

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

慢性肝炎の肝線維化 stage の非侵襲的診断を目的に、組織弾性を画像化する超音波エラストグラフィのひずみ像から、特徴量の抽出と線維化 stage を識別するアルゴリズムを開発した。ひずみ像の統計的、形態的な特徴量の抽出と重回帰分析による評価指標を提案し、パラメータの最適化、新規特徴量の探索、動画データの時系列解析による精度向上と解析の計測の自動化などについて検討した。さらに線維化モデル解析と臨床データでの解析結果から有効性を検証した。

A. 研究目的

圧迫で生ずる組織ひずみから硬さ情報を可視化する Real-time Tissue Elastography (RTE) は、当初は癌腫瘍の描出のために開発されたが、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

(a) 慢性肝炎の線維化モデルの構築

ひずみ像から、肝線維化の進行度を定量的に診断するには、その相関を明確にする必要があるが、びまん性疾患の慢性肝炎において、線維化による組織構造や性状の変化が、組織弾性像にどのように反映するかについては殆ど知られていない。

そこで慢性肝炎の進行に伴う線維化と結節の形成過程を表す組織モデルを構築し、シミュレーションにより、線維化の進行が肝組織の力学的特性にどう影響し、その結果、エラストグラフィ（ひずみ像）にどのように反映されるか調べた。また、この結果を、次の線維化の定量的特徴量の有効性を評価するために用いた。

(b) ひずみ像からの定量的特徴量の抽出

RTE で得られるひずみ像から線維化の程度

を定量的に評価可能な特徴量の抽出、およびそれに基づく客観的な診断を可能とするデータ処理アルゴリズムを検討する。

〔解析方法〕

図 1 に示すように、ひずみ像から、形態的・統計的・空間周波数成分の特徴量を抽出し、重回帰分析で線維化の指標となるパラメータ LF index を求める方法が基本となる。また、それ以外の特徴量として、ひずみ画像の空間周波数成分に着目し、また重回帰推定に代わりに非線形な識別境界に対応できる SVM を用いる方法の検討、さらに、心拍動によるひずみ像の変動から特徴量を抽出するための動画データの時系列解析を検討した。

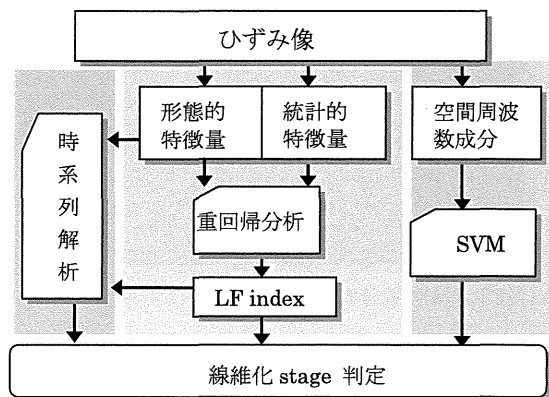


図 1 ひずみ像からの特徴量の抽出と線維化 stage の判定

C. 研究結果

(a) 慢性肝炎の線維化モデルの構築

図 2 に示すように慢性肝炎の進行に伴い肝小葉が壊れ、再生結節に置き換えられる過程

を模擬する構造モデルを構築した。これにより、cell(肝小葉または結節)の個数の減少率と、線維化 stage とを対応付けた。

次に結節の構造に弾性率(硬さ)を与え、線維化が進むにつれて、平均的な硬さが増加することを確認した。また、このモデルに超音波を当てた場合のエコー信号をシミュレーションで生成し、最後に、RTEと同様の処理を行い、ひずみ像を構築した。その結果、図3に示すように、stageの進行に伴い、臨床データと同様、ひずみ像に斑点状の硬化部が増大する様子が確かめられた。

さらに、線維化モデルで得られたひずみ像からひずみ値の統計的および形態的な特徴量を

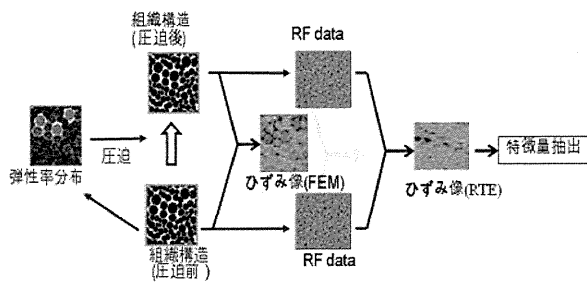


図2 組織モデルによる線維化プロセスのシミュレーション解析

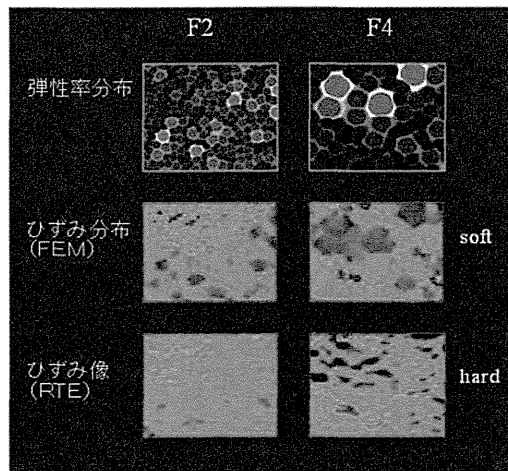


図3 弾性率分布と生成されたひずみ像

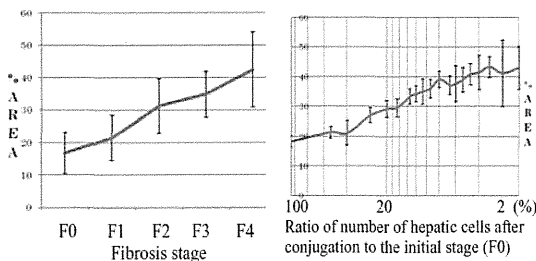


図4 線維化の進行による特徴量(%Area)の変化の臨床データ(左)とモデル解析(右)の比較

を抽出し、線維化の進行度を表す指標としてLF(Liver Fibrosis) indexを算出した結果、臨床データでの解析結果と、良く一致することが確認できた。

(b)ひずみ像からの定量的特徴量の抽出

(1)重回帰計算式パラメータの最適化

特徴量としては、ひずみ像(ROI内で正規化したひずみ値の分布)から、統計的な特徴量としてヒストグラムの平均(MEAN)、分散(SD)、歪度(SKEW)等を、また形態的な特徴量として、硬化部に対応する低ひずみ領域の面積(AREA)、形状の複雑度(COMP)等を抽出し、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の変数の組み合わせを変えて、stage推定の精度の違いを評価した。

[臨床データ]

近畿大学、大阪市立大学、南和歌山医療センター等において、右肋間走査にて以下の166例の肝臓のエラストグラフィを取得した。

- ・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

[結果]

表1に示すように、特徴量の組み合わせを変えて識別能の比較検討を行った。方法1は、これまで、我々が標準的な解析法として用いているもので、310症例を学習データに用い、9個の特徴量について求めた重回帰計算式を、今回、新たに得た166例に適用してLF indexの算出をした場合である。

方法2は、同じ9個の特徴量であるが、学

表1 重回帰解析の条件

	学習データ	重回帰計算式に使用した特徴量	特徴量の個数
方法1	計310症例(肝臓 51巻 9号, 2010)	MEAN, SD, AREA, COMP, ASM, ENT, IDM, SKEW, KURT	9
方法2	計166症例の一部(交差検証法)	同上	9
方法3	同上	MEAN, SD, COMP, ASM, ENT, IDM, CON	7
方法4	同上	SD, AREA, COMP, ENT, SKEW	5

習用データに 166 例の一部を用いて、交差検証法で、残りのデータの LFindex を算出し精度を評価した。方法 3 と方法 4 は、ステップワイズ法にて特徴量の組み合わせを変えながら特徴量は 7 個または 5 個まで減らして解析した。

