

原 著

NASH 症例で繰り返し肝生検により F3 stage から肝硬変へ進展した症例の臨床的特徴

川 中 美 和 岡 好 仁 浦 田 矩 代
 木 村 智 成 中 村 純 後 藤 大 輔
 大 和 隆 明 西 野 謙 末 廣 満 彦
 河 本 博 文 山 田 剛 太 郎¹⁾

要旨：繰り返し肝生検にて肝硬変へと進展した NASH 症例の臨床的特徴について検討した。NASH 95 例中、平均 4.6 年の経過で肝硬変へと進展した例は 6 例で、いずれも初回肝生検は F3 stage であった。そこで F3 stage の 33 症例のうち、肝硬変進展例 6 例（18%）と非進展例 27 例の血液生化学検査、病態マーカー、線維化マーカー、肝組織像について比較検討した。その結果、F3 stage NASH 症例では、ALT の持続的変動や BMI、HOMA-IR、フェリチン、血清ヒアルロン酸値の有意な増悪が肝硬変への進展の有用な指標と考えられた。

索引用語：NASH, burn-out NASH, NASH 肝硬変

はじめに

本邦においても欧米と同様、2000 年以降、非アルコール性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis；NASH）が急増している。しかしながら、NASH や非アルコール性脂肪性疾患（non-alcoholic fatty liver disease；NAFLD）の病態や経過、予後についてはいまだ不明な点が多い。

欧米では NAFLD や NASH の線維化進展^{1)~5)} や長期予後^{6)~9)} が報告され、**NASH の 10~20% が 5 年で肝硬変へ進展するといわれている**。さらに治療対象とすべき NASH 症例は、肝硬変へ進展する例や NASH 肝硬変例であるというコンセンサスが得られてきている^{5)8)~10)}。しかし、本邦においては NASH の予後、経過の前向き研究についてはいまだ十分な検討が報告されていない。われわれはこれまでも NASH 症例に対しての繰り返し肝生検による、組織学的変化や予後につ

いて検討を報告してきた¹¹⁾¹²⁾。今回、われわれは NASH 症例に対し、繰り返し肝生検を実施し、肝硬変（F4 stage）へ進展した症例の臨床的特徴について検討したので報告する。

I 対象および方法

当院で 1996 年 4 月から 2011 年 9 月までに肝生検を施行した NAFLD 425 例（うち NASH 324 例）中、繰り返し肝生検を行った症例は 95 例であった。これらの症例の肝生検の平均回数は 2.1 ± 0.4 （2~5）回、平均観察期間は 4.6 ± 2.9 （1~10）年であった。このうち、初回 F3 stage で繰り返し肝生検を行った 33 例を対象に、肝硬変へ進展した症例の臨床的特徴について検討した。症例の平均年齢は 57.4 ± 14.4 歳で、男性 14 例、女性 19 例である。繰り返し肝生検の期間は 4.3 ± 2.4 （1~10.4）年であった。治療としては抗酸化剤（vitamin E など）23 例、栄養指導のみが 8 例、肝生検と

1) 川崎医科大学附属川崎病院総合内科学 2

Corresponding author：山田 剛太郎（m.kawanaka@med.kawasaki-m.ac.jp）

Table 1. 初回肝生検でNASH (F3) と診断した 33 症例の背景および血液検査

| | |
|------------------------------|----------------|
| 年齢 | 58.5 (19 ~ 74) |
| 性別 (M/F) | 14/19 |
| BMI (kg/m ²) | 28.8 ± 3.6 |
| AST (IU/l) | 65.9 ± 36.7 |
| ALT (IU/l) | 99.5 ± 54.9 |
| ALP (IU/l) | 260 ± 89 |
| γ-GTP (IU/l) | 70.1 ± 42.3 |
| Cho (mg/dl) | 205 ± 25 |
| HbA1c (%) | 5.8 ± 0.7 |
| HOMA-IR | 4.2 ± 2.4 |
| Fe (μg/dl) | 121 ± 29.5 |
| フェリチン (ng/ml) | 267 ± 188 |
| レプチン (ng/ml) | 14.1 ± 6.4 |
| アディポネクチン (μg/ml) | 5.8 ± 4.3 |
| hs-CRP (mg/dl) | 181 ± 26.1 |
| 血小板数 (× 10 ⁴ /μl) | 20.5 ± 5.7 |
| 血清ヒアルロン酸 (ng/ml) | 68.9 ± 64.6 |
| P-III-P (U/ml) | 0.8 ± 0.2 |
| IV 型コラーゲン 7S (ng/ml) | 4.6 ± 1 |

