

Real-time Tissue Elastography はインターフェロン治療を
行った C 型慢性肝炎患者における
経時的な肝線維化評価に有用である

氏名：花園 忠相

所属：山口大学大学院医学系研究科 応用分子生物学専攻

平成 30 年 12 月

目次

1. 要旨	3
2. 研究の背景	3
3. 目的	3
4. 方法	4
(1) 対象	4
(2) 方法	4
(3) 解析	5
5. 結果	5
6. 考察	8
7. 結語	9
8. 謝辞	9
9. 参考文献	9

<要旨>

C型慢性肝疾患では Interferon (IFN)による抗ウイルス療法を施行しウイルス排除 (sustained viral response: SVR)が得られると、肝線維化が改善することが知られている。肝線維化は肝発癌と密接に関連しており、肝線維化を経時的に評価することは、SVR後のC型肝疾患患者においても重要である。Real-time Tissue Elastography (RTE)は肝線維化を評価する有用なモダリティである。本研究では、当院でIFNベースの治療を行ったC型肝疾患患者30症例を対象とし、C型肝疾患治療時の肝線維化を経時的評価におけるRTEの有用性について検討した。

IFN治療施行前後で、各種線維化の指標の推移を評価した。RTEで測定した liver fibrosis index (LFI)は治療前2.27、SVR判定時1.94で、有意な改善を認めた ($p=0.0003$)。また肝線維化予測式である aminotransferase-to-platelet ratio index (APRI)も治療前0.78、SVR判定時0.40であり、こちらも有意な改善を認めた ($p<0.0001$)。

次に、症例を治療前の pretreatment alanine transaminase (ALT)値が上昇している群 ($ALT \geq 30IU/L$) と非上昇群 ($ALT < 30IU/L$) の2群に分けて検討を行った。LFIはALT上昇群と非上昇群のいずれでも有意な改善を認めたが (ALT上昇群: $p=0.0265$, ALT非上昇群: $p=0.0234$)、APRI

はALT非上昇群では有意な改善は示さなかった ($p=0.2813$)。LFIは炎症の影響を受けにくく、経時的な線維化の評価に有用であった。

RTEは非侵襲的で、C型肝疾患患者において肝生検に代わる肝線維化を経時的に評価できる有用なモダリティである。

<研究の背景・目的>

C型慢性肝疾患ではIFNによる抗ウイルス療法を施行しSVRが得られると、肝線維化が改善することが知られている。C型慢性肝疾患において、肝線維化は肝発癌と密接に関連しており¹、肝発癌率は肝線維化が進行するにつれ上昇すると報告されている。よって、肝線維化を経時的に評価することは抗ウイルス療法を施行したC型肝疾患患者においても重要であり、肝線維化評価によって患者群を層別化することにより、肝癌スクリーニング目的の至適検査期間を設定することができる。

C型慢性肝疾患に対し Interferon (IFN)を用いた抗ウイルス療法を施行しSVR (sustained viral response)が得られると、肝線維化が改善することが報告されている²。肝線維化評価のゴールドスタンダードは肝生検であるが、侵襲的であるため³、日常診療において抗ウイルス療法施行後の肝線維化を経時的に評価する際に、繰り返し施行することは困難である。また、肝生検の代用として各種線維化予測モデルや血

清マーカーが用いられているが、経時的な推移の指標として未だ確立されたものはない。

Transient elastography (TE) (FibroScan) は非侵襲的肝硬度測定機器として最も確立されたモダリティである。**FibroScan** は、専用プローブによって発生された剪断波が肝を伝搬する速度を計測することによって、肝の弾性値を測定する⁴。この肝弾性値が肝線維化と相関すると報告されている。**TE** は非侵襲的で繰り返し施行することができるが、肝の炎症や黄疸、うっ血の影響を受ける。また、Cocoらは**TE** で測定した肝硬度は **alanine transaminase (ALT)** 値の影響を受け、肝線維化の程度が同一でも **ALT** 値が高いと肝硬度は高く計測されると報告している⁶。また、専用の機器の購入が必要であり、一般に広く普及していない。

一方、**RTE** は相対的な歪みを画像化する方法であり、**Strain elastography** に分類され、超音波装置に搭載されている。びまん性肝疾患では、肝線維化進行に伴って肝組織の硬さに局所的なばらつきが生じるため、まだらな画像パターンになる^{7,8}。この **RTE** 画像より得られる 9 つの特徴量は肝線維化と相関していると報告されている⁷。また、これらの特徴量より算出された **liver fibrosis index (LFI)** はウイルス性慢性肝炎の線維化診断に有用であると報告されている^{8,9}。また、**RTE** では肝臓の相対的な歪み

