

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 21 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21300194

研究課題名（和文）超音波医学を駆使した慢性肝炎および非アルコール性脂肪性肝炎の非侵襲的診断法の開発

研究課題名（英文）Development of non-invasive procedures for the diagnosis of chronic hepatitis and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) using ultrasound technologies

研究代表者

飯島尋子（IIJIMA HIROKO）

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：80289066

研究成果の概要（和文）：

慢性肝炎および非アルコール性脂肪性肝炎の超音波機能診断法として、非造影、造影による診断法を検討した。VTTQ による慢性肝炎の診断法を確立した。Sonazoid を用いた造影法による NASH 診断法を検討した。また NASH ラットモデルを用い Sonazoid を投与し生体顕微鏡による検討では、Kupffer 細胞への Sonazoid の食食は経時変化によっても増加せず、食食能力の低下が原因と考えられた。VTTQ による NASH 診断については早期ステージでの診断に問題が残り今後の検討課題となった。

研究成果の概要（英文）：

The diagnostic performance of non-contrast enhanced ultrasound and contrast enhanced ultrasound (CEUS) for chronic hepatitis and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) were evaluated. A new diagnostic method for chronic hepatitis was developed using Virtual Touch Tissue Quantification (VTTQ). The diagnosis of NASH by CEUS using Sonazoid was studied. Observations using intravital microscopy on a rat NASH model revealed that the uptake of Sonazoid by Kupffer cells (KCs) did not increase over time, and that was considered due to the decreased phagocytic ability of KCs. The diagnosis of NASH by VTTQ at early stages of the disease suggested some issues that still need to be explored.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2010 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2011 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：超音波医学・検査診断システム・肝臓病学・画像診断学

## 1. 研究開始当初の背景

NASH は肝硬変、肝細胞癌へと進展する疾患であり、早期発見、治療が重要である。NASH の診断は、いかなる画像診断でもできず肝生検による組織診断のみにより行われる。また、

慢性肝炎の診断も肝生検に頼る。臨床上喫緊の課題は、慢性ウイルス性肝炎および NASH 診断を非侵襲的に行い診断基準を作成することである。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、Sonazoid による NASH 診断法を確立し、NASH の病態解明を行う。さらに非侵襲的方法による慢性肝炎および NASH の診断が可能であるか検討することである。

## 3. 研究の方法

(1)Wister 系ラットを MCD(コリン欠乏食)にて飼育し NASH モデルラットに Sonazoid を投与し肝実質染色を検討する。同様の方法で人への臨床評価にてその撮影方法が適切であるかについて検討する。

(2)NASH の Kupffer 細胞機能診断のため生体顕微鏡などによる検討を行う。

(3)非造影法による診断法の確立のため、超音波組織線維化診断法にて NASH および脂肪肝、その他の慢性肝疾患の組織硬度を検討し肝組織、血液生化学検査と比較検討する。

## 4. 研究成果

(1)Sonazoid の至適投与量の検討を行った。投与量は臨床容量から 1/20,000 まで傾斜濃度で検討した結果、1/1,000 量が適量であった。人への診断至適量を検討した結果現時点では 50  $\mu$  となり、NASH 診断の有用性は、Sonazoid50  $\mu$  投与 40 分の Cut off 値 121.5 とすると感度 81.8%、特異度 75%、曲線下面積 0.772 であった。

(2)NASH の病態解明の研究では生体顕微鏡により Kupffer 細胞の経時食食機能をみるとコントロールラットと比較して明らかに低下していた。生体およびラット肝臓染色の低下の原因は Kupffer 細胞の食食機能の低下によることが解明された。

