

慢性肝炎から肝硬変進展率評価指標の作成と評価

分担研究者：玉城信治 所属先 武蔵野赤十字病院 消化器科

研究要旨：肝硬変への進展を判定することは、肝発癌性および患者予後を推定し、肝炎政策立案推進の面から重要である。以前の研究で我々は、世界的に用いられている線維化判定式 APRI および FIB-4 の肝硬変進展度判定に関する有用性について、班参加施設および研究賛同施設の多数症例を用いて検討を行った。B 型肝炎症例、C 型肝炎症例いずれでも肝生検組織とは相関性はよかった。①2 回肝生検症例の生検間隔期間、②肝生検で肝硬変と診断された症例の後ろ向き採血データ解析、③肝生検で F3 と診断された症例の前向きデータ解析をそれぞれ行ったが、経時的増加が観察可能だったのはコホート②の C 型肝炎例で APRI 0.09/year、FIB-4 0.29/year、コホート③の C 型肝炎未治療例で APRI 0.14/year、FIB-4 0.40/year のみであった。本年は約 7 年のインターバルを置いて 2 回 ELF score を測定した症例で、ELF score の経時的な変動を検討した。B 型肝炎症例、C 型肝炎症例いずれでも肝生検組織診断との相関関係は認められたが、経時的には ELF score が減少する傾向を認めた。

病態進展を予測するマルコフモデルを用いて、C 型慢性肝炎の病態進行および抗ウイルス治療の意義を検討した。C 型慢性肝炎では肝炎治療を行うことによって、未治療群と比較して、肝線維化進行、肝病態進行、肝発癌が抑制されることが示された。治療コカは慢性肝炎＞代償性肝硬変＞非代償性肝硬変の順に治療による肝線維化抑制へのインパクトがあることが示唆された。本検討によって抗ウイルス治療を行うことの意義を確認することができた。

MR エラストグラフィを用いて B 型慢性肝炎の病態を評価できるかどうかを検討した。発がん既往群では肝硬度が高く、発がんリスクの評価に利用可能であった。また MR エラストグラフィを行うことによって、通常の検査のみでは発見困難であった隠れ肝硬変を同定することが可能であった。

I. 研究目的

ウイルス肝炎（B 型肝炎、C 型肝炎）は肝硬変や肝がんへと進行し、致命的となる疾患である。B 型肝炎は現代の医療でも体内から完全に排除することはできず、C 型肝炎はウイルス排除可能となっているものの、自分が感染していることに気づいていない患者、感染を知っていても医療機関を受診していない患者は多く、病態の把握および疾患の進展の様子を知ることが大事なことである。中でも肝硬変から肝がんが発症しやすいため、肝硬変に至る期間を検証することは重要である。しかし現在のところ肝硬変の診断は

様々な臨床データから総合的に判定され、単一で診断可能な確立した指標はない。また慢性肝炎から肝硬変への進展を測る臨床指標として確立した指標も明らかではない。そこで 2 つの研究で肝硬変進展への実態を明らかとすることとした。

- ① 我々は以前の研究で、侵襲性の少ない血算・生化学的データを用いて評価する APRI および FIB-4 について、肝生検診断との整合性および、(1) 2 回肝生検症例の生検間隔期間、(2) 肝生検で肝硬変と診断された症例の後ろ向き採血データ解析、(3)

肝生検で F3 と診断された症例の前向きデータ解析の 3 コホートで、病態進展度の測定を行った。また、各組織で線維化マーカーとして知られるヒアルロン酸、P3NP、TIMP-1 を用いた計算で導かれる ELF score の有用性について検討した。