を視覚化することができるため、測定に適さない領域を避けることができ、検者間での測定値のばらつきを防ぐことができる。

最近の報告では **RTE** は肝線維化を高い精度で評価できるとされている¹⁰。

今回我々は、**IFN** ベースの抗ウイルス療法を施行された **C** 型肝疾患患者に対する肝線維化経時的評価における **RTE** の臨床的有用性について検討した。

<方法>

(1)対象

当科にて 2011 年 11 月から 2015 年 3 月に肝生検及び **IFN** 治療を施行した慢性 **C** 型肝炎患者 30 例。

(2)方法

IFN 治療を施行した慢性 **C** 型肝炎患者のうち、**SVR** が得られた 27 例で各種の肝線維化パラメーターの推移を比較検討した。また、**SVR** が得られた症例を治療前の **ALT** が上昇している群 (**ALT** ≥ 31 IU/L, N=19) と上昇していない群 (**ALT** < 30 IU/L, N=8) の 2 群に分け、肝線維化パラメーターの肝の炎症の影響について検討した。

肝線維化を評価するパラメーターとして以下の項目の測定を行った。

・肝線維化マーカー

血液検査は早朝空腹時に施行した。血液検査により以下の項目を測定した：血小板, **AST**, **ALT**, γ -**GTP**, **ALP**, **Alb**, **T Bil**, **type**

IV collagen 7S domain, Procollagen III peptide(P-3-P)。

肝線維化予測式である FIB-4 Index は次の式で計算した： $\text{age}(\text{year}) \times \text{AST}(\text{IU/L})/\text{platelet count}(\times 10^9/\text{L}) \times \sqrt{\text{ALT}(\text{IU/L})}$ ¹¹。

Asparate aminotransferase-to-platelet ratio index (APRI) は次の式で計算した：

$(\text{AST}(\text{IU/L})/\text{AST 正常上限})/\text{血小板}(\times 10^9/\text{L}) \times 100$ 。¹²

・ Real-time Tissue Elastography

日立アロカメディカル（日本、東京）社の HI VISION Ascendus、リニア型プローベ(EUP-L52 中心周波数 5.5MHz)を使用した。患者の右肋間にプローベをあて、肝臓内部の大血管やアーチファクトのする部位を避けて ROI を設定し、LF Index を測定した。LF Index は 3 回計測し平均値を算出した。

・ 肝生検

肝生検は 16G、20cm 針(SuperCore Biopsy Instrument; Argon Medical Devices, Texas, USA)を用いてエコーガイド下に経皮的に施行した。病理組織の評価は、新犬山分類¹³を用いて山口大学医学部附属病院病理学講座および当科にて行った。

(3)解析

統計は JMP® 9.0.2(SAS Institute Japan, Tokyo, Japan)で行った。対応のない2群間の比較には Wilcoxon の順位和検定を用い、対応のある 2 群間の比較には Wilcoxon の符号付き順位検定を用いた。3 群間での比較には Tukey 検定を用いた。

<結果>

・ 患者背景

IFN 治療を施行した C 型肝炎患者 30 例の背景を Table 1 に示す。年齢の中央値は 60 歳。治療内容は Pegylated-IFN (Peg-IFN)単独が 2 例、Peg-IFN+ ribavirin (RBV)が 8 例、Peg-IFN+ RBV+telaprevir が 14 例、Peg-IFN+ RBV+simeprevir が 6 例であった。治療成績は 27 例が SVR、2 例が再燃、1 例が副作用により中止であった(Table1)。

・ SVR が得られた症例の抗ウイルス療法施行前後での RTE 及び肝線維化マーカーの推移

IFN 治療により SVR が得られた 27 例について、IFN 治療前と、治療後 6 か月の SVR 判定時での LFI 及び FIB-4 index、APRI の推移について比較検討した。

Table 1. Clinical characteristics and laboratory data of patients receiving interferon-based therapy.