図 5 は、方法 1、3、4 について得られた LFindex と線維化 stage との関係、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 2 に ROC 解析結果を示す。

これを見ると、方法 1 では、新規に取得した 166 症例に対しても比較的良好な識別結果が得られており、手技や母集団の違いに依存することなく推定が可能なが示されている。

方式 3 では、特徴量の組み合わせを 7 個に変えたことで、特に、F0 と F1 間で AUC が、0.936 と識別能が向上している。一方、方式 3 では、5 個の特徴量を用いた場合、F2 と F3 間の AUC が最大の 0.909 になった。

(2) 新規特徴量抽出の試み

画像の周波数特性から線維化の特徴量の抽出を試みた。帯域の異なるバンドパスフィルタで処理や、多重解像度解析の画像のヒストグラムを用いた。多重解像度解析は、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 stage 推定を実施した。図 5 および表 2 にその結果を記載した。表 2 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 stage 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。

(3) 特徴量の時系列解析

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 stage 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

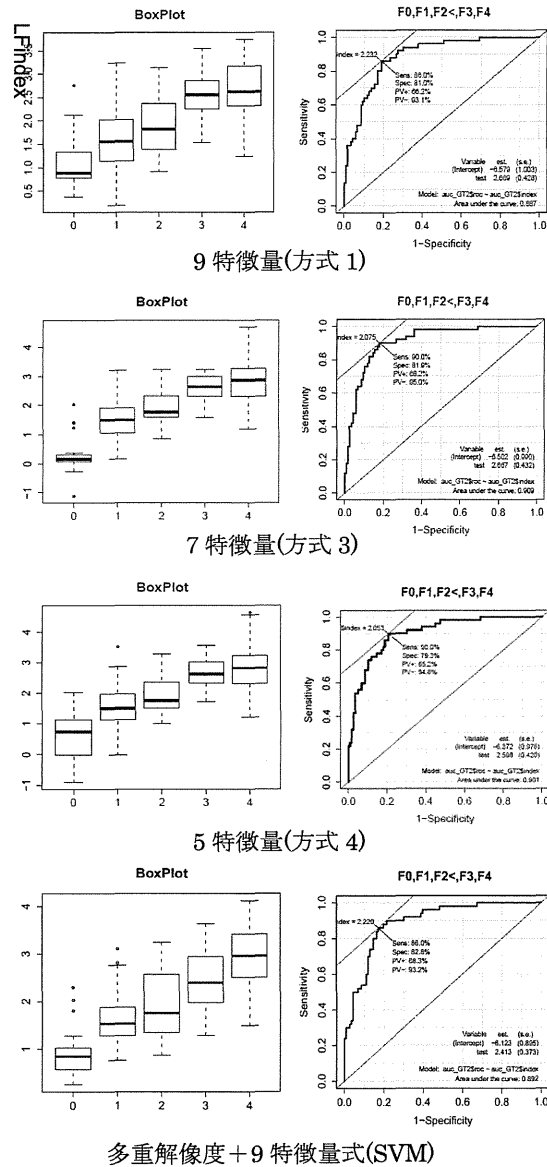


図 5 LFI-index と線維化 stage との関係 (左) と、ROC 曲線 (F2—F3) (右) の比較

レート 15fps または 30 fps で、3 秒間の動画

表 2 ROC 解析の結果

	F0—F1	F1—F2	F2—F3	F3—F4
方法 1	0.846	0.833	0.887	0.863
方法 3	0.936	0.868	0.901	0.872
方式 4	0.906	0.865	0.909	0.874
SVM	0.902	0.837	0.892	0.897

データを記録した。

[結果]

図 6 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 stage

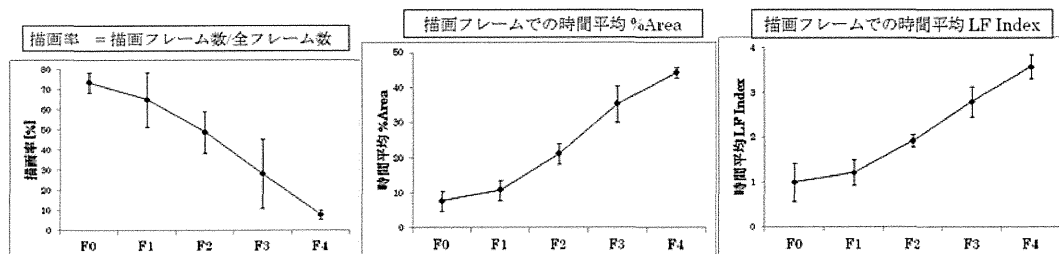


図6 各特徴量の描画フレームで時間平均した値と線維化 stage との関係

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、描出されているフレームでの特徴量の値は、比較的安定しており、その描画フレームでの時間平均をとると、図6のように、線維化の進行に伴って%AreaやLF Indexは単調に増加する傾向が示されている。

この原因として、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。描画率と閾値との関係を詳細に調べる必要があるが、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 stage 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。

[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。

D. 結論

慢性肝炎の進行に伴う線維化と結節の形成過程を表す組織モデルを用いたシミュレーション解析の結果、臨床データと同様、stageの進行に伴い低ひずみ部分のパッチ状のパターンが増大する様子が確かめられた。これにより、びまん性の疾患でも、ひずみ像は線維化による結節分布等の構造を反映していることが確認された。また、ひずみ像の各特徴量は、組織モデルと臨床データ解析で同様の傾

向が示され、線維化 stage の評価指標として、有効であることが確かめられた。

ひずみ像の特徴量から、重回帰解析により線維化 stage の指標となる LFindex を求める手法について、特徴量の組合せを最適化することで、推定精度の向上が可能であることが示された。また、全体的に、特に F0-F1 の F2-F3 の識別で高い精度を示しており、前者からは通常の超音波検査では難しい早期での異常検出が期待できる。

心拍動で変動するひずみ像の動画データの時系列解析の結果、ひずみ像の描画率は、線維化 stage の進行に伴い明確な減少傾向を示し、新たな特徴量として利用が期待される。また、各特徴量の時間平均は、より安定なパラメータとして線維化 stage の評価精度の向上が期待できることが示された。

以上から、RTEによるひずみ像より、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開発という、当初の目標は達成できたと言える。

なお、本研究では、触れなかった点としては、ひずみ画像の解析には、適切な条件での画像計測が不可欠である。例えば、適切なROIの設定、計測時のプローブのスライス方向や、方位方向へのずれの回避などである。また、開発したアルゴリズムによる処理の自動化である。検討した手法の多くは自動化に適したものであるため、今後は、多数の臨床データの解析に適用し、今後一層の性能向上について検討する必要がある。

F. 研究発表

1. 書籍

- [1] 椎名 毅: 図解診療放射線技術実践ガイド、断層撮影へのアプローチ (超音波画像の原理と特徴)、59-65、文光堂、2013.
- [2] 椎名 毅: 実践医用画像解析ハンドブック (第5章3節 肝画像解析—超音波エラスト

グラフィ)、オーム社、2012.

2. 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.
- [4] T.Shiina, T.Maki, M.Yamakawa, T.Mitake, M.Kudo, K.Fujimoto, “Mechanical Model Analysis for Quantitative Evaluation of Liver Fibrosis Based on Ultrasound Tissue Elasticity Imaging Jpn. Japanese Journal of Applied

Physics, 51, 2012, pp. 07GF11-1~8.

3. 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.
- [2] T.Shiina, “Quantitative Evaluation of Liver Fibrosis Based on Ultrasound Tissue Elasticity Imaging and Mechanical Model Analysis,” 5th Biomedical Engineering International Conference, Ubonrachathani, 5 December, 2012.
- [3] T. Shiina, M. Yamakawa, M. Kudo, A. Tonomura, T. Mitake, “Mechanical Model Analysis for Quantitative Evaluation of Liver Fibrosis based on Real-Time Tissue Elastography,” Proc. the 10th International Tissue Elasticity Conference, Deauville, 2012.

