

8. Hiramatsu N, Hayashi N, Kasahara A, et al. Improvement of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients treated with natural interferon alpha. *J Hepatol* 1995;22:135–142.
9. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996;24:289–293.
10. Kumada T, Toyoda H, Kiriya S, et al. Predictive value of tumor markers for hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C virus. *J Gastroenterol* 2011;46:536–544.
11. Tarao K, Rino Y, Ohkawa S, et al. Association between high serum alanine aminotransferase levels and more rapid development and higher rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-associated cirrhosis. *Cancer* 1999;86:589–595.
12. Cardoso AC, Moucari R, Figueiredo-Mendes C, et al. Impact of peginterferon and ribavirin therapy on hepatocellular carcinoma: incidence and survival in hepatitis C patients with advanced fibrosis. *J Hepatol* 2010;52:652–657.
13. Ogawa E, Furusyo N, Kajiwara E, et al. Efficacy of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin treatment on the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a prospective, multicenter study. *J Hepatol* 2013;58:495–501.
14. Lok AS, Everhart JE, Wright EC, et al. Maintenance peginterferon therapy and other factors associated with hepatocellular carcinoma in patients with advanced hepatitis C. *Gastroenterology* 2011;140:840–849.
15. Richardson P, Duan Z, Kramer J, et al. Determinants of serum alpha-fetoprotein levels in hepatitis C-infected patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:428–433.

Reprint requests

Address requests for reprints to: Naoki Hiramatsu, MD, PhD, Department of Gastroenterology and Hepatology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita City, Osaka 565-0871, Japan. e-mail: hiramatsu@gh.med.osaka-u.ac.jp; fax: (81) 6-6879-3629.

Acknowledgments

Other institutions and participants in the Osaka Liver Forum were as follows: Higashiosaka City Central Hospital, Itami City Hospital, Otemae Hospital, Suita Municipal Hospital, Nippon Telegraph and Telephone Corporation West Osaka Hospital, Ashiya Municipal Hospital, Nishinomiya Municipal Central Hospital, Saiseikai Senri Hospital, Kaizuka City Hospital, Izumiotsu Municipal Hospital, Osaka Kaisei Hospital, Kano General Hospital, Saso Hospital, and Meiwa Hospital.

Tsugiko Oze and Naoki Hiramatsu contributed equally to this work.

Conflicts of interest

This author discloses the following: Tetsuo Takehara received scholarship funds from Merck Sharp & Dohme K.K. Co, Ltd, and Chugai Pharmaceutical Co, Ltd. The remaining authors disclose no conflicts.

Funding

Supported by a Grant-in-Aid for Research on Hepatitis from the Ministry of Health Labour and Welfare of Japan, and Scientific Research from the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan.

肝線維化の定量的測定

髭 修平* 木村 陸海* 荒川 智宏*
小関 至* 狩野 吉康* 豊田 成司*

はじめに

慢性肝疾患の治療目標の一つは、肝線維化進展の抑制により慢性肝不全を回避し、生命予後および QOL の改善をはかることである。肝硬変は肝線維化が進行した病態で、その診断は画像や組織の所見で行われるが、線維化の程度を定量的に評価することは容易ではない。

本稿では、線維化の定量的評価を、血液あるいは超音波を用いて行う最近の方法につき、当科の成績を含めて概説する。

I. 肝臓の組織と線維化

肝内で線維が異常に増殖した状態を「肝線維化」と呼ぶ。線維化は、脱落した肝細胞の枠としてあった線維が集合して線維化として認められる受動的線維化と、線維産生細胞が積極的にプロコラーゲンを産生し細胞外に線維が沈着する能動的線維化が複合していることが多い。

ウイルス性肝炎では、肝細胞死は、壊死とア

ポトーシスの両者が関与するが、アポトーシスからの肝線維化進展では、アポトーシス小体を取り込んだ周囲のクッパー細胞や星細胞から、強力な線維化促進因子である TGF- β や Fas ligand などの分泌亢進が起こることが知られている¹⁾。

