

学位論文（博士）

健康な集団における非侵襲的肝線維化バイオマーカー
と NAFLD の関連：症例対照研究

氏名 齊藤 裕之

所属 山口大学大学院医学系研究科

医学専攻

公衆衛生学・予防医学講座

令和7年10月

目 次

1. 要旨	1
2. 研究の背景と目的	1
3. 方法	3
(1) 研究デザインと対象	3
(2) データ収集	4
(3) 身体計測	4
(4) 血液サンプルの測定	5
(5) 肝線維化バイオマーカー	6
(6) 解析	6
(7) 倫理的配慮	7
4. 結果	7
5. 考察	8
6. 結語	14
7. 利益相反	15
8. 参考文献	15

1. 要旨

本研究は、健診受診者における非侵襲的肝線維化バイオマーカーと非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の関連性を検証した。NAFLD 群と非 NAFLD 群から各 145 対を抽出した症例対照研究を用い、6 種類の肝線維化マーカー [アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ/アラニンアミノトランスフェラーゼ比（AAR）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ/血小板比指数（APRI）、FIB-4、mFIB-4、Forns 指数、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ/血小板比（GPR）] を評価した。調整済みロジスティック回帰分析の結果、mFIB-4 と Forns 指数が NAFLD との有意な関連を示し、早期発見ツールとしての可能性が示唆された。これらのマーカーは複数の解析で一貫性を保持し、医療資源の限られた医療機関においても、無症候の集団の NAFLD のスクリーニング検査としての妥当性が支持された。一方、APRI や GPR などの従来のマーカーは、本集団では有用性が限定的であり、状況に応じたマーカーの選択が必要であることが明らかになった。今後の研究では、多様な集団での検証と前向きコホート研究による診断精度の検証を行い、NAFLD 早期発見・介入の改善の検証が必要である。なお、本研究データ収集期間が代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（MAFLD）の概念導入前であり、臨床評価・データ分類は既存の NAFLD 枠組みで実施した。

2. 研究の背景と目的

肝線維症は、世界人口の約 25%が罹患する非アルコール性脂肪性肝疾患（以下 NAFLD）を含め、世界的にも重要な健康課題である¹。NAFLD は肝線維症、肝硬

変、肝細胞癌などの重篤な合併症へ進展し、これら全ての疾患の罹患率と死亡率に寄与する^{1,2}。肝線維症の存在とその程度は、肝疾患関連合併症や死亡率のリスクに重大な影響を及ぼすため、肝疾患における重要な予後指標となる³。したがって、肝線維症の早期検出と正確な病期分類は、長期予後の改善ならびに進行性肝疾患や肝不全への進展防止において極めて重要である⁴。

肝生検は肝線維症の診断および病期分類のゴールドスタンダードであるが、侵襲性が高く費用も掛かり、合併症リスクも含めると日常診療では適応が限られる⁵。こうした課題から、肝線維症の評価の代替手法として非侵襲的バイオマーカーへの関心が高まっている。特に医療資源が限られた環境では、血液検査から算出されるマーカーは、肝生検に比べ安全性、簡便性に加えて、費用対効果にも優れた手法である。さらに、肝線維症の早期検出を可能とするマーカーの同定は、診断と治療のどちらの側面からも極めて有用である。主要なマーカーとしては、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼとアラニンアミノトランスフェラーゼ比（以下 AAR）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼと血小板比指数（以下 APRI）、FIB-4、Forns 指数、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼと血小板比（以下 GPR）が広く研究されている⁶⁻⁹。これらのマーカーは、いずれも多様な臨床環境下で良好な診断性能を示し、医療資源の豊富さに関わらず、どの医療機関でも利用に適していると考えられる¹⁰。

しかし、これらのマーカーの臨床的有用性については依然として議論的となっており、その診断精度や有効性は、基礎疾患の異なる集団や肝疾患の病期により一貫性のない結果が報告されている^{7,11}。例えば、世界保健機関（WHO）は、医療資源に制約のある環境下での肝線維症の評価には、APRI および FIB-4 検査を推奨しているにもかかわらず

らず、肝線維症や肝硬変の診断精度は、ばらつきが認められることが複数の研究で示されている¹¹⁻¹³。さらに、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ（以下 γ GT）を含むマーカーは、肝線維症の評価に広く用いられているものの、アルコール摂取や心血管疾患など肝線維症以外の要因でも上昇し得るため、特異性の欠如が指摘されている¹⁴。さらに、NAFLDではアラニンアミノトランスフェラーゼ（以下ALT）値が正常範囲内に留まる症例も存在し、肝酵素を肝線維化の信頼性あるマーカーとして用いることの複雑さを増大させている¹⁵。

これらの課題から、臨床現場で用いられる非侵襲的マーカーについては、目立った肝疾患の症状がない人々を対象に、多様な背景を持つ集団で包括的な検証を行うことが不可欠だと言える。こうした検証は、肝線維症の早期発見の視点において重要であり、最終的にはリスク集団の治療の改善に寄与し得る。したがって本研究の目的は、定期健康診断を受けた健康な集団において、NAFLDと診断された群と非該当群の間で、肝臓の繊維化を示す既存のマーカーの比較を行い、NAFLDと最も関連するマーカーを明らかにすることとする。本研究では、有効なマーカーが当該コホートにおいてNAFLDとの強い関連性を示し、広範な臨床現場における肝線維症の早期発見に有用なツールとなる可能性があるという仮説を立てている。

3. 方法

（1）研究デザインと対象

本研究は、単施設における後ろ向き症例対照研究とした。研究対象集団のフローチャートを図1に示す。対象は、2014年4月から2019年3月までに宇部中央病院 健

健康管理センター（山口県）を受診した成人患者の診察データを抽出した。同期間中に腹部超音波検査を受けた総数は 5,292 名であった。健康診断の内容は、身体検査、血液検査、既往歴や生活歴に関する自己記入式質問票調査を含んでいた。