Age (median min-max)	61 (37-71) y.o.
Sex M:F	11:19 (cases)
Genotype 1a:1b:2a:2b:3b	1:22:5:1:1 (cases)
F stage F1:F2:F3:F4	22:5:1:2 (cases)
Therapy	
PEG-IFN:PEG-IFN+RBV:TVR+PEG-IFN+RBV:SMV+PEG-IFN+RBV	2:8:14:6 (cases)
Efficacy SVR:relapse:cassation	27:2:1 (cases)

PEG-IFN: PEG interferon, RBV: ribavirin, TVR: telaprevir, SMV: simeprevir, y.o.: years old

Fig. 1

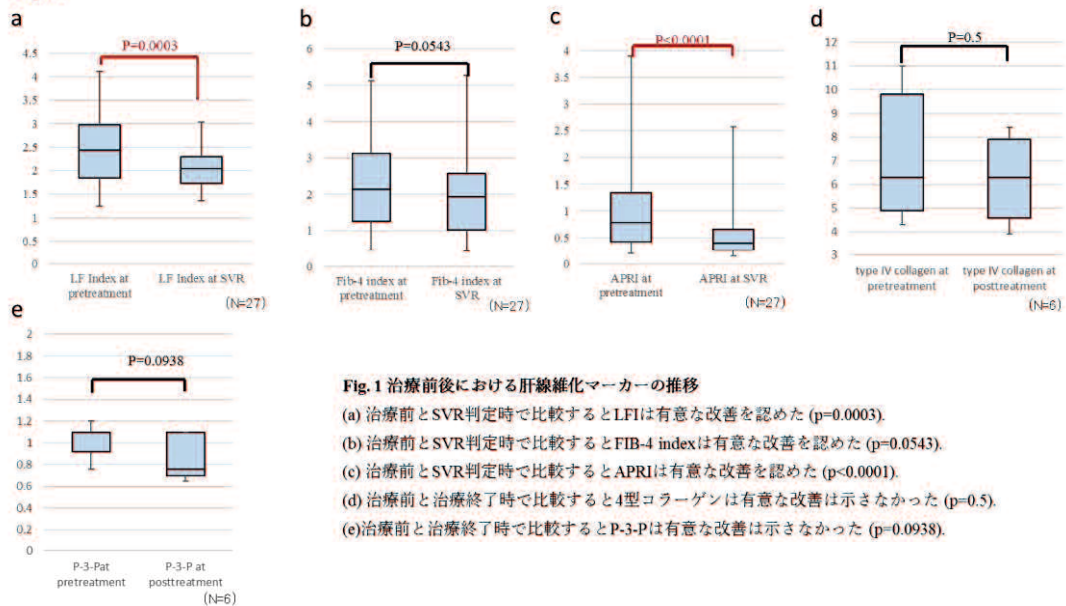


Fig. 1 治療前後における肝線維化マーカーの推移

- (a) 治療前とSVR判定時で比較するとLFIは有意な改善を認めた (p=0.0003).
- (b) 治療前とSVR判定時で比較するとFIB-4 indexは有意な改善を認めた (p=0.0543).
- (c) 治療前とSVR判定時で比較するとAPRIは有意な改善を認めた (p<0.0001).
- (d) 治療前と治療終了時で比較すると4型コラーゲンは有意な改善は示さなかった (p=0.5).
- (e) 治療前と治療終了時で比較するとP-3-Pは有意な改善は示さなかった (p=0.0938).

LF Index は治療前の中央値が 2.27 であり、SVR 判定時は 1.94 と統計学的に有意な改善を認めている (p=0.0003)。FIB-4 index は治療前の中央値が 2.13 であり、SVR 判定時は 1.94 と軽度低下しているが、統計学的な有意性は認めなかった (p=0.0543)。APRI は治療前の中央値が 0.78 であり、SVR 判定時は 0.4 と統計学的に有意な改善を認めた (p<0.0001)。

また、IFN 治療前及び IFN 治療終了時の LF Index、4 型コラーゲン、P-3-P の推移

についても同様に比較検討した。LF Index の推移は治療前の中央値が 2.88、IFN 治療終了時は 2.33 であり、統計学的に有意な改善を認めた (p=0.0391)。6 例で IFN 治療開始前後での 4 型コラーゲン、P-3-P を測定しており、4 型コラーゲンは治療前の中央値が 6ng/ml であり、IFN 治療終了時は 6.45ng/ml と改善を認めず (p=0.5)、P-3-P も治療前の中央値が 1.05U/ml、IFN 治療終了時が 0.77U/ml と改善しているが統計学的な有意性は認めなかった (p=0.0938)。