(3)慢性肝炎の非侵襲診断として、集束超音波パルス (VTTQ) による肝硬度診断を行った。VTTQ による肝硬度測定では、F0:1.13 $\pm$ 0.17、F1:1.23 $\pm$ 0.37、F2:1.35 $\pm$ 0.36、F3:1.57 $\pm$ 0.52、F4:2.14 $\pm$ 0.64 であり、慢性肝炎 (F0-3) と肝硬変 (F4) の間に有意差を認め (P < 0.001)。肝硬変と慢性肝炎の鑑別能は、曲線下面積は 0.890 と良好であった。今後は肝生検に代わる診断法となると考えられる。現在発表講演等により普及活動をしている。

## 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 10 件)

1. Tanaka H, Iijima H, Nouse K, Aoki N, Iwai T, Takashima T, Sakai Y, Aizawa N, Iwata K, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Saito M, Imanishi H, Nishiguchi S. Cost-effectiveness analysis on the surveillance for hepatocellular

carcinoma in liver cirrhosis patients using contrast-enhanced ultrasonography. *Hepatol Res*. 2012;3 [Epub ahead of print], 査読有 doi: .1111/j.1872-034X.2011.00936.x.

2. 飯島尋子. 慢性肝疾患の画像診断の進歩-超音波検査は組織診断に代わりうるか-. *日本消化器病学会誌* 2011;108:908-15, 査読有 <http://search.jamas.or.jp/index.php>

3. 飯島尋子, 田中弘教, 吉田昌弘, 池田直人, 山本晃久, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 中正恵二, 廣田誠一, 辻村亨, 西口修平. Acoustic Radiation Force Impulseによる非侵襲的肝線維化診断法の有用性. *肝臓* 2010 ; 51 : 54-5, 査読有 <http://search.jamas.or.jp/index.php>

4. Yoshikawa S, Iijima H, Saito M, Tanaka H, Imanishi H, Yoshimoto N, Yoshimoto T, Futatsugi-Yumikura S, Nakanishi K, Tsujimura T, Nishigami T, Kudo A, Arie S, Nishiguchi S. Crucial role of impaired Kupffer cell phagocytosis on the decreased Sonazoid-enhanced echogenicity in a liver of a nonalcoholic steatohepatitis rat model. *Hepatol Res* 2010;40:823-31, 査読有 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20557367>

5. 飯島尋子. 肝疾患の造影超音波診断—その変遷と新しい展開—. *肝臓* 2009 ; 50 : 105-21 , 査読有 <http://search.jamas.or.jp/index.php>

6. Sasaki S, Iijima H, Moriyasu F, Waki H . Definition of contrast enhancement phases of the liver using a perfluoro-based microbubble agent, perflubutane microbubbles. *Ultrasound Med Biol* 2009 ;35:1819-27, 査読有 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19713032>

[学会発表] (計 38 件)

