

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：37104  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2017  
課題番号：26461809  
研究課題名(和文) NASHの3T-MRI:Imaging Biomarkerの確立

研究課題名(英文) Imaging Biomarker of 3T-MRI in NASH

## 研究代表者

東南 辰幸 (Tonan, Tatsuyuki)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：40268892

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)：3Tesla-MR装置におけるproton density fat-fraction (PDFF)を用いて非アルコール性脂肪性肝疾患患者の肝臓、膵臓、骨格筋組織などの異所性脂肪沈着量画像評価し、糖尿病との関連性を調査した。骨格筋内の脂肪組織の評価はfat metabolismの進行を予測し得る重要なparameterであることが示唆され、骨格筋内の脂肪量の画像評価は非アルコール性脂肪性肝疾患患者の治療標的や治療効果判定を行う上での、Imaging Biomarkerとしての役割を果たす可能性があると思われた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the association between the ectopic fat tissue of skeletal muscle, liver, and pancreas in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients by proton density fat fraction (PDFF) using 3T MRI. There were statistically significant differences in PDFF measurements of skeletal muscle, liver, and pancreas among three groups. With the PDFF measurements of skeletal muscle, there was statistically significant difference between NAFLD with DM group and NAFLD without DM group. For predicting NAFLD with DM, ROC analysis revealed that muscle-FF was the most useful parameter (AUC=0.83) and at a cutoff-value of 4 and over, sensitivity, specificity, PPV and NPV were 82%, 75%, 70%, and 86%, respectively. There was a close association between the ectopic fat tissue of skeletal muscle that was quantified by 3T MRI-PDFF and co-morbid diabetes mellitus of NAFLD. Evaluation of ectopic fat tissue by 3T MRI-PDFF can be used to predict the advance of fat metabolism.

研究分野：放射線科

キーワード：異所性脂肪 非アルコール性脂肪性肝疾患 MRI PDFF

### 1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患は全世界の20-30%の人々が罹患する肝疾患であり、我が国においても脂肪肝を基盤として発症する非アルコール性脂肪肝炎の増加が着目されている。なかでも進行した非アルコール性脂肪肝炎患者における肝細胞癌の発生が報告され、特に高度線維化症例における発癌が15%との報告もあり、問題となってきた。また、糖尿病は非アルコール性脂肪性肝疾患を有する患者にしばしば見られ、肝細胞癌発生のリスクファクターであり、糖尿病が原因で肝臓、膵臓、筋組織への異所性脂肪沈着が起こることが報告されている。近年、3Tesla-MR装置、アプリケーション(IDEAL-IQ, MR elastographyなど)の進歩に伴い、肝の線維化診断、脂肪肝の定量評価など非アルコール性脂肪性肝疾患に関する画像評価が注目されている。

### 2. 研究の目的

3Tesla-MR装置のアプリケーション(IDEAL-IQ, MR elastographyなど)を用いて非アルコール性脂肪性肝疾患患者の病理所見と対比する計画であったが、十分な病理dataの収集が遂行できなかったため、代替計画としてIDEAL-IQのアプリケーションの一つであるproton density fat-fraction(PDFF)を用いて非アルコール性脂肪性肝疾患患者における肝臓、膵臓、筋組織の異所性脂肪沈着の評価を行い、糖尿病と異所性脂肪沈着の関連性を調査するとともに肝線維化の指標であるFib4-indexやAPRI scoreとの関連性に関して調査することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究は3T MRI-PDFFが施行された27名の非アルコール性脂肪性肝疾患患者(57.9 years, female/male 13/14)と9名のコントロールグループ(62.1 years, female/male 5/4; Control group)を対象とし、さらに、

非アルコール性脂肪性肝疾患患者に関しては糖尿病を有する群(NAFLD-DM group; n=11)と糖尿病を有さない群(NAFLD-non DM group; n=16)に分類した。また、3T MRIによる評価に関してはPDFFによって、それぞれの組織に関心領域(region of interest; ROI)を設定し、肝臓(liver-FF)、膵臓(pancreas-FF)、骨格筋(muscle-FF)における異所性脂肪沈着(組織内脂肪含有率)を測定した。