健康な集団を抽出するため、超音波検査で診断された脂肪肝の集団から重篤な基礎疾患や飲酒習慣のない 1,595 名を選定した。高血圧、糖尿病、脂質異常症、痛風、悪性腫瘍、肝疾患、甲状腺疾患、心疾患の既往歴、肝線維化マーカーの算出に必要なデータが欠損している対象者（ $n=889$ ）などを除外した結果、NAFLD 群 210 名と非 NAFLD 群 496 名の計 706 名が最終解析対象となった。1:1 マッチング症例対照研究を採用し、年齢（ ± 2 歳）および Body mass index（以下 BMI： $\pm 1 \text{ kg/m}^2$ ）でマッチングを行った結果、NAFLD 群と非 NAFLD 群の 145 組の対照ペアを確立した。

（2）データ収集

医療データは、匿名化処理を施した上で解析を行った。健診項目には身体計測と検査が含まれ、質問票を通じて既往歴や生活歴に関する情報を収集した。飲酒歴に関しては、非飲酒群（アルコール摂取を全くしない者、または月 1 回未満の偶発的な摂取者を定義）と飲酒群（月に数日程度の断続的な飲酒かつ定期的でない摂取であり、一定のパターンや大量の量を伴わない者を定義）に分類した。

（3）身体計測

身長は 0.1 cm 単位、体重は 0.1 kg 単位で測定し、腹囲は 0.1 cm 単位で計測した。BMI（体格指数）は体重（kg）を身長（m）の二乗で割り算出した。収縮期血圧（以下

SBP)と拡張期血圧(以下 DBP)は、標準化された手順に従い、静穏環境下で座位を保持し、上肢を心臓レベルに保持した状態で、自動振動法血圧計を用いて測定した。

(4) 血液サンプルの測定

被験者を座位にて肘正中静脈から空腹時採血を実施した。血液検査項目のヘマトクリット(Hct)、ヘモグロビン(Hb)、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、血小板数(PLT)は、自動血球計数装置(Sysmex XN-2000、シスメックス社、神戸市)を用い、標準操作手順書に基づき測定した。生化学的検査項目は ALT (アラニンアミノトランスフェラーゼ)、AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)、空腹時血糖(FPG)、 γ -GTP (GGT)、高比重リポ蛋白コレステロール(HDL-C)、低比重リポ蛋白コレステロール(LDL-C)、総コレステロール(TC)、中性脂肪(TG)を含み、生化学自動分析装置(HITACHI-7700、日立ハイテクノロジーズ社、東京都)にて分析した。血清尿酸値(SUA)および血清クレアチニン(SCr)は同一分析装置を用い、酵素法によりメーカー推奨プロトコールに従い測定した。

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の超音波検査法と診断基準

腹部超音波検査は、臨床検査技師がアロカ社製 ProSound α 5/ α 7 装置(東京都)を用いて実施した。脂肪性肝疾患の診断は、以下の超音波所見のいずれか 1 つ以上を認める場合と定義した：肝エコー輝度上昇、肝腎コントラストまたは肝脾コントラストの明瞭化、深部エコーの減衰、血管辺縁鮮明化。非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の診断は、以下の 3 つの基準を全て満たす場合と定義した：(1) 画像診断による脂肪肝の確認(2) 有意なアルコール摂取の否定(エタノール換算週 140g 未満)(3) ウ

ウイルス性肝炎、薬剤性肝障害、アルコール性肝疾患など他の脂肪変性原因の除外、診断は臨床検査技師 2 名と消化器内科専門医 1 名の合議により確定した。

(5) 肝線維化バイオマーカー

本研究では非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) との関連性を評価するため、6 種類の肝線維化マーカーを検証した。各マーカーの算出式は既報の方法^{6-9,16}に従い、以下の通りである：

(1)

$$\text{AAR} = (\text{AST} / \text{ALT})$$

(2)

$$\text{APRI} = ((\text{AST} / 30 \times 100) / \text{PLT})$$

(3)

$$\text{FIB-4} = ((\text{Age} \times \text{AST}) / (\text{PLT} \times \sqrt{\text{ALT}}))$$

(4)

$$\text{mFIB-4} = ((10 \times \text{Age} \times \text{AST}) / (\text{PLT} \times \text{ALT}))$$

(5)

$$\text{Forns Index} = (7.811 - 3.131 \cdot \ln(\text{PLT}) + 0.781 \cdot \ln(\text{GGT}) + 3.467 \cdot \ln(\text{Age}) - 0.014(\text{TC}))$$

(6)

$$\text{GPR} = ((\text{GGT} / 50 \times 100) / \text{PLT})$$

(6) 解析

データが正規分布に従わなかったため、対応のある連続変数の解析には Wilcoxon の符号付き順位検定を用い、対応のあるカテゴリ変数の解析には McNemar 検定を実施した。肝線維化マーカーと NAFLD との関連を検討するため、ロジスティック回帰分

析を行った。まず、各マーカーと NAFLD との単変量解析を実施した。調整モデルでは、NAFLD 群と非 NAFLD 群の間で有意差が認められた人口統計学的および臨床的変数のうち、当該マーカーの算出式に既に含まれている変数を除外して共変量として採用した。この手法は、指標式に内在する因子による 過剰調整 (overadjustment) を回避する目的で用いた^{17,18}。最終的に、オッズ比(odds ratio: OR)、95% 信頼区間(confidence interval: CI)、および p 値を算出した。統計解析には SPSS Statistics version 22 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) を使用した。すべての検定は両側検定とし、p 値 < 0.05 を統計学的に有意と判定した。

(7) 倫理的配慮

本研究は山口大学（日本）の倫理審査委員会で承認された研究計画（承認番号 2022-096）に基づく二次解析であり、ヘルシンキ宣言の原則に則って実施された。日本の法律に基づき、介入を伴わないヒト生体試料を用いた研究においては個別の書面同意を不要とし、代わりに山口県宇部中央病院の公式ウェブサイトの研究概要を公開するオプトアウト方式を採用した。