- ② 病態の進展を予測するマルコフモデルを用いて B 型慢性肝炎、C 型慢性肝炎症例における肝硬変への移行率を検討した。
- ③ これら成果を踏まえ、B 型肝炎では抗ウイルス療法介入群でも肝炎の phase やウイルス側の因子も関わるため、現状では移行率の解析は困難であった。そこで HBV RNA などの新規血清マーカーおよび慢性肝疾患症例の便検体から便中カルプロテクチン、腸内細菌叢を調べ、肝疾患の経過、発癌状況を調査し、その特徴に関する検討も行うこととした。
- ④ MR エラストグラフィは肝臓の硬さ（肝硬度）を測定する新たな検査手法であり、肝硬変や肝がんのリスクと関連していることが報告されている。しかし B 型慢性肝炎における MR エラストグラフィの意義は十分には検証されていないため、MR エラストグラフィによって測定した肝硬度と病態の関連を検討することとした。

J. 研究方法

① APRI、FIB-4

世界保健機関（world health organization）がウイルス肝炎の線維化判定として推奨する APRI および FIB-4 を用いて、以下

の 3 コホートを対象として検討を行った。
コホート①：二回以上肝生検を行い、1 回目”慢性肝炎”、2 回目”肝硬変”と診断した症例群を対象とし、2 回の肝生検間の間隔を検討した。

コホート②：肝生検で肝硬変と診断された症例群を対象とし、APRI、FIB-4 で “significant fibrosis (F2 \leq)” と判定された時期から”cirrhosis”判定または生検診断までの期間（0.5 年単位）を検討した。
コホート③：肝生検で F3 と診断された症例群を対象とし、”cirrhosis”判定までの期間（0.5 年単位）を検討した。データは武蔵野赤十字病院、国際医療センター、金沢大学に加え、広島大学、久留米大学、熊本大学、山梨大学、大阪市立大学、兵庫医科大学、北海道大学より集積し、匿名化の上、網羅的に解析を行った。

① — (2) ELF score

2012 年に ELF score を測定したウイルス性肝炎症例を対象に ELF score と間組織診断との相関性について検討、さらに再度 ELF score を測定できた症例について、その増加度を検討した。ELF score の計算式としては以下のものを用いた。

$$\text{ELF score} = 2.278 + 0.851 \ln(\text{HA}) + 0.751 \ln(\text{PIIINP}) + 0.394 \ln(\text{TIMP-1})$$

② マルコフモデルによる解析

C 型慢性肝疾患、B 型慢性肝疾患と診断され、2012 年 1 月～2021 年 5 月に観察された 1420 例、1370 例のうち、他の肝炎ウイルス共感染、肝疾患、観察時に肝癌を有する症例を除外し、1 年以上の観察期間をもつ 619 例、869 例それぞれを対象に検討を行った。肝病態については慢性肝炎、代償性肝硬変、非代償性肝硬変、肝癌とし、FIB-4 の低値/高値の Cut Off としては肝硬変診断に基づく既報(Itakura, et al. 2021)の 3.61 を用いた。期間別に Markov person-Year Unit を集計し、病態間の推移確率を算出

した。

③ HBV RNA

新規血清マーカーとして HBVRNA/DNA の計測を HBV 関連肝細胞癌症例、HBe 抗原陽性陰性の核酸アナログ治療前、治療中のポイントを含めた計 213 検体を提出。

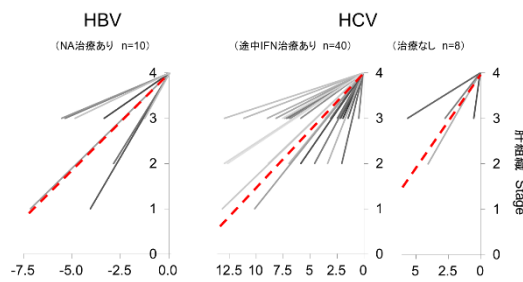
④ MR エラストグラフィ

B 型慢性肝炎において MR エラストグラフィを測定した 530 例を対象として、肝癌の有無や肝硬変の有無と肝硬度の関連を検討した。

C. 研究結果

①— (1) APRI、FIB-4

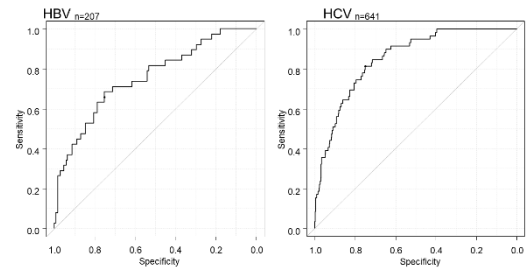
コホート①: B 型肝炎 10 例 (全例、2 回肝生検間に抗ウイルス治療あり)、C 型肝炎 46 例 (2 回肝生検間に抗ウイルス治療あり不成功 40 例、治療なし 6 例) が検討可能であった。