統計解析に関しては各グループにおけるそれぞれの組織の脂肪含有率をSchaffer's post hoc testに続くANOVAの分散分析により解析し、また、それぞれの組織の脂肪含有率と線維化マーカーであるFib4-indexやAPRI scoreとの相関性をPearson's correlation coefficientにて解析を行った。また、NAFLD-DM groupとNAFLD-non DM groupとの鑑別を行うためのimaging markerとしての組織内脂肪含有率の有用性をreceiver operating characteristic (ROC) analysisにて評価し、加えて、NAFLD-DM groupにおける最も重要な因子を特定するためにdecision-tree analysisによる評価を行った。

### 4. 研究成果

#### (1)患者背景

まず、患者背景として、3群間(control group, NAFLD-non DM group、NAFLD-DM group)に以下に示す年齢、性別、血液生化学検査、腫瘍マーカー等に有意差は見られなかった。

|                                   | Control      | NAFLD-non DM              | NAFLD-DM                 |
|-----------------------------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| n                                 | 9            | 16                        | 11                       |
| Fasting blood glucose (mg/dL)     | 99 ± 10      | 105 ± 11                  | 138 ± 36 <sup>b,d</sup>  |
| HbA1c (%)                         | 5.8 ± 0.3    | 5.9 ± 0.3                 | 7.3 ± 0.8 <sup>b,d</sup> |
| Age (years old)                   | 68.3 ± 7.3   | 59.5 ± 12.2               | 55.9 ± 11.1 <sup>a</sup> |
| Female/male                       | 4/5          | 6/10                      | 8/3                      |
| AST (IU/L)                        | 23.7 ± 5.8   | 33.1 ± 12.1               | 43.7 ± 23.7              |
| ALT (IU/L)                        | 20.3 ± 8.4   | 44.3 ± 21.4 <sup>b</sup>  | 43.6 ± 27.0              |
| LDH (IU/L)                        | 206 ± 55     | 198 ± 41                  | 207 ± 31                 |
| ALP (U/L)                         | 244 ± 110    | 245 ± 62                  | 293 ± 98                 |
| GGT (U/L)                         | 31.0 ± 16.8  | 70.1 ± 80.9               | 81.7 ± 74.2              |
| ChE (U/L)                         | 251 ± 67     | 345 ± 91                  | 369 ± 157                |
| Albumin (g/dL)                    | 4.20 ± 0.34  | 4.30 ± 0.38               | 4.20 ± 0.63              |
| Total protein (g/dL)              | 7.22 ± 0.36  | 7.12 ± 0.44               | 7.16 ± 0.41              |
| Total bilirubin (mg/dL)           | 0.99 ± 0.56  | 0.87 ± 0.31               | 1.00 ± 0.72              |
| Prothrombin activity (%)          | 110.4 ± 21.3 | 111.7 ± 18.2              | 79.3 ± 29.2              |
| Total cholesterol (mg/dL)         | 192 ± 44     | 183 ± 27                  | 167 ± 25                 |
| HDL-cholesterol (mg/dL)           | 76.7 ± 23.7  | 68.2 ± 16.3               | 52.1 ± 14.5              |
| LDL-cholesterol (mg/dL)           | 103 ± 27     | 113 ± 21                  | 106 ± 26                 |
| Triglyceride (mg/dL)              | 73.4 ± 30.2  | 152.5 ± 62.3 <sup>a</sup> | 185.5 ± 125.6            |
| BUN (mg/dL)                       | 16.0 ± 3.9   | 12.2 ± 2.9 <sup>a</sup>   | 11.4 ± 3.0               |
| Creatinine (mg/dL)                | 0.76 ± 0.26  | 0.79 ± 0.21               | 0.59 ± 0.14 <sup>c</sup> |
| eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> ) | 72.5 ± 23.0  | 76.8 ± 19.8               | 92.7 ± 19.4              |
| Ureic acid (mg/dL)                | 5.38 ± 1.36  | 5.94 ± 1.38               | 4.99 ± 1.31              |
| Sodium (mEq/L)                    | 141 ± 2      | 142 ± 3                   | 142 ± 2                  |
| Potassium (mEq/L)                 | 4.4 ± 0.2    | 4.2 ± 0.3                 | 4.1 ± 0.3 <sup>a</sup>   |
| Chloride (mEq/L)                  | 104 ± 3      | 105 ± 3                   | 105 ± 3                  |
| Amylase (U/L)                     | 81.0 ± 29.9  | 75.2 ± 17.0               | 67.7 ± 23.8              |
| CRP (mg/dL)                       | 0.07 ± 0.04  | 0.09 ± 0.05               | 0.08 ± 0.05              |
| Creatine kinase (U/L)             | 130 ± 62     | 126 ± 94                  | 119 ± 51                 |
| Alpha-fetoprotein (ng/dL)         | 2.8 ± 1.1    | 4.8 ± 3.6                 | 5.6 ± 4.7                |
| PIVKA-II (mAU/mL)                 | 19.5 ± 9.2   | 18.9 ± 6.4                | 18.7 ± 8.3               |

