

201333006A

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業

慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と
臨床的有用性の確立

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 工藤 正俊

平成26(2014)年 3月

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業

**慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と
臨床的有用性の確立**

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 **工藤 正俊**

平成26(2014)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と臨床的有用性の確立

1

研究代表者 工藤 正俊
近畿大学医学部消化器内科 教授
分担研究者 矢田 典久
近畿大学医学部消化器内科 講師
竹山 宜典
近畿大学医学部 外科 肝胆膵部門 教授

II. 分担研究報告

- 慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と臨床的有用性の確立
(リアルタイムエラストグラフィに線維化診断ソフトの開発)
椎名 毅
京都大学大学院医学研究科・人間健康科学系専攻 教授
- 慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と臨床的有用性の確立
藤本 研治
(特医)三和会 永山病院 消化器内科部長
国立南和歌山医療センター 臨床研究部肝臓病診断治療研究室院外研究員
- 慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線化評価法の開発と臨床的有用性の確立
大崎 往夫
大阪赤十字病院 消化器内科 部長
- RTE・VTQによる肝線維化診断および造影超音波との比較検討に関する研究
住野 泰清
東邦大学 消化器内科 教授
- 難病・がん等の疾患分野の医療の実用化に関する研究
野尻 俊輔
名古屋市立大学 大学院消化器・代謝内科・肝臓病学 講師
- 肝線維化評価におけるVirtual Touch Tissue Quantificationの測定回数の検討
玉井 秀幸
和歌山県立医科大学 第二内科・消化器内科 講師
- 慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線化評価法の開発と臨床的有用性の確立
孝田 雅彦
鳥取大学医学部 機能病態内科学 准教授
- 慢性肝疾患患者における高感度フコシル化AFPの臨床的意義に関する研究
佐藤 秀一
島根大学医学部附属病院 光学医療診療部・准教授
- 慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と臨床的有用性の確立に関する研
三好 久昭
香川大学医学部 消化器・神経内科 助教
- 肝疾患と門脈圧亢進症におけるRTEを用いた診断方法の確立
日浅 陽一
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学講座 教授

11. 肝生検検体の線維化の病理診断
(研究成果の刊行に関する一覧表参照)
坂元 亨宇
慶應義塾大学医学部 病理学教室・腫瘍病理学 教授
12. 肝生検検体の線維化の病理診断
(研究成果の刊行に関する一覧表参照)
鹿毛 政義
久留米大学病院 病理部 教授
13. 肝生検検体の線維化の病理診断
(研究成果の刊行に関する一覧表参照)
中島 収
久留米大学病院 臨床検査部 教授
14. 慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線化評価法の開発と臨床的有用性の確立における生物統計学的手法の確立に関する研究
(研究成果の刊行に関する一覧表参照)
吉村 健一
神戸大学医学部 臨床研究推進センター 特命准教授
15. 肝硬変の画像的評価におけるEOB造影T1緩和時間と超音波エラストグラフィの比較
村上 卓道
近畿大学医学部 放射線診断学部門・放射線診断学 教授
16. C型慢性肝疾患におけるReal-time tissue elastographyの有用性について
今中 和穂
大阪府立成人病センター 肝胆膵内科 副部長
17. 慢性肝疾患における非侵襲的弾性検査法を用いた肝線維化評価予測に関する研究-II
國土 典宏
東京大学医学部 肝胆膵外科、人工臓器移植外科 教授
18. Real-time Tissue ElastographyとFibroScanの線維化診断能についての研究
河田 則文
大阪市立大学 肝胆膵病態内科 教授
19. 慢性肝疾患における非侵襲的弾性検査法を用いた肝線維化評価予測に関する研究
Assessment of Liver FIBROsis by Real-time Tissue ELASTography in Chronic Liver Disease (FIBROELAST Trial)
宮瀬 志保
くまもと森都総合病院 肝臓・消化器内科 医長
20. 肝硬変患者に対するSF-8をQOL指標とした分岐鎖アミノ酸製配合顆粒有効性の検討
日高 央
北里大学 消化器内科 講師
21. 慢性肝疾患における非侵襲的弾性検査法を用いた肝線維化評価予測に関する研究
小川 力
高松赤十字病院 消化器内科 副部長

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 43

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 57

I. 総括研究報告

慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と臨床的有用性の確立

主任研究者：工藤正俊 近畿大学医学部消化器内科 教授
分担研究者：矢田典久 近畿大学医学部消化器内科 講師
竹山宜典 近畿大学医学部外科 教授

研究要旨：

慢性肝疾患における肝線維化は、予後や治療方針決定上非常に重要であるが、肝生検は侵襲的でありこれに代わる非侵襲的線維化診断法の開発が望まれる。そこで、我々は組織の歪み情報を画像化する超音波技術Real-time Tissue Elastography（以下RTE）を新たに開発すると共に、全体研究として慢性肝疾患における肝線維化定量的評価と診断支援の実現を目指して、多施設共同横断研究として肝生検とRTE結果との比較を行った。

この研究に先立ち、共同研究を開始させた。平成22年08月23日に近畿大学医学部倫理委員会の承認を得たため、平成22年08月30日近畿大学にて第1例目の登録を行い試験を開始し、平成26年2月28日現在、登録数は687例に到達した。慢性肝疾患における肝線維化定量的評価と診断支援の実現を目指して、多施設共同横断研究として肝生検とRTE・FibroScan・Virtual Touch Quantification (VTQ)との比較を行った。

解析の結果、RTEは、HCVよりもHBVで低値であり、Liver Fibrosis index (LFI)を疾患別に考慮する必要性を示唆した。いずれのエラストグラフィを用いても、肝線維化を正確に非侵襲的に診断できた。更に、RTEは、FibroScanやVTQとは異なり炎症・黄疸・鬱血などの影響を受けずに肝線維化ステージを診断できた。一方、超音波エラストグラフィによる肝線維化診断は、各ステージ間の重なりが多いが、データマイニングを用いて、より精度の高い診断が行えた。

今後、切除標本診断をゴールドスタンダードとしたエラストグラフィの評価、症例数を増やして他のモダリティとの比較、RTEによる肝発癌や門脈圧亢進症の発現予測などについて検討が必要

A. 研究目的

(1) 慢性ウイルス性肝疾患において、肝線維化が強くなるほど発癌・胃食道静脈瘤などの門脈圧亢進症状・肝不全のリスクなどが上昇する。肝線維化の評価は、肝生検で行うことが多いがサンプリング・エラーの問題は無視できない。