4. 結果

表 1 に、健康診断受診者からマッチングにより抽出した NAFLD 群および非 NAFLD 群（対照群）の人口統計学的・臨床的特徴を示す（各群 145 名）。解析対象の大部分の項目では両群間に有意差は認められず、健康な集団において NAFLD の有無にかかわらず全体的に類似した背景が確認された。一方で、飲酒習慣の報告率は NAFLD 群で 32%、非 NAFLD 群で 12%と有意に高く（ $p < 0.001$ ）、群間差を認めた。BMI、腹囲、

PLT、ALT、AST、FPG、HDL-C、LDL-C、TG などの代謝関連指標においても群間差が観察された。具体的には、NAFLD 群では BMI、腹囲、ALT・AST、FPG が中央値ベースで有意に高値を示し ($p < 0.05 \sim 0.001$)、HDL-C は有意に低値、TG は有意に高値を示した ($p < 0.001$)。

表 2 に、NAFLD 群と非 NAFLD 群における 6 種類の肝線維化マーカー [AAR、APRI、FIB-4、mFIB-4、Forns 指数、GPR] の比較結果を示す。これらのうち、AAR、FIB-4、および mFIB-4 で群間に有意差を認め ($p < 0.05 \sim 0.001$)、Forns 指数は有意傾向を示した ($p = 0.055$)。NAFLD 群では、非 NAFLD 群と比較してこれらの確立された線維化マーカーが一貫して低値を示した。

表 3 に、6 つの肝線維化マーカーと NAFLD の関連性を評価したロジスティック回帰分析の結果を示す。未調整モデル (Model 1) では、AAR および mFIB-4 が NAFLD と有意な逆相関を示し、高値ほど NAFLD リスクが低下する傾向を示した (オッズ比 [OR] 0.71~0.97、95%信頼区間 [CI] 下限 0.57~0.95/上限 0.88~0.99、 $p < 0.05 \sim 0.005$)。Forns 指数は未調整モデルでは統計学的有意性に達しなかったものの、緩やかな逆相関傾向を示した (OR 0.82、95%CI 0.66~1.02、 $p = 0.074$)。共変量調整後 (Model 2) でも、mFIB-4 は有意な関連を維持し (調整 OR 0.97、95%CI 0.94~0.99、 $p < 0.01$)、さらに Forns 指数ではより強い逆相関が認められ、統計学的有意性を示した (OR 0.64、95%CI 0.49~0.83、 $p < 0.001$)。

5. 考察

健康な集団における NAFLD の早期診断は重要である。なぜなら、肝硬変や肝細胞癌などの重篤な肝疾患への進展は、重大な損傷が生じるまで検出されないことが多いためである^{1,2}。このため、本研究では、健康な集団において侵襲的肝線維化マーカーと NAFLD の関連性を評価した。感度・特異度・ROC 曲線など臨床的有用性を決定する診断精度指標は評価していないが、本研究の主目的は、健康な集団において NAFLD と最も強く関連するマーカーの同定にあった。これは、NAFLD の早期診断精度を向上させ、適切な介入を可能にするマーカーの特定に寄与することを意図した。

本研究において、NAFLD 群では腹囲、肝酵素（ALT・AST・GGT）、FPG、脂質プロファイルを含む主要な代謝マーカーが有意に上昇していた。このパターンは、NAFLD に関連する既知の代謝異常、特に肝臓脂肪蓄積やインスリン抵抗性と関連する中心性肥満と合致した^{19,20}。本結果は、Younossi ら（2016）¹が報告した研究結果と一致する。同研究では NAFLD 患者において類似の代謝特性が確認されており、多様な人種集団において NAFLD に共通する代謝プロファイルが存在することが示唆されている。また、NAFLD 群で観察された ALT・AST 値の上昇は、これらの肝酵素が肝障害の指標として機能することを支持した^{21,22}。当コホートにおけるこれらの値の上昇は、特に早期肝疾患において、他のマーカーと併用することで有用な指標となり得るという見解を裏付けるものである^{23,24}。

本研究において、BMI および腹囲は NAFLD 群で有意に高値を示した。先行研究では、BMI 単独では脂肪分布を十分に反映せず、NAFLD 発症機序に關与する重要な要素（特に内臓脂肪量）が考慮されないため、NAFLD のリスクを過小評価する可能性が指

摘されている^{20,25,26}。他の研究では、腹囲で示される内臓脂肪が BMI よりも NAFLD の強力な予測因子であると報告しており、臨床評価において全身性脂肪蓄積と中心性脂肪蓄積の両方を評価する重要性が強調されている²⁷。興味深いことに、本研究では、参加者を BMI $\pm$ 1 kg/m²以内で一致させたにもかかわらず、Wilcoxon の符号付き順位検定後に群間の有意差が認められた。この結果は、検定が差異の平均値だけでなく符号と順位を考慮するため、対応のあるペア間で一貫した方向性の差異が存在する場合に高い検出力を有することを反映していると考えられる。これとは対照的に、非対応群間の Mann-Whitney U 検定では有意差が認められなかった (p = 0.463、データ非表示)。この結果は、研究デザインに基づいた統計手法選択と結果解釈の重要性を示すものである。このようなわずかな残差は、近似マッチングにおいて一般的に観察される現象であり、マッチングの不適切さを意味するものではない。