2 回生検間の線維化進展率は B 型肝炎で 0.41 (0.18-1.2) stage/year、C 型肝炎治療あり群で 0.27 (0.08-2.7) stage/year、治療なし群で 0.43 (0.15-1.9) stage/year と計算されたが、個々の症例によるばらつきが大きかった。

FIB-4 による肝硬変診断基準の検索:
FIB-4 では F3 以上に相当する advanced fibrosis についての基準値 (3.25) は世界的に consensus があるが、肝硬変である F4 についての診断基準値は一定の consensus はない。そのため、本研究の目的である肝硬変を診断する FIB-4 基準値を、武蔵野赤十字病院で肝生検を行った 848 例 (B 型肝炎 207 例、C 型肝炎 641 例) を用いて検討した。

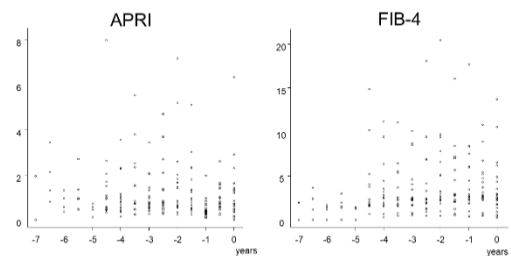
FIB-4 indexのF4診断精度



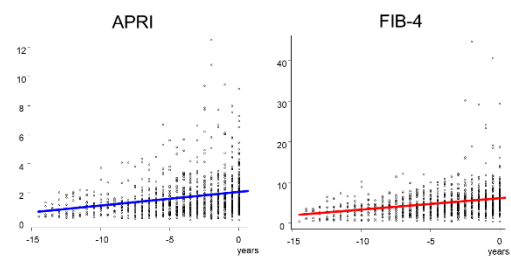
C 型肝炎では AUROC 0.85 と精度は高く、診断特異度 80%とした場合の正診率は 76%で cut off 値は 4.23 であった。一方 B 型肝炎では AUROC は 0.75 と低く、診断特異度 80%の cut off 値も 2.36 と advanced fibrosis 基準を下回ったため、基準作成は困難であった。以下コホート②、コホート③では B 型肝炎では肝硬変診断 FIB-4 基準は設けず、C 型肝炎では 2.36 を用いて検討を行った。

コホート②: B 型肝炎 26 例、C 型肝炎 134 例が検討可能だった。

B型慢性肝炎・肝硬変 (n=26)



C型慢性肝炎・肝硬変 (n=134)