また出血のリスクもあり患者にとっては負担も大きく繰り返し行うことには不向きであり、治療経過の評価に利用できない。これらの理由から肝生検に代わる非侵襲的肝線維化診断法を確立することが望ましい。

本研究では、組織の歪み情報を画像化する超

音波技術Real-time Tissue Elastography（以下RTE）を新たに開発（研究分担者 椎名 毅（京都大学）が担当）すると共に、全体研究として慢性ウイルス性肝疾患における肝線維化定量的評価と診断支援の実現を目指して、多施設共同横断研究として肝生検とRTE結果との比較を行った。また、肝発癌や門脈圧亢進症の発現予測についても多施設での前向き試験も行った。

(2) 直接的効果；

本研究により、RTEによる正確な定量的肝線維化測定方法が確立されれば、ウイルス性肝疾患患者にとって負担の軽減となる。また繰り返し検査を行えることが大きなメリットとなる。これまでは肝生検を行うことが多かった肝線維化診断において、安全かつ正確な方法を世界に発信できることとなる。更にこの結果は日本のみならず、世界の診療にも大きな影響を及ぼすものと予想される。肝生検に代わりRTEが肝線維化診断のゴールドスタンダードになる可能性がある。

(3) 間接的効果；

RTEを行うことで、肝発癌や門脈圧亢進症のリスクの高い患者を絞り込むことができる。絞り込みを行うことで無駄な医療費を削減できると同時に、肝発癌の早期発見・早期治療につながり慢性肝疾患患者のQOLの向上や余命延長が得られることになる。インターフェロン施行前にもインターフェロンの治療対象の絞り込み並びに治療効果予測の指標になると考えられる。

B. 研究方法

全体研究として、慢性ウイルス性肝疾患における肝線維化定量的評価と診断支援の実現を

目指して、多施設共同横断研究として肝生検とRTE結果との比較を行う。

B型あるいはC型慢性肝炎および肝硬変患者において、RTEと肝組織診断とを比較し、RTEで肝線維化を推定可能かどうか、RTE画像をどのように評価すれば肝線維化を反映した分類が出来るのかなどを検討するため、多施設共同横断研究を計画した。

目標被検者数は500名とし、登録期間は倫理委員会承認後から3年間とした。

研究方法は、肝生検や肝切除術を受けるB型あるいはC型慢性肝炎および肝硬変患者を対象とし、肝生検前後あるいは肝切除術前2週間以内（4週間以内を許容する）に血液検査、RTE、FibroScan®、Virtual Touch Quantification (VTQ)を施行。肝組織は、研究分担者である坂元亨宇（慶応大学）、鹿毛政義（久留米大学）、中島収（久留米大学）の3名によりブラインド・リーディングを行う。RTE画像は、データ解析担当者により、動画をブラインド・リーディングし、ヒストグラム化、グレースケール化、二値化し特徴量解析する。これらの結果を用いてRTE画像の評価方法の検討および肝線維化定量的評価と診断支援の実現を目指す。

（倫理面への配慮）

(1) 患者の保護について

本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言および「臨床研究に関する倫理指針」（平成20年厚生労働省告示第415号）に従って本試験を実施している。

(2) インフォームド・コンセント

登録に先立って、担当医は医療機関の承認が得られた説明文書（付表の説明文書または医療

機関で改変を加えた説明文書)を患者本人に渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明している。

- ①臨床研究は通常診療以外に研究を伴うこと
- ②臨床研究の目的
- ③臨床研究の方法
- ④被験者の臨床研究への参加予定期間
- ⑤臨床研究に参加する予定の被験者数
- ⑥予期される臨床上の利益および危険性または不便
- ⑦臨床研究への参加は被験者の自由意思によるものであり、臨床研究への参加を随時拒否・撤回できること。また、これによって被験者が不利な扱いを受けないこと
- ⑧臨床研究の継続について被験者の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者に伝えられること
- ⑨臨床研究への参加を中止させる場合の条件または理由
- ⑩被験者の秘密が保全されることを条件に当院治験審査委員会が原医療記録を閲覧できること
- ⑪臨床研究の結果が公表される場合であっても、被験者の秘密は保全されること
- ⑫臨床研究に参加した場合の費用
- ⑬臨床研究責任医師の氏名・職名・連絡先
- ⑭被験者が守るべき事項
- ⑮当該臨床研究に関する照会連絡先
- ⑯副作用発現時中止時の対処および補償・賠償に関する事項

(3) 同意

試験についての説明を行い、十分に考える時間を与え、患者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加について依頼する。患者本人が試験参加に同意した場合、付

表の同意書または医療機関で定められた書式の本試験の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した患者名、同意を得た日付の記載があることを確認する。

(4) 個人情報の保護と患者識別

個々の患者のプライバシーを保護するため、登録患者の同定や照会は、登録時に発行される症例登録番号を用いて行う。すべての研究者は個人情報保護のため最大限の努力を払う。

(5) プロトコールの遵守

本試験に参加する研究者は、患者の安全と人権を損なわない限り、本プロトコールを遵守する。

(6) 利益相反

本試験は、厚生労働省科学研究費補助金により遂行される。いかなる企業とも営利関係はないことを確認した。

C. 研究結果

本試験のプロトコールは十分に討議され、研究分担者および班長協力者の施設での倫理委員会あるいはIRB審査を通過した施設から試験を開始した。

平成22年08月23日に近畿大学医学部倫理委員会の承認を得たため、平成22年08月30日近畿大学にて第1例目の登録を行い試験が開始した。参加施設は研究分担者および班長協力者施設計21施設である。エントリー数は687例に到達した。良好なRTE画像、良好な組織サンプルが得られた症例665例の解析を行った。

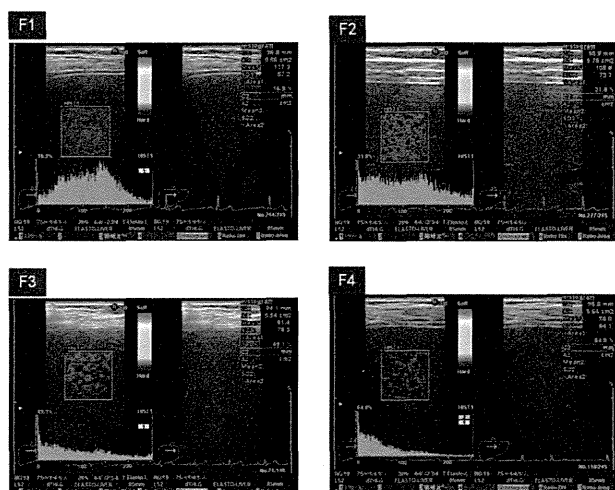
ウイルス性肝疾患におけるRTEの画像の特徴

RTEは、ROI内部の組織の相対的な歪みの程度を、歪みの大きい部位は赤、歪みの小さい部位は青、中間色は緑で256階調にリアルタイムに表示することができる超音波技術である。