本研究の結果、mFIB-4 と Forns Index は統計解析全体で一貫した傾向を示したが、交絡因子をより厳密に調整したロジスティック回帰モデル (表 3 の Model 2) に基づく解析結果が主要な結論の根拠となる。NAFLD 群と非 NAFLD 群の間で mFIB-4 と Forns Index に有意差が認められ (表 2)、未調整モデル (表 3 の Model 1) では mFIB-4 が統計的有意、Forns Index は境界域の関連性を示したが、交絡因子を調整したモデル (表 3 の Model 2) では mFIB-4 と Forns Index の両マーカーが NAFLD と統計的に有意かつ独立した関連性を示した。これらの結果は、無症状段階の NAFLD 検出における非侵襲的マーカーとしての mFIB-4 と Forns Index の有用性を示しており、早期介入管理に重要な知見を提供する。さらに、各種肝疾患の線維化検出における非侵襲的マーカーの有用性を指摘する近年の研究結果とも一致する^{4-8,16}。ただし、NAFLD 群ではこれらの

有意なマーカー値が低値となる傾向が観察された点には留意が必要である。他の研究との直接比較は困難であるが、Sugiyama ら（2022）²⁸が全年齢層で NAFLD 患者の FIB-4 指数が非飲酒非脂肪肝群より有意に低いことを報告しており（ $p < 0.0001$ ）、本研究結果を支持する。

本研究において、従来の FIB-4 指数を修正した mFIB-4 は、NAFLD との有意な関連性を示すマーカーとして特定された。ALT、AST、PLT を統合する mFIB-4 は、肝機能の包括的評価を可能にし、早期変化に対する感度が高いことが示唆される。先行研究では B 型・C 型肝炎患者を中心に mFIB-4 の有用性が確認され、線維化予測の信頼性が実証されている^{8,29}。Wang ら（2017）²⁹の研究では、AAR や APRI、FIB-4 と比較し、mFIB-4 が慢性 B 型・C 型肝炎患者の肝硬変診断において優れた検出感度を発揮した。また、慢性肝疾患では低値が軽度線維化を示すことが報告されており^{29,30}、本研究の NAFLD 群で観察された低 mFIB-4 値は、無症候性一般集団における早期 NAFLD の検出を可能にすることを示唆する。共変量調整後も有意性を維持した点は、肝疾患に罹患していない集団においても信頼性の高いマーカーである可能性がある。さらに、mFIB-4 が年齢と肝酵素値を組み込む特性は³¹、高齢集団において NAFLD 関連の肝繊維の早期変化を検出する際、特に有用である可能性が考えられる。

本研究において Forns Index は交絡因子調整後に NAFLD と有意な逆相関を示し、当コホートにおける予測的価値の可能性が示唆された。元来、C 型肝炎患者を対象に Forns ら（2002）⁶によって検証された本マーカーは、肝疾患の患者特性より有用性にばらつきが認められる。Ballestri ら（2021）³²は NAFLD とウイルス性慢性肝疾患における肝線維化の予測で Forns Index が APRI、FIB-4 をわずかに上回ると報告した一方、Adler

ら (2008)³³ は肝硬変の診断精度において FIB-4 に劣るとしている。この結果のばらつきは、GGT や TC など薬物療法、飲酒習慣、食生活の影響を強く受ける変数への依存性による可能性がある。本結果は Forns Index の有用性を示唆するものの、無症候性一般集団における NAFLD のスクリーニング検査としての適用には更なる検証が必要と考える。

本研究において AST/ALT 比である AAR は、NAFLD 群と非 NAFLD 群の間で有意差を示し、未調整ロジスティック回帰モデルでのみ NAFLD との有意な関連性が認められた。AAR は伝統的に肝線維化や炎症の評価に用いられ、慢性肝疾患の集団では AAR 低値が軽度肝線維化と相関することが報告されている^{7,34}。一方、1.0 を超える AAR 値は進行した肝線維化や肝硬変への進展を示唆する^{16,34}。本研究の NAFLD 群で観察された低 AAR 値は、早期 NAFLD 検出における潜在的有用性を示唆する。

本研究において APRI、FIB-4、GPR などのマーカーが有意性を示さなかった結果は、慢性肝炎や肝硬変集団でこれらのマーカーが進行性肝線維化と強く相関するという先行研究^{7,34}とは対照的である。この乖離は、APRI、FIB-4、GPR が中等度から重度の線維化の検出に適している可能性を示唆し、特に進行性肝疾患の罹患率が低い集団における早期 NAFLD のスクリーニングには限界があることを示している。本研究では APRI、FIB-4、GPR が有意性を示さなかったが、肝線維化スクリーニングにおける非侵襲的マーカーの選択に際し、肝疾患の病因や重症度を考慮する重要性が強調された。以上の得られた知見から、mFIB-4 に加え、AAR や Forns Index が低リスク集団において、より信頼性の高い結果をもたらす可能性が示唆された。

本研究におけるもう 1 つ重要な考察点は、診断用語として NAFLD を使用した点に

ある。2023 年に代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（以下 MASLD）が NAFLD に代わる診断概念として提唱され³⁵、新基準では肝脂肪変性に加えて少なくとも 1 つの代謝性リスク因子の存在が必須とされた。しかし本研究では、以下の科学的根拠に基づき NAFLD を診断基準として採用した。第一に、研究データ収集期間が MAFLD の概念導入前であり、臨床評価・データ分類が既存の NAFLD 枠組みで実施された点が挙げられる。後ろ向き研究においては、診断基準の歴史的な一貫性が結果の妥当性担保に不可欠であり、NAFLD を採用した。第二に、Gofton ら（2023）³⁶が指摘するように、MAFLD と NAFLD を比較した分析結果から、MAFLD がより広範な代謝異常の範囲を包含する一方で、NAFLD の診断基準を満たす症例群は依然として MAFLD 患者集団の中核を構成することが明らかとなっている。特に NAFLD 患者群では、非侵襲的肝線維化スコア、肝酵素異常、代謝性併存疾患の傾向が MAFLD と同様のパターンを示す点が、本研究の目的である線維化リスク層別化に極めて重要となる。第三に、NAFLD で検証されたマーカー（FIB-4、Forns Index など）は、患者層と代謝性リスク因子の重複性から MAFLD にも適用可能であることが実証されている³⁷。加えて、NAFLD という用語は現在の科学文献でも依然広く使用されている³⁸。これらの点から、MAFLD への診断概念の進化が疾患特性の精緻化を目指す一方で、本研究の知見は NAFLD 患者における線維化リスク層別化に関する重要な示唆を提供し、MAFLD 患者への適用可能性を有する。今後の研究では MAFLD の診断基準での知見の一般化検証が期待されるが、データ収集時点の診断枠組みを考慮すれば、本研究における用語選択は科学的妥当性を保持している。