厚生労働科学研究費補助金（肝炎関係研究分野研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 藤本 研治

(特医) 三和会 永山病院 消化器内科部長

(独) 国立病院機構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

研究要旨

C型慢性肝炎の肝線維化についてReal-time Tissue Elastography®（以下RTE）を用いた非侵襲的肝線維化評価法により定量的評価をしたところ、炎症の影響を受けず、良好な線維化評価が可能であった。また、C型慢性肝炎に対する治療による肝線維化の変化および発癌予測についてRTEを用いた肝線維化推定値であるLFIはIFN（/RBV）療法により改善がみられ、かつ、HCC発癌予測が可能であると考えられた。

藤本 研治

特定医療法人三和会 永山病院 消化器内科部長

独立行政法人 国立病院機構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

肝炎、肝硬変295例と健常者15例の合計310例を対象とした。RTE画像から得られた9種類の特徴量を独立変数とし組織病理線維化診断F stageを従属変数として重回帰分析を行い、Liver Fibrosis Index (LF Index: 以下LFI)を算出し、肝線維化および肝組織の炎症 (Ggrade) との相関を評価した。

A. 研究目的

C型慢性肝炎の肝線維化進展例は高い発癌率を有していることが分かっているが、同疾患に対しIFN治療を行うことで肝線維化の改善並びに発癌抑制を図ることが得られると報告されている。本研究では本研究ではC型肝炎症例に於いてReal-time Tissue Elastography®（以下RTE）を施行し、

検討1：RTEを用いた肝線維化stage推定値であるLF Index（以下LFI）炎症の影響を受けることなく定量的な評価が可能か検討した。

検討2：C型慢性肝炎（CH-C）に対するIFN療法や肝庇護療法による肝線維化の経時的変化について、LFIで評価が可能か検討した。

検討3：LFIで評価した肝線維化進展度が肝細胞癌（以下HCC）発癌の予測をうるか検討を行った。

検討2：2005年5月から2012年11月迄に南和歌山医療センター、市立貝塚病院でPEG-IFN α 2a（/RBV）、PEG-IFN α 2b/RBV、IFN β （/RBV）療法を施行し、RTEの投与前と投与開始後におけるLF Indexが評価可能であったCH-C患者74例、未治療および肝庇護療法症例21例を対象とした。RTEによる非侵襲的肝線維化評価法であるLFIは治療直前の肝生検時に評価の後、6ヶ月毎に評価、平均変化年率（治療前LFI-最終測定LFI）/観察日数 \times 365日（以下 Δ LFI/year）を求め、治療効果との関連を検討した。

検討3：対象は2009年5月から2013年5月迄に、肝生検を施行、LFIが経時的に評価可能であったC型慢性肝炎・肝硬変患者158例を対象とした。LFIは肝生検時に評価の後、6ヶ月毎に測定・評価、 Δ LFI/yearを求め、発癌との関連を検討した。

B. 研究方法

検討1：2005年5月から2010年12月迄に南和歌山医療センター、市立貝塚病院、近畿大学医学部附属病院でRTEを施行し、肝生検病理組織にて診断されたC型慢性

（倫理面への配慮）

本研究開始前に南和歌山医療センター（検討1, 2, 3）市立貝塚病院（検討1, 2, 3）および近畿大学医学部附属病院（検討1）の院内倫理委員会に於いて研究の承認を得、患者へのインフォームド・コンセントの上

書面での同意取得を
実施している。またデータ解析においては
匿名化を行い、個人の特が出来ないよう
に配慮した。

E. 結論

検討1: RTEは肝組織での炎症 (grading) の
影響を受けることなく、LFIは病理組織の
stagingに有意に相関し、線維化を良好に
反映した。

検討2: LFI変化年率はIFN投与群 $-0.32/\text{年}$ 、
無治療・肝庇護療法群 $0.12/\text{年}$ ($p=0.011$)
とIFN投与群は無治療・肝庇護療法群に比し
LFIの改善率が有意に良好であった。
LFIはIFN (/RBV) 療法により改善がみられ、
良好な肝線維化評価法である。

検討2: 肝生検時のLFIはHCC: $3.312 \pm$
 0.237 、non-HCC: 1.897 ± 0.091
($p < 0.001$) とHCC例で有意に高値であった。
全観察期間における $\Delta\text{LFI}/\text{year}$ はHCC:
 0.356 ± 0.127 、non-HCC: -0.073 ± 0.045
($p < 0.003$) と変化年率増加例で発癌を認めた。
このうち肝生検時LFI 1.5未満ではHCC発癌
は認めず、1.5以上2.5未満症例の $\Delta\text{LFI}/\text{year}$
はHCC: 0.476 ± 0.228 、non-HCC: -0.036 ± 0.058
($p < 0.05$) であったが、LFI 2.5以上の症例
のHCCの有無には $\Delta\text{LFI}/\text{year}$ は有意差を
認めなかった。以上より肝線維化進展例で
あるLFI 2.5以上は発癌の高リスク群と
考えられ、LFI 2.5未満1.5以上の症例にお
いても $\Delta\text{LFI}/\text{year}$ の急速増加例ではHCCが
認められた。LFI および $\Delta\text{LFI}/\text{year}$ はHCC
発癌予測が可能と考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべき健康への影響を認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文

Novel Image Analysis Method using
Ultrasound Elastography for Non-
invasive Evaluation of Hepatic Fibrosis
in Patients with Chronic Hepatitis C.
Oncology 2013; 84 (supple 1):3-12.

JSUM Ultrasound Elastography Practice
Guideline: Liver.

J Med Ultrasonics 2013; 40: 325-357

2. 学会発表

C型肝炎 IFN 治療における Real-time
Tissue Elastography (R) を用いた非侵襲
的肝線維化評価法
(日本超音波医学会第 85 回学術集会
ワークショップ 685-WS-消 12
2012 年 5 月 26 日 東京)

Real-time Tissue Elastography による
非侵襲的肝線維化評価法の有用性と問題点
(日本超音波医学会第 39 回関西地方会
学術集会シンポジウム SY-5
2012 年 10 月 6 日 大阪)

C型慢性肝炎に対する PEG-IFN (/RBV)
療法の治療効果と LF Index 経時的変化
の検討
(JDDW2012 ポスターセッション肝 P-135
2012 年 10 月 10 日 神戸)

ウイルス性慢性肝疾患における
三次元 Real-time Tissue Elastography (R)
を用いた線維化評価法の初期的検討
(日本超音波医学会第 86 回学術集会
86-消-031 2013 年 5 月 24 日大阪)

Real-time Tissue Elastography による C 型
肝炎治療における非侵襲的経時的肝線
維化評価法の有用性と Pitfall
(第 49 回日本肝臓学会総会
パネルディスカッション 2 PD2-5
2013 年 6 月 7 日 東京)

LF Indexによる非侵襲的肝線維化評価法
を用いた肝細胞癌発生予測の検討
(日本消化器病学会第 99 回近畿支部例会
パネルディスカッション 1
2013 年 9 月 28 日 大阪)

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

研究分担者 大崎 往夫 大阪赤十字病院 消化器内科 部長

研究要旨：

肝線維化診断のゴールドスタンダードである肝生検と非侵襲的検査法とを対比検討し、後者の妥当性と問題点を明らかにする。このことにより肝生検に代わる非侵襲的検査法を確立しその臨床的有用性を明らかにする。

A. 研究目的

肝線維化は、慢性肝疾患の疾患の進行度評価のみならず、肝発癌の予測因子としても注目されている。従来肝生検にて診断評価されてきたが、それに代わる非侵襲的検査法の確立とその臨床的有用性を明らかにする。