線維化ステージとRTE画像特徴量との間に一定の関係が存在することが判明した。つまり、びまん性肝疾患において、線維化の進行による結節の分布を反映して組織弾性像のテクスチャが変化した (Figure 1)。線維化の進行に伴って組織弾性像が変化するポイントは、以下の3点である。

- ①色のばらつきが大きくなる
- ②相対的に低ひずみ領域が増加する
- ③まだらな画像パターンになる

Figure 1



画像解析によるRTEの評価

客観的なRTEの評価方法を検討するにあたり画像パターン認識法を用いて検討を行った。RTE画像を、ヒストグラム化、グレースケール化、二値化し画像のパターンを表す数値である

特徴量を算出した。解析には、歪みの平均値MEAN、歪みの標準偏差SD、低歪み領域(青い領域)の割合AREA、低歪み領域(青い領域)の形状の複雑度COMP、一様性ASM、均等性ENT、複雑さIDM、歪度SKEW、尖度KURT、コントラストCON、相関CORの11種類の特徴量(画像解析パラメータ)を用いた (Figure 2)。この際、より客観的な評価ができるように静止画ではなく動画を用いてブラインド・リーディングし特徴量の算出を行い解析した。その結果、特徴量と線維化ステージとの間には、有意な相関関係を認めた (Figure 3)。

Figure 2

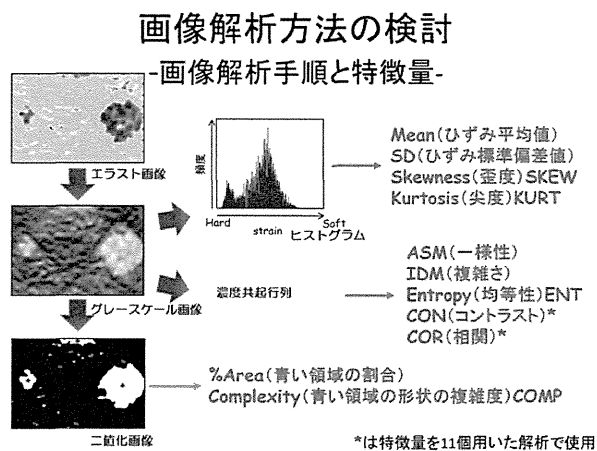
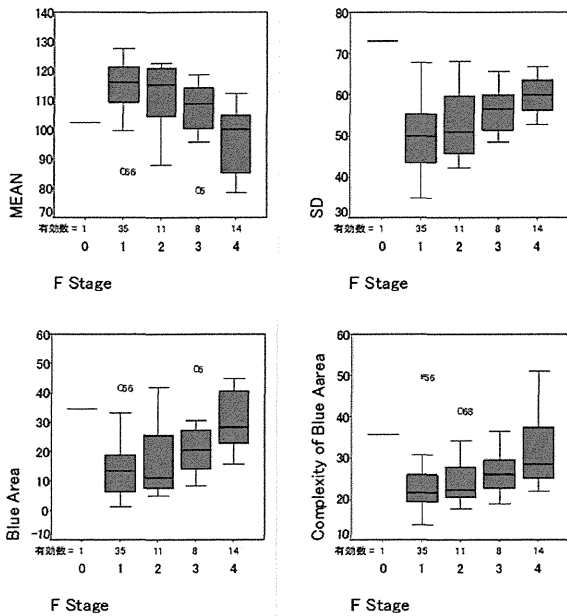


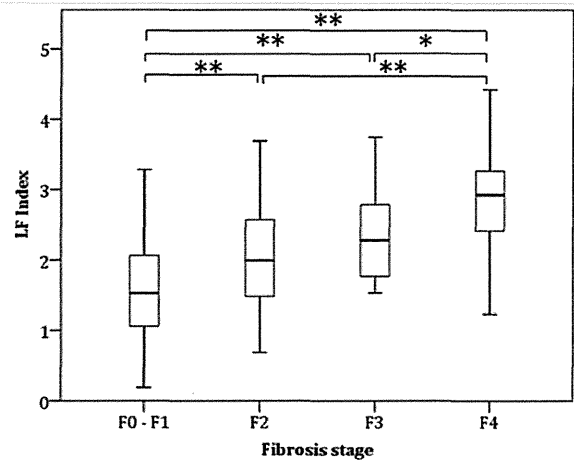
Figure 3



LFIによる客観的診断

更に客観的な画像評価を行うため、特徴量を独立変数、肝線維化ステージを従属変数として重回帰分析を行い、肝線維化予測式 LFI (LF Index) を算出した。LFI ver.1(= $-0.00897 \times \text{MEAN} - 0.00502 \times \text{SD} + 0.0232 \times \% \text{AREA} + 0.0253 \times \text{COMP} + 0.775 \times \text{SKEW} - 0.281 \times \text{KURT} + 2.08 \times \text{ENT} + 3.04 \times \text{IDM} + 40.0 \times \text{ASM} - 5.54$) による肝線維化診断能の AUC は F1 以上 0.846、F2 以上 0.833、F3 以上 0.887、F4 0.863 (non-validation date) と非常に高値であり、また、各ステージ間で有意差を認められた (Figure 4)。

Figure 4



EtiologyによるRTEの違い

更に最終年度集計では、症例数が増え、特に B 型慢性肝炎・肝硬変症例が増加した (Table 3)。

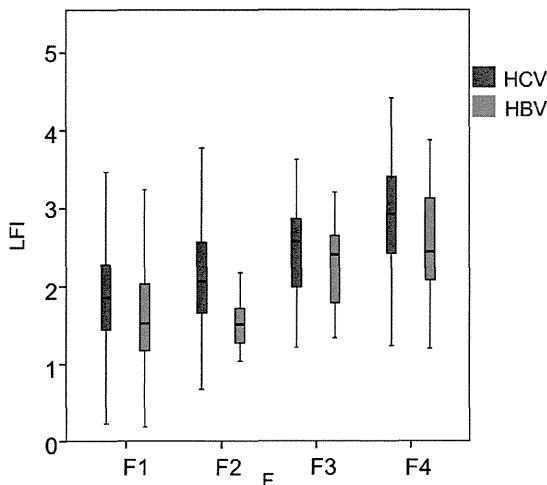
Table 3

	F1	F2	F3	F4	Total
HBV	80	17	22	30	149
HCV	231	123	75	87	516
Total	311	140	97	117	665