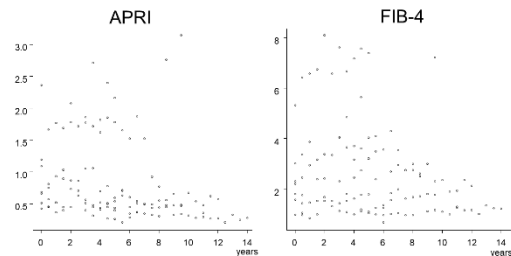


B 型肝炎症例群では一定の傾向を認めなかったが、C 型肝炎症例群における年率変化値は APRI=0.09/year、FIB-4 =0.29/year であった。

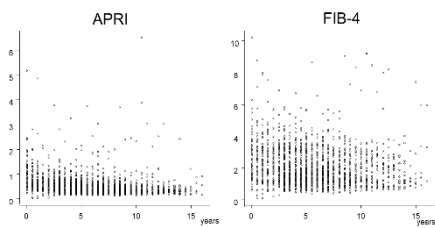
コホート③: B 型肝炎 145 例 (検討期間

中治療あり 136 例、治療なし 9 例)、C 型肝炎 187 例(検討期間中治療あり 159 例、治療なし 28 例) が検討可能であった。

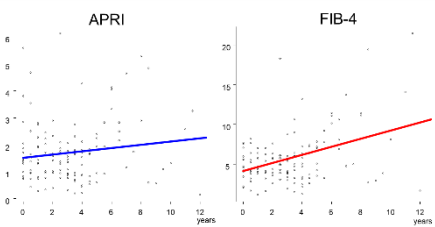
B型慢性肝炎・肝硬変：治療なし (n=9)



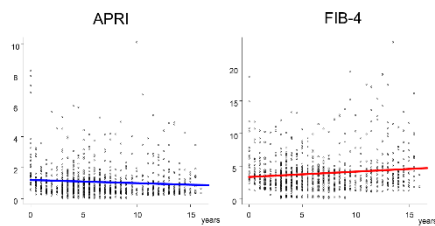
B型慢性肝炎・肝硬変：治療あり (n=136)



C型慢性肝炎・肝硬変：治療なし (n=28)



C型慢性肝炎・肝硬変：治療あり (n=159)

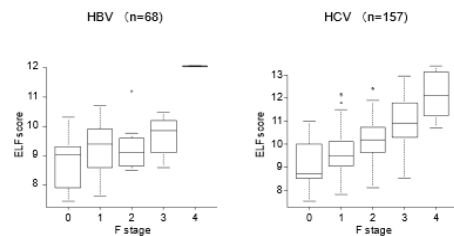


B 型肝炎では治療の有無にかかわらず APRI、FIB-4 とも明らかな傾向を認めなかった。C 型肝炎における年増加速度は治療なし症例群 APRI 0.14/year、FIB-4 0.40/year、治療あり症例群 APRI -0.083/year、FIB-4 0.12/year であった。

① — (2) ELF score

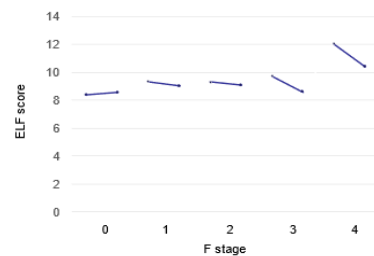
B 型肝炎 68 例、C 型肝炎 157 例で肝生検組織診断との相関性を検討可能であった。B 型肝炎、C 型肝炎とも相関性を確認できた。

ELF scoreと組織学的線維化評価の相関性



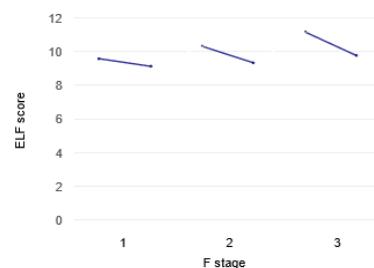
B 型肝炎 31 例で ELF score の再測定が可能であった。8 例は核酸アナログ製剤などの治療は行っていなかったが、23 例は核酸アナログ製剤による治療を開始していた。F1 以上の組織診断症例は、ELF score 平均値は 1 回目より 2 回目のほうが低値であった。

ELF値の変化：B型肝炎



C 型肝炎では 20 例で ELF score の経時的変化を検討可能であったが、で ELF score 平均値は 1 回目測定時より 2 回目測定時のほうが低かった。1 回目測定後、全例ウイルス排除を達成していた。

ELF値の変化：C型肝炎(全例SVR)



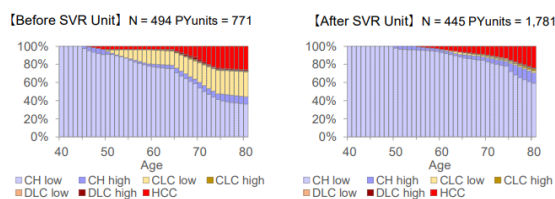
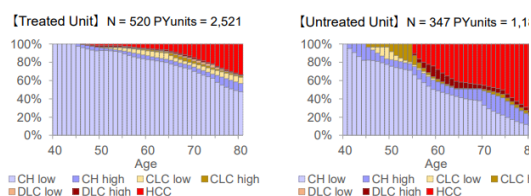
② マルコフモデルによる解析

