

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659605

研究課題名(和文)ARFIを用いた肝硬度測定による新たな肝切除安全性指標確立に関する研究

研究課題名(英文)Establishment of risk assessment for liver resection by liver stiffness measurement with acoustic radio force impulse (ARFI)

研究代表者

波多野 悦朗 (Hatano, Etsuro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：80359801

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)による肝硬度測定が、肝切除後肝不全(PHLF)の予測に有用であるという仮説に基づき、肝切除症例200例を対象として前向きに検証した。その結果、ARFIによる肝硬度の指標は病理学的肝線維化の進展度を反映し、PHLF予測に有用な術前因子であることが単変量解析で実証された。さらに正確な予測を行うために、多変量解析によってPHLF予測に有用と判定された肝硬度、血小板数、総ビリルビン値、残肝割合の計4因子を複合し、新たなPHLF発生リスクの予測式を導いた。妥当性検証にてこの予測式の有用性が示され、今後の臨床での応用に期待できる。

研究成果の概要(英文)：We aimed to assess the usefulness of liver stiffness measurement based on Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) for the prediction of posthepatectomy liver failure (PHLF) by prospectively analyzing clinical data of 200 patients who underwent hepatic resection. Univariate analysis revealed that liver stiffness value measured by ARFI was one of the most efficient markers in predicting PHLF as well as an excellent indicator of the grade of pathological liver fibrosis. To improve the predictive accuracy, we further performed multivariate analysis and established a novel formula that quantitatively estimates the risk of PHLF by combination of 4 significant factors: liver stiffness, platelet count, total bilirubin, and remnant liver volume rate. The validity of the formula was verified, suggesting it could be applied to clinical use in the future.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 消化器外科学

キーワード：肝切除 肝不全 ARFI 肝線維化

## 1. 研究開始当初の背景

肝切除術は、肝細胞癌、転移性肝癌に対する有効な治療法である。近年、手術手技や周術期管理などの発展により、肝切除術の安全性は向上した。しかしながら、限界を超えた切除を行うと、残肝が生体維持に必要な機能を代償しえず、肝不全という致命的な合併症を生じる危険性がある。

肝切除後肝不全 (posthepatectomy liver failure: PHLF) の発生リスクは、術前の肝予備能と、切除により失われる肝臓の容量により規定される。元々の肝機能を評価することは、PHLF を予測し、肝切除の安全性を確保するために重要な課題である。しかしながら、PHLF を確実に予見できる術前肝機能の指標は明らかにされていない。

最近、肝線維化の程度を非侵襲的に評価する方法として、Acoustic Radio Force Impulse (ARFI) システムを用いた肝硬度測定の有用性が報告されている。肝線維化が慢性肝障害の帰結であることから、術前の肝予備能低下の程度を肝硬度として定量的かつ非侵襲的に評価できる可能性がある。

本研究では、ARFI による肝硬度測定が PHLF を予測する因子として有用であり、ひいてはより正確な肝切除安全性指標の確立につながるのではないかとこの仮説に基づき検証を行った。

## 2. 研究の目的

PHLF の術前予測における、ARFI を用いた肝硬度測定の有用性について検討。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象患者

2011年8月以降、京都大学医学部附属病院において、肝切除術を施行した200例の患者に対して、前向きにデータの収集と解析を行った。生体肝移植ドナー手術、経皮経肝的門脈塞栓術、胆道再建術の症例は除外基準とした。2011年8月から2013年6月までの150例を training set、2013年7月以降の症例を validation set とし、交差検証を行った。本研究は、厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」を遵守し、当施設の倫理委員会の承認(承認番号: )を得たうえで実施した。すべての対象患者において、書面によるインフォームドコンセントを取得した。

### (2) データ収集

術前検査として、血液検査(血小板数やビリルビン、アルブミン、凝固機能などの一般項目とヒアルロン酸や4型コラーゲンなどの線維化マーカー)、ICG試験、肝硬度測定を行った。また、手術により失われる非腫瘍部肝実質体積をCT volumetry システム(富士フィルム Synapse Vincent)にて測定し、切除後の残肝割合を算出した。病理検査にて、切除標本の肝臓線維化の程度(Metavir スコア)を評価した。腹水やその他術後合併症について、術後経過のモニタリングを行った。

### (3) 肝硬度測定

ARFI を搭載した持田シーメンス社製超音波診断装置 ACUSON S2000 を用いて、肝硬度の測定を行った。肝硬度の測定値は、非腫瘍部の肝実質におけるせん断波速度(shear wave velocity: SWV)として定量し数値化した。