そこで etiology 別に LFI ver.1 の評価を行った。すると、HBV では HCV に比べて LFI ver.1 が低値であることが分かった (Figure 7)。

これは、etiology による肝線維化形態の違い、つまり HCV では小結節性で隔壁線維が多いのに対して、HBV では大結節性で隔壁の線維が薄いことを反映した結果であると推測した。

Figure 7



以上の結果を踏まえ、HBV と HCV 別に評価が必要であると考え、同様の方法で etiology 別に血清マーカーの有無別に LFI を算出した。

$$LFI_HCV (= 1.736 + 0.043 \cdot AREA - 5.424 \cdot IDM)$$

$$LFI_SM_HCV (= 3.451 - 0.054 \cdot PLT + 0.036$$

$$* AREA + 0.004 \cdot AST - 10.885 \cdot IDM - 0.001$$

$$* CON)$$

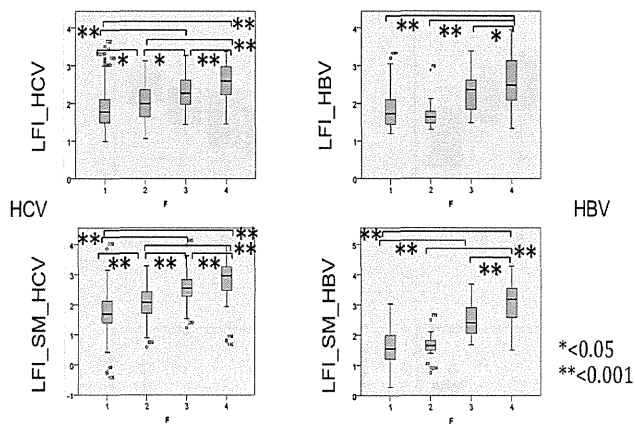
$$LFI_HBV (= 1.137 + 0.051 \cdot AREA)$$

$$LFI_SM_HBV (= 2.860 - 0.080 \cdot PLT + 0.034$$

$$* AREA - 0.007 \cdot ALT + 0.010 \cdot AST)$$

いずれの値も肝線維化の進行に従い高値を示した (Figure 8)。

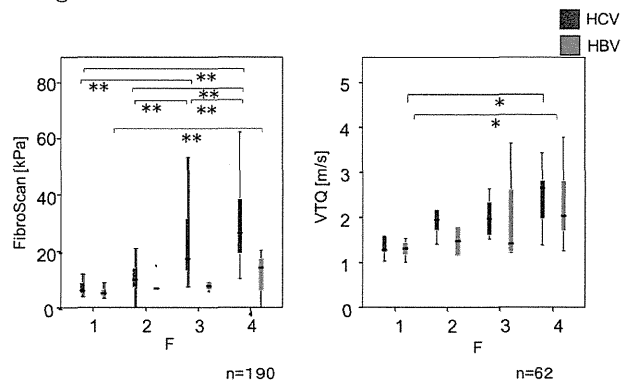
Figure 8



FibroScan、VTQ による肝線維化診断

一方、同時に計測した FibroScan、VTQ も、線維化の進行とともに高値を示し、HCV よりも HBV の方が低値であった (Figure 9)。

Figure 9



各超音波エラストグラフィによる肝線維化診断能

これらの、各エラストグラフィによる各線維化診断能を AUROC で評価した結果、いずれの線維化であっても各モダリティともに高い値を得た (Table 3)。

超音波エラストグラフィに影響を与える肝線維化以外の因子

Table 3

		≥F2	≥F3	F4
AUROC				
HCV	LFI_HCV	0.716	0.774	0.792
	LFI_SM_HCV	0.796	0.868	0.857
	FibroScan	0.897	0.914	0.870
	VTQ	0.880	0.777	0.832
HBV	LFI_HBV	0.704	0.803	0.775
	LFI_SM_HBV	0.823	0.901	0.891
	FibroScan	0.788	0.788	0.846
	VTQ	0.793	0.812	0.773

一方、炎症・黄疸・鬱血の高い症例を治療前後で比較したところ、すべての症例でFibroScanによる肝硬度は治療により速やかに低下した。一方、同症例でのRTEの経時的変化は認められず、RTEは炎症・黄疸・鬱血の影響を受けずに評価することができることを確認できた (Figure 11)。

データマイニングによるエラストグラフィの評価

統計学的解析の結果では、各超音波エラストグラフィは、いずれも高い肝線維化診断能を有する。しかし、いずれのエラストグラフィであっても各線維化ステージ間での測定値に重なりが大きい。

そこで、データマイニングを用いて、エラストグラフィと血清マーカーによる肝線維化診断について評価した結果、Figure 10に示すようなディシジョン・ツリーを得た。

Figure 10

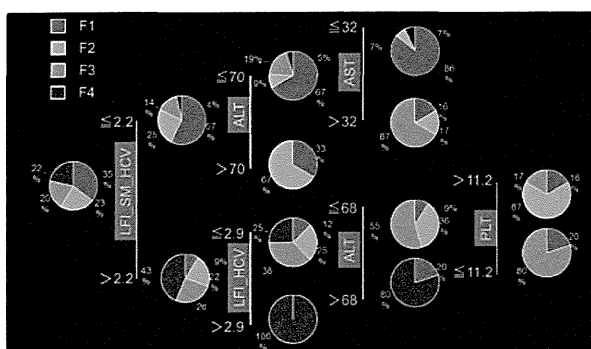
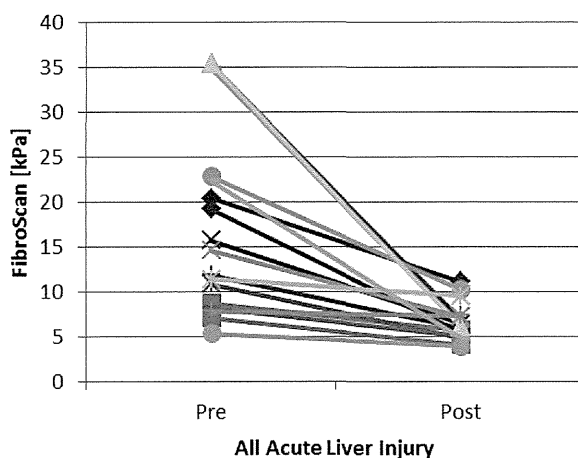