その他の血液データとして、ヘモグロビン、白血球数に関しても3群間(control group、NAFLD-non DM group、NAFLD-DM group)に有意差は見られなかったが、血小板数、Fib4-index、APRI scoreに関してはNAFLD-DM groupは他のgroupと比較して以下の如く、有意に高かった。

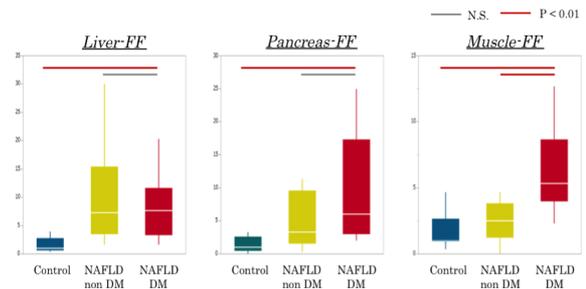
|                            | Control     | NAFLD-non DM             | NAFLD-DM                   |
|----------------------------|-------------|--------------------------|----------------------------|
| Haemoglobin (g/dL)         | 13.0 ± 1.4  | 15.1 ± 1.0               | 14.7 ± 1.3                 |
| RBC (×10 <sup>9</sup> /μL) | 434 ± 46    | 479 ± 40                 | 477 ± 61                   |
| WBC (×10 <sup>9</sup> /μL) | 5211 ± 1600 | 6507 ± 1075              | 6401 ± 2244                |
| PLT (×10 <sup>9</sup> /μL) | 21.0 ± 5.7  | 20.6 ± 5.2               | 16.0 ± 5.7                 |
| Fib-4 index                | 1.93 ± 0.81 | 5.88 ± 0.29 <sup>b</sup> | 7.33 ± 0.93 <sup>b,d</sup> |
| APRI                       | 0.30 ± 0.14 | 1.56 ± 0.61 <sup>b</sup> | 2.96 ± 2.50 <sup>b</sup>   |

a; P < 0.05 vs. Control, b; P < 0.01 vs. Control, c; P < 0.05 vs. NAFLD-non DM, d; P < 0.01 vs. NAFLD-nonDM

## (2) 肝臓、膵臓、骨格筋への異所性脂肪沈着に関する各グループ間での比較

いずれの組織の脂肪含有率(Liver-FF、pancreas-FF、muscle-FF)に関してもcontrol groupとの比較においてはNAFLD-non DM group、NAFLD-DM groupともに有意差が見られたが、NAFLD-non DM groupとNAFLD-DM group間の比較においては以下の如く、muscle-FFのみに有意差が見られ(6.5 ± 1.0% vs. 3.0 ± 0.7%, P < 0.01)、Liver-FFやpancreas-FFに

は有意差は認められなかった。(liver-FF 8.7 ± 2.0% vs. 10.0 ± 1.8%, N.S.; pancreas-FF 6.4 ± 3.0% vs. 4.8 ± 1.2%, N.S.)