その結果、IL-8 や MIP-2 (macrophage inflammatory protein-2) などの CXC ケモカインが誘導され、さらに肝炎増強、アポトーシス進行をきたす“feed-forward-loop”が形成され、星細胞の活性化が強まる。活性化した星細胞は筋線維芽細胞に形質転換し、この細胞から TGF- β や抗アポトーシス作用を有する TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1) などが分泌され、細胞外マトリックスの蓄積が進行する。

II. 肝線維化の病理組織診断

肝臓の組織学的判定については、所見をスコア化する分類が主流となつてから、より客観的な評価が可能になった。1990 年代に C 型肝炎

Key words: 肝線維化, ヒアルロン酸, IV型コラーゲン, FIB-4 index, 肝弾性度測定

Shuhei Hige/Mutsuimi Kimura/Tomohiro Arakawa/Itaru Ozeki/Yoshiyasu Karino/Joji Toyota

*札幌厚生病院第3消化器内科(〒060-0033 北海道札幌市中央区北3条東8丁目)

の診断が容易になったことで、ウイルス性肝炎とアルコール性や脂肪肝などの鑑別が明確となり、慢性肝炎の組織評価の見直しが進んだ。

1. 慢性肝炎の組織診断基準

わが国では、1996年から新犬山分類が導入され、線維化に関してはF0～F4の5段階(F4が肝硬変)で表記されるようになった。欧米では、1994～1995年に、METAVIRスコア、あるいは、Ishakらの新しいHAIスコアによる分類が提唱され、同様にFスコアとして線維化を評価している。

2. 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)における基準

明らかな飲酒歴がないにもかかわらず、肝組織所見がアルコール性肝障害に類似した肝脂肪沈着を特徴とする肝障害を非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)と呼び、さらに、肝細胞の変性・壊死、炎症や線維化を伴うものがNASHと診断される。

肝組織の病理所見は上記のウイルス性とは異なり、線維化も、中心静脈周囲や肝細胞周囲から進展することが多い。NASHの線維化評価にはBrunt²⁾のstagingが広く用いられており、stage 1～4に分類される(stage 4が肝硬変)。

Ⅲ. 肝線維化の定量的評価方法

1. 病理組織の画像処理による評価

Azan染色やMasson's trichrome染色などを施した肝生検組織標本を画像としてコンピュータに取り込み、デジタル情報として線維化領域を定量的に評価する試み^{3),4)}が報告されている。最近、さらに精度の高い検討が進められている。

表 肝の線維化マーカー

I. 酵素
A. 合成系
・ prolyl 4-hydroxylase
・ lysyl oxidase
B. 分解系
・ collagenase (MMP-1)
・ gelatinase (MMP-2, MMP-9)
・ stromelysin-1 (MMP-3)
・ TIMP (TIMP-1, TIMP-2)
II. 代謝物
A. コラーゲン
・ プロコラーゲン末端ペプチド
・ IV型コラーゲン
B. 構造糖蛋白
・ ラミニン
・ フィブロネクチン
・ ビトロネクチン
C. 酸性ムコ多糖
・ ヒアルロン酸

2. 血液検査による線維化の定量評価

これまでに、血液検体から線維化の程度を評価する目的で複数のマーカーの検討が行われてきた。おもなものは、肝内線維の合成や分解に関わる酵素や代謝物(コラーゲン、構造糖蛋白、酸性ムコ多糖など)を測定するものである(表)。

おもな線維化マーカーについて、以下に示す。

1) ヒアルロン酸

生体内結合織に広く分布する酸性ムコ多糖体。肝の線維化進行に伴い、肝内星細胞や線維芽細胞での産生が亢進し、さらに、肝類洞内皮細胞の血管内皮細胞への移行による処理低下などのために上昇する。