B. 研究方法

B型、C型慢性肝炎および肝硬変患者において、Real-time Tissue Elastography®（以下RTE）による線維化指数と肝組織診断とを比較し、肝線維化診断におけるRTEの有用性をProspectiveに検討する。同時にFibroScan、各種血清線維化マーカーとの相関に関して検討する。またRTEによる線維化の程度およびその経時的変化と肝発癌率、肝硬変の病状進展との関係を検討する。

C. 研究結果

平成22年3月から平成26年2月の間に、303名の慢性肝疾患患者において、RTEもしくはFibroScan（平成25年より導入）を用いて肝線維化の評価を行った。肝生検および同時期にRTEを施行した慢性肝疾患患者163人での検討において肝線維化Stage F0, F1, F2, F3, F4のRTEによる肝硬度の定量値(LF indexで表示)はそれぞれ1.98, 1.86, 1.90, 2.33, 2.35であり、ROC解析におけるF0-F2とF3-F4群の識別能は、AUROC 0.73であった。一方、当院にて肝生検及び同時期にFibroScanを施行した慢性肝疾患患者108人（以前のdataも含めて解析）での検討では、線維化stage F0, F1, F2, F3, F4別のヤング率 (kPa) の中央値はそれぞれ5.25, 6.10, 9.80, 10.4, 17.6であり、ROC解析における肝硬変 (F4) の診断能は、AUROC 0.91と良好であった。また、血清線維化マーカーで検討を行ったうち、血清コラーゲンIV 7S濃度は、F0-F2とF3-F4群の識別能がAUROC 0.76と良好であった。

D. 考察

肝線維化診断のゴールドスタンダードは生検であるが、侵襲的であること、サンプリングエラーのリスク、病理医間での診断のばらつき等の問題がある。非侵襲的検査法としてAPRI、FibroTest、コラーゲンIV (7S) などの血液学的検査、低周波弾性波の伝播速度から弾性度を測定するFibroScan等が従来より用いられているが、侵襲的肝線維化診断方法の一つとして、超音波Elastographyの臨床的有用性が本研究により確立することが期待される。

E. 結論

超音波によるRTEを中心とした非侵襲的な肝線維化診断法の臨床的有用性が示唆され、今後の診断法の確立の高い可能性を持つものと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nasu A, Marusawa H, Ueda Y, Nishijima N, Takahashi K, Osaki Y, Yamashita Y, Inokuma T, Tamada T, Fujiwara T, Sato F, Shimizu K, Chiba T. Genetic Heterogeneity of Hepatitis C Virus in Association with Antiviral Therapy Determined by Ultra-Deep Sequencing. PLoS ONE 6(9):e24907, 2011.
2. Osaki Y, Ueda Y, Marusawa H, Nakajima J, Kimura T, Kita R, Nishikawa H, Saito S, Henmi S, Sakamoto A, Eso Y, Chiba T. Decrease in alpha-fetoprotein levels predicts reduced incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection receiving interferon therapy: a single center study. Journal of Gastroenterology 47:444-451, 2012
3. Nishikawa H, Osaki Y. Clinical significance of therapy using branched-chain amino acid granules in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Hepatol Res. 44:149-158, 2013

2. 学会発表

1. 米門秀行、木村 達、坂本 梓、齋藤澄夫、西島規浩、那須章洋、西川浩樹、岡部純弘、大崎往夫、谷口敏勝 Real-time Tissue Elastography と FibroScan による肝線維化診断能の比較 日本超音波医学会第40回関西地方会学術集会 2013.11.09 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
特になし。

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)
平成 25 年度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
H23-25 分担研究報告書

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

研究分担者 住野 泰清 東邦大学消化器内科 教授

研究要旨: 慢性肝疾患の治療及び経過観察に欠かすことのできないのが病変のステージ評価すなわち線維化の評価であるが、近年、real-time tissue elastography (RTE) やvirtual-touch quantification (VTQ) など非侵襲的線維化評価法が開発され、その有用性が注目されている。しかし得られる成績の信頼性に関しては未だ不明な点が多々あり、とくに線維化以外の因子による結果への影響の解明が急がれている。そこでRTE・VTQの成績と造影超音波により得られる血流情報とを比較し、組織内血行動態が線維化ステージ診断に及ぼす影響につき明らかとすることを目的に検討を行った。

A. 研究目的

RTEは組織の歪みを超音波で捉えようとする手法であり、VTQは実質内における剪断波の伝搬速度を測定するものである。いずれも得られた所見から組織の硬さを判断することができる。慢性肝疾患では組織の線維化が最大の硬さ規定因子と考えられ、これによりステージ診断ができる可能性が高い。本研究ではその手法を確立し、さらには他の硬さ規定因子である血流や浮腫の影響を造影超音波と比較することにより検討し、線維化ステージ診断におけるRTE、VTQの有用性を明らかとする。

B. 研究方法

組織学的に診断の得られたC型慢性肝疾患に対しRTE、VTQおよび造影超音波検査を施行する。RTEでは13種のパラメータが得られるが、そのうちLFインデックスが現時点では最も線維化と相関するとされている。このインデックスはRTEで得られる組織ゆがみを数値化パラメータ化したものであるが、その値にはステージF1-2までの進行度病変においては炎症の活動性が影響を与えまた、組織の鬱血など血流因子も景況することがすでに報告されている。一方VTQは、組織内に設定したROIに特別な超音波を当てて動かし、生じた剪断波の伝搬速度を測定して組織の硬さを判定する。こちらも得られた数値は線維化と良好な相関を示し、慢性肝疾患の病変ステージ診断に有用であるが、鬱血や脂肪化、炎症浮腫などに影響されると言われている。そこで我々はSonazoid®造影超音波早期血管相染影動態から肝実質灌流の動脈化係数 (Arterialization

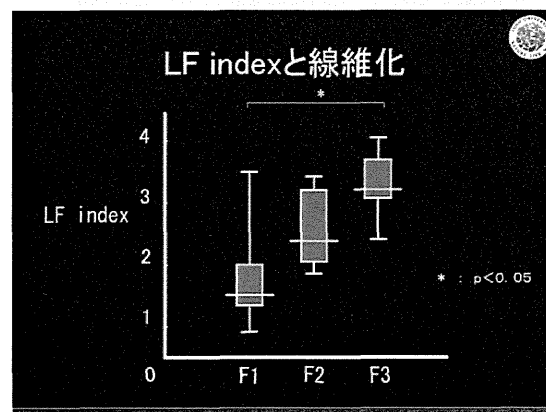
ratio: AR) を算出し、RTE、VTQの結果と比較検討することによりRTE、VTQのパラメータが持つ意義およびその有用性を明らかとする。

(倫理面への配慮)