(Figure1)

さらに、18 症例については SVR 判定 1 年後までの LFI を測定可能であった。治療前の LFI の中央値は 2.24 で、SVR 判定時には 2.01 ($p=0.0013$)、SVR1 年後には 1.92 ($p=0.0006$)であり、いずれも治療前と比較して有意に改善していた(Figure2)。

Fig. 2

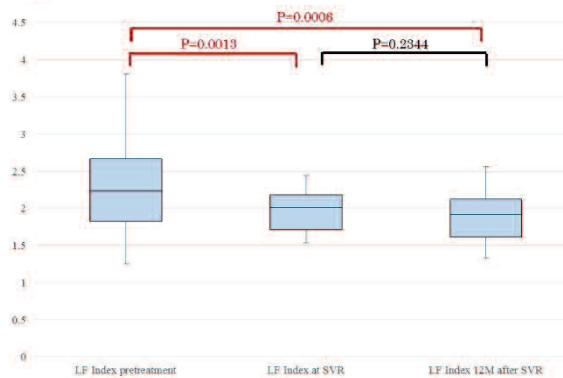


Fig. 2 IFN治療施行後のLFIの長期経過

LFIの中央値はSVR判定時 ($p=0.0222$)、SVR1年後 ($p=0.2144$)とも有意な改善を認めた。

Fig. 3

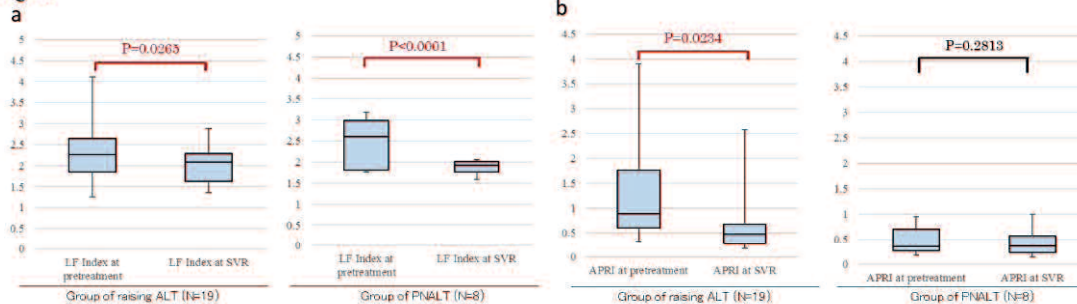


Fig. 3 ALT値の上昇群と非上昇群におけるLF Index及びAPRIの推移

(a) ALT上昇群：LFIは治療前と比較しSVR判定時に有意な改善を認めた ($p=0.0265$)

ALT非上昇群：LFIは治療前と比較しSVR判定時に有意な改善を認めた ($p<0.0001$)

(b) ALT上昇群：APRIは治療前と比較しSVR判定時に有意な改善を認めた ($p=0.0234$)

ALT非上昇群：APRIは治療前と比較しSVR判定時に有意な改善は示さなかった ($p=0.2813$)

・ALT 値の上昇群と非上昇群における LF Index 及び APRI の推移

LF Index と APRI について、ALT が 31 以上の上昇群 19 例と、31 未満の非上昇群 8 例に分けて治療前後の LF Index と APRI の推移を比較した。

まずは ALT 上昇群で検討すると、LF Index は治療前の中央値が 2.26、SVR 判定時は 2.08 で統計学的に有意な改善を認めており ($P=0.0265$)、APRI も治療前の中央値が 0.88、SVR 判定時は 0.47 で統計学的に

有意な改善を認めた ($p<0.0001$)。

一方 ALT 非上昇群では、LF Index は治療前の中央値が 2.61、SVR 判定時は 1.875 で統計学的に有意な改善を認めたが ($p=0.0234$)、APRI は治療前の中央値が 0.455、SVR 判定時は 0.37 で統計学的に有意な改善は認めなかった ($p=0.2813$)(Figure3)。LFI は炎症の影響を受けにくく、治療後の線維化の評価に有用であると判断した。