当科のNAFLD症例50例(男21例、女29例)、年齢中央値60.5歳(29～77歳)を対象にした、肝線維化とヒアルロン酸値との関連を示す(図1a)。とくにstage 4の肝硬変症例で高値を示している。

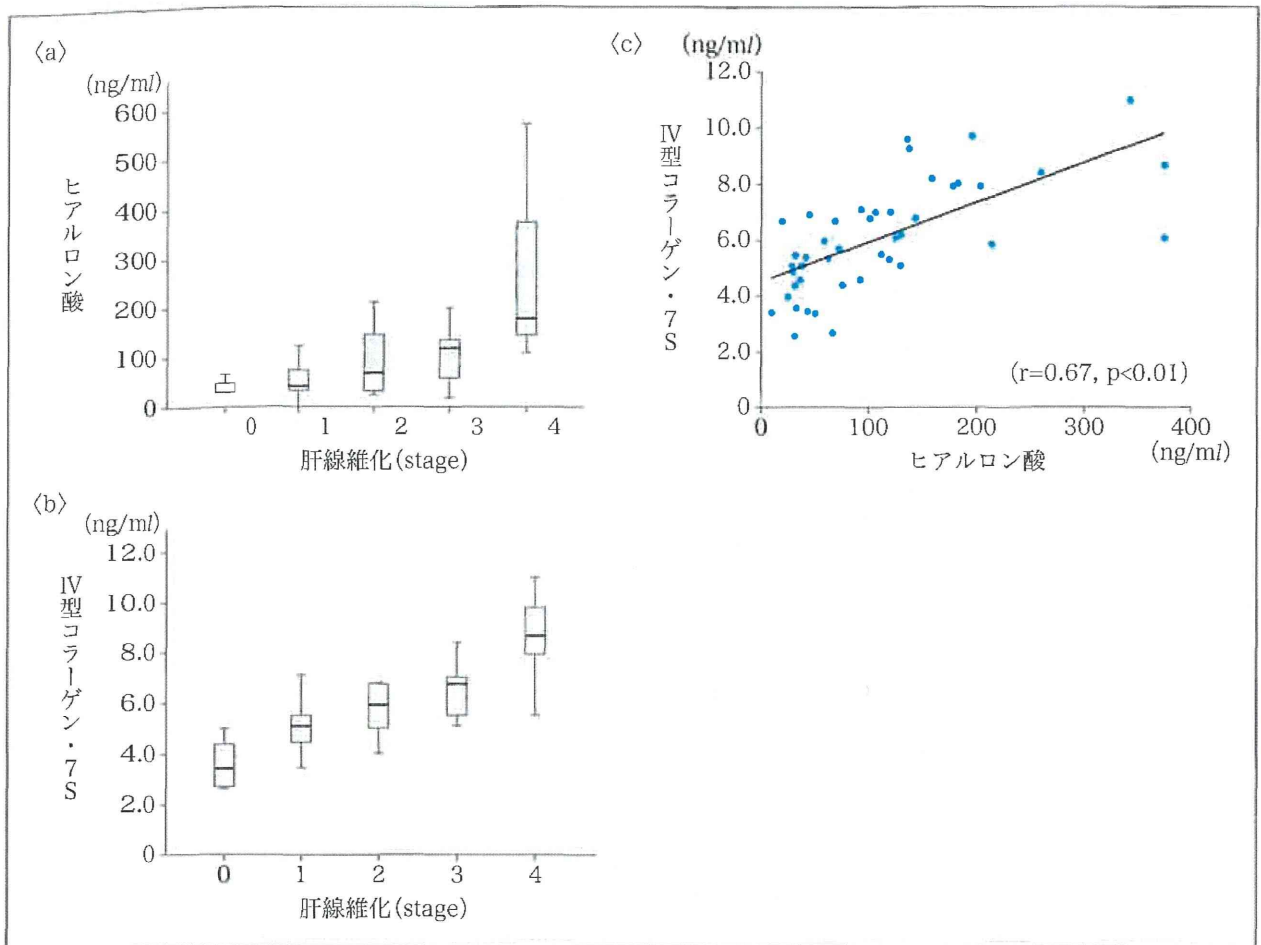


図1 肝の線維化とヒアルロン酸, IV型コラーゲン・7S(NAFLD, n=50)

2) IV型コラーゲン・7S

基底膜の主要構成成分, 慢性肝疾患での肝の活動性病変や線維化の程度を反映する.