本研究には幾つかの限界点が存在する。後ろ向き研究を採用したため NAFLD のリ

スク因子として知られている身体活動、食事内容などの特定の交絡因子の調整が制限された³⁹。ただし、人口統計学的特性が類似した健常者を対象としたため、これらの変数が本研究結果に及ぼす影響は非常に限定的と考えられる。もう一つの限界点は、本研究は、人口統計学および臨床的特徴を調整したものの、観察研究に内在する潜在的な交絡因子の影響を完全に排除できない点である。日本の成人のみで構成された対象は、結果の一般化可能性を制限する可能性がある。更に、各マーカーの臨床的有用性を確立するために不可欠な感度や特異度などの診断精度に関する指標を評価していない。これらの指標を組み込んだ前向きコホート研究を、将来実施することで、NAFLDの早期検出のための指標の有効性をより正確に示すことができる。最後に、NAFLDの診断は超音波検査に基づいて行ったことである。超音波検査は実用的ではあるものの、MRIやtransient elastographyなどの他の検査と比較して、早期肝繊維化の検出精度が低い可能性がある^{40,41}。今後、前向き研究でこれらの高度な画像検査をNAFLDの診断に採用すれば、早期肝繊維化を検出するマーカーの有用性について理解を深めることができると考えられる。

6. 結語

本研究は、健康な集団において、mFIB-4、Forns指数がNAFLDに関連しており、早期肝繊維化を検出する非侵襲的バイオマーカーとしての有用性を示唆する。これらのマーカーは肝繊維化を予防するための適切な介入時期を予測し、臨床転帰の改善に寄与する可能性がある。今後の前向きコホート研究では、多様な民族集団におけるマーカーの検証、診断精度の評価、無症候性肝疾患のスクリーニング検査としての適正の確認が必要である。具体的には、無症状で民族的多様性を有する集団のmFIB-4と

Forns Index のベースライン評価を行った上で、画像診断と代謝疾患のプロファイリングを用いて NAFLD 発症を縦断的に追跡することで、肝繊維化マーカー有用性と時間的関連性の評価を行うことができる。

7. 利益相反

本研究における利益相反はない。

8. 参考文献

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016 Jul;64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431. Epub 2016 Feb 22.
2. Mantovani A, Scorletti E, Mosca A, Alisi A, Byrne CD, Targher G. Complications, morbidity and mortality of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2020 Oct;111S:154170. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154170. Epub 2020 Jan 30.
3. Ng CH, Lim WH, Hui Lim GE, Hao Tan DJ, Syn N, Muthiah MD, Huang DQ, Loomba R. Mortality Outcomes by Fibrosis Stage in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2023 Apr;21(4):931-939.e5. doi: 10.1016/j.cgh.2022.04.014. Epub 2022 May 2.
4. Li C, Li R, Zhang W. Progress in non-invasive detection of liver fibrosis. *Cancer Biol Med*. 2018 May;15(2):124-136. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0018.
5. Chin JL, Pavlides M, Moolla A, Ryan JD. Non-invasive Markers of Liver Fibrosis: Adjuncts or Alternatives to Liver Biopsy? *Front Pharmacol*. 2016 Jun 20;7:159. doi: 10.3389/fphar.2016.00159.

6. Forns X, Ampurdanès S, Llovet JM, Aponte J, Quintó L, Martínez-Bauer E, Bruguera M, Sánchez-Tapias JM, Rodés J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002 Oct;36(4 Pt 1):986-92. doi: 10.1053/jhep.2002.36128.
7. Huang R, Wang G, Tian C, Liu Y, Jia B, Wang J, Yang Y, Li Y, Sun Z, Yan X, Xia J, Xiong Y, Song P, Zhang Z, Ding W, Wu C. Gamma-glutamyl-transpeptidase to platelet ratio is not superior to APRI, FIB-4 and RPR for diagnosing liver fibrosis in CHB patients in China. *Sci Rep*. 2017 Aug 17;7(1):8543. doi: 10.1038/s41598-017-09234-w.
8. Kim JH, Lee M, Park SW, Kang M, Kim M, Lee SH, Kim TS, Park JM, Choi DH. Validation of modified fibrosis-4 index for predicting hepatocellular carcinoma in patients with compensated alcoholic liver cirrhosis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Nov;97(48):e13438. doi: 10.1097/MD.00000000000013438.
9. Wang H, Wu J, Yang X, Liu J, Tao W, Hao Z, Wu B, Liu M, Zhang S, Wang D. Liver fibrosis indices associated with substantial hematoma expansion in Chinese patients with primary intracerebral hemorrhage. *BMC Neurol*. 2021 Dec 9;21(1):478. doi: 10.1186/s12883-021-02494-0.
10. Reinson T, Buchanan RM, Byrne CD. Noninvasive serum biomarkers for liver fibrosis in NAFLD: current and future. *Clin Mol Hepatol*. 2023 Feb;29(Suppl):S157-S170. doi: 10.3350/cmh.2022.0348. Epub 2022 Nov 22.
11. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2010 Sep;59(9):1265-9. doi: 10.1136/gut.2010.216077.