1. Sporea I, Sirli R, Bota S, Tanaka H, Iijima H, Badea R. I, Lupsor M,

- Fierbinteanu C, Takahashi H, Piscaglia F, D' Onofrio M, Popescu A, Danila M. Is ARFI elastography useful for fibrosis evaluation in patients with chronic HCV hepatitis in our clinical practice?-A multicenter international study. The 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases ( AASLD2011 ) 2011. 11. 4-9 San Francisco
2. Iijima H, Tanaka H, Yoshida M, Iwai T, Takashima T, Sakai Y, Aizawa N, Iwata K, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Saito M, Imanishi H, Iimuro Y, Fujimoto J, Nishiguchi S. VTTQ(Virtual Touch Tissue Quantification)for evaluation of liver tumors. The 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases ( AASLD2011 ) 2011. 11. 4-9 San Francisco
  3. 青木智子, 飯島尋子, 西口修平. NBNC 肝硬変の成因別特色と超音波剪断弾性波(VTTQ)による肝硬度の検討. (特別企画) 第 15 回日本肝臓学会大会 (JDDW2011) 2011. 10. 20-23 福岡
  4. Iijima H. VTTQ(Virtual Touch Tissue Quantification) for Evaluation of Liver Tumors. 13th World Congress of the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology (WFUMB2011) 2011. 8. 26-8. 31 Vienna
  5. Tanaka H. Usefulness of virtual touch tissue quantification to diagnose the severity of fibrosis. 13th World Congress of the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology (WFUMB2011) 2011. 8. 26-8. 31 Vienna
  6. 青木智子, 吉田昌弘, 田中弘教, 廣田誠一, 西上隆之, 岸浩一郎, 西口修平, 飯島尋子. VTTQにおける肝硬度規定因子と肝機能の評価. (特別演題企画)日本超音波医学会第 84 回学術集会 2011. 5. 27-29 東京
  7. 吉田昌弘, 田中弘教, 西村純子, 青木智子, 會澤信弘, 西上隆之, 廣田誠一, 藤本治朗, 西口修平, 飯島尋子. VTTQ 法による肝線維化診断における炎症の影響. (特別演題企画)日本超音波医学会第 84 回学術集会 2011. 5. 27-29 東京
  8. 神山直久, 飯島尋子, 吉田哲也. 肝表面凹凸のリアルタイム解析による肝線維化の定量化の検討. (特別演題企画)日本超音波医学会第 84 回学術集会 2011. 5. 27-29 東京
  9. Tanaka H, Iijima H, Yoshida M, Takashima T, Sakai Y, Aizawa N, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Saito M, Shimomura S, Imanishi H, Nishigami T, Fujimoto J, Hirota S, Nishiguchi S. Usefulness of VTTQ(Virtual Touch Tissue Quantification)to diagnose fibrosis stage and liver tumors. 46th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver ( EASL2011 ) 2011. 3. 30-4. 3 Berlin
  10. Tanaka H, Iijima H, Higashiura A, Aizawa N, Ikeda N, Enomoto H, Iwata Y, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Hirota S, Nishigami T, Tujimura T, Fujimoto J, Nishiguchi S. Prediction of portal venous invasion by malignant grading system for Hepatocellular carcinoma using Sonazoid contrast enhanced ultrasonography. 12th International symposium on ultrasound contrast imaging 2010. 12. 11-12 Tokyo
  11. Yamahira M, Tanaka H, Matsunaga M, Okudaira K, Yoshida M, Higashiura A, Shibata Y, Hashimoto M, Nishiguchi S, Iijima H. Assessment of liver function for patients with chronic HCV infection using the LS ratio by Sonazoid contrast enhanced ultrasonography. 12th International symposium on ultrasound contrast imaging 2010. 12. 11-12 Tokyo
  12. Tanaka H, Iijima H, Nouse K, Takashima T, Sakai Y, Aizawa N, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Nishiguchi S. Cost-effectiveness analysis on the surveillance for hepatocellular carcinoma in liver cirrhosis patients using contrast-enhanced ultrasonography. The 61th Annual Meeting of the American Association