施設の倫理委員会で審査を受け (RTE:22-125、造影超音波:21-26)、その結果を示しながら患者の承諾を得た。

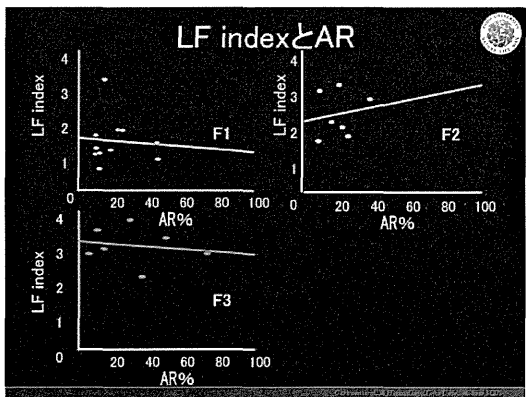
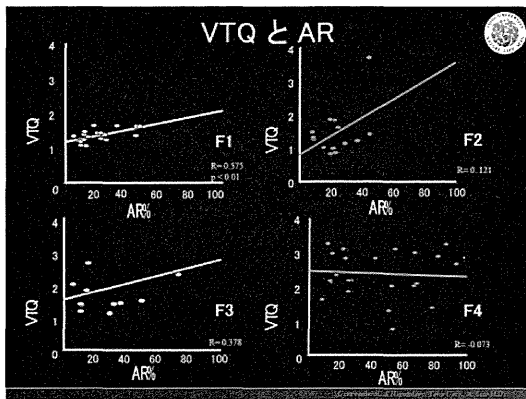
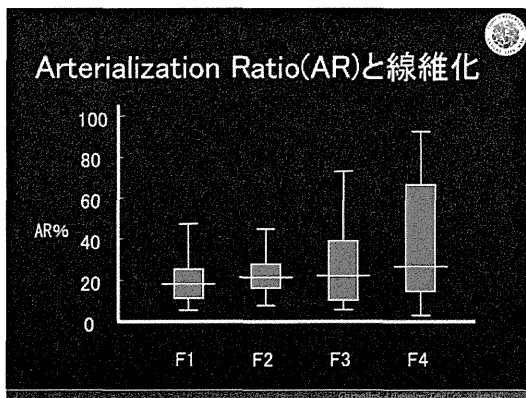
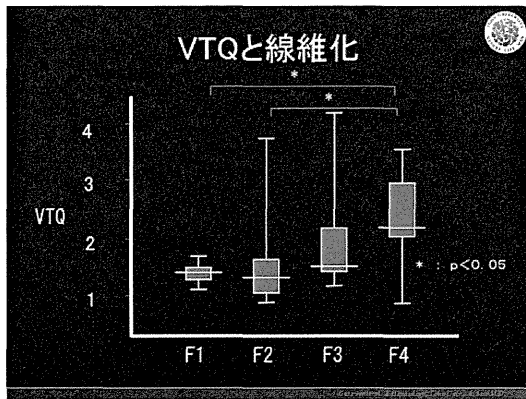
C. 研究結果

RTEのLF indexと組織線維化ステージは良好な相関を示した。



また VTQ の剪断波伝搬速度、造影超音波による AR も組織線維化ステージと相関が得られた。

さらに LF index、VTQ と AR の関係を各線維化ステージ毎に比較検討したところ、VTQ は F1-3 で AR と相関を示したが、LF index はどのステージにおいても相関が認められなかった。



D. 考察

RTEは硬さの検査であるが、ステージ別に造影超音波の成績ARと比較したところ相関が得られなかった。したがって、RTEによるLF indexは血流の影響を受けずに肝実質のゆがみ、硬さ情報を提供しうるパラメータであることが示唆された。一方VTQはF1-3においては血流の影響を受けるが、F4にいたると影響されなくなる可能性が示唆された。当初は病変の進展とともにもたらされる肝実質灌流の動脈化が硬さに大きく影響することを強く疑っていたが、進展した肝病変においては、強い線維化故に血流のような流体の影響は顕性化しない物と考えられた。

E. 結論

いまだ症例数は少ないが、非侵襲的で経済的負担の少ないRTE、VTQは、普及を図る価値のある病変進展診断法と考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kazue Shiozawa, Manabu Watanabe, Ryuji Takayama, Takahide Kudo, Kneichi Maruyama, Yasukiyo Sumino : Hepatic parenchymal hemodynamics of cholangitis with portal trunk thrombus using contrast-enhanced ultrasonography with Sonazoid: delineation of so-called central and peripheral zonal differentiation by arrival-time parametric imaging. J Med Ultrasonics 40: 73-76, 2013.

Noritaka Wakui, Ryuji Takayama, Naohisa Kamiyama, Kojiro Kobayashi, Daigo Matsui, Yasushi Matsukiyo, Takenori Kanekawa, Takashi Ikehara, Koji Ishii, Yasukiyo Sumino: Arrival time parametric imaging using Sonazoid-enhanced ultrasonography is useful for the detection of spoke-wheel patterns of focal nodular hyperplasia smaller than 3 cm. Experimental and Therapeutic Medicine 5: 1551-1554, 2013

Kazue Shiozawa, Manabu Watanabe, Takashi Ikehara, Yasushi Matsukiyo, Koji Ishii, Yoshinori Igarashi, Yasukiyo Sumino: Usefulness of contrast-enhanced ultrasonography in the diagnosis of ruptured hepatocellular carcinoma. Clin J Gastroenterol Vol 6, 334-337, 2013.6

2. 学会発表

○住野泰清, 松清靖, 池原孝: シンポジウムーソナゾイド造影超音波を用いた肝実質微少循環解析の臨床診断的意義. 第 99 回日本消化器病学会総会, 2013. 3. 21, 鹿児島

○和久井紀貴, 高山竜司, 住野泰清: パネルディスカッション: 肝画像診断の進歩: Sonazoid®造影 US を用いた C 型慢性肝疾患における肝線維化と食道静脈瘤の診断法〜門脈・肝動脈の血流バランスから評価する〜. 第 49 回日本肝臓学会総会, 2013. 6. 6, 東京

○和久井紀貴, 高山竜司, 住野泰清: シンポジウム: C 型慢性肝疾患の線維化診断における Arrival-time parametric imaging の有用性について. 日本超音波医学会第 86 回学術集会, 2013. 5. 24, 大阪

○住野泰清, 松清靖, 小林康次郎, 和久井紀貴, 池原孝, 渡辺学, 工藤岳秀, 丸山憲一: パネルディスカッション: びまん性肝疾患の診療における造影超音波の意義. 日本超音波医学会第 86 回学術集会, 2013. 5. 24, 大阪

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

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）
分担研究報告書

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化に関する研究

研究分担者 野尻 俊輔 名古屋市立大学 講師

研究要旨：侵襲的な肝生検の変わりとなりうる非侵襲的な肝線維化測定手法の開発と同手法による発癌予測。それによる高リスク群の絞り込みを可能にする

A. 研究目的

組織のゆがみ情報を画像化する超音波技術であるReal-time elastography (RTE)を開発し、慢性肝疾患における肝線維化の定量性評価と、正確な非侵襲的線維化診断法の実現を目指す。

B. 研究方法

RTE画像による正確な線維化の程度を客観的に評価・定量化する診療支援ソフトを開発する。同時に肝生検施行症例におけるRTEとの比較検討を行う。またRTEによる肝炎ウイルス性患者における肝発癌・門脈圧亢進症の発現予測に関する多施設共同前向き観察研究を1000例を目標に行う。

(倫理面への配慮)

倫理面に関しては肝生検組織像との対比につき当施設の倫理委員会を通過しており、患者の書面での同意を必要とし、また撤回も自由意思で可能になっている。

C. 研究結果

肝生検とRTEの比較試験は昨年8月以来26例ほどエントリー済である。また肝発癌・門脈圧亢進症の発現予測に関する前向き研究については同じく昨年8月より約116人のエントリーを済ませている。今回現在までの追跡調査結果を報告した。

D. 考察

肝組織病理診断結果との比較は目標500例であり登録はすでに500例をこえている。肝発癌・門脈圧亢進症の発現予測の多施設共同前向き観察に関しては目標1000例でありまた観察期間が必要であるためなるべくたくさんの症例を早期からエントリーする必要があると考えている。当科ではVTTQ (ARFI)とも比較検討を予定している。また今後手術症例を使用し針生検のサンプリングエラーを排除した症例でのRTEの優れた肝線維化診断能証明に対するエントリーも予定している。

E. 結論

現在のペースでエントリー数を増加させていく予定である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
別表
2. 学会発表

Evaluation of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis C by EOB-MR imaging The 64th AASLD NOV.1-6,2013 ワシントンDC, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録

研究報告書

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部門研究事業）
（分担）研究報告書

肝線維化評価におけるVirtual Touch Tissue Quantificationの 測定回数検討

研究分担者 玉井 秀幸 和歌山県立医科大学第二内科講師

A. 研究目的

慢性肝疾患における肝線維化評価は臨床重要である。Push Pulseの送信により発生するせん断弾性波の速度（shear wave velocity: Vs）の測定により組織の硬度を定量化するVirtual Touch Tissue Quantification (VTTQ) は非侵襲的に肝線維化を層別化できることが報告されている。Vsをより正確に評価するために1検査中に複数回の測定を行うが、その適正な回数について検討されている報告はない。今回我々は、肝線維化評価におけるVsの適正な測定回数の評価を行った。