12. Elesawy BH, Abd El Hafez A, Dorgham LS, El-Askary A. Limited reliability of five non-invasive biomarkers in predicting hepatic fibrosis in chronic HCV mono-infected patients opposed to METAVIR scoring. *Pathol Res Pract*. 2014 Dec;210(12):922-8. doi: 10.1016/j.prp.2014.07.005. Epub 2014 Jul 22.
13. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing: Geneva, World Health Organization. ANNEX 3: Guidelines for the screening, care, and treatment of persons with chronic hepatitis C infection—summary of recommendations. 2017.
14. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2001 Aug;38(4):263-355. doi: 10.1080/20014091084227.
15. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, Sterling RK, Shiffman ML, Stravitz RT, Sanyal AJ. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology*. 2003 Jun;37(6):1286-92. doi: 10.1053/jhep.2003.50229.
16. Andrés-Otero MJ, De-Blas-Giral I, Puente-Lanzarote JJ, Serrano-Aulló T, Morandeira MJ, Lorente S, Lou-Bonafonte JM. Multiple approaches to assess fourteen non-invasive serum indexes for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Clin Biochem*. 2016 May;49(7-8):560-5. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.12.017. Epub 2016 Mar 9.
17. Greenland S, Robins JM. Confounding and misclassification. *Am J Epidemiol*. 1985 Sep;122(3):495-506. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a114131.
18. Schisterman EF, Cole SR, Platt RW. Overadjustment bias and unnecessary adjustment in epidemiologic studies. *Epidemiology*. 2009 Jul;20(4):488-95. doi: 10.1097/EDE.0b013e3181a819a1.

19. Jung UJ, Choi MS. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.* 2014 Apr 11;15(4):6184-223. doi: 10.3390/ijms15046184.
20. Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014 Nov;2(11):901-10. doi: 10.1016/S2213-8587(14)70032-4. Epub 2014 Apr 7.
21. Beiriger J, Chauhan K, Khan A, Shahzad T, Parra NS, Zhang P, Chen S, Nguyen A, Yan B, Bruckbauer J, et al. Advancements in Understanding and Treating NAFLD: A Comprehensive Review of Metabolic-Associated Fatty Liver Disease and Emerging Therapies. *Livers.* 2023 Nov 7; 3(4):637-656. <https://doi.org/10.3390/livers3040042>.
22. Xuan Y, Wu D, Zhang Q, Yu Z, Yu J, Zhou D. Elevated ALT/AST ratio as a marker for NAFLD risk and severity: insights from a cross-sectional analysis in the United States. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2024 Aug 26;15:1457598. doi: 10.3389/fendo.2024.1457598.
23. Miyake T, Kumagi T, Hirooka M, Koizumi M, Furukawa S, Ueda T, Tokumoto Y, Ikeda Y, Abe M, Kitai K, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Metabolic markers and ALT cutoff level for diagnosing nonalcoholic fatty liver disease: a community-based cross-sectional study. *J Gastroenterol.* 2012 Jun;47(6):696-703. doi: 10.1007/s00535-012-0534-y. Epub 2012 Feb 14.
24. Watt J, Kurth MJ, Reid CN, Lamont JV, Fitzgerald P, Ruddock MW. Non-alcoholic fatty liver disease-A pilot study investigating early inflammatory and

- fibrotic biomarkers of NAFLD with alcoholic liver disease. *Front Physiol.* 2022 Dec 15;13:963513. doi: 10.3389/fphys.2022.963513.
25. Wang X, Rao H, Liu F, Wei L, Li H, Wu C. Recent Advances in Adipose Tissue Dysfunction and Its Role in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Cells.* 2021 Nov 25;10(12):3300. doi: 10.3390/cells10123300.
 26. Kuang M, Sheng G, Hu C, Lu S, Peng N, Zou Y. The value of combining the simple anthropometric obesity parameters, Body Mass Index (BMI) and a Body Shape Index (ABSI), to assess the risk of non-alcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2022 Oct 20;21(1):104. doi: 10.1186/s12944-022-01717-8.
 27. Dâmaso AR, do Prado WL, de Piano A, Tock L, Caranti DA, Lofrano MC, Carnier J, Cristofalo DJ, Lederman H, Tufik S, de Mello MT. Relationship between nonalcoholic fatty liver disease prevalence and visceral fat in obese adolescents. *Dig Liver Dis.* 2008 Feb;40(2):132-9. doi: 10.1016/j.dld.2007.09.009. Epub 2007 Dec 21.
 28. Sugiyama A, Kurisu A, E B, Ouoba S, Ko K, Rakhimov A, Akita T, Harakawa T, Sako T, Koshiyama M, Kumada T, Tanaka J. Distribution of FIB-4 index in the general population: analysis of 75,666 residents who underwent health checkups. *BMC Gastroenterol.* 2022 May 13;22(1):241. doi: 10.1186/s12876-022-02290-1.
 29. Wang HW, Peng CY, Lai HC, Su WP, Lin CH, Chuang PH, Chen SH, Chen CH, Hsu WF, Huang GT. New noninvasive index for predicting liver fibrosis in Asian patients with chronic viral hepatitis. *Sci Rep.* 2017 Jun 12;7(1):3259. doi: 10.1038/s41598-017-03589-w. Erratum in: *Sci Rep.* 2018 Apr 11;8(1):6062. doi: 10.1038/s41598-018-24186-5.

