

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591761

研究課題名(和文)バイオマーカーとして核磁気共鳴画像を用いた非アルコール性脂肪性肝炎の病態解析

研究課題名(英文)Elucidating the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease by means of magnetic resonance imaging for use as biomarkers

研究代表者

大西 裕満 (Onishi, Hiromitsu)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20452435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は肥満関連疾患の一つである非アルコール性脂肪性肝炎の病態を磁気共鳴画像(MRI)の技術を用いて解析するための基礎的検討である。

動物実験および臨床試験では磁気共鳴画像の技術を用いることにより肝臓における脂肪および鉄の蓄積を非侵襲的に評価可能であった。また、肝臓における脂肪の蓄積と肝細胞機能との関連を調べる臨床試験からは脂肪の蓄積自体が必ずしも肝細胞機能を低下させないことがわかった。

研究成果の概要(英文)：This project was basis examinations to reveal the pathology of nonalcoholic fatty liver disease, that is, one of the disorders associated with obesity, using techniques of magnetic resonance imaging.

Magnetic resonance imaging analyses allowed noninvasive measurement of fat and iron in the liver in an animal study and a clinical study. Another clinical study to investigate the effect of hepatic steatosis on hepatocyte function showed that hepatic steatosis does not necessarily affect the hepatocyte function.

研究分野：腹部領域の画像診断

キーワード：非アルコール性脂肪性肝疾患 非アルコール性脂肪性肝炎 磁気共鳴画像 鉄 脂肪 R2*値

1. 研究開始当初の背景

(1) 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) はメタボリック・シンドロームなど肥満に関連する疾患の一つであり、初期の段階では脂肪が肝に蓄積し (脂肪肝)、進行すると非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) を経て、最終的には肝硬変や発癌を引き起こしうる病態である。非アルコール性脂肪性肝疾患は米国では慢性肝障害のうちで最も頻度の高い疾患であり、我が国でも近年の食生活の変化に伴い増加してきている。そのため、非アルコール性脂肪性肝疾患および非アルコール性脂肪性肝炎の病態解明や治療方針の確立が重要とされている。

(2) 近年の分子生物学の進歩に伴い、非アルコール性脂肪性肝炎においても病態の解明が進み、臨床での診断方法や治療方針も変わってきた。一方で磁気共鳴画像 (MRI) 診断についても近年の技術的な発展は目覚ましく、これまで困難であった物質の定量や細胞機能の評価が臨床の検査においても比較的容易に行えるようになってきている。非アルコール性脂肪性肝疾患の検討では、脂肪および鉄の定量については、Dixon 法を応用した解析技術が、また、肝細胞機能の評価については肝細胞特異性 MRI 造影剤を用いた解析がそれぞれ利用可能である。

2. 研究の目的

(1) 非アルコール性脂肪性肝炎の発症機序としては、two-hit theory が提唱されている。1st hit として肝に脂肪が蓄積され、2nd hit としては肝に線維化が生じ肝硬変に至るとされている。この 2nd hit の最大の要因は酸化ストレスとされており、脂肪酸の蓄積による酸化の増加と肝で過剰に蓄積された鉄のフェントン反応などが活性酸素種の増加をもたらす、これらが線維化を促していると考えられている。また、非アルコール性脂肪性肝炎症例での鉄の過剰蓄積に関しては、消化管からの鉄の吸収亢進や肝細胞からの排泄低下などが関与していると報告されている。

以上より、非アルコール性脂肪性肝炎の病態の解明あるいは病状の評価においては、肝での脂肪や鉄の蓄積の程度や線維化の程度を定量的に評価することが重要と考えられた。これらの評価は生検などで病理組織学的に行われることが一般的であるが、サンプリングを行う場所が限られており、また侵襲を伴うので経時的に何回も行うには限界がある。一方、磁気共鳴画像 (MRI) においては、非侵襲的にまた肝全体の評価を行うことが可能である。そこで非アルコール性脂肪性肝炎における磁気共鳴画像 (MRI) を用いた肝の脂肪および鉄の定量の有用性に関する

検討を行うこととした。

(2) 脂肪肝は非アルコール性脂肪性肝疾患の最初の段階であるが、過剰な脂肪による代謝の変化あるいは脂肪を蓄積して膨張した細胞が類洞を圧迫することによる微小循環の変化に関連して、肝細胞機能の低下をもたらすことがいわれている。近年、臨床で用いられるようになった肝細胞特異性 MRI 造影剤は、静注後肝細胞に特異的に取り込まれる性質を有しているがその取り込みの程度は肝細胞の機能に影響されることがわかっている。しかしながら、脂肪肝の状態が、肝細胞特異性 MRI 造影剤の取り込みに関連する細胞機能にどのように影響するのかは過去に検討されていなかった。そこで非アルコール性脂肪性肝疾患における肝細胞特異性 MRI 造影剤 (Gd-EOB-DTPA) を用いた磁気共鳴画像 (MRI) による肝細胞機能の評価の可能性についても検討を行うこととした。