### (4) PHLF の定義

主要評価項目は PHLF の発生とし、これは International Study Group of Liver Surgery (ISGLS)より2010年に提唱された国際的な基準(Surgery. May 2011;149(5):713-24)に従って評価した。

## 4. 研究成果

### 患者背景

対象患者の臨床的特徴を **Table 1** に示す。Training set と Validation set の両群において、患者の一般背景因子、術前肝機能因子、手術因子に有意差を認めなかった。原疾患は、Training set では原発性肝癌が97例(64.7%)、転移性肝癌が53例(35.3%)であり、一方、validation set では原発性肝癌が30例(60.0%)、転移性肝癌が20例(40.0%)であった。PHLF の発生割合は、training set において18.7%(Grade A: 14例[9.3%], Grade B: 11例[7.3%], Grade C: 3例[2.0%])、validation set において14.0%(Grade A: 4例[8.0%], Grade B: 3例[6.0%], Grade C: 0例[0.0%])であり、両群に有意差は認めなかった。

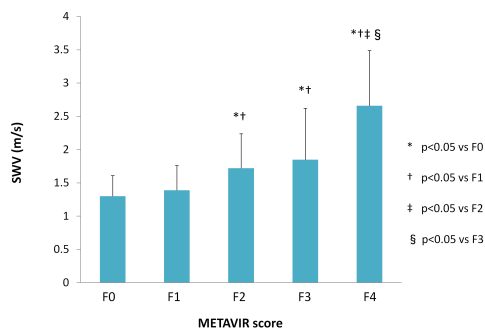
**Table 1** 患者背景：training set と validation set の比較

		Training set (N = 150)	Validation set (N = 50)	p value
性別	M/F	110/40	33/17	0.3253
年齢		66.3±10.7	67.1±9.5	0.677
原疾患	原発/転移	97/53	30/20	0.5544
Child-Pugh score		5.4±0.6	5.4±0.5	0.9471
Plt	x 10 <sup>9</sup> /L	170±62	181±69	0.266
PT-INR		1.04±0.08	1.05±0.08	0.8393
Alb	g/dL	3.8±0.4	3.7±0.4	0.0766
T-bil	mg/dL	0.8±0.3	0.8±0.2	0.2957
KICG		0.15±0.04	0.14±0.04	0.407
手術時間	min	390±176	436±127	0.0906
手術出血量	g	944±1401	881±1079	0.7743
残肝割合	%	78±20	74±20	0.1938
PHLF	+/-	28/122	7/43	0.4431

### 肝臓線維化の予測能の検証

切除肝の組織学的肝硬変 (Metavir スコア F4) の予測に対する各術前因子の有用性について、training set にて検討した。Receiver operating characteristic (ROC) curve による解析にて、F4 診断における area under ROC curve (AUROC) の値で、SWV は 0.896 と高値を示した。他の線維化マーカーであるヒアルロン酸 (AUROC: 0.827)、4 型コラーゲン (AUROC: 0.825)、aspartate aminotransferase to platelet ratio (APRI) (AUROC: 0.783)、FIB4 index (0.766) と比較しても、SWV は組織学的肝硬変の診断に優れた指標であった。さらに、SWV の値と Metavir スコア F 因子との関連を **Figure 1** に示すが、SWV は肝線維化進展と良い相関を示すことが分かった。

**Figure 1** 組織学的肝線維化進展と SWV との関係



### 単変量による PHLF 予測能の検証

PHLF 予測に対する各術前因子の有用性について、同様に training set にて ROC 解析による比較検証を行った (**Table 2**)。これらの因子のうち、AUROC > 0.7 を示す上位のものに、血小板数 (Plt) (AUROC: 0.763)、PT-INR (AUROC: 0.727)、APRI (AUROC: 0.725)、FIB4 index (AUROC: 0.714)、SWV (AUROC: 0.710) が挙げられ、SWV は PHLF 予測に対して有用性の高い術前因子のひとつであることが示唆された。

**Table 2** PHLF 予測における各術前因子の ROC 解析

Preoperative factors	AUROC
<b>Routine blood examination</b>	
Plt	<b>0.763</b>
PT-INR	<b>0.727</b>
T-bil	0.650
Albumin	0.530
ALT	0.625
AST	0.606
<b>Liver perfusion</b>	
KICG	0.579
<b>Liver stiffness</b>	
SWV	<b>0.710</b>
<b>Fibrosis marker</b>	
APRI	<b>0.725</b>
FIB4 index	<b>0.714</b>
ヒアルロン酸	0.695
4 型コラーゲン	0.529