Figure 11



RTEによる肝発癌リスク評価について

今回の研究期間では、発癌率や門脈圧亢進症発症率が低く、RTEを用いる肝発癌や門脈圧亢進症リスク評価については、十分な評価が行えなかった。

力学的モデル解析

力学的モデル解析により、RTE画像で得られる変化(低歪み領域が増え斑な画像になる)は、

肝線維化の進行に伴う肝組織の変化そのものを捉えた現象であることを確認した（分担研究者：椎名 毅氏が担当）

D. 考察

力学的モデル解析により、RTE 画像で得られる変化（低歪み領域が増え斑な画像になる）は、肝線維化の進行に伴う肝組織の変化そのものを捉えた現象であることを確認した。

RTE を用いる事で、炎症・黄疸・鬱血の影響を受けずに非侵襲的に肝線維化を測定することが可能であった。更に血清マーカーとあわせて測定する事で更に高い診断能を得ることが可能であった。

組織の歪み情報を画像化する RTE をはじめとする Strain elastography と、剪断波伝播速度を測定することで組織の硬さを測定する FibroScan や VTQ といった Shear wave elastography を用いて、慢性肝疾患における肝線維化診断能について検討した結果、HBV では HCV に比べて硬さが低値であることが判明した。これは、背景肝による肝線維化の進展形態に違いがあることを反映した結果であると考えられた。

エラストグラフィによる線維化診断には、各ステージ間で重なりが大きいですが、エラストグラフィと血清マーカーによるデータマイニングを用いて評価することで、臨床でも肝生検の代わりとして十分利用できる可能性があるかと判断した。

E. 結論

慢性肝疾患における肝線維化定量的評価と診断支援の実現を目指して、多施設共同横断研究

として肝生検と超音波エラストグラフィとの比較を行った。RTE、FibroScan、VTQをはじめとした超音波エラストグラフィは、肝線維化を非侵襲的に診断できた。更に、RTEは、FibroScanやVTQとは異なり、炎症・黄疸・鬱血などの影響を受けずに肝線維化ステージを診断できた。エラストグラフィや血清線維化マーカーによるデータマイニングを用いることで、実臨床で肝生検に代わる非侵襲的肝線維化診断ツールとなりうる。

しかし、肝生検を用いた肝線維化の正診率は約75%であるといわれており、診断精度を上げるためには、肝切除標本診断をゴールドスタンダードとした肝線維化診断脳評価を行う必要があると考える。

また、肝発癌リスク評価などの予後予測について評価を行うために、長期的なフォローが必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Fujimoto K, Kato M, Kudo M, et al. Novel image analysis method using ultrasound elastography for noninvasive evaluation of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Oncology* 2013;84 Suppl 1:3-12.

2. Hagiwara S, Kudo M, Osaki Y, et al. Impact of peginterferon alpha-2b and entecavir hydrate combination therapy on persistent viral suppression in patients with chronic hepatitis B. *Journal of medical virology* 2013;85:987-95.

3. Ikeda N, Imanishi H, Aizawa N, et al. Nationwide survey in Japan regarding splenectomy/partial splenic embolization for interferon treatment targeting hepatitis C virus-related chronic liver disease in patients with low platelet count. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2013.
4. Kim SR, El-Shamy A, Imoto S, et al. Prediction of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C genotypes 2a and 2b and high viral load. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2013;31:426-33.
15. Kudo M. Chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma: an update for 2013. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2013;31:405-7.
6. Nishiguchi S, Enomoto H, Aizawa N, et al. Relevance of the Core 70 and IL-28B polymorphism and response-guided therapy of peginterferon alfa-2a +/- ribavirin for chronic hepatitis C of Genotype 1b: a multicenter randomized trial, ReGIT-J study. *Journal of gastroenterology* 2013.
7. Okada M, Murakami T, Yada N, et al. Comparison between T1 relaxation time of Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI and liver stiffness measurement of ultrasound elastography in the evaluation of cirrhotic liver. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 2013.
8. Sakurai T, Kudo M. Molecular Link between Liver Fibrosis and Hepatocellular Carcinoma. *Liver cancer* 2013;2:365-6.
9. Sugimoto K, Kim SR, El-Shamy A, et al. Factors of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy and mechanism of viral clearance. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2013;31:421-5.
10. Yada N, Kudo M, Chung H, Watanabe T. Autoimmune hepatitis and immunoglobulin g4-associated autoimmune hepatitis. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2013;31:415-20.
11. Yada N, Kudo M, Morikawa H, Fujimoto K, Kato M, Kawada N. Assessment of liver fibrosis with real-time tissue elastography in chronic viral hepatitis. *Oncology* 2013;84 Suppl 1:13-20.
12. Arizumi T, Ueshima K, Takeda H, et al. Comparison of systems for assessment of post-therapeutic response to sorafenib for hepatocellular carcinoma. *Journal of gastroenterology* 2014.
2. 学会発表
 - Yada Norihisa, Kudo Masatoshi, Hagiwara Satoru, et al. ASSESSMENT OF HEPATIC FIBROSIS WITH REAL-TIME TISSUE ELASTOGRAPHY IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS. WFUMB, São Paulo, 2013 2013/05/02-05
 - Norihisa Yada, Satoru Hagiwara, Tadaaki Arizumi, Masahiro Takita, Satoshi Kitai, Tatsuo Inoue, Yasunori Minami, Kazuomi

Ueshima, Naoshi Nishida, Masatoshi Kudo
, Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis
by Measurement of LF Index in Patients with
Chronic Viral Hepatitis. DDW 2013,
Orlando, 2013/05/18-21

・Noriyoshi Yada, Masatoshi Kudo, Diagnostic
performance of Liver Fibrosis with Real-Time
Tissue Elastography in Chronic Viral
Hepatitis C. 日本超音波医学会総会 2013
International Symposium, 大阪、2013/05/24

・矢田 典久、萩原 智、工藤 正俊、Real-time
Tissue Elastography による
びまん性肝疾患の肝線維化診断. 日本超音波
医学会総会 2013 奨励賞, 大阪、2013/05/25

