

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590711

研究課題名(和文)慢性肝疾患における超音波を用いた肝線維化評価能の検討

研究課題名(英文)Study of the fibrosis evaluation using the ultrasound in the chronic hepatitis.

## 研究代表者

刑部 恵介(OSAKABE, Keisuke)

藤田保健衛生大学・医療科学部・講師

研究者番号：30290167

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：HCVの感染は慢性肝炎、肝硬変、そして肝細胞癌へと進展する。そのため、病態期を的確に診断し治療を開始しなければならない。そこで、我々は超音波を用いて肝硬度(Vs)を測定し病態期診断および治療インターフェロン療法における経過観察の有用性を検討した。Vs値は血液線維化インデックス(ヒアルロン酸、APR、FIB-4)と良好な相関関係を示した。さらに、病理組織所見による肝線維化ステージとも相関を示した。各線維化ステージのVs値の間に有意な差を認めた。IFN治療における経過観察の検討では、治療の結果を反映するVs値の変化であった。しかし、治療効果の予測は、さらなる検討が必要と思われた。

研究成果の概要(英文)：The infection of hepatitis C virus (HCV) progresses to chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Therefore we should diagnose the clinical stage exactly before starting treatment. We measured the liver stiffness (Vs) by the ultrasound and evaluated its correlation with the liver fibrosis stage and usefulness of the follow-up of Vs values during the Interferon (IFN) therapy. The Vs values correlated with several blood fibrosis indexes (hyaluronic acid, APR and FIB-4). Furthermore, the Vs values correlated with histological fibrosis stage (F0 - 4). A significant difference of Vs values was shown among the patients with different fibrosis stages. The cutoff of Vs values for each fibrosis stage was obtained. In the study of the follow-up of Vs values during the IFN therapy, the changes of Vs values reflected the different responses to the therapy. However, it seemed that the prediction of the response to IFN treatment by Vs values before treatment needs further studies.

研究分野：臨床生理検査学

キーワード：線維化評価 慢性肝炎 肝硬変 インターフェロン

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) HCV 感染による慢性肝疾患の評価

HCV 感染による慢性肝炎は進行するに従い炎症性変化が強くなり、組織は線維化を来し、最終病態である肝硬変となり肝細胞癌の発癌へと進行していく。今現在、1 次予防対策の効果により感染数は減少傾向に転じているものの、未だ国内にはウイルス感染患者は 100 人に 1~2 人の割合で存在している。

そんな中、臨床の場に求められているのは肝組織の線維化を中心とした病態期を正確に診断することにあるが、患者への負担が少なく、低侵襲的かつ繰り返し検査可能な事も重要な点である。今現在、肝線維化評価の gold standard は肝生検による評価である。しかし、肝生検は侵襲性が強く、判読者の主観に左右される部分も有した評価法である。

そのため非侵襲的に線維化の評価を行う方法には、血小板やヒアルロン酸など血液生化学的データが基本となるが、それらの検査結果は肝疾患だけを反映しているわけではなく、様々な要因によって変動することが問題として残っている。

### (2) 超音波を利用した線維化評価

2000 年初頭に開発された超音波を用いた線維化評価は直接肝臓を検査するため、より特異性が高いものと思われる。

その手法の一つである Fibroscan は、非侵襲的かつ簡便に生体軟部組織の硬度を測定することができる。測定原理は、プローブから発生される低周波振動の伝播速度は、肝臓内において肝の線維化が進んでいる場合は速く、進んでいない場合には遅く伝播される。Fibroscan はプローブより低周波の音波を肝臓内に送信し、この低周波振動に対して超音波を連続照射して伝播速度を測定し、肝硬度 ( $3 \times \text{伝播速度}^2$ ) を算出している。我々は 2005 年より、Fibroscan による肝硬度測定を行い、HCV 感染における慢性肝炎の病態期診断および治療効果判定の評価について検討を行い有用性について報告してきた。また同様に HBV 感染による慢性肝炎の評価においても有用性を報告してきた。しかし、Fibroscan は専用プローブが通常のプローブと異なり大型であるため、肋間の狭い患者では安定した計測ができない場合があり、さらに測定原理上、腹水が多い症例においても測定が困難となるなど Fibroscan による評価法の問題点も明らかとなった。