<考察>

C型肝疾患においてIFN治療でSVRが得られた場合、一般的に発癌率は低下するとされているが¹⁴、肝線維化進展例ではSVR後発癌のリスクとなると報告されている¹⁵。肝線維化を経時的に評価することは、IFN治療を行った症例においても、肝発癌をスクリーニングする至適期間を設定するうえで重要である。本検討では、LF IndexとAPRIはSVRが得られた症例において有意に改善していたが、RTEが治療開始前のALT値にかかわらず改善を示しているのに対し、APRIは治療開始前のALT値が基準値内の群では有意な改善を示していなかった¹⁶。APRIは予測的にASTを含んでおり、肝の炎症の影響を受ける。また、元々慢性肝炎患者の線維化マーカーとして考案されたものであり、SVR後の炎症の消失した症例の線維化診断能は低いと考える。LF IndexはALT基準値内の症例においても改善しており、RTEは炎症の影響を受けずにC型肝炎治療後の線維化を経時的に評価できる優れたモダリティと考えられた¹⁶。また、Fib-4 index、4型コラーゲン、P-3-Pについては、抗ウイルス療法を施行していないC型慢性肝炎患者においては、肝線維化を評価しうる指標であるが、IFN治療前後では有意な改善傾向を示さなかった。Fib-4 indexもAPRI同様、元々慢性肝炎患者の線維化マーカーとして考案されたものであり、SVR後の炎症の消失した症例の線

維化診断能は低いと考える。また、血小板やトランスアミナーゼの変動の影響を受けやすく、肝線維化を純粹に評価する指標としては限界がある。P-3-Pは活動性線維増生を反映して上昇するが、すでに沈着した線維量は反映しにくい¹⁷。また、P-3-Pは肝以外での線維増生も反映してしまうため、肝線維化評価に特異的ではない¹⁸。4型コラーゲンは基底膜の主要成分であり、線維肝ではIV型コラーゲンの増加とともに、Disse腔に基底膜が形成される。血中4型コラーゲンは、沈着した4型コラーゲンの蛋白代謝回転に伴って放出された断片を測定しており、肝線維量と密接に関連して上昇する¹⁹。しかし、甲状腺機能亢進症など肝以外の要因で変動することがあり¹⁸、肝線維化評価に特異的ではない。

現在C型肝炎に対する抗ウイルス療法はDirect acting antivirals (DAAs)の登場により大きく変化しており、従来のIFNでは治療の難しかった高齢者や線維化進展例の治療も可能となっている。DAA治療におけるウイルス排除後の肝発癌に寄与する因子としては背景肝が肝硬変であることが報告されており²⁰、DAA治療においてはIFN治療以上に背景肝の線維化の評価が重要である。RTEの肝生検と比較したときの最大の利点は非侵襲的なモダリティのため繰り返し施行できることであり、C型肝炎治療時やSVR後に経時的にRTEを用いて肝線維化を評価することで発癌リスクを予

測し、リスクに応じたスクリーニング検査を計画立てることができる。

<結語>

RTE は炎症の影響を受けにくい肝線維化評価のモダリティであり、肝生検に代わる C 型慢性肝疾患における経時的な線維化評価に有用である。

<謝辞>

本研究にご協力いただいた患者の皆様に感謝する。また、本稿を作成するに当たりご指導いただいた日高先生、坂井田教授ならびに共著者の先生方、そして学位審査を引き受けていただいた先生方に厚く御礼申し上げます。

<参考文献>

1. Yoshida, H., Shiratori, Y., Moriyama, M., Arakawa, Y., Ide, T., Sata, M., Inoue, O., Yano, M., Tanaka, M., Fujiyama, S., Nishiguchi, S., Kuroki, T., Imazeki, F., Yokosuka, O., Kinoyama, S., Yamada, G., and Omata, M.: Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. IHIT Study Group. Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon

Therapy. *Ann Intern Med*, 131: 174-181, 1999.

2. Shiratori, Y., Imazeki, F., Moriyama, M., Yano, M., Arakawa, Y., Yokosuka, O., Kuroki, T., Nishiguchi, S., Sata, M., Yamada, G., Fujiyama, S., Yoshida, H., and Omata, M.: Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med*, 132: 517-524, 2000.

3. Rustagi, T., Newton, E., and Kar, P.: Percutaneous liver biopsy. *Trop Gastroenterol*, 31: 199-212, 2010.

4. Sandrin, L., Fourquet, B., Hasquenoph, J.M., Yon, S., Fournier, C., Mal, F., Christidis, C., Ziol, M., Poulet, B., Kazemi, F., Beaugrand, M., and Palau, R.: Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*, 29: 1705-1713, 2003.