C 型慢性肝疾患において、観察開始時、肝硬変は 42 例(6.8%),Fib-4 高値は 208 例 (33.6%) であった。

マルコフモデルにて 40 歳慢性肝炎を起点とした場合の 40 年病態推移は全 Unit では慢性肝炎 28.5%,代償性肝硬変 7.32%,非代償性肝硬変 3.95%,肝癌 60.22%であった.C型肝炎治療ありなしで分けると治療なし Unit では慢性肝炎 23.56%,代償性肝硬変 3.35%,非代償性肝硬変 3.53%,肝癌 69.56%,治療あり Unit では慢性肝炎 43.88%,代償性肝硬変 8.64%,非代償性肝硬変 3.32%,肝癌 44.17%であった。

40 歳 Fib-4 低値を起点とした場合の 40 年 Fib-4 高値への推移については全 Unit では高値 35.69%,肝炎治療なし Unit では 66.27%,治療あり Unit では 18.90%であった。

さらに 40 歳慢性肝炎かつ FIB-4 低値を起点とした場合の 40 年推移の検討では治療なし Unit では慢性肝炎/低値 10.83%,慢性肝炎/高値 10.86%,代償性肝硬変/低値 0.35%,代償性肝硬変/高値 2.64%,非代償性肝硬変/低値 0%,非代償性肝硬変/高値 3.21%,肝癌 72.11%であったのに対し、治療あり Unit では慢性肝炎/低値 47.83%,慢性肝炎/高値 9.21%,代償性肝硬変/低値 6.69%,代償性肝硬変/高値 1.32%,非代償性肝硬変/低値 0.70%,非代償性肝硬変/高値 0.99%,肝癌 33.27%であった。



一方、B 型慢性肝疾患では観察開始時、肝炎治療なし Unit では肝硬変は 5 例 (1.0%),Fib-4 高値は 84 例 (16.0%)、肝炎治療あり Unit では肝硬変は 21 例 (5.2%),Fib-4 高値は 113 例 (27.8%) であり、治療あり Unit に肝硬変、高値群が有意に多く含まれている背景であったため、治療介入の背景の差を示す結果となり正確な評価が困難であった。

核酸アナログ治療中の症例について HBV-RNA を測定すると、HBV-DNA は全例陰性にもかかわらず、10%の症例では HBV-RNA が陽性となった。肝硬変の有無、肝癌の有無との関連を検討したが、HBV-RNA と病態との関連は認められなかった。肝癌の既往の有無と肝硬度を比較すると肝がん既往例では有意に肝硬度が高値であった。非活動性キャリアと診断され、治療を行われていない症例で肝硬度を検討すると 14%の症例で肝硬度が高値であり、肝硬変と診断された。

(考察)

APRI、FIB-4 の年増加速度は C 型肝炎群ではコホート②およびコホート③の治療なし症例群で測定可能であった。コホート②では APRI 1.0(F2 以上基準)から 2.0(F4 基準)まで 10.8 年、FIB-4 1.45 (F2 以下基準) から 4.23 (MRCH 肝硬変基準) まで 9.6 年と計算される。またコホート③では 5 年後に肝硬変相当 (APRI 2.0、FIB4 4.23)になる基準値はそれぞれ、APRI 1.3、FIB-4 2.23 となる。コホート②と③で年増加率が異なってお

り、いずれも③の方が高くなっているが、これはコホート②が後ろ向き解析であるため、肝硬変になってしばらくたつてから生検で確認できた症例が存在するためと考える。C型肝炎コホート③の治療例ではウイルス排除したかどうかは不明であるが、治療に伴い肝炎の鎮静化が得られた可能性があり、APRI・FIB-4とも有意な変動を得られなかった可能性がある。