近年、非侵襲的に肝線維化を評価する手法として Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) が開発された。ARFI を用いた Virtual Touch Tissue Quantification (VTTQ) は収束超音波パルスによって組織を歪ませ、そこで生じたせん断弾性波の伝播速度 (Velocity of shear wave; Vs, m/sec) を測定し『硬さ』として評価する技術である。この手法は探触子の形状が通常のもと同じであるため、Fibroscan502 とは異なり腹水の影響を受け

ることなく、いずれの症例にも施行可能なため通常のルーチンワークの延長で測定可能であることが特徴である。

## 2. 研究の目的

慢性肝疾患の病態を把握するために線維化の診断は必要不可欠なものである。そのため、線維化に対する評価は頻繁に行うことが必要であり、血液生化学データを基に算出される APRI など様々な線維化のインデックスが報告されている。しかし、これらのインデックスには線維化以外の影響を受けることが問題とされている。そのため、今現在も線維化の評価は侵襲性が強く半定量的に評価を行う病理組織学的検査が基本となっており行われている。そこで、本研究では非侵襲的かつ繰り返し検査できる超音波を用いた肝線維化評価の中で ARFI による Vs 値について血液データに加え、最も客観性のある評価基準として組織標本から求めた線維化面積比を用い有用性を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

本大学病院にて受診されている慢性肝疾患患者を対象として、通常の診療内で行われている各血液生化学的検査、超音波検査に加えて Vs 測定を行う。Vs 値測定は、安静呼吸にて右肋間走査にて肝臓を描出し、ROI を設定し、同一の深度で 10 回計測し、中央値を計測値として使用した。

加療目的で入院された患者で生検施行例については病理組織診断に加え、組織標本をデジタル画像化し最も客観性のある線維化面積などを求める。

線維化面積比は、肝生検で得た組織標本をデジタル化し、画像解析ソフト Image-Pro plus にて線維化部分と正常肝組織を 2 分化し、面積比を算出した (図 1)。

### 肝線維化面積比の解析法

- ✓ 解析方法：肝生検による病理組織標本をデジタル画像化し、画像解析ソフトを用いて組織面積および線維化面積を算出し、肝線維化面積比を求めた。
- ✓ 画像解析ソフト：Image-Pro plus



図 1. 病理組織標本を用いた線維化面積比の算出

それらの結果をまとめデータベースの作成を作成し検討を進める。なお、症例数が少ないため、本研究期間 (平成 24 年~26 年) のデータに加え、ARFI による Vs 値測定導入初期時の平成 21 年~23 年までの結果もデータベースに取り込む。作成したデータベースを元に、Vs 値を血中の間接的・直接的線維化マーカーや各種線維化インデックスと比較し、さらに病理組織診断や線維化面積との関係についても検討を行う。

#### 4. 研究成果

(1) C型慢性肝炎における病態診断能に関する検討(肝生検施行例108例の検討)

肝生検施行例108例(男性56例、女性52例、平均年齢60歳)を対象とした。

病理組織診断による新犬山分類による肝線維化ステージ分類とVs値を比較した。両者の間には正の相関を示した( $\rho=0.732$ 、 $p<0.0001$ )。さらに、各線維化ステージ別に見てみるとF0(n=14):1.2 cm/sec(1.0-1.3)、F1(n=17):1.1 cm/sec(1.0-1.2)、F2(n=32):1.3 cm/sec(1.2-1.6)、F3(n=31):1.6 cm/sec(1.5-1.8)、F4(n=14):2.1 cm/sec(1.9-2.2)であった(図2)。F0とF1の間に有意差は認めず、F1とF2の間には有意差( $p=0.0010$ )、F2とF3の間には有意差( $p=0.0014$ )、F3とF4の間には有意差( $p=0.0008$ )を認めた。