・矢田 典久、萩原 智、工藤 正俊、Strain
elastography と Shear wave elastography によ
る非侵襲的肝線維化診断. ワークショップ 2,
日本肝臓学会総会、東京、2013/06/06

・矢田 典久、萩原 智、工藤 正俊、各種超音
波エラストグラフィによる肝線維化診断,
JDDW2013 パネルディスカッション 5, 東京、
2013/10/09

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

本試験は、B型およびC型慢性肝炎を中心とし
たびまん性肝疾患患者の利益に資することを
目的とし、研究者の特別な利益を追求するもの
ではないため、特許関連の申請は行わないこと
を確認している。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 分担研究報告

慢性ウイルス性肝疾患の非侵襲的線維化評価法の開発と臨床的有用性の確立
（リアルタイムエラストグラフィによる線維化診断ソフトの開発）

研究分担者 椎名 毅 京都大学大学院医学研究科・人間健康科学系専攻 教授

心拍動による肝ひずみ像の時間変化を動画データの時系列解析をした。その結果、ひずみ像の描画率や、時間平均特徴量など、線維化ステージの評価に有用な特徴量が抽出できた。多重解像度解析により、空間周波数成分の違いに基づく新たな特徴量の抽出と SVM による識別法の導入を検討した。重回帰推定に比較し、一部、識別能の向上が認められた。

A. 研究目的

Real-time Tissue Elastography (RTE) は、触診のように圧迫で生ずる組織ひずみをもとに、実時間で組織の硬さの分布像を構築するもので、癌腫瘍等の診断用に開発されたが、さらに、びまん性疾患である慢性肝炎においても、線維化で形成される結節の分布状態が組織弾性像に反映されることから、非侵襲的な肝線維化診断法としての RTE の利用が期待されている。

本研究では、RTE によるひずみ像から、線維化の程度を定量化し、客観的に評価するための線維化診断支援のソフトを開発することを目的とする。

B. 研究方法

線維化の程度の定量的な評価を目的とした、RTE によるひずみ像からの特徴量の抽出について、以下の検討を行った。

(1) 特徴量の時系列解析

前年度は、ひずみ像から形態的および統計的特徴量を抽出し、重回帰分析により、線維化 stage の指標として LF index を算出した。

また、ステップワイズ法により重回帰計算に用いる変数としての特徴量の組み合わせを変えながら、stage 推定の精度の評価を行い、パラメータの最適化を試みた。

この特徴量の抽出に用いるひずみ像は、心拍動による肝臓組織の変形を捉えたものであるため、図 1 に示すように心拍動に同期して変化する。心拍動によるフレーム間の変化が大きい場合は、ひずみ値も大きく安定したひずみ像となる。一方、図 1 の右のように、心拍動によるフレーム間での変形が小さい場合

は歪が小さくなり、閾以下の場合には表示されない。従って、これまで特徴量の抽出は、ひずみ値が最大になる付近で記録されたひずみ像のみを用いて行ってきた。

一方で、ひずみ像の心周期内での時間変化は、線維化の程度を反映している可能性がある。そこで、各フレームにおける特徴量を算出し、その時間変化を解析した。

[臨床データ]

近畿大学、南和歌山医療センターにて、右肋間走査にて、C 型肝炎 F1-F4 の各ステージ毎 3 例の 12 例と、健常者 F0 の 3 例の計 15 例の肝臓のエラストグラフィを取得した。フレームレート 15fps または 30 fps で、3 秒間の動画データを記録した。

[解析方法]

動画データの各フレームを静止画として切り出して得られた各ひずみ像に対して、これまでと同様の手法で特徴量を算出し、また LF Index を求めた。各特徴量と LF Index について、フレーム毎の変化すなわち時間変動を調べた。次に、全フレーム数に対しひずみ像が

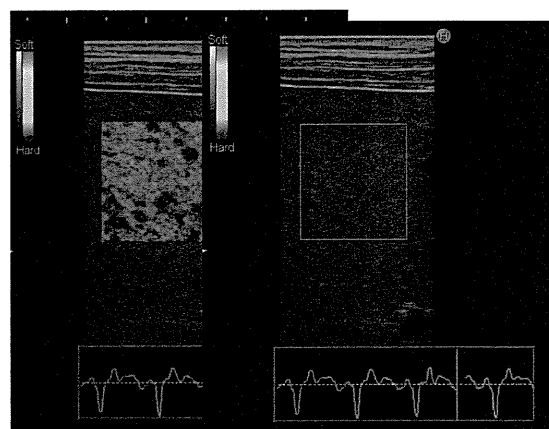


図 1 心拍動によるひずみ像の変化

画像下は、ひずみの時間変化の波形

描出されるフレーム数の割合である描出率や、各特徴量の時間平均を新たなパラメータとして算出し、線維化ステージとの相関を調べた。

(2) 多重解像度解析と SVM

前年度は、線維化 stage の進行程度を反映する新たな特徴量の探索として、ひずみ像を帯域の異なる 6 つの周波数フィルタで処理して得た各画像に対し、濃度ヒストグラムを求め、それらを入力とする Support Vector Machine (SVM) の学習により、stage の識別を行った。その結果、重回帰推定と同程度の性能であった。

そこで、本年度は、画像特徴量として、多重解像度解析の画像のヒストグラムを用いた。解像度は、原画像、解像度 1/2, 1/4, 1/8 の 4 段階と、それぞれ 16 階調に分割した輝度ヒストグラムにより、 $16 \times 4 = 64$ パラメータとし、これに 9 種類の特徴量を加えた 73 パラメータで、SVM によるステージ推定を実施した。
[臨床データ]

以下の 166 例の肝臓のエラストグラフィの画像を用いた

- ・ 肝炎 151 例 (B 型 46 例、C 型 105 例)
F0:F1:F2:F3:F4 = 4 : 68 : 29 : 16 : 34 例
- ・ 健常者 15 例

[倫理面への配慮]

本研究において研究代表者、研究分担者が、所属研究機関の倫理委員会での承認のもと、倫理指針に沿った方法で取得した臨床データを用いた。本研究は、取得済みの画像データに対して匿名化による個人情報の保護等に配慮して行っており、倫理面での問題はない。