前出の当科 NAFLD 症例 50 例について, 肝線維化と IV 型コラーゲン・7S 値の関連を示す (図 1b). stage と一致して検査値の上昇を認めた. 血清マーカー間の相関性を検討すると, ヒアルロン酸と IV 型コラーゲン・7S との間にも良好な相関関係を認めた ($p<0.01$, 相関係数 0.67, 図 1c).

3) III型プロコラーゲンペプチド(P-III-P)

コラーゲンの生合成時に, 前駆体のプロコラーゲンから切り離されるペプチド. 肝内の活動性の線維増生の指標となる.

4) マトリックスメタロプロテアーゼ(matrix metalloproteinase ; MMP)

活性中心に亜鉛イオンを含む金属イオンを有する蛋白質分解酵素の総称である. コラーゲンやゼラチンなどを分解するものを含めて, MMP ファミリーには 30 種類程度ある.

5) 組織メタロプロテアーゼ阻害物質(TIMP)

過剰な MMP の作用発現による組織破壊を防ぐ一方で, TIMP 過剰状態は, MMP による組織コラーゲン分解が抑制される.

3. 糖鎖疾患マーカーを利用した肝線維化測定疾患の存在と関連して存在(あるいは増加)する分子である疾患マーカーのなかで, 糖蛋白や糖脂質に分類される分子を糖鎖疾患マーカーと

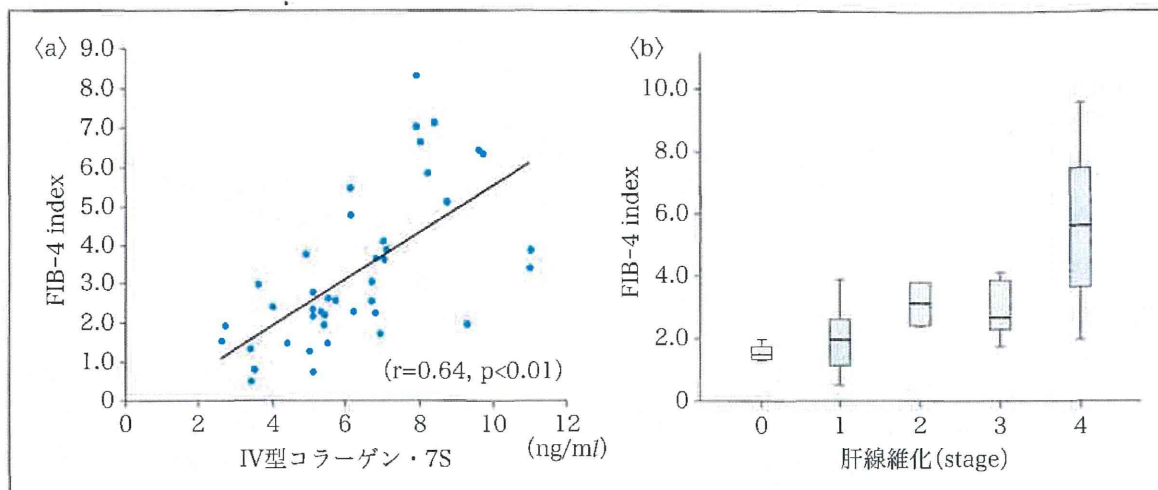


図2 肝の線維化と FIB-4 index (NAFLD, n=50)

呼ぶ。最近, LecT-Hepa⁵⁾,あるいは, FastLec-Hepa⁶⁾など, わが国で新規に開発された糖鎖疾患マーカーが肝線維化の程度を良好に反映していることが報告されている。