30. Öznur M, Topçu B, Çelikkol A. Predictive value of noninvasive indices in chronic hepatitis B virus-related fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2021 Apr 1;33(4):577-582. doi: 10.1097/MEG.0000000000002045.
31. Ng CH, Lim WH, Chin YH, Yong JN, Zeng RW, Chan KE, Tan DJH, Fu CE, Tang ASP, Goh LH, Devi K, Chew NWS, Mak LL, Tamaki N, Huang DQ, Nouredin M, Siddiqui MS, Loomba R, Sanyal AJ, Muthiah M. Living in the non-alcoholic fatty liver disease silent epidemic: a qualitative systematic review of patients' perspectives. *Aliment Pharmacol Ther*. 2022 Aug;56(4):570-579. doi: 10.1111/apt.17121. Epub 2022 Jul 6.
32. Ballestri S, Mantovani A, Baldelli E, Lugari S, Maurantonio M, Nascimbeni F, Marrazzo A, Romagnoli D, Targher G, Lonardo A. Liver Fibrosis Biomarkers Accurately Exclude Advanced Fibrosis and Are Associated with Higher Cardiovascular Risk Scores in Patients with NAFLD or Viral Chronic Liver Disease. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jan 9;11(1):98. doi: 10.3390/diagnostics11010098.
33. Adler M, Gulbis B, Moreno C, Evrard S, Verset G, Golstein P, Frotscher B, Nagy N, Thiry P. The predictive value of FIB-4 versus FibroTest, APRI, FibroIndex and Forns index to noninvasively estimate fibrosis in hepatitis C and nonhepatitis C liver diseases. *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):762-3. doi: 10.1002/hep.22085.
34. Park GJ, Lin BP, Ngu MC, Jones DB, Katelaris PH. Aspartate aminotransferase: alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: is it a useful predictor of cirrhosis? *J Gastroenterol Hepatol*. 2000 Apr;15(4):386-90. doi: 10.1046/j.1440-1746.2000.02172.x.

35. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, Francque SM, Sanyal AJ, Kanwal F, Romero D, Abdelmalek MF, Anstee QM, Arab JP, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Ann Hepatol.* 2024 Jan-Feb;29(1):101133. doi: 10.1016/j.aohep.2023.101133. Epub 2023 Jun 24.
36. Gofton C, Upendran Y, Zheng MH, George J. MAFLD: How is it different from NAFLD? *Clin Mol Hepatol.* 2023 Feb;29(Suppl):S17-S31. doi: 10.3350/cmh.2022.0367. Epub 2022 Nov 29.
37. Kang SH, Cho Y, Jeong SW, Kim SU, Lee JW; Korean NAFLD Study Group. From nonalcoholic fatty liver disease to metabolic-associated fatty liver disease: Big wave or ripple? *Clin Mol Hepatol.* 2021 Apr;27(2):257-269. doi: 10.3350/cmh.2021.0067.
38. Zhang JW, Ullah K, Khan N, Pan HT. Comprehensive profiling of serum microRNAs in normal and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients. *Sci Rep.* 2025 Jan 30;15(1):3766. doi: 10.1038/s41598-025-87791-1.
39. Oliveira CP, de Lima Sanches P, de Abreu-Silva EO, Marcadenti A. Nutrition and Physical Activity in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Diabetes Res.* 2016;2016:4597246. doi: 10.1155/2016/4597246. Epub 2015 Dec 7.
40. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014 Jun 21;20(23):7392-402. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7392.
41. Han MA, Saouaf R, Ayoub W, Todo T, Mena E, Nouredin M. Magnetic resonance imaging and transient elastography in the management of

Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2017 Apr;10(4):379-390. doi: 10.1080/17512433.2017.1299573. Epub 2017 Mar 9.

図 1 研究対象集団の抽出手順

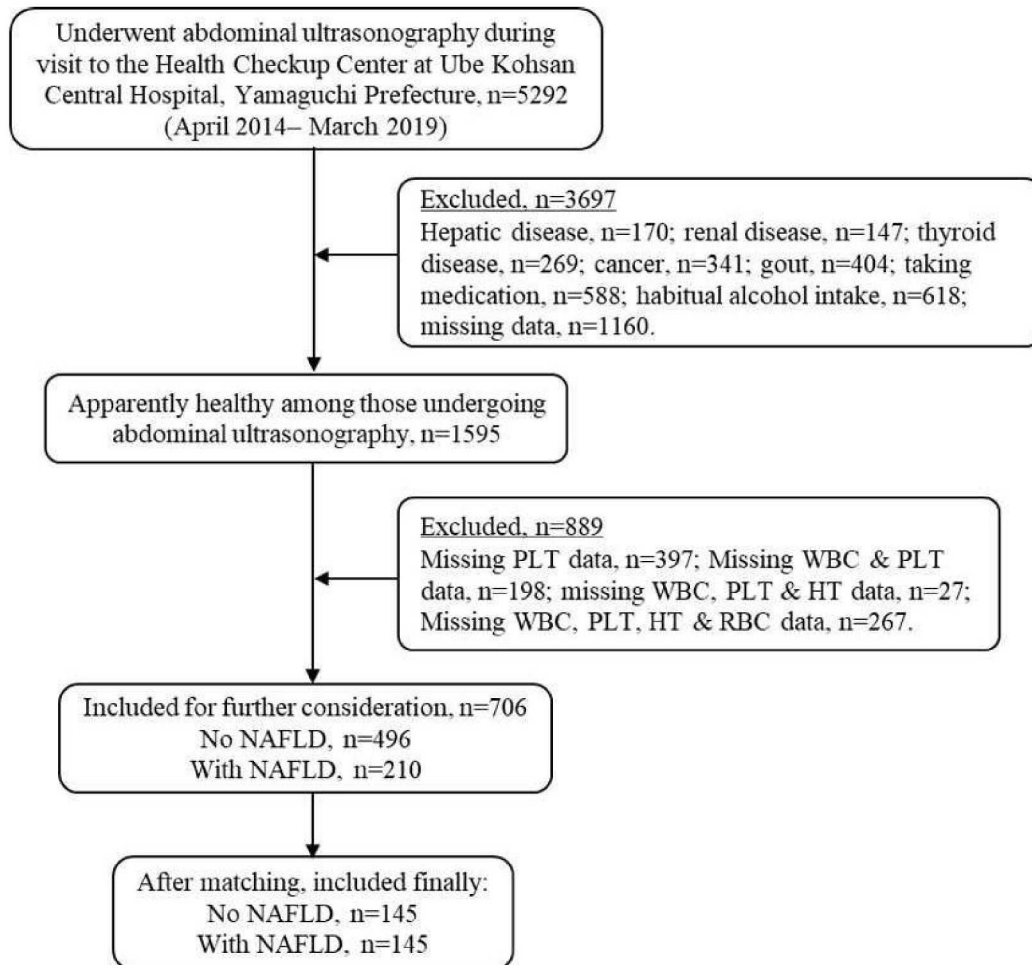


表 1 被験者の人口統計学特徴および臨床的特徴

連続変数については中央値および四分位範囲(Interquartile rang : IQR)で、カテゴリー変数については数 (n) およびパーセント (%) で示した