### 多変量解析による残肝割合を考慮した PHLF 予測 index の提唱

前述のように、PHLF 予測において、Plt (AUROC: 0.763) が最も優れた術前の指標であったが、単変量での予測の正確性には限界があると考えられた。そこで、有用な複数の術前因子を組み合わせることで、予測の正確性をより向上させることを目的とし、training set において多変量解析を行った。

Table 2 に示す術前因子 (Plt, PT-INR, T-bil, Alb, AST, ALT, KICG, SWV, APRI, FIB4 index, ヒアルロン酸, 4 型コラーゲン) と残肝割合 (Rem) を含めた計 13 因子から、PHLF 発生に關与する因子について stepwise 法 (最小 AIC 法) により因子選択を行ったところ、Plt、T-bil、SWV<sup>-1</sup>、Rem<sup>-1</sup> が有用な因子として抽出された。(SWV と Rem はそれぞれ逆数として投入)

**Table 3** ロジスティック回帰分析における PHLF 関連因子の尤度比検定

	odds ratio	95% CI	p value
<b>Plt</b>	1.01786	(1.01-1.03)	<b>0.0008</b>
<b>SWV<sup>1</sup></b>	20.27549	(2.1-230.3)	<b>0.0085</b>
<b>Rem<sup>1</sup></b>	0.272369	(0.10-0.69)	<b>0.0061</b>
<b>T-Bil</b>	0.228128	(0.05-0.88)	<b>0.0311</b>

これら 4 因子を、ロジスティック回帰分析に投入したところ、これらは尤度比検定においても PHLF 発生に対して有意に寄与する因子として判定され (Table 3)、次に示す回帰式 (PHLF risk index) が算出された。

$$\text{PHLF risk index} = -0.082 - 0.0177 \times \text{Plt} - 0.3009 \times \text{SWV}^{-1} + 1.301 \times \text{Rem}^{-1} + 1.478 \times \text{T-bil}$$

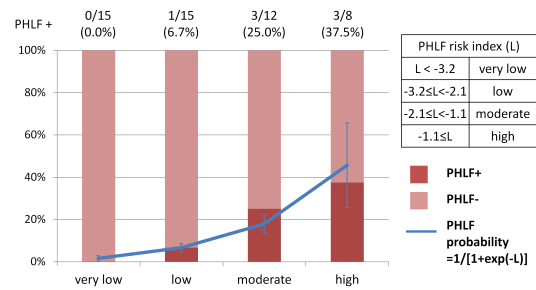
さらに、PHLF risk index (L と簡易表示) から、PHLF 発生確率 (PHLF probability) が算出できた。

$$\text{PHLF probability} = 1 / [1 + \exp(-L)]$$

Training set において、PHLF risk index の AUROC は 0.823 となり、その予測能は各個別の単変量から向上しただけでなく、他の一般的な複合因子として MELD score (AUROC: 0.643)、Child-Pugh score (AUROC: 0.561) と比較しても、有用性の高い指標であることが分かった。さらに、同じく残肝割合を考慮した指標として、残肝推定 KICG を算出し比較すると、その AUROC は 0.579 であり、PHLF risk index は ICG 消失率に基づいた指標よりも PHLF 予測における有用性が高いことが示唆された。

次に、Validation set において、上述の PHLF risk index の妥当性検証を行った。Validation set での PHLF risk index の AUROC は 0.851 と高い正確性の PHLF 予測能を示した。Training set において、PHLF risk index (L) の値の順から、患者をリスク別に均等に分類し、それぞれの群における L のカットオフ値を設定した (very low risk:  $L < -3.2$ , low risk:  $-3.2 \leq L < -2.1$ , moderate risk:  $-2.1 \leq L < -1.1$ , high risk:  $-1.1 \leq L$ )。この分類を Validation set に当てはめることで、各リスク群で実際に PHLF が発生する割合と、理論値として算出される PHLF probability とは良い相関を示す結果が得られた (Figure 2)。

**Figure 2** Validation set における PHLF risk index の妥当性検証



### 考察とまとめ

肝硬度測定は、肝線維化および肝硬変を非侵襲的に診断する手法として、その有用性が報告されている。本研究では、肝硬度が肝切除前の肝臓予備能を反映している可能性に注目し、それが術後の重篤な合併症である PHLF の予測に有用ではないかという仮説に基づいて検証を行った。アウトカムである PHLF の定義に ISGLS の国際的な基準を用いて統一化を図ったという点、さらに、CT volumetry を全例に施行し、残肝割合の安全域を考慮した指標の作成を試みたという点では、本研究はこれまでの報告にない新たな取り組みであると考えられる。