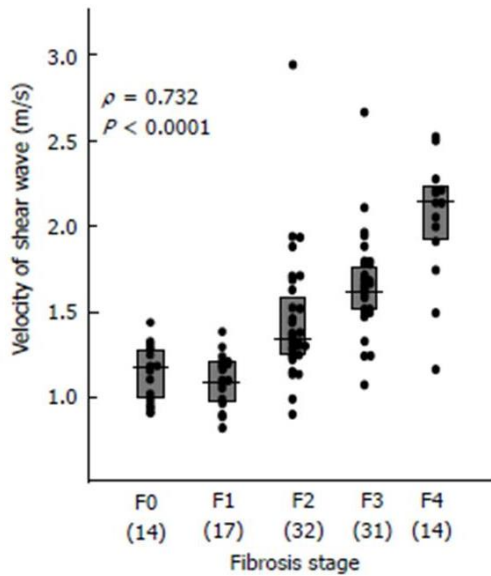


図2 各線維化ステージとVs値の比較

一方、肝線維化ステージ分類と肝線維化面積比を比較した。両者の間には正の相関を示した( $\rho=0.872$ 、 $p<0.0001$ )。次に各線維化ステージ別に見てみると、F0(n=14):0.85%(0.41-1.04)、F1(n=17):1.37%(0.73-1.85)、F2(n=32):2.20%(1.62-2.74)、F3(n=31):4.82%(4.03-6.24)、F4(n=14):8.87%(8.04-10.52)であった(図3)。F0とF1の間には有意差( $p=0.0111$ )、F1とF2の間には有意差( $p=0.0022$ )、F2とF3の間には有意差( $p<0.0001$ )、F3とF4の間には有意差( $p<0.0001$ )を認めた。

次にVs値と肝線維化面積比の関係について比較すると、両者の間には正の相関を示した( $\rho=0.656$ 、 $p<0.0001$ ) (図5)。なお、直接的線維化マーカーとして用いられているヒアルロン酸とVs値を比較しても両者の間には正の相関を示した( $\rho=0.519$ 、 $p<0.0001$ )