- for the Study of Liver Diseases (AASLD2010) 2010. 10. 31-11. 2 Boston
13. Iijima H, Tanaka H, Ikeda N, Enomoto H, Iwata Y, Imanishi H, Shimomura S, Fujimoto J, Hirota S, Tsujimura T, Mogushi K, Tanaka H, Nishiguchi S. Usefulness of VTTQ (Virtual Touch Tissue Quantification) to diagnose fibrosis and inflammation in chronic hepatitis. The 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2010) 2010. 10. 31-11. 2 Boston
  14. Iijima H, Tanaka H, Aizawa N, Ikeda N, Enomoto H, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Iimuro Y, Fujimoto J, Nishiguchi S. Malignant grading system using the contrast enhanced agent "Sonazoid" could predict portal venous invasion by Hepatocellular carcinoma?. The 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2010) 2010. 10. 31-11. 2 Boston
  15. Tanaka H, Iijima H, Kudo A, Ichinose S, Yoshimoto S, Yoshikawa S, Nishigami T, Nishiguchi S, Arii S, Wake K. What is the reason of the decrease in signal intensity level in Kupffer image of contrast enhanced ultrasonography in non-alcoholic steatohepatitis? 15th International Symposium on Cells of Hepatic Sinusoid Inaugural Meeting for the International Society for Hepatic Sinusoidal Research (ISHSR) 2010. 8. 29-9. 1 California
  16. 飯島尋子, 神山直久, 吉田哲也. びまん性肝疾患のための肝表面凹凸のリアルタイム解析. (ワークショップ) 日本超音波医学会第 83 回学術集会 2010. 5. 29-31 京都
  17. 田中弘教, 飯島尋子, 西口修平, 和氣健二郎, 市野瀬志津子, 工藤篤, 石井昭生, 高嶋智之, 坂井良行, 會澤信弘, 山本晃久, 池田直人, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 有井滋樹. Kupffer細胞の形態からみた NASH発症の要因. 第 96 回日本消化器病学会総会 2010. 4. 22-24 新潟
  18. 田中弘教, 飯島尋子, 東浦晶子, 楊和典, 岩井孝史, 石井昭生, 高嶋智之, 坂井良行, 會澤信弘, 山本晃久, 池田直人, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 西口修平. Sonazoid造影超音波の Kupffer相における高音圧画像評価の有用性. 第 96 回日本消化器病学会総会 2010. 4. 22-24 新潟
  19. 飯島尋子, 田中弘教, 西口修平. 造影超音波の Kupffer Phase からみた非アルコール性脂肪性肝炎の診断と病態. (シンポジウム) 第 38 回日本肝臓学会西部会 2009. 12. 4-5 米子
  20. 田中弘教, 飯島尋子, 西口修平. Virtual Touch Tissue Quantification法を用いた肝線維化の非襲的評価法. 第 38 回日本肝臓学会西部会 2009. 12. 4-5 米子
  21. Iijima H, Tanaka H, Saito M, Aizawa N, Yamamoto T, Enomoto H, Iwata Y, Imanishi H, Shimomura S, Yamanaka J, Fujimoto J, Hirota S, Tsujimura T, Nishiguchi S. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis using virtual touch tissue quantification. The 60<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2009) 2009. 10. 31-11. 3 Boston
  22. 山平正浩, 田中弘教, 吉田昌弘, 東浦晶子, 柴田陽子, 橋本真里子, 辻村亨, 廣田誠一, 西口修平, 飯島尋子. Sonazoid ORを用いた慢性肝疾患の肝実質と脾実質の輝度比 (LS比) の検討. 日本超音波医学会第 36 回関西地方会学術集会 2009. 10. 3 大阪
  23. 東浦晶子, 田中弘教, 山平正浩, 吉田昌弘, 柴田陽子, 橋本真里子, 藤元治朗, 廣田誠一, 西口修平, 飯島尋子. Sonazoid Kupffer イメージを用いた low MI と high MI による肝細胞癌診断の試み. 日本超音波医学会第 36 回関西地方会学術集会 2009. 10. 3 大阪
  24. 吉本直喜, 山平正浩, 吉田昌弘, 東浦晶子, 柴田陽子, 橋本真里子, 西口修平, 赤尾憲二, 田中弘教, 飯島尋子. 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) に対するピタバスチンの改善作用—ラットモデルにおける検討—. 日本超音波医学会第 36 回関西地方会学術集会 2009. 10. 3 大阪