3. 研究の方法

(1) 脂肪の評価においては、これまでも two-point Dixon 法や MR spectroscopy などの手法があったが、前者は鉄の存在下では T2* 減衰の影響により正確に評価することができず、後者は生体においては肝臓が呼吸運動により移動するため現実的には困難であった。しかしながら、近年、Dixon 法の応用として多数のエコーのデータを同時に収集し、解析することで R2* 値 (T2* 値の逆数) および T2* の影響を補正した脂肪含有率を算出する解析法 (IDEAL-IQ 法) が開発され、定量的に脂肪の蓄積の程度を評価できるようになった。また、鉄の沈着についても R2* 値に反映されるため評価可能と考えられた。まず、異なる濃度の脂肪、水、鉄の成分を含むファントムを作成し、磁気共鳴画像による撮影で正確に定量できるか評価した。

(2) 非アルコール性脂肪性肝炎の疾患モデルマウス (STAM Mice) を導入し、磁気共鳴画像を用いて肝への脂肪あるいは鉄の蓄積の程度を評価した。さらに非アルコール性脂肪性肝炎の病期の進行における鉄の蓄積の影響を調べるために通常脂肪食と鉄過剰脂肪食で飼育した上記モデルマウスを作成し比較した。磁気共鳴画像により得られた定量データについては特殊染色を含めた病理組織学的評価と比較し、その妥当性について検討した。

(3) 臨床試験においては鉄過剰症を有する症例を対象として肝臓をはじめとする上腹部の臓器あるいは組織への鉄の蓄積の程度 (R2* 値) について磁気共鳴画像を用いて評価した。得られた結果については鉄代謝に関連する血液データと対比するとともに、正常

例と比較検討し、定量評価の妥当性について検討した。

(4) もう一つの臨床試験においては、様々な肝疾患の精査を目的とした肝細胞特異性造影剤 (Gd-EOB-DTPA) を用いた磁気共鳴画像検査が施行された症例を対象として、肝臓への脂肪沈着の程度と肝細胞機能との相関について検討した。本検討での肝細胞機能の評価については、磁気共鳴画像の肝細胞相における肝実質の造影効果を指標とした。

4. 研究成果

(1) 脂肪、水、鉄を含むファントムを用いた検討では、IDEAL-IQ法を用いることで脂肪および鉄の両方が混在している物質においても、それぞれを正確に定量可能であることが検証された (図1)。

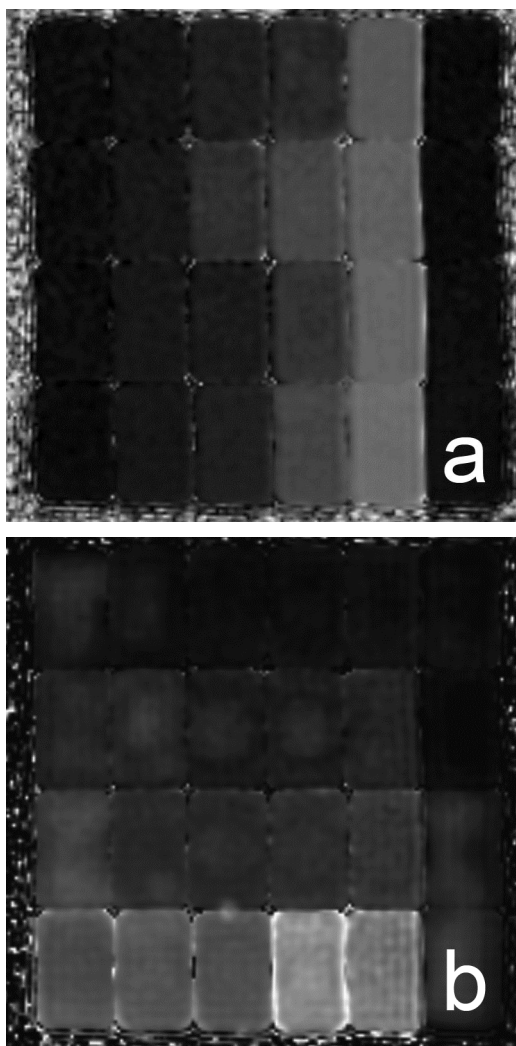


図1 IDEAL-IQ法による脂肪-水-鉄ファントムの脂肪分画画像(a)およびR2*マップ(b)。各容器にそれぞれ異なる濃度の脂肪および鉄が含まれており、二つの画像のピクセル値

はそれぞれ脂肪あるいは鉄の濃度を適切に反映した。

(2) 非アルコール性脂肪性肝炎のモデルマウスを用いた検討では、磁気共鳴画像からR2*マップ(図2)を作成し、磁気共鳴画像による脂肪あるいは鉄沈着の評価が病理像とおおよそ一致することを確認した。ただし、今回の検討ではマウスの剖出肝を対象としており、ヒトと比較してサイズの小さいマウスについて生体のまま解析を行うためにはさらなる技術の研鑽が必要であることがわかった。