4. 複数のパラメータの組み合わせによるインデックス

複数のパラメータを組み合わせる算出し, 肝の線維化を反映するインデックスも, これまでにさまざまな報告がされている。代表的なものには, Fibro Test(α_2 マクログロブリン, ハプトグロビン, γ GTP, 総ビリルビン, apo-A1, 年齢, 性), FibroIndex(血小板, AST, ALT), APRI (AST to platelet ratio index), FIB-4(血小板, AST, ALT, 年齢), ELF score(ヒアルロン酸, P-III-P, TIMP-1)などがある(括弧内が用いられるパラメータ)。

前出の当科における NAFLD 症例について, FIB-4 インデックスと他のマーカーとの関連を検討した。FIB-4 インデックスは,

$$\text{年齢(歳)} \times \text{AST (U/l)} / \text{血小板数}(10^9/l) \times \text{ALT (U/l)}^{1/2}$$

で算出される。FIB-4 インデックスと IV 型コラーゲン値には良好な相関が示された(図 2a)。

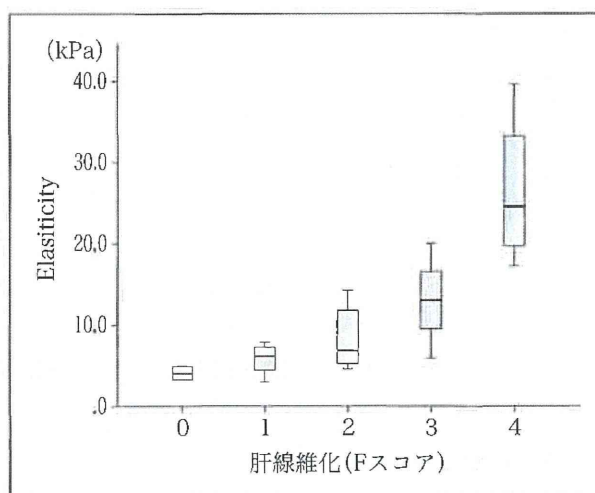


図3 肝の線維化と Fibroscan による肝弾性度

さらに, 肝線維化の staging と FIB-4 インデックスとの関連が示された(図 2b)。

5. 肝の弾性度測定

線維化が進行して起こる弾性度の低下, 硬度の上昇を, 非侵襲的に画像診断から測定する方法も開発されてきている。

1) Fibroscan[®]

パルス振動波(剪断波)の組織内伝播を超音波により追跡し弾性度として測定し数値化する。

当科で, 肝生検と Fibroscan による肝弾性度

測定を実施したC型慢性肝疾患症例30例の両者の関係を図示する(図3)。肝の線維化(Fスコア)と弾性度には良好な関連を認め、とくに肝硬変症例で高値を示した。

2) VTTQ (virtual-touch tissue quantification)

超音波を肝臓に当てて内部に生じたひずみが復元するときの振動波を計測することで肝硬度を測定するもので、ARFI (acoustic radiation force impulse) と呼ばれる物理現象が源となっている。

IV. 肝線維化の定量的評価をめぐる

慢性肝疾患の治療目標を、最終的な肝病変の進展抑制とする場合、病期の正確な評価が重要となる。肝の線維化の定量的評価は、肝疾患の病態・病期を判定する際に重要であるばかりでなく、肝疾患の自然経過の評価や、治療効果の判定などにも有用な情報を提供する。

しかし、線維化の正確な定量的評価は容易ではなく、現実的に留意すべき点や、それぞれの検査方法の特徴を理解して利用することも必要である。

1. 肝生検の侵襲性や病理組織所見の限界

これまで、肝線維化は病理組織学的所見を基準に判定されてきた。しかし、肝生検などの観血的検査は侵襲的であり、頻回の検査は困難である。さらに、通常の針生検による採取検体量は10~20mg程度であり、採取部位の差を含めて、採取された検体が患者肝病変を均一に反映しているかも考慮する必要がある。

