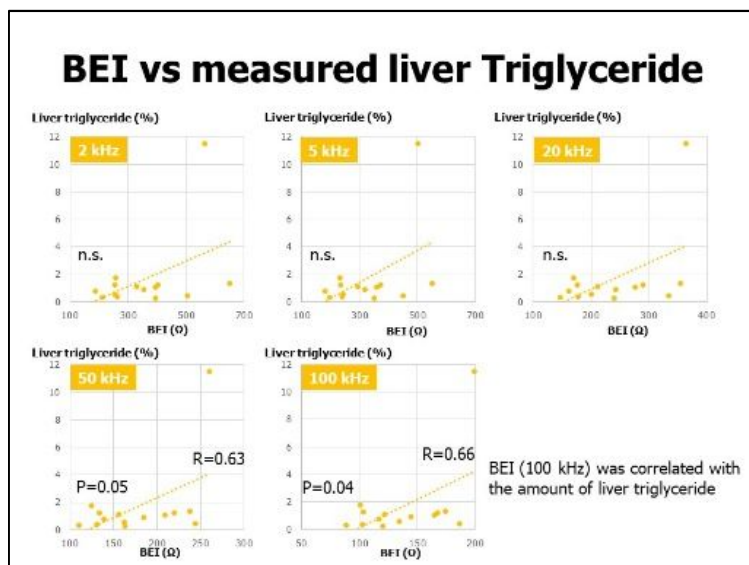


(2) インピーダンス値と肝コレステロール含有量との比較検討

2 kHz, 5 kHz, 20 kHz, 50 kHz, 100 kHz それぞれの測定で得られた値と、肝コレステロール含有量とを比較した。周波数が上がるにつれ、コレステロール量との相関係数は上昇するものの、有意な相関は認められなかった。

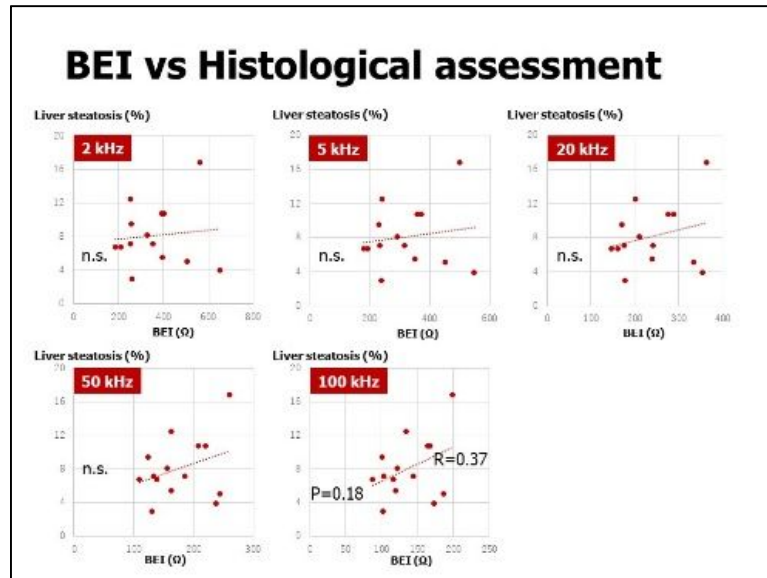
(3) インピーダンス値と肝中性脂肪含有量との比較検討

2 kHz, 5 kHz, 20 kHz, 50 kHz, 100 kHz それぞれの測定で得られた値と、肝コレステロール含有量とを比較した。周波数が上がるにつれ、中性脂肪量との相関係数は上昇し、100 kHz と肝中性脂肪含有量との間には有意な正の相関が認められた。



(4) 病理組織学的評価とインピーダンス値との比較検討

2 kHz, 5 kHz, 20 kHz, 50 kHz, 100 kHz それぞれの測定で得られた値と、顕微鏡下に測定した摘出肝の組織学的脂肪率とを比較した。測定した脂肪率との間には正の相関が認められるものの有意とは言えなかった。



臨床検体を用いた研究で認められた課題として、組織学的な脂肪肝の程度が低く、高度脂肪肝の症例が含まれなかったことがあげられる。組織学的に数%の脂肪率の差異をインピーダンス値で検出するためには、さらなる症例の蓄積が必要と考えられた。また、高度脂肪肝症例においても適切な測定が可能かを検討する必要があると考えられた。この課題を克服するため、症例の蓄積を進めるとともに、動物実験で高度脂肪肝マウスを作成し、インピーダンス値を測定・解析することで問題の解決をはかった。

(5) 高度脂肪肝マウスとインピーダンス値との比較検討

MCDD(メチオニン・コリン欠損食)を負荷して作成した脂肪肝マウスを用いて検討を行った。これまでの検討を踏まえて 100 kHz のインピーダンス値が脂肪肝の程度を反映する指標として有用と考え、この周波数で測定。インピーダンス値の平均は MCD2 週投与群で 755.7、MCD4 週投与群で 1015.7 と週数を重ねて脂肪肝の程度が増悪するとともに高くなる傾向にあり (p=0.05) 通常食 4 週投与群の 719.8 と比較しても有意に高くなっていた (p=0.03)。この結果から、脂肪肝の程度に応じインピーダンス値が上昇することが明らかになり、正の相関となることを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| | |
|---------|--|
| 1. 発表者名 | Takanobu Hara, Akihiko Soyama, Masaaki Hidaka, Tota Kugiyama, Shinichiro Kobayashi, Koji Natsuda, Tomohiko Adachi, Shinichiro Ono, Satomi Okada, Mitsuhsa Takatsuki, Susumu Eguchi |
| 2. 発表標題 | A new rapid method for the measurement of liver steatosis by Bioelectrical Impedance -applying fishery device- |
| 3. 学会等名 | The Joint Congress of the 6th A-PHPBA 2017 & the 29th Meeting of JSHPBS (国際学会) |
| 4. 発表年 | 2017年 |

| | |
|---------|--|
| 1. 発表者名 | 原 貴信, 曾山明彦, 日高匡章, 足立智彦, 大野慎一郎, 岡田怜美, 濱田隆志, 前川恭一郎, 三馬 聡, 宮明寿光, 中尾一彦, 高槻光寿, 江口 晋 |
| 2. 発表標題 | 非アルコール性脂肪性肝疾患を背景とした肝硬変に対する肝移植 |
| 3. 学会等名 | 第110回日本消化器病学会九州支部例会 |
| 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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|