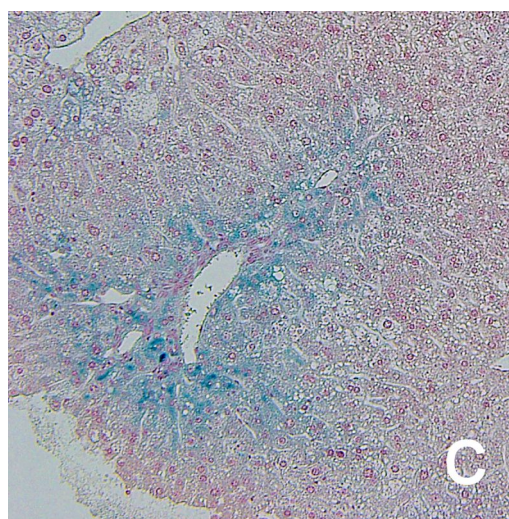
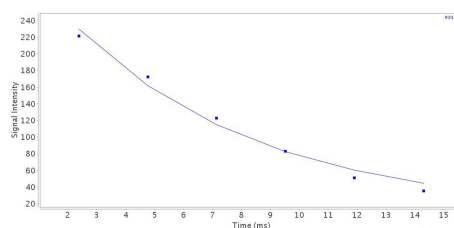
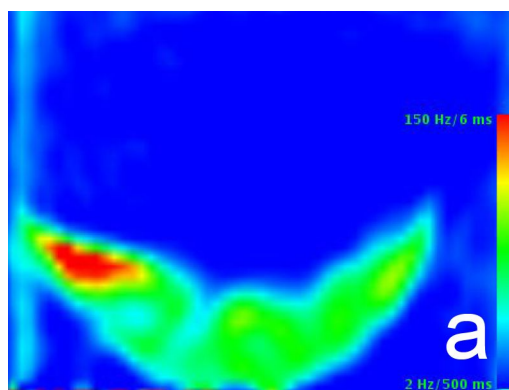


図2 鉄過剰脂肪食 NASH モデルマウスの剖出肝の R2*カラーマップ画像(a)、鉄沈着部位(カラーマップの赤色の部分)の信号減衰曲線(b)およびベルリン・ブルー染色を施

した肝組織標本の顕微鏡像(c).

(3) 磁気共鳴画像による臓器への鉄沈着の評価に関する臨床研究では、鉄過剰症における肝の R2*値は正常例と比較して著明に増加していた。磁気共鳴画像による評価は非侵襲的で検査時間も比較的短いため臨床においても十分有用と考えられたが、測定においては少し問題が懸念される点もあり、今後、適切な対策が必要と考えられた。

(4) 脂肪肝と肝細胞機能との関連について検討した臨床研究では、正常肝と脂肪肝との間において肝細胞特異性造影剤の肝細胞への取り込みについては全体としては有意差を認めなかった。このことは肝の脂肪化は肝細胞機能への影響をもたらさないことを示唆している。一方で個々の症例の検討では、脂肪沈着の領域において造影剤の取り込み低下を認める場合もあり、脂肪沈着に併存する線維化などの病態が肝細胞機能に影響を与える可能性も残された。

<引用文献>

Kawai D, et al, Hydrogen-rich water prevents progression of nonalcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice、Hepatology, Vol. 56, No. 3, 2012, pp. 912-921

Yokoo T, et al, Nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and fat-grading accuracy of low-flip-angle multiecho gradient-recalled-echo MR imaging at 1.5 T, Radiology, Vol. 251, No.1, 2009, pp. 67-76

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

大西 裕満、金 東石、堀 雅敏、巽 光朗 ほか、【肝造影検査 Update 2014】非肝細胞性悪性腫瘍の造影 CT・MRI 診断、画像診断、査読無、Vol. 34, No. 7, 2014, pp. 741-752

Onishi H, et al, Hepatic steatosis: Effect on hepatocyte enhancement with gadoxetate disodium-enhanced liver MR imaging, Journal of Magnetic Resonance Imaging, 査読有、Vol. 39, No. 1, 2014, pp. 42-50
DOI: 10.1002/jmri.24136

[学会発表](計2件)

大西 裕満: 画像診断教育講演3 肝臓

「肝疾患のCTおよびMRI」第54回日本核医学会学術総会 2014年11月7日 大阪国際会議場(大阪)

大西 裕満: レクチャー「肝臓のMRI診断: 最近の知見」第16回 大阪腹部画像・IVR医学研究会 2013年12月17日 新阪急ホテル(大阪)

[図書](計2件)

大西 裕満 ほか、医学書院、第4章 EOB-MRIの基本的知識 3. EOBの取り込み・排泄トランスポーター 3. 排泄系トランスポーター(各論)、EOB-MRI/Sonazoid 超音波による肝臓の診断と治療、工藤正俊・國分茂博 編、2013, pp. 54-58

大西 裕満、金 東石、堀 雅敏 他、金原出版、5. 消化器 画像診断ガイドライン 2013年版 日本医学放射線学会 日本放射線科専門医会・医会 編、2013, pp. 210-327

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西 裕満 (ONISHI, Hiromitsu)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 20452435

(2) 研究分担者

堀 雅敏 (HORI, Masatoshi)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 00346206

巽 光朗 (TATSUMI, Mitsuaki)
大阪大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 60397700

金 東石 (KIM, Tonsok)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号: 80283753