Variables	Non-NAFLD (n=145)		NAFLD (n=145)		P-value [§]
	Median or n	IQR or %	Median or n	IQR or %	
Age (Years)	53.0	15.0	53.0	14.5	0.419
Sex					
Male	95	66%	111	77%	0.057
Female	50	34%	34	23%	
Smoking status					
Non-smoker	126	87%	116	80%	0.144
Smoker	19	13%	29	20%	
Alcohol					
Non-drinker	127	88%	99	68%	<0.001
Drinker	18	12%	46	32%	
BMI (kg/m ²)	23.6	3.3	24.0	3.1	<0.001
Abd Circ	84.0	11.0	86.0	10.0	<0.001
RBC (10 ⁴ /μL)	453.0	74.5	461.0	72.5	0.115
WBC (/μL)	5180.0	1825.0	5390.0	2120.0	0.113
Platelets (10 ⁴ /μL)	22.8	6.0	23.7	7.5	0.004
Hb (g/dL)	14.2	2.0	14.6	2.4	0.394
Hct (%)	42.3	5.3	43.9	6.3	0.138
SBP (mmHg)	125.0	16.5	126.0	23.5	0.260
DBP (mmHg)	77.0	14.0	80.0	15.5	0.097
ALT (U/L)	20.0	13.5	24.0	14.0	0.005
AST (U/L)	20.0	7.5	21.0	8.0	0.049
FPG (mg/dL)	101.0	11.5	104.0	17.0	0.001
GGT (U/L)	30.0	41.0	34.0	36.5	0.096
HDL-C (mg/dL)	64.0	20.5	57.0	17.0	<0.001
LDL-C (mg/dL)	129.0	38.5	135.0	33.0	0.074
TC (mg/dL)	208.0	44.0	213.0	44.0	0.216
TG (mg/dL)	98.0	59.0	127.0	81.5	<0.001
SUA (mg/dL)	5.6	2.2	5.8	1.8	0.299
SCr (mg/dL)	0.9	0.3	0.8	0.2	0.690

Abd Circ, abdominal circumference; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate

aminotransferase; BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; FPG, fasting plasma glucose; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; Hb, hemoglobin; Hct, hematocrit; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; RBC, red blood cell; SCr, serum creatinine; SUA, serum uric acid; SBP, systolic blood pressure; TC, total cholesterol; TG, triglyceride; WBC, white blood cell.

Values have been expressed as median and IQR for the continuous variables, and as number (n) and percent (%) for the categorical variables.

§Two-tailed p-values were obtained by the Wilcoxon signed-Rank test for matched continuous variables and McNemar's test for matched categorical variables.

表 2 NAFLD 群と非 NAFLD 群における肝線維化バイオマーカーの比較

Indexes	Non-NAFLD (n=145)		NAFLD (n=145)		P-value [§]
	Median	IQR	Median	IQR	
AAR	1.0	0.5	0.9	0.3	0.003
APRI	3.0	1.2	3.0	1.4	0.922
FIB-4	10.5	5.6	9.7	4.7	0.027
mFIB-4	23.9	17.0	19.9	12.1	<0.001
Forns Index	11.6	1.3	11.2	1.8	0.055
GPR	2.8	3.4	2.9	3.1	0.333

AAR, Aspartate Aminotransferase to Alanine Aminotransferase Ratio; APRI, Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio Index; FIB-4, fibrosis index based on four factors; mFIB-4, modified FIB-4; GPR, Gamma-Glutamyl Transpeptidase to Platelet Ratio.

Values are shown as median and IQR.

[§]Two-tailed p-values were obtained by the Wilcoxon signed-Rank test.

表 3 肝線維化バイオマーカーと非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の関連解析

—関連する潜在的交絡因子の調整前後におけるロジスティック回帰分析—

baIndexes	Model 1				Model 2			
	OR	95% CI		P-value	OR	95% CI		P-value
		Lower	Upper			Lower	Upper	
AAR	0.41	0.2	0.82	0.016	0.58	0.26	1.28	0.175
APRI	1.07	0.91	1.24	0.431	1.01	0.77	1.31	0.961
FIB-4	0.95	0.9	1.01	0.1	0.96	0.90	1.03	0.219
mFIB-4	0.97	0.95	0.99	0.002	0.97	0.94	0.99	0.008
Forns Index	0.82	0.66	1.02	0.074	0.64	0.49	0.83	0.001
GPR	1.03	0.97	1.1	0.274	0.95	0.88	1.03	0.23

AAR, Aspartate Aminotransferase to Alanine Aminotransferase Ratio; APRI, Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio Index; FIB-4, fibrosis index based on four factors; mFIB-4, modified FIB-4; GPR, Gamma-Glutamyl Transpeptidase to Platelet Ratio.

Model 1, without adjustments.

Model 2, with adjustments: AAR for BMI, Abd Cicum, PLT, FPG, HDL-C, and TG; APRI for BMI, Abd Cicum, ALT, FPG, HDL-C, and TG; FIB-4 for BMI, Abd Cicum, FPG, HDL-C, and TG; mFIB-4 for BMI, Abd Cicum, FPG, HDL-C, and TG; Forns Index for BMI, Abd Cicum, ALT, AST, FPG, HDL-C, and TG; and GPRI for BMI, Abd Cicum, ALT, AST, FPG, HDL-C, and TG.