(図5)。

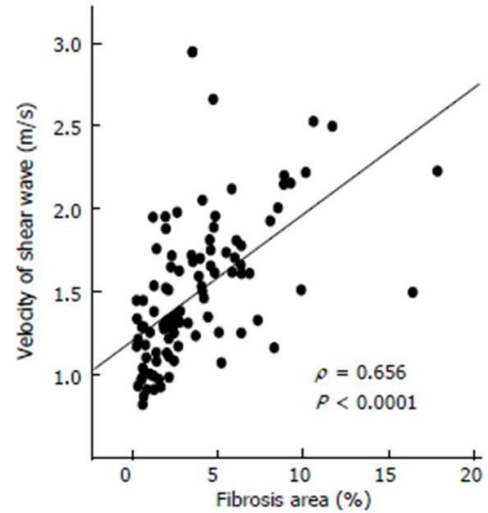


図3 各線維化ステージと肝線維化面積比の比較

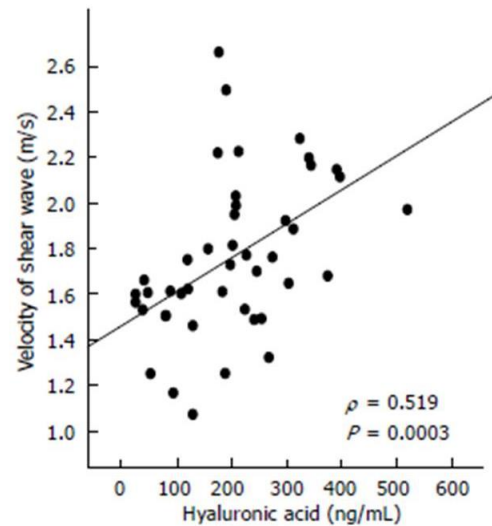


図4 Vs値と肝線維化面積比の比較

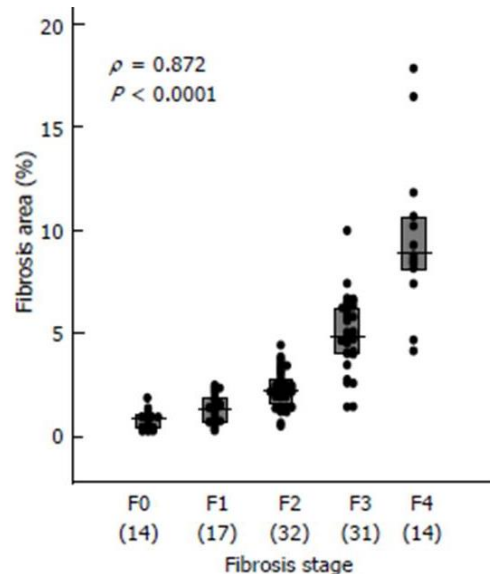


図5 Vs値とヒアルロン酸の比較

次に診断の基準となる各線維化ステージのカットオフ値について Vs 値と各線維化マーカーと比較検討を行った。F2以上の診断能の検討では、Vs 値のカットオフ値 1.2cm/sec が最も良好な指標であり、次いで APRI、FIB-4 であった (表 1)。

表 1. F2以上の診断能における Vs 値と各種線維化インデックスの比較

	曲線下面積	Cut off値	感 度	特異度	一致率	PPV	NPV
Vs	0.891	1.23	90.9	75	85.7	88.2	80
APRI	0.877	0.816	72.7	93.8	79.6	96	62.5
FIB-4	0.844	2.658	65.7	93.8	75	95.5	57.7
Forns index	0.807	5.712	70.8	91.7	77.8	94.4	61.1

F3以上の診断においても、Vs 値のカットオフ値 1.5cm/sec が最も良好な指標であり、次いで FIB-4、APRI であった (表 2)。

表 2. F3以上の診断能における Vs 値と各種線維化インデックスの比較

	曲線下面積	Cut off値	感 度	特異度	一致率	PPV	NPV
Vs	0.904	1.46	84.2	86.7	85.7	80	89.7
APRI	0.819	0.952	84.2	80	81.6	72.7	88.9
FIB-4	0.889	3.327	77.8	90	85.4	82.4	87.1
Forns index	0.818	7.859	66.7	83.3	75.5	70.6	80.6

F4の診断においても、Vs 値のカットオフ値 1.9cm/sec が最も良好な指標であり、次いで FIB-4、Forins index であった (表 3)。

表 3. F4の診断能における Vs 値と各種線維化インデックスの比較

	曲線下面積	Cut off値	感 度	特異度	一致率	PPV	NPV
Vs	0.957	1.93	100	90.7	91.8	60	100
APRI	0.649	0.952	83.3	60.5	63.3	22.7	96.3
FIB-4	0.888	3.857	100	76.7	79.2	33.3	100
Forns index	0.791	9.018	60	93	89.6	50	95.2

以上より、C型慢性肝炎における病態診断能において Vs 値は線維化をよく反映しており有用な検査法であることが示唆された。

(2) C型慢性肝炎におけるインターフェロン (IFN) 療法による治療効果および経過観察における有用性に関する検討

C型慢性肝炎における IFN 治療施行例に対して Vs 値を測定し、治療効果の予測および効果判定の有用性について検討を行った。

対象は本大学病院にて IFN 治療 (Peg-IFN + リバビリン療法) を行った C型慢性漢賢者のうち Vs 値の測定が可能であった 87 例を対象とした。内訳は男性 47 例、女性 40 例、平均年齢 59 歳である。Vs 値の測定方法は先に述べた通りである。経過観察の測定時期は治療前、治療終了直後、治療終了後 1 年、2 年後の 4 点で測定を行った。IFN による治療効果による分類は、HCV-RNA ウイルス量の変化に基づき著効群、再燃群、無効群の 3 型に分類した。なお、著効群は治療終了時にウイルスが消失したのち 24 週後も消失が持続したもの、再燃群は治療終了時に一旦ウイルスが消失するも、24 週後には再びウイルスが出現するもの、無効群は治療開始してもウイルス量の変化を認めないものとした。