B. 研究方法

対象は肝組織評価（針生検または手術検体）とVTTQを施行しえた172例。C型肝炎144例、B型肝炎8例、非B非C 20例。男性96例、女性76例。平均年齢69.9±9.3歳。右肋間走査で肝右葉の肝表から2cmの部位にROIを設定し、VTTQを用いてVsを10回測定し、10回の平均値（Mean10）、10回の中央値（Median10）、10回のうち最大値と最小値を除いた8回の平均値（Mean2-9）、最初5回の平均値（Mean5）最初5回の中央値（Median5）、最初5回のうち最大値と最小値を除いた3回の平均値（Mean2-4）を計算し、F2以上の診断能、F3以上の診断能、F4の診断能をROC曲線を用いて比較した。
（倫理面への配慮）

研究実施に係わる生データ類および同意書等を取扱う際は、被験者の秘密保護に十分配慮する。本試験で得られた被験者のデータは本試験の目的以外には使用しない。なお、試験の結果を公表する際も被験者を特定できる情報は使用しない。本試験への参加により、高まる危険や不利益はないと考えられる。

C. 研究結果

F2以上の診断能におけるAUROCはMean10 : 0.904、Mean5 : 0.892、Median10 : 0.898、Median5 : 0.887、Mean2-9 : 0.904、Mean2-4 : 0.889であり、F3以上の診断能におけるAUROCはMean10 : 0.880、Mean5 : 0.872、Median10 : 0.875、Median5 : 0.869、Mean2-9 : 0.880、Mean2-4 : 0.872であり、F4診断能におけるAUROCはMean10 : 0.810、Mean5 : 0.800、Median10 : 0.816、Median5 : 0.800、Mean2-9 : 0.814、Mean2-4 : 0.806であった。10回測定においていずれもAUROCが高い傾向にあったが、いずれの計算法も0.8以上の良好な結果であり、5回の測定で十分な結果が得られた。

D. 考察

硬変肝でのVs値範囲は広く、肝組織の硬度がより高い群を認めた。担癌患者ではVsが高く、組織硬度のより高い群は発癌リスクも高いことが推察された。

E. 結論

VTTQによる肝線維化診断は安定して測定可能であり、F2以上、F3以上、F4のいずれの診断においても5回測定で優れた診断能を有する。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表
第86回超音波学会総会「肝線維化評価におけるVirtual Touch Tissue Quantificationの測定回数検討」

H. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

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

研究分担者 孝田 雅彦 鳥取大学医学部 機能病態内科学 准教授

A. 研究目的

慢性肝疾患において、肝線維化は発癌・門脈圧亢進症・肝不全のリスク因子であり、治療適応を決める重要な因子である。最近 肝生検にかわる非侵襲的な肝線維化評価法が検討されてきた。組織の歪み情報を画像化する超音波技術であるReal-time elastography (RTE)はその有用な方法の一つとして報告されている。今回RTEによる肝線維化の定量的評価と、経時的変化を検討した。

B. 研究方法

ウイルス性慢性肝疾患患者に対してRTEを施行し、肝生検所見あるいは画像所見と比較した。RTEは日立EUB-8500を用いて、患者を安静臥床とし、プローブで右第VIII肋間を軽く圧迫した。ROIを皮下組織から肝臓を含めて3～4cmの範囲に設定し、ROI内の皮下脂肪の歪み率と肝組織の歪み率の比をstrain ratioとして定量化した。

（倫理面への配慮）

本研究計画書は、鳥取大学医学部倫理委員会の承認を受けた。被検者本人に十分な説明を行い、文章にて同意を確認した。本試験に参加しなくても患者が不利益を受けないこと、またはいつでも同意撤回できることも説明した。

C. 研究結果

これまで慢性肝疾患患者 29 例にRTEを測定した。2例は腹水(1例)、肥満(1例)のため測定ができなかった。測定が可能であった27例中肝組織検査を施行した症例、あるいは臨床的に明らかな肝硬変症例を含めた22例でRTEと組織所見を比較すると、一致率は59%。r値は0.432 (p=0.0001)であった。RTEでF4と診断した10例全例病理でF4であったが、F3と診断した4例中3例でF4であった。2ランク以上の差があったものは、F0 1例のみをRTEでF2と診断した。F0 4例をF1 3例、F2 1例と診断した。したがって、軽度の線維化例で誤差が大きかった。

また、核酸アナログ投与後経過を観察した4例中3例においてRTEの改善を認めた。

D. 考察

今回29例の検討では2例で測定ができず、腹水、肥満例であった。これはFibroscanにおいても同様の報告がある。

肝硬変のRTE及び臨床病理診断の一致率は極めて高く、信頼に足るものであるが、F0-F1といった軽度の線維化症例において2ランク以上の誤差を認める症例があった。これらは測定に影響を与える線維化以外の因子の影響が相対的に大きくなるためと考えられる。今後F0-F1の診断能を改善する必要がある。臨床的には高度の線維化の一致率がより重要であり、十分臨床の使用に耐えうるものと考ええる。

E. 結論

腹水例肥満例で測定が困難な症例もあるが、肝硬変の診断は正確である一方、軽度の線維化例では測定誤差が大きいことがあり、さらに検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

研究分担者 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

研究要旨

慢性肝疾患を有する患者における、高感度フコシル化 AFP の肝発癌予測に対しての臨床的意義を検討する。

A. 研究目的

慢性肝疾患患者でAFP低値症例において高感度フコシル化AFPの臨床的意義を検討する。

(5.6%) と低率であったのに対して、5.75%以上の症例27例からは6例（22.2%）と高率であった。

B. 研究方法

平成21年6月から平成21年9月までの期間に、当院でAFPを測定した慢性肝疾患患者のうちAFPが3-10ng/mLであった患者241例を対象とした。高感度フコシル化AFPに関しては μ TAS Wako i30デバイスを用いて測定した。肝発癌・非発癌症例から高感度フコシル化AFPのカットオフ値を設定した。

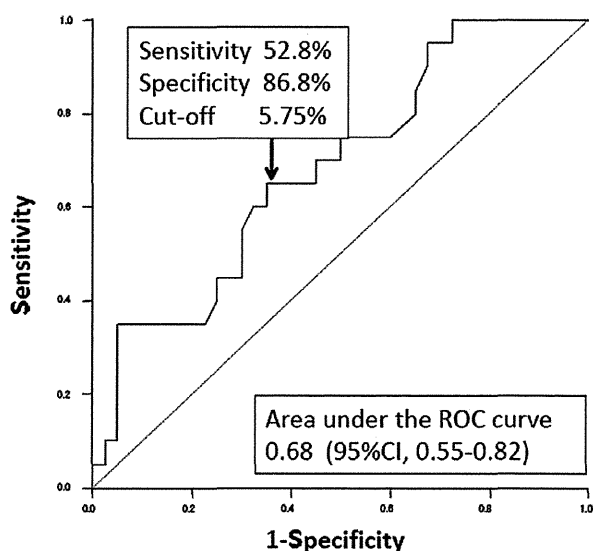
（倫理面への配慮）

当院の倫理委員会で承認を得た。

C. 研究結果

高感度フコシル化AFPは60例（24.9%）で検出可能であった。肝発癌症例20例と非発癌症例16例から高感度フコシル化AFPのカットオフ値をROC曲線を用いて図1のごとく作成したところ、5.75%であった。このカットオフ値を用いて前向きに追跡したところ16例で新規肝発癌が発見された。高感度フコシル化AFPが5.75%未満の群178例からの肝発癌は10例