C. 研究結果

(1) 特徴量の時系列解析

図 2 は、特徴量としてヒストグラムの平均

MEAN と、LF Index について、3 秒間の時間変動を、各線維化ステージ毎に表したものである。これから、線維化の進行とともに、描画

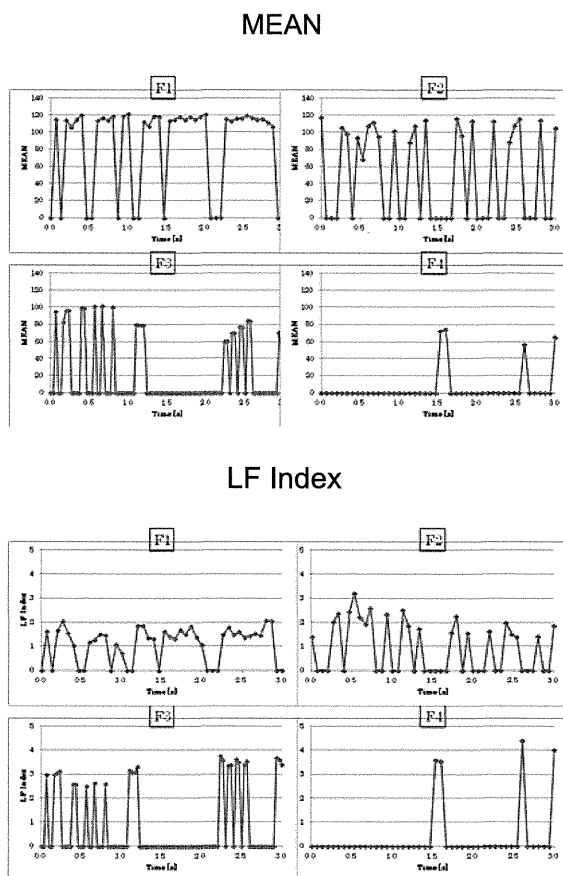


図 2 各線維化ステージにおける特徴量の時間変動

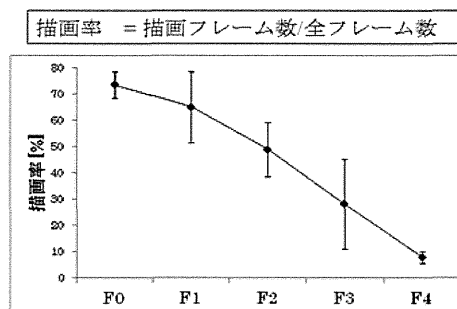


図 3 描画率と線維化ステージ

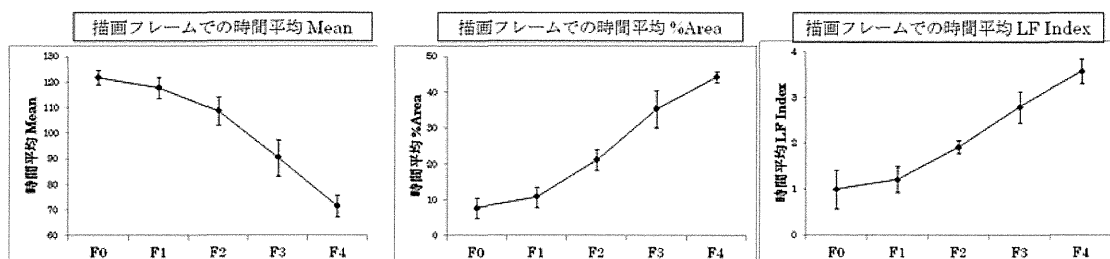


図 4 各特徴量の描画フレームで時間平均した値と線維化ステージとの関係

されるフレーム数が減少することがわかる。図3は、ひずみ像が描画されているフレームの割合として描画率を求め、線維化ステージとの関係をプロットしたものであるが、明確な減少傾向を示している。

また、図2を見ると、描出されているフレームにおいて、特徴量の値は、比較的安定しており、線維化の進行に伴いMEANが減少し、LF Indexが増加していく点は、これまでの解析結果と一致している。そこで、特徴量について描画されているフレームでの時間平均をとると、図4のように、線維化の進行に伴ってMEANは減少、%AreaやLF Indexは単調に増加する傾向が示されている。

(2) 多重解像度解析とSVM

図5は、F1とF4の症例について、ひずみ像の解像度を、1/2、1/4、1/8と低下させた多重解像度解析処理の結果を示す。解像度が下がるにつれ、細かな構造が平滑されるので、より大きな構造変化を強調することで、結節の有無を検出し易くなると考えられる。また、図6は、F1とF4のそれぞれについて、各解像度での濃度ヒストグラムを示している。

原画像のヒストグラムは、重回帰分析の際

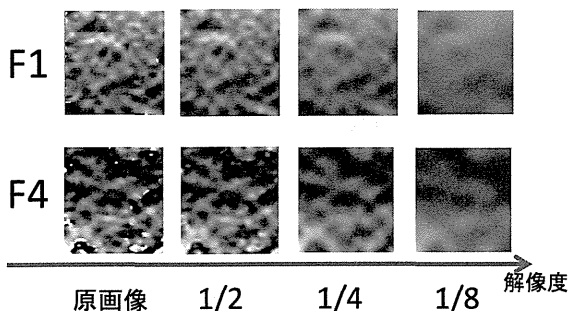


図5 ひずみ像の多重解像度解析の処理例

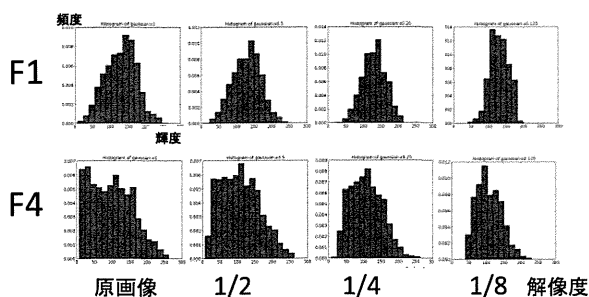


図6 多重解像度解析ヒストグラムの例

の特徴抽出で用いたものと同じで、F1に比べF4は、結節部による低ひずみの割合が多いことが分かる。一方、低解像度では、平滑化により分布のピークは中央に寄って来るが、その変化の様子はステージにより異なる。

ヒストグラムから得られる64のパラメータ(4解像度×16階調)と重回帰分析でもちいた9つの特徴量(MEAN, SD, AREA, COMP, ASM, ENT, IDM, SKEW, KURT)を入力データとし、SVMを用いて識別した。