APRI・FIB-4ともAST、ALT値、血小板値に依存している。B型肝炎では自然推移による肝炎活動性の変化により、同一症例でもAST、ALT値には経時的変動に大きな幅があり、また血小板値もC型肝炎ほど線維化の進展と逆相関しないため、APRI・FIB-4とも一定の傾向を認めることができなかつたと推察する。今後は症例数を増やして検討するとともに、より線維化に特化した指標や画像的な線維化診断法の検討も必要と考える。

今回のELF scoreの経時的経過追跡についてはB型肝炎、C型肝炎症例ともむしろ低下傾向を示した。ほとんどが2回の測定間に治療を受けており、特にC型肝炎ではウイルス排除が得られており、肝炎の進行が抑えられている可能性が高い。今後C型肝炎で治療を行わない症例のデータを集積解析する必要がある。B型肝炎未治療例でも大多数でELF scoreは低下したが、まだ少数例であり、C型肝炎同様に症例の集積が必要である。

一方で、C型慢性肝疾患におけるマルコフモデルによる肝病態、FIB-4による推移解析では肝炎治療により、肝線維化進行、肝病態進行、肝発癌が抑制されることが示された。さらに肝病態およびFIB-4を組み合わせた検討では慢性肝炎>代償性肝硬変>非代償性肝硬変の順に治療による肝線維化抑制へのインパク

トがあることが示唆された。

核酸アナログ治療中にはHBV-DNAは陰性となるため、治療効果を反映する病態評価指標として用いることはできない。一方で一部の症例ではHBV-RNAが陽性となることが明らかとなった。今回の検討では病態との関連は認められなかつたが、新たな病態の評価指標として用いることができる可能性があり、症例を増やした検討が必要である。

MRエラストグラフィは肝硬変や発がんリスクを非侵襲的に評価することが可能であった。通常の血液検査ではB型慢性肝炎患者の病態を評価することは困難であり、隠れ肝硬変を見逃してしまう危険がある。しかしMRエラストグラフィを行うことでこれらの症例を非侵襲的に同定することが可能であることを明らかとした。

⑤ 結論

慢性肝炎から肝硬変への推移の指標として、APRI、FIB-4の妥当性について3種類のコホートを用いて検討した。C型肝炎では有用性が示唆されたが、B型肝炎ではFIB-4肝硬変診断基準値の策定も困難であるため、別法や組み合わせなどの工夫が必要と考えられる。今後はC型肝炎に焦点を絞り、FIB-4による「肝硬変相当値」を算出し、多施設で検証する。その「FIB-4肝硬変相当値」への推移率をMarkovモデルから検証する。また新規肝線維化進展マーカーとしてELF scoreによる評価を行う。

HBV-RNAは新たな病態評価指標として用いることができる可能性があり、今後さらなる検証が必要である。

MRエラストグラフィはB型慢性肝炎の病態をより高い精度で評価することが可能である。したがってB型肝炎診療においてエラストグラフィをより積極的に用いることが望ましいと考えられた。

⑥ 健康危険情報

特になし

- ⑦ 研究発表(本研究に関わるもの)
1. 論文発表
- 1) Itakura J, Kurosaki M, Setoyama H, Simakami T, Oza N, Korenaga M, Tanaka M, Torimura T, Sakamoto N, Enomoto N, Ueno Y, Kawada N, Kaneko S, Nishiguchi S, Chayama K, Tanaka J, Izumi N, Kanto T. Applicability of APRI and FIB-4 as a transition indicator of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis. *J Gastroenterol.* 2021 May;56(5):470-478.doi:10.1007/s00535-021-01782-3.

- 2) Kaneko S, Kurosaki M, Kurisu A, Akita T, Tanaka J, Kanto T. *Hepatol Res.* 2022 Aug;52(8):665-676. doi: 10.1111/hepr.13794. Epub 2022 May 30.

2. 学会発表
なし

- ⑧ 知的財産権の出願・登録状況
- (ア)特許取得 なし
(イ)実用新案登録 なし
(ウ)その他
- 1.