異所性脂肪は近年、第三の脂肪と呼ばれ、皮下脂肪や内臓脂肪の脂肪組織に蓄積しきれなくなった脂肪が“本来たまるはずのない場所”に蓄積されたものであり、心臓、肝臓、膵臓さらには筋肉(骨格筋)に蓄積されることが知られている。また、異所性脂肪が内臓脂肪の蓄積以上に危険視されているのは、臓器に蓄積した場合に、その臓器が持つ本来の機能を悪化させると考えられている。骨格筋に異所性脂肪が蓄積すると、骨格筋本来の働きである糖質の吸収作用を低下させ、インスリン抵抗性が発現する。本研究におけるNAFLD-non DM groupとNAFLD-DM group間の比較において異所性脂肪組織の中でも唯一、muscle-FFにのみ有意差が見られたことから、muscle-FFはfat metabolismの進行を予測し得る最も重要なparameterであることが示唆された。

## (3) 肝線維化マーカー(Fib4-index、APRI score)とmuscle-FFとの相関性

muscle-FFとFib4-index、APRI scoreとの間に有意な正の相関性(Pearson r = 0.35, 0.36, respectively, all P < 0.05)が見られ、muscle-FFがfat metabolismの進行を予測し得る因子であることを推測させる結果が得られた。

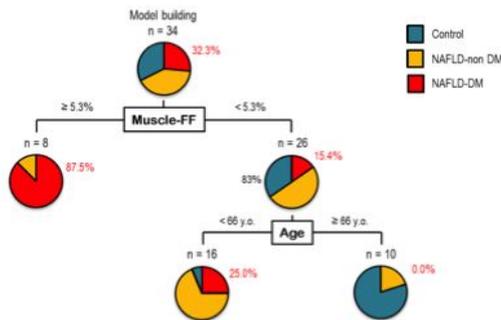
## (4) muscle-FFに関するROC解析

NAFLD-DM groupとNAFLD-non DM groupとの

鑑別を行うために ROC 解析を行い、cut-off 値が 4 以上で感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 0.82, 0.75, 0.70, 0.86 であった。(AUC=0.83, P< 0.01) 以上の結果から muscle-FF は fat metabolism の進行を予測し得る重要な parameter であると同時に Imaging Biomarker としての有用性が示唆された。

(5) NAFLD-DM group に関する Decision tree analysis

骨格筋への脂肪沈着は非アルコール性脂肪性肝疾患患者において重要な治療標的であり、5.3%以上の muscle-FF は糖尿病の併存に関する initial divergence variable であり、治療標的としての重要な parameter になり得る可能性が示唆された。



骨格筋内の異所性脂肪沈着は糖尿病を有する非アルコール性脂肪性肝疾患患者と密接に関連しており、MRI-PDFF による骨格筋内の脂肪量の評価は非アルコール性脂肪性肝疾患患者の治療標的の指標や治療効果判定を行う上での、Imaging Biomarker としての役割を果たす可能性があると思われた。今後、これらの結果をベースに非アルコール性脂肪性肝疾患患者を対象に MR elastography による肝線維化診断等を行い、可能な限り病理組織学的所見と対比させ、3T MRI を使用した imaging biomarker の検討を引き続き行う予定である。また、現時点における結果に関しては北米放射線学会等にて

学会発表を行い、最終的には論文にまとめる予定である。

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 0 件)

[学会発表](計 1 件)  
2016 米国肝臓病学会(AASLD)

[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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

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

[その他]  
ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
東南 辰幸 (TONAN, Tatsuyuki)  
久留米大学・医学部・准教授  
研究者番号：40268892

(2) 研究分担者  
安陪 等思 (TOSHI, Abe)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号：90167940

藤本 公則 (FUJIMOTO, Kiminori)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号：00199366

(3) 連携研究者  
川口 巧 (KAWAGUCHI, Takumi)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号：00320177