治療前における各群 VS 値を比較すると、著効群: 1.3cm/sec、再燃群 1.4cm/sec、無効群 1.8cm/sec であり、無効群は著効群、再燃群に比べ、有意に高値を示し (p=0.0007、p=0.0036)。

治療終了直後における各群 VS 値を比較すると、著効群: 1.2cm/sec、再燃群 1.2cm/sec、無効群 1.6cm/sec であり、無効群は著効群、再燃群に比べ、有意に高値を示し (p<0.0001、p=0.0124)。

治療終了後 1 年における各群 VS 値を比較すると、著効群: 1.1cm/sec、再燃群 1.2cm/sec、無効群 1.7cm/sec であり、著効群は再燃群、無効群に比べ有意に低値を示した (p=0.0096、p=0.0004)。

治療終了後 2 年における各群 VS 値を比較すると、著効群: 1.1cm/sec、再燃群 1.4cm/sec、無効群 1.6cm/sec であり、著効群は再燃群、無効群に比べ有意に低値を示した (p=0.0192、p=0.0013)。

次に各群の経時的変化を見てみると、著効群の治療前は 1.3cm/sec (1.1-1.5)、治療終了直後には 1.2cm/sec (1.1-1.4)、治療終了後 1 年では 1.1cm/sec (1.0-1.2)、治療終了後 2 年では 1.1cm/sec (1.0-1.2) であった (図 6)。

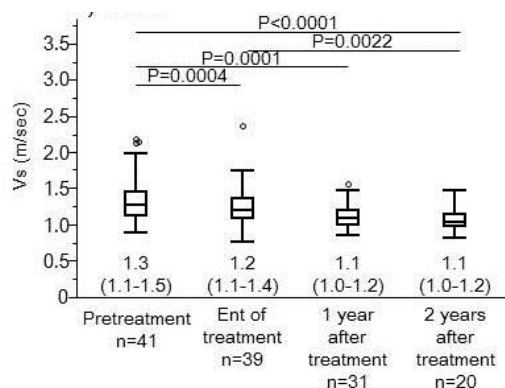


図 6. IFN 治療著効群における Vs 値の変化

治療開始前は治療終了直後、治療終了後 1 年、治療終了後 2 年に比べ、有意に高値を示

した ( $p=0.0004$ ,  $p=0.0001$ ,  $p<0.0001$ )。さらに治療終了直後は治療終了後2年に比べ有意に高値を示した ( $p=0.0022$ )。

再燃群を見てみると、治療前は1.4cm/sec (1.2-1.6)、治療終了直後には1.2cm/sec (1.1-1.6)、治療終了後1年後では1.2cm/sec (1.1-1.8)、治療終了後2年では1.4cm/sec (1.1-2.0)を示した。しかし各群間に有意差を認めなかった (図7)。

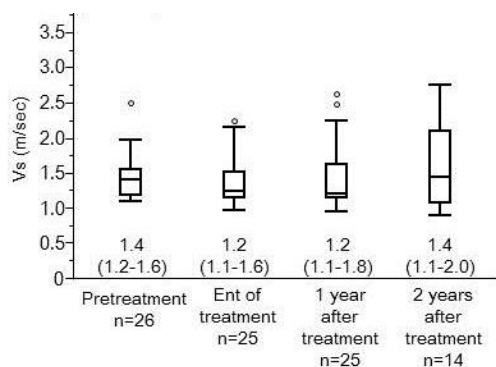


図7. IFN治療再燃群におけるVs値の変化

無効群では治療前は1.8cm/sec (1.5-2.0)、治療終了直後には1.6cm/sec (1.4-2.1)、治療終了後1年後では1.7cm/sec (1.3-2.0)、治療終了後2年では1.6cm/sec (1.4-2.4)であった。治療直後に比べ治療終了後1年と2年は有意に高値を示した ( $p=0.0313$ ,  $p=0.0469$ )。