図7は、LFindexと線維化stageとの関係、

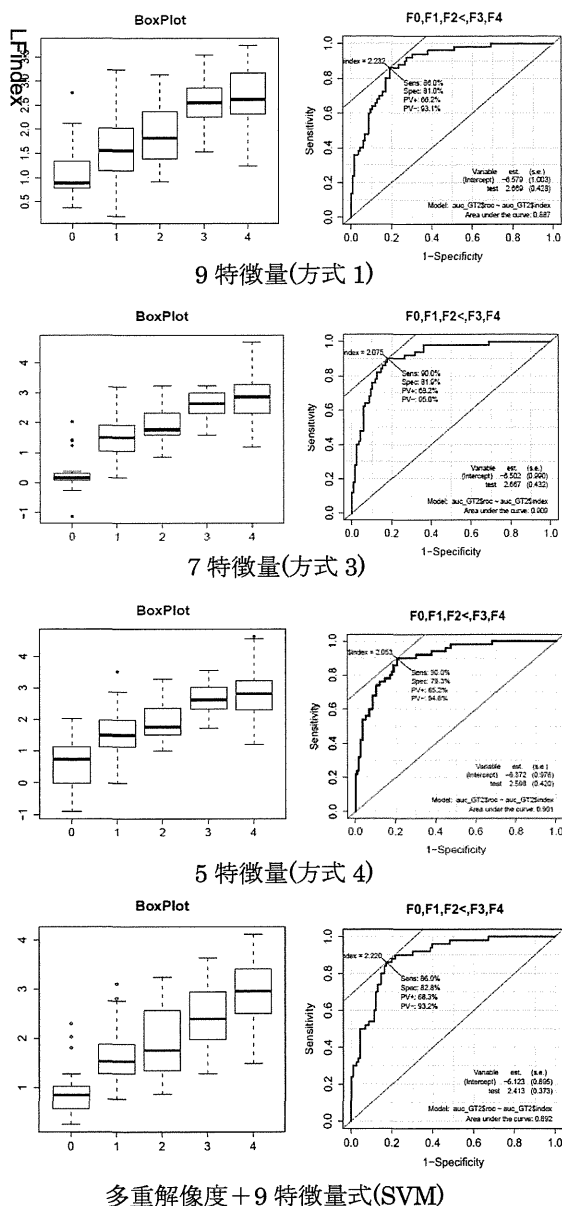


図7 LF-indexと線維化stageとの関係(左)と、ROC曲線(F2—F3)(右)の比較

表 1 ROC 解析の結果

	F0-F1	F1-F2	F2-F3	F3-F4
9 特徴量 MEAN, SD, AREA, COMP, ASM, ENT, IDM, SKEW, KURT	0.846	0.833	0.887	0.863
7 特徴量 MEAN, SD, COMP, ASM, ENT, IDM, CON	0.936	0.868	0.901	0.872
5 特徴量 SD, AREA, COMP, ENT, SKEW	0.906	0.865	0.909	0.874
SVM (多重解 像度解析+9 特徴量)	0.902	0.837	0.892	0.897

および F2 と F3 の識別に対して得られた ROC 曲線を示す。また、表 1 に ROC 解析結果を示す。比較のため、昨年度検討した重回帰分析によるパラメータの選定の検討の結果を示した。多重解像度解析+9 特徴量に SVM 識別を行った結果では、表 1 に示すように同じ 9 特徴量での重回帰推定(方式 1) に比べると、識別能が向上しており、特に F3 と F4 間の AUC は最大の 0.897 であった。一方で、それ以外のステージ間の識別では、他の重回帰推定の方がやや優れた値を示した。

D. 考察

これまで、ひずみ像の解析には、安定に表示された 1 枚を用いていたが、心拍動で変動する各フレームでのひずみ像の変化は、肝線維化の影響を受けることが想定される。実際、今回の時系列解析により、新たに算出した描画率は、肝線維化に伴い単調に減少した。

この原因として、1 つには線維化が進むと低ひずみの部分が多くなる結果、表示の閾値以下になる時間が長くなるためと思われる。

恐らく、描画率自体はその閾値に依存するため、今後、その関係を詳細に調べる必要があるが、一定の閾値に対しては、線維化の進行にともない単調に減少することが確かであれば、線維化ステージの判定の新しい特徴量として有用であると思われる。

また、描画されたフレームで時間平均した特徴量もこれまでと同じ傾向であるが、時間平均により安定することと、特例のフレームを選定する必要がないので、処理の自動化が可能になることが期待される。

多重解像度解析と SVM 識別については、解

像度の異なる画像に分離することで、線維化の進行による結節の増大を捉えることを期待しての処理である。このため結節のサイズがある程度大きくなる F3 - F4 の識別で高い精度が得られた可能性がある。一方で、結節が顕著ではない、F1-F2 の識別などでは、重回帰推定と同程度の精度にとどまった。今後は、多重解像度解析+SVM については、7 特徴量など他の場合においても、精度向上の有無について検討する必要がある。

E. 結論

ひずみ像の心周期内での時間変化は、線維化の程度を反映しているとの予想から、ひずみ像の動画データの時系列解析をした。その結果、ひずみ像の描画率や、時間平均特徴量など、線維化ステージの評価に有用な特徴量が抽出できた。

多重解像度解析により、空間周波数成分の違いに基づく新たな特徴量の抽出と、非線形な識別境界の場合でも対応できる SVM による識別法の導入を検討した。重回帰推定に比較し、一部、識別能の向上が認められた。

今後、ひずみ像の時間変化を取り入れた、特徴量に基づく重回帰推定法が安定して実用的な肝線維化ステージの評価手段となることが見込まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

[1]椎名 毅, “超音波診断における生体組織の不均一性の影響 -小特集 人体組織の音響的不均一性と超音波医療-,” 日本音響学会誌 69(5), 254-259, 2013.

[2]T. Shiina, “JSUM ultrasound elastography practice guidelines: basics and terminology,” J. of Medical Ultrasonics, 40 (4), 309-323, 2013.

[3] M.Kudo, T.Shiina, F. Moriyasu, H. Iijima, R. Tateishi, N. Yada, K, “JSUM ultrasound elastography practice guidelines: liver, J. of Medical Ultrasonics,” J. of Medical Ultrasonics, 40 (4), 325-357, 2013.

2. 学会発表

[1] T.Shiina, “Mechanical Modeling and Ultrasound Elasticity Imaging for Quantification of Hepatic Fibrosis,” IEEE

EMBC 2013, Minisymposium. SaC21, Osaka, 2013.