5. Sagir, A., Erhardt, A., Schmitt, M., and Häussinger, D.: Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology*, 47: 592-595, 2008.

6. Coco, B., Oliveri, F., Maina, A. M., Ciccorossi, P., Sacco, R., Colombatto, P., Bonino, F., and Brunetto, M. R.: Transient elastography: a new surrogate

marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *J Viral Hepat*, 14: 360-369, 2007.

7. Tatsumi, C., Kudo, M., Ueshima, K., Kitai, S., Takahashi, S., Inoue, T., Minami, Y., Chung, H., Maekawa, K., Fujimoto, K., Akiko, T., and Takeshi, M.: Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using serum fibrotic markers, transient elastography (FibroScan) and real-time tissue elastography. *Intervirolgy*, Suppl 1: 27-33, 2008.

8. Yada, N., Kudo, M., Morikawa, H., Fujimoto, K., Kato, M., and Kawada, N.: Assessment of liver fibrosis with real-time tissue elastography in chronic viral hepatitis. *Oncology*, Suppl 1: 13-20, 2013.

9. Fujimoto, K., Kato, M., Kudo, M., Yada, N., Shiina, T., Ueshima, K., Yamada, Y., Ishida, T., Azuma, M., Yamasaki, M., Yamamoto, K., Hayashi, N., and Takehara, T.: Novel image analysis method using ultrasound elastography for non-invasive evaluation of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Oncology*, Suppl 1: 3-12, 2013.

10. Talwalkar, J.A., Kurtz, D.M., Schoenleber, S.J., West, C.P., and Montori, V. M.: Ultrasound-based transient

elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5: 1214-1220, 2007.

11. Sterling, R. K., Lissen, E., Clumeck, N., Sola, R., Correa, M. C., Montaner, J. S., Sulkowski, M., Torriani, F. J., Dieterich, D. T., Thomas, D. L., Messinger, D., and Nelson, M.: APRICOT Clinical Investigators: Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*, 43: 1317-1325, 2006.

12. Wai, C. T., Greenson, J. K., Fontana, R. J., Kalbfleisch, J. D., Marrero, J. A., Conjeevaram, H. S., and Lok, A. S.: A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 38: 518-526, 2003.

13. Ichida, F., Tsuji, T., Omata, M., Ichida, T., Inoue, K., Kamimura, T., Yamada, G., Hino, K., Yokosuka, O., and Suzuki, H.: New Inuyama classification: new criteria for histological assessment of chronic hepatitis. *Int Hepatol Commun*, 6: 112-119, 1996.

14. Hiramatsu, N., Oze, T., and Takehara, T.: Suppression of hepatocellular carcinoma development in

hepatitis C patients given interferon-based antiviral therapy. *Hepatol Res*, 45: 152-161, 2015.

15. Tokita, H., Fukui, H., Tanaka, A., Kamitsukasa, H., Yagura, M., Harada, H., and Okamoto, H.: Risk factors for the development of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis C who achieved a sustained virological response to interferon therapy. *J Gastroenterol Hepatol*, 20: 752-758, 2005.

16. Hanazono T, Hidaka I, Maeda M, Saeki I, Iwamoto T, Ishikawa T, Takami T, Yamasaki T, Sakaida I.: Utility of Real-time Tissue Elastography in the Sequential Evaluation of Liver Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C. *The bulletin of the Yamaguchi Medical School* (in press)

17. McCullough, A. J., Stassen, W. N., Wiesner, R. H., and Czaja, A. J.: Serum type III procollagen peptide concentrations in severe chronic active hepatitis: relationship to cirrhosis and

disease activity. *Hepatology*, 7: 49-54, 1987.

18. Inui, T., Ochi, Y., Chen, W., Nakajima, Y., and Kajita, Y.: Increased serum concentration of type IV collagen peptide and type III collagen peptide in hyperthyroidism. *Clin Chim Acta*, 205: 181-186, 1992.

19. Murawaki, Y., Ikuta, Y., Koda, M., Yamada, S., and Kawasaki, H.: Comparison of serum 7S fragment of type IV collagen and serum central triple-helix of type IV collagen for assessment of liver fibrosis in patients with chronic viral liver disease. *J Hepatol*, 24: 148-154, 1996.

20. Kanwal F, Kramer J, Asch SM, Chayanupatkul M, Cao Y, El-Serag HB.: Risk of Hepatocellular Cancer in HCV Patients Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. *Gastroenterology*. 153:996-1005, 2017.