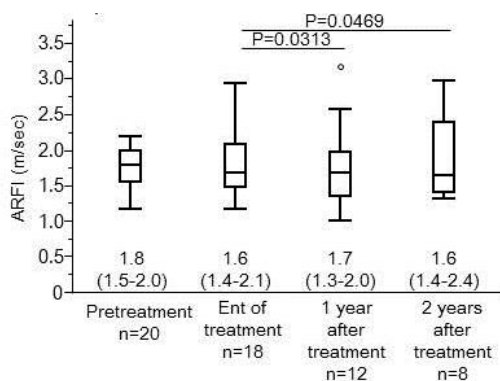


図8. IFN治療無効群におけるVs値の変化

以上のように、IFN治療の治療効果判定および経過観察においても、Vs値測定は有用であることが示唆された。

## 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1件)

- ① Toru Nishikawa, Senju Hashimoto, Naoto Kawabe, Masao Harata, Yoshifumi Nitta, Michihito Murao, Takuji Nakano, Yuko Mizuno, Hiroaki Shimazaki, Toshiki Kan, Kazunori Nakaoka, Yuka Takagawa, Masashi Ohki, Naohiro Ichino, Keisuke

Osakabe, Kentaro Yoshioka. Factors correlating with acoustic radiation force impulse elastography in chronic hepatitis C. World J Gastroenterol. 査読有 Vol.7 No.20 . p 1289-1297. 2014.

[学会発表] (計4件)

- ① 刑部 恵介, 他. B型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法による肝硬度の変化について. 第63回日本医学検査学会. 2014年5月17日~18日. 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター、ホテル日航新潟、ANAクラウンプラザホテル新潟 (新潟県).
- ② 刑部 恵介, 他. B型慢性肝炎の肝硬度に及ぼす抗ウイルス療法の影響と肝発癌との関係についての検討. 日本超音波医学会第87回学術集会. 2014年5月9日~11日. パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ③ 刑部 恵介, 他. C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療による肝硬度変化. 日本超音波医学会第86回学術集会. 2013年5月24日~26日. 大阪国際会議場 (大阪府).
- ④ 西川 徹, 他. HCV感染症におけるVTTQの肝線維化評価. 日本超音波医学会第85回学術集会. 2012年5月25日~27日. グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール (東京都).

[図書] (計2件)

- ① 吉岡 健太郎, 橋本 千樹, 川部 直人, 原田 雅生, 西川 徹, 市野 直浩, 刑部 恵介. 【肝細胞癌のすべて2012】肝発癌の予測 Fibroscanによる線維化診断と発癌予測. 肝・胆・膵. 65巻6号. p1029-1034. 2012.
- ② Kentaro Yoshioka, Senju Hashimoto and Naoto Kawabe. Measurement of liver stiffness as a non-invasive method for diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. Hepatology Research. Vol. 45. p142-151. 2015.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

なし

○取得状況 (計0件)

なし

[その他]

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

刑部 恵介 (OSAKABE, Keisuke)

藤田保健衛生大学医療科学部・講師

研究者番号：30290167

(2)研究分担者

吉岡 健太郎 (YOSHIOKA, Kentaro)

藤田保健衛生大学医学部・教授

研究者番号：60201852

橋本 千樹 (HASHIMOTO, Senjyu)

藤田保健衛生大学医学部・准教授

研究者番号：60378049

西川 徹 (NISHIKAWA, Toru)

藤田保健衛生大学医学研究科・研究員

研究者番号：20410714