図1 高感度フコシル化AFPのROC曲線



また、Kaplan-Meier法でも高感度フコシル化AFPカットオフ値未満の群に比較して、カットオフ値以上の群の方が有意に肝発癌率が高かった（図2）（Log-rank test P=0.0038）。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

申請なし。

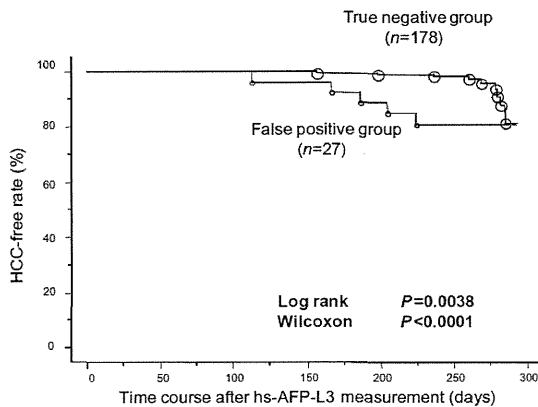
2. 実用新案登録

登録なし。

3. その他

特記事項なし。

図2 高感度フコシル化AFP陽性の有無と肝癌の出現



D. 考察

これまで、AFP値が10ng以下のフコシル化AFPに関してはこれまで、測定デバイスがなかったため、発癌予測に関係するか明らかではなかったが今回の μ TAS Wako i30デバイスを用いた検討で肝発癌予測が可能であることが明らかになった。 μ TAS Wako i30は測定時間も短時間で今後の臨床使用が広まることが期待される。

E. 結論

慢性肝疾患患者でAFP低値症例において高感度フコシル化AFPはその後の肝発癌を予測する上で有用であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka T, Sato S, Tobita H, Miyake T, Ishihara S, Akagi S, Amano Y, Kinoshita Y: Clinical significance of the highly sensitive fucosylated fraction of α -fetoprotein in patients with chronic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26: 739-744, 2011

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究

研究分担者 三好 久昭 香川大学医学部 消化器・神経内科

研究要旨

非侵襲的な検査(Real-time Tissue Elastography®)で肝線維化を推定することができる。

A. 研究目的

B型あるいはC型慢性肝炎および肝硬変患者に対してReal-time Tissue Elastography®にて線維化の程度を測定し肝組織診断とその結果を比較しReal-time Tissue Elastography®が肝線維化を推定出来るかどうか検討する。

B. 研究方法

肝生検の前後あるいは肝切除前に血清マーカーの測定、Real-time Tissue Elastography®を行う。得られた病理組織とReal-time Tissue Elastography®の結果を対比しデータ解析を行う(倫理面への配慮)

診療実施に関わる生データ類および同意書等を取り扱う際は被験者の秘密保護に十分配慮する。肝生検あるいは肝切除術は、さまざまなリスクを伴うが、本試験は参加の有無に関わらず肝生検あるいは肝切除術が、日常診療の一環として必要と判断される患者を対象としており、危険や不利益はないと考えられる。

C. 研究結果

現在当院では計 43 症例の検討を行った。

D. 考察

超音波検査を用いるため、術者の技量、被検者の状態（高度の肥満、腹水貯留、肝臓の存在）により検査精度にばらつきが出てしまう恐れはある。しかし、これまで肝線維化を確認するには侵襲的方法しかなかったなか、非侵襲的検査であるReal-time Tissue Elastography®を用いて肝線維化を確認できることは画期的方法である。今後さらに症例を増やし、実際の病理組織と対比させてその精度を上げていく必要がある。

E. 結論

肝生検や肝切除術などの侵襲的検査をせずして、非侵襲的な検査(Real-time Tissue Elastography®)で肝線維化を推定することができる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表
第16回日本肝臓学会大会
ポスター発表
第55回日本消化器病学会大会
ポスター発表

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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

分担研究者 日浅陽一 愛媛大学大学院消化器・内分泌・代謝内科学講座 教授

研究要旨:門脈圧亢進症の程度、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)患者の肝線維化 stage、肝腫瘍の悪性度診断はこれまで侵襲的に行われてきた。我々は非侵襲的な検査である Real-time tissue elastography (RTE) を用いてこれらの評価を行った。RTE により測定した脾硬度値は肝静脈圧と良好に相関し、脾臓の Elastic ratio から HVPG を推測する式を確立した。RT により測定した肝硬度値は NASH 患者における肝線維化 stage を良好に判別することができた。さらに肝腫瘍の硬度値は線維性隔壁や線維増生により上昇することが明らかとなり、悪性度に有意に相関していることが明らかになった。RTE により肝細胞癌の高危険群を囲い込み、門脈圧亢進症による合併症発生を予測し、さらに肝腫瘍硬度を知ることで腫瘍マーカーなどとともに重要な予後予測の指標となりうる可能性があると考えられた。

共同研究者

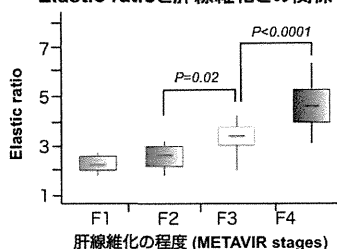
廣岡昌史 愛媛大学 講師
小泉洋平 愛媛大学 助教
越智裕紀 愛媛大学 医員

A. 研究目的

年間約 3 万人が死亡している肝細胞癌は我が国の国民病であり、その多くは慢性ウイルス性肝障害を基盤として発生する。近年肥満の増加に伴い非アルコール性脂肪肝炎(NASH)患者が増え、今後は NASH から肝硬変、肝細胞癌に進展する症例が増加してくると考えられる。早期肝細胞癌の発見を行うためには慢性肝障害患者から肝細胞癌が発生する高危険群を囲い込む必要がある。またこれらの高危険群は門脈圧亢進症を併発しており食道静脈瘤破裂などの合併症予測を行う必要がある。さらに肝細胞癌が発生した場合、その悪性度診断を正確に行い適切な治療法を選択すべきである。上記の評価を行うためには生検による組織採取や血管造影による肝静脈圧測定が行われるがいずれも侵襲的である。報告者らは以前 C 型肝炎患者を対象に超音波を用いた Real-time tissue elastography (RTE) による非侵襲的な肝線維化評価法を確立し、同検査によって得られる elastic ratio が正確で、かつ再現性が高いことを報告した(Koizumi Y, et al. Radiology 2011;258:2:610-617, 図 1)。本研究では RTE を用いた NASH 症例の肝癌発生高危険群の囲い込み、脾臓硬度測定による門脈圧亢進症の評価、肝腫瘍硬度値による悪性度診断法の確立を行うこととする。

B. 研究方法

図1. エラストグラフィーで測定した Elastic ratioと肝線維化との関係



[平成 23 年度]

肝疾患患者 270 例。超音波診断装置は EUB-7500(日立メディコ)、探触子はリニアプローブ (EUP-L52、中心周波数 5.5MHz) を用いて、2 人の術者が測定した。まず pilot study として、60 例を対象に HVPG、肝硬度、脾硬度、ドップラーエコー、静脈瘤の有無、血液学的肝線維化診断式を評価し、HVPG と相関がみられる因子について検討を行った。肝硬度の elastic ratio は肝実質/肝静脈の elasticity の比を用い、脾硬度の elastic ratio は脾実質/脾門部静脈の elasticity の比を用いた。次いで 210 例を対象に、validation study を行い、門脈圧亢進症の診断における RTE を用いた脾硬度測定の有用性を検討した。さらに脾臓の elastic ratio から HVPG を推測する式である Splenic elasticity for portal hypertension; SEP score を確立することとした。

[平成 24 年度]

NAFLD 患者 181 例。3 人の術者が測定した。RTE による肝硬度、脾硬度測定が可能であった 181 例中、図 1 に示す通り、まず 106 例で各線維化段階での Elastic ratio での cut off 値を算出した (Pilot study)。その後、75 例で Pilot study で得られた cut off 値を適応して Elastic ratio の線維化診断能の正確性を検討した (Validation study)。