肝硬度測定法で最も普及しているのは Fibroscan である。Fibroscan は機械的パルスの反射速度を測定し硬度を類推する方法であるが、測定の際に測定部位がブラインドになるという欠点を有する。最近登場した ARFI は、せん断波速度 SWV を測定することにより硬度を計算する。ARFI では超音波 B モード画像を参照しながら region of interest の硬度を測定することが可能で、血管や腫瘍を避けて正確に非腫瘍部肝実質の硬度を計測することができる。この利点に注目し、本研究では肝硬度測定法として ARFI を採用し、SWV を肝硬度の指標に用いて検証を行った。

本研究で、SWV は肝臓線維化進展の程度を正確に反映し、既報に矛盾しない結果であった。そして、SWV は単変量として PHLF の発生予測に有用な術前因子の一つであることが分かった。さらに、SWV と血小板数、総ビリルビン値の術前因子を組み合わせることで、残肝割合の安全域を考慮に入れた PHLF 予測の指標を作成し、その妥当性を検証した。この結果は、新たな肝切除限界の提唱につながる可能性が考えられた。今後、本研究の結果を踏まえて、ARFI の実臨床への活用を視野に入れながら、さらなる検討を進めていく方針である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5件)

- 1) Yamanaka K, Hatano E, Iguchi K, Yamamoto G, Sato M, Toriguchi K, Tanabe K, Takemoto K, Nakamura K, Koyama N, Narita M, Nagata H, Taura K, Uemoto S. Effect of olprinone on liver microstructure in rat partial liver transplantation. J Surg Res, 査読有, 183(1), 2013, 391-396. DOI: 10.1016/j.jss.2012.11.033.
- 2) Koyama Y, Taura K, Hatano E, Tanabe K, Yamamoto G, Nakamura K, Yamanaka K, Kitamura K, Narita M, Nagata H, Yanagida A, Iida T, Iwaisako K, Fujinawa H, Uemoto S. Effects of oral intake of hydrogen water on liver fibrogenesis in mice. Hepatol Res, 査読有, 2013. doi: 10.1111/hepr.12165.
- 3) Iguchi K, Hatano E, Yamanaka K, Tanaka S, Taura K, Uemoto S. The impact of posthepatectomy liver failure on the recurrence of hepatocellular carcinoma. World J Surg, 査読有, 38(1), 2014, 150-158. doi: 10.1007/s00268-013-2247-7.
- 4) Nakao M, Oda Y, Taura K, Minato K. Direct volume manipulation for visualizing intraoperative liver resection process. Comput Methods Programs Biomed, 査読有, 113(3), 2014, 725-735. doi: 10.1016/j.cmpb.2013.12.004.
- 5) Nakamura K, Hatano E, Miyagawa-Hayashino A, Okuno M, Koyama Y, Narita M, Seo S, Taura K, Uemoto S. Soluble thrombomodulin attenuates sinusoidal obstruction syndrome in rat through suppression of high mobility group box 1. Liver Int, 査読有, 2013. doi: 10.1111/liv.12420.

[学会発表](計 4件)

- 1) K. Taura, Y. Koyama, K. Tanabe, G. Yamamoto, T. Nishio, E. Hatano, S. Uemoto. Liver Stiffness Measurement Predicts Posthepatectomy Liver Failure. Academic Surgical Congress, 2014年2月4日~6日, Manchester Grand Hyatt (San Diego, CA)
- 2) 西尾太宏, 田浦康二朗, 田邊和孝, 山本玄, 奥田雄紀浩, 瀬尾智, 安近健太郎, 波多野悦朗, 上本伸二. 肝硬度と血小板を基軸とした肝切除後肝不全の予測 ICG に勝る術前肝機能評価因子の探究. 第 114 回日本外科学会定期学術集会, 2014年4月3日~5日, 国立京都国際会

館(京都市)

- 3) 田浦康二朗, 波多野悦朗, 安近健太郎, 瀬尾智, 福光剣, 上本伸二. 肝静脈根部大型肝癌に対する肝切除術式. 第 114 回日本外科学会定期学術集会, 2014年4月3日~5日, 国立京都国際会館(京都市)
- 4) 田浦康二朗, 小山幸法, 田邊和孝, 山本玄, 西尾太宏, 波多野悦朗, 上本伸二. 肝切除後肝不全( Posthepatectomy Liver Failure; PHLF ) 予測における肝硬度測定の有用性. 第 68 回日本消化器外科学会総会, 2013年7月17日~19日, シーガイアコンベンションセンターほか(宮崎市)

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)  
取得状況(計 0件)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

波多野 悦朗 (HATANO ETSURO)  
京都大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 80359801

(2)研究分担者

上本 伸二 (UEMOTO SHINJI)  
京都大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 40252449

田浦 康二朗 (TAURA KOJIRO)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 80378629