25. 吉田昌弘, 田中弘教, 山平正浩, 吉本直喜, 東浦晶子, 柴田陽子, 橋本眞里子, 會澤信弘, 齋藤雅博, 平山秀男, 齋藤正紀, 辻村亨, 廣田誠一, 西口修平, 飯島尋子. 肝線維化診断におけるAcoustic Radiation Force Impulse (ARFI) の有用性. (シンポジウム) 日本超音波医学会第 36 回関西地方会学術集会 2009. 10. 3 大阪
26. 田中弘教, 飯島尋子, 齋藤正紀, 下村壯治, 今西宏安, 康典利, 榎本平之, 岩田恵典, 山本晃久, 會澤信弘, 坂井良行, 山田大輔, 中村秀次, 廣田誠一, 辻村亨, 西口修平. 造影超音波検査を用いた輝度解析による慢性肝炎進展度の推定の試み. 第 45 回日本肝臓学会総会 2009. 6. 4-7 神戸
27. 中野宏朗, 飯島尋子, 山田大輔, 坂井良行, 會澤信弘, 山本晃久, 岩田恵典, 田中弘教, 榎本平之, 康典利, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 中村秀次, 西口修平. 造影超音波によるピタバスタチンのNASH改善効果に関する検討. 第 45 回日本肝臓学会総会 2009. 6. 4-7 神戸
28. 吉川昌平, 飯島尋子, 石井昭生, 坂井良行, 會澤信弘, 山本晃久, 岩田恵典, 榎本平之, 田中弘教, 今西宏安, 下村壯治, 中村秀次, 西口修平, 工藤篤, 有井滋樹, 和氣健二郎. NASHラットモデル(MCDDラット)におけるクッパー細胞の貪食能の検討. 第 45 回日本肝臓学会総会 2009. 6. 4-7 神戸
29. 齋藤正紀, 飯島尋子, 東浦晶子, 吉川昌平, 田中弘教, 工藤篤, 前山史朗, 有井滋樹, 西口修平. 非アルコール性脂肪性肝炎の病態と造影超音波検査による臨床経過の評価について. (パネルディスカッション) 日本超音波医学会第 82 回学術集会 2009. 5. 22-24 東京
30. 吉田昌弘, 田中弘教, 山平正浩, 吉本直喜, 東浦晶子, 柴田陽子, 橋本眞里子, 會澤信弘, 齋藤雅博, 平山秀男, 齋藤正紀, 辻村亨, 廣田誠一, 西口修平, 飯島尋子. 肝線維化診断におけるARFIの有用性. 日本超音波医学会第 82 回学術集会 2009. 5. 22-24 東京
31. 飯島尋子, 田中弘教, 西口修平. ARFI による肝疾患診断. (シンポジウム) 日本超音波医学会第 82 回学術集会 2009. 5. 22-24 東京
32. 山平正浩, 田中弘教, 吉田昌弘, 柴田陽子, 吉本直喜, 東浦晶子, 橋本眞里子, 赤尾憲二, 會澤信弘, 西口修平, 飯島尋子. びまん性肝疾患の超音波による評価 造影超音波検査を用いた慢性肝疾患の肝実質と脾実質の輝度費 (LS比) の検討. (パネルディスカッション) 日本超音波医学会第 82 回学術集会 2009. 5. 22-24 東京
33. 飯島尋子, 田中弘教, 吉川昌平, 齋藤正紀, 中村秀次, 下村壯治, 今西宏安, 康典利, 榎本平之, 岩田恵典, 山本晃久, 會澤信弘, 坂井良行, 山田大輔, 西口修平. レボビスト造影超音波検査からみたピタバスタチンのNASH改善効果に関する基礎的検討. 第 95 回日本消化器病学会総会 2009. 5. 7-9 札幌
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
飯島 尋子 (IIJIMA HIROKO)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 80289066
- (2) 研究分担者  
西口 修平 (NISHIGUCHI SHUHEI)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 10192246  
有井 滋樹 (ARII SHIGEKI)  
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・教授  
研究者番号: 50151171  
市野瀬 志津子 (ICHINOSE SHIZUKO)  
東京医科歯科大学・学内共同利用施設等・助教  
研究者番号: 60014156  
田中 博 (TANAKA HIROSHI)  
東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学  
研究部・教授  
研究者番号: 60155158  
佐藤 哲二 (SATO TETSUZI)  
鶴見大学・歯学部・教授  
研究者番号: 10162447  
西上 隆之 (NISHIGAMI TAKASHI)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 70131589  
(H20-22: 研究分担者)

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：