また NAFLD 症例において脾臓硬度から得られた SEP score と HVPG との相関について検討し、RTE による脾硬度測定値が NAFLD の門脈圧亢進症の評価に有用であるかどうかについて検討した。

[平成 25 年度]

肝切除により病理組織標本が得られた 15 例を対象とした。2 人の術者が測定した。過去の報告者の測定と同様に ROI を肝腫瘍および肝内の小血管に置き、カラー情報を歪み値へ変換し、血管の歪み値/肝腫瘍の歪み値で得られる値を elastic ratio とした。Elastic ratio の測定値に影響を及ぼす因子 (肝腫瘍組織の N/C 比、脂肪化、胆汁産生、細胞密度、線維性隔壁、線維増生、脈管浸潤、腫瘍内への流入血流、腫瘍径、腫瘍マーカー) について検討を行った。さらに肝細胞癌の分化度により肝腫瘍硬度が異なるか否かを解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、超音波を用いた非侵襲的検査方法を用

いた。HVPG は、本研究を目的としてではなく治療の一環として血管造影を施行した事例を対象とした。経皮的肝生検は、本研究を目的としてではなく治療の一環として肝生検を施行した事例を対象とした。研究方法、データ回収、分析については臨床倫理委員会に承認された上で、患者に関する個人情報、守秘義務、患者の権利保護等について十分に配慮し遂行した。

C. 研究結果

[平成 23 年度]

Pilot study 60 例、validation study 210 例の患者背景を表 1 に示す。

	Pilot study	validation study	P Value
年齢	68.0 ± 8.9 (35-89)	62.1 ± 12.7 (22-89)	0.092
男性	67.4 ± 7.9 (54-89)	62.2 ± 12.6 (25-89)	0.475
女性	69.1 ± 10.5 (35-80)	62.0 ± 12.8 (22-84)	0.920
男性 : 女性	39 : 21	113 : 97	0.138
etiology			
HBV	11	34	0.079
HCV	43	131	
Alcohol	4	16	
NAFLD	1	17	
PBC	1	12	
Noncirrhosis	12		
Child-Pugh class			
A (without cirrhosis)	46	161	0.087
B	8	28	
C	6	21	
食道静脈瘤			
Present	26	47	0.0049
Absent	34	143	

表 1 : 脾硬度測定における患者背景

表 2 に、HVPG と肝硬度、脾硬度の他、線維化の指標となり得る検討項目との相関関係について示す。検討項目において脾硬度は r 値が最も高く、HVPG と強い相関を示した (R=0.85, P<0.0001) (図 2)。その相関は、肝硬度よりも顕著であった。

Parameter	Mean ± SD	r Value	95% CI
HVPG (mmHg)	9.5 ± 6.1	NA	
肝硬度	3.8 ± 0.77	0.510	0.294, 0.676
脾硬度	7.6 ± 3.2	0.854	0.767, 0.911
RHA/RPV ratio	3.3 ± 1.0	0.401	0.164, 0.594
脾容積 (cm ³)	299.5 ± 183.9	0.232	-0.023, 0.459
血小板	11.1 ± 6.4	0.446	0.217, 0.629
AST/ALT ratio	1.5 ± 0.51	0.128	-0.13, 0.370
APRI	0.75 ± 0.95	0.255	0.001, 0.478
FIB-4	7.6 ± 7.3	0.335	0.089, 0.543
Congestion index	0.080 ± 0.061	0.594	0.401, 0.737
脾動脈流速(cm/s)	55.9 ± 15.0	0.047	-0.209, 0.297
脾動脈 PI	1.48 ± 0.38	0.062	-0.195, 0.311
脾動脈 RI	0.68 ± 0.20	0.216	-0.040, 0.446

表 2 : HVPG と各因子の相関 (pilot study)

Parameter	HVPG > 10 mmHg	HVPG > 12 mmHg	Varices
肝硬度	0.832	0.781	0.833
脾硬度	0.978	0.948	0.908
RHA/RPV ratio	0.748	0.743	0.756
脾容積 (cm ³)	0.739	0.680	0.747
血小板	0.809	0.798	0.811
AST/ALT ratio	0.573	0.765	0.545
APRI	0.705	0.764	0.748
FIB-4	0.778	0.822	0.766
Congestion index	0.740	0.806	0.852
脾動脈流速(cm/s)	0.474	0.524	0.477
脾動脈 PI	0.575	0.497	0.611
脾動脈 RI	0.629	0.611	0.635

表 3 : 各因子の門脈圧亢進症診断能 (AUC)

各検討項目の HVPG>10 mmHg、HVPG>12 mmHg、食道静脈瘤の有無についての診断能を AUC 解析で比較した。その結果肝硬度、脾硬度、血小板数が AUC 値 0.8 以上と高い診断能を示した (表 3)。中でも、脾硬度が最も高い診断能を示した。多変量解析では、脾硬度のみが HVPG>10 mmHg (P=0.020, Odds 比 9.070)、HVPG>12 mmHg (P=0.040, Odds 比 17.708) に対して有意な寄与因子として抽出された。

AUC 解析より、脾 elastic ratio の cut off 値を HVPG>10 mmHg で 8.24、HVPG>12 mmHg で 9.99 に設定し、食道静脈瘤の有無についての診断能について、validation study を行った (表 4)。その結果、Cut off 値 8.24、9.99 のいずれの場合においても高い診断精度が得られ、脾 elastic ratio は食道静脈瘤および門脈圧亢進症の診断に有用な指標になると考えられた。以上より脾臓の Elastic ratio から HVPG を推測する式である Splenic elasticity for portal hypertension; SEP score (HVPG=脾臓 Elastic ratio×1.63-2.88) を確立した。

	感度(%)	特異度(%)	PPV(%)	NPV(%)	診断精度(%)
Pilot study (n=60)					
8.24	96	85	83	97	90
9.99	54	97	93	73	78
Validation study(n=210)					
8.24	98	93.8	82	99.4	94.8
9.99	26	99.4	92	82.2	82.9

表 4 : 脾硬度 cut off 値別の門脈圧亢進症診断精度

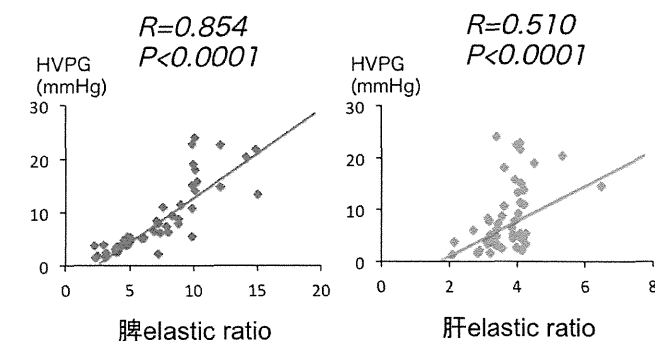


図 2 : 肝・脾硬度と HVPG の相関 (pilot study)

[平成 24 年度]

患者背景を表 5 に示す。NAFLD 以外の成因による肝障害、腹水症例は除外した。2 つの患者群において、全ての項目において背景因子に有意差はみられなかった。Pilot study における各々の肝線維化の程度における Elastic ratio の中央値は F0 : 2.1、F1 : 2.4、F2 : 2.7、F3 : 3.5、F4 : 4.1 であった (図 3)。Elastic ratio と肝線維化の程度には有意な相関が見られた (P<0.001)。Elastic ratio の cut off 値と AUC はそれぞれ F1 以上 (cut off 値 : 2.47, AUROC:0.83)、F2 以上 (2.67, 0.85)、F3 以上 (3.02, 0.87)、F4 以上 (3.36, 0.96) であり、F2 以上の診断において高い診断能を示した。Elastic ratio が