また、線維化所見はFスコアとして整数で表示され、必ずしも、連続性、定量性があるものでない。本稿を含めて、種々のマーカーの有用性は肝組織所見をゴールドスタンダードとして

評価されることが多いが、組織学的評価に一定の限界があることを理解しておく必要がある。

2. 病因の違いと線維化定量性への影響

肝線維化の組織所見は病因により差異を認める。同じウイルス性肝硬変でも、B型肝炎では、比較的大きめの再生結節として認め、線維性隔壁は狭い例が多いのに対して、C型肝炎では、小さな結節を呈するものが多く、線維性隔壁も不規則に厚くなる傾向がある。また、すでに述べたように、NASHでは、ウイルス性とは異なり中心静脈周囲や肝細胞周囲から線維化が進展することが多い。

したがって、肝組織内の線維量が定量的に測定できた場合、異なる病因により、量的な意味も変わる可能性がある。

3. 肝硬変診断例の線維化の程度

慢性肝炎の線維化はF0~F3まで異なる段階で評価をしているが、肝硬変ではF4と一括して配点されてきた。しかし、実際には、肝硬変症例のなかで、肝臓内の線維量には大きな差がみられるはずである。肝の線維化マーカーの定量性が向上すると、肝硬変症例のなかで詳細な評価を進めることが期待され、今後、このような観点からの検討も望まれる。

まとめ

肝の線維化を非侵襲的かつ定量的に測定する方法が改良され、自然経過や治療介入による線維化の評価レベルも向上してきている。今後、肝線維化の正確な評価を通して、肝病態の理解に関する臨床的な視点の向上も期待される。

文 献

- 1) Canbay, A., Friedman, S. and Gores, G. J. : Apoptosis : The nexus of liver injury and fibrosis. *Hepatology* 39 ; 273-278, 2004
- 2) Brunt, E. M., Janney, C. G., Di Bisceglie, A. M., et al. : Nonalcoholic steatohepatitis : a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am. J. Gastroenterol.* 94 ; 2467-2474, 1999
- 3) Kage, M., Shimamatu, K., Nakashima, E., et al. : Long-term evolution of fibrosis from chronic hepatitis to liver cirrhosis in patients with hepatitis C : Morphologic analysis of repeated biopsies. *Hepatology* 25 ; 1028-1031, 1997
- 4) Pilette, C., Rousselet, M. C., Bedossa, P., et al. : Histopathological evaluation of liver fibrosis : quantitative image analysis vs semi-quantitative scores. Comparison with serum markers. *J. Hepatol.* 28 ; 439-446, 1998
- 5) Ito, K., Kuno, A., Ikehara, Y., et al. : LecT-Hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology* 56 ; 1448-1456, 2012
- 6) Kuno, A., Ikehara, Y., Tanaka, Y., et al. : A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci. Rep.* 3 ; 1065, 2013

「早期胃癌」「内視鏡診断」に特化し、早期発見、早期診断をいかに行うか解説 2011年9月刊行

早期胃癌 内視鏡診断の *Modality* と *Strategy*

編集：小山 恒男 B5判約350頁 定価（本体9,200円+税）

まずは病理診断と疫学を学んだ上で、通常内視鏡、経鼻内視鏡、拡大内視鏡という3大 Modality の特徴を理解し、早期胃癌の存在診断を学ぶ。ココまでが本書の土台である。

次にIEEを取り上げ、早期胃癌の進展範囲診断に関して Modality 別に解説を加えた。さらに、組織型診断・鑑別診断に関して、有用な Modality と、これを使いこなす Strategy を解説した。最後に診断の要となる最終的な Modality である生検を取り上げ、生検採取の Strategy を解説した。
(序文より抜粋)



日本メディカルセンター

ホームページアドレス：<http://www.nmckk.co.jp>

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町1-64 ☎03(3291)3901 FAX03(3291)3904