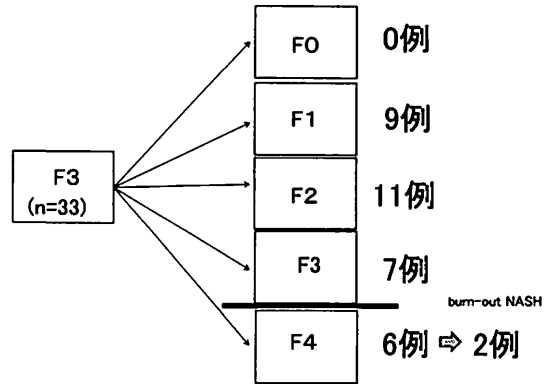


Figure 1. 初回肝生検でNASH (F3) と診断した 33 症例の 2 回目肝生検時の肝組織像 (線維化 stage) の変化。

肝生検の間に受診がなく無治療の症例が 2 例であった。これらのうち線維化 stage が肝硬変 (F4) へと進展した症例群と F3 stage のままの症例群, F1, F2 stage へと改善した症例群に分けて, 以下の因子について検討した。

年齢, 性別, 肝生検の期間, BMI の変化, 血液生化学的検査 (ALT, AST, ALP, γ-GTP, 血小板, コレステロール), 病態マーカー (HbA1c, HOMA-IR, 血清鉄, フェリチン, レプチン, アディポネクチン, 高感度 CRP (hs-CRP)), 線維化マーカー (血清ヒアルロン酸値, P-III-P, IV 型コラーゲン 7S), 肝組織の grade (炎症), 脂肪化の各因子について, 初回肝生検時と 2 回目肝生検時の変化率を 3 群間で検討した。

NAFLD の診断は日本肝臓学会の NASH, NAFLD の診療ガイドラインに従って, 飲酒歴が (20g 以内/日) なく, HBs 抗原陰性, HCV 抗体陰性, 自己免疫性肝炎や薬物性肝障害, 代謝性肝障害 (Wilson 病, ヘモクロマトーシスなど) を否定し, 肝組織学的に 10% 以上の脂肪滴を認める症例とした。また, NASH の診断は Matteoni らの分類⁵⁾を用い, stage, grade に関しては Brunt

らの分類¹³⁾を用いた。

データ解析, 検定法は Student's *t* 検定または Wilcoxon rank sum test, または the χ^2 -test を用い, 有意水準 5% とした。統計ソフトは JMP Ver. 9.0.1 software (SAS Institute Japan, Tokyo, Japan) を用いた。

II 結 果

当科で繰り返し肝生検を行った NASH 95 例中, 肝硬変へと進展が確認できた 6 症例は初回肝生検がいずれも NASH F3 stage であったため, NASH F3 stage 33 例 (Table 1) について, 以下に検討した。これら 33 例のうち線維化改善例は 20 例 (F1 : 9 例, F2 : 11 例), 不変例 (F3) は 7 例であった。また, NASH 肝硬変 (F4) へ進展した症例は 6 例であった (Figure 1)。NASH 肝硬変へ進展した群 6 症例と線維化が不変群 7 例, 改善群 20 例を以下に比較した (Table 2)。

年齢, 性別に差はなかった。観察期間は悪化群が平均 6.4 年, 不変群 5.2 年, 改善群が 3.2 年と, 悪化群で肝生検間の期間は有意に長かった。肝硬変へ進展した症例群は線維化不変例, 改善例に比べ, BMI, ALT, AST, γ-GTP, HOMA-IR, HbA1c, フェリチン, 血清ヒアルロン酸値, P-III-P, IV 型コラーゲン 7S の変化率に有意差を認めた。逆に線維化改善例では, BMI, AST, ALT, γ-GTP, HOMA-IR, HbA1c, フェリチン, アディポネクチン, 線維化マーカーである血清ヒアルロン酸

Table 2. 繰り返し肝生検を行った NASH (F3) 症例の線維化 stage 悪化群 (F4), 不変群 (F3), 改善群 (F1/2) 症例の年齢, 性別, 観察期間, BMI, 一般生化学および病態に関連する血液検査などの変化率の検討

| | 悪化群 (F4) n=6 | 不変群 (F3) n=7 | 改善群 (F1/2) n=20 | P 値 |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------|
| 年齢 | 61.5±7.6 | 50±16.4 | 55±14.8 | 0.4803 |
| 性別 (M/F) | 3/3 | 1/6 | 10/10 | 0.2186 |
| 観察期間 (年) | 6.4 [#] | 5.2 [*] | 3.2 ^{*#} | 0.0027 |
| BMI (kg/m ²) | 0.88 [#] | 0.17 [*] | -1.78 ^{*#} | 0.0046 |
| AST (IU/l) | -1.4 [#] | -49.4 | -39.0 [#] | 0.0523 |
| ALT (IU/l) | -0.1 [#] | -62 | -74.2 [#] | 0.0205 |
| ALP (IU/l) | 22 | -40.5 | -9.75 | 0.4245 |
| γ-GTP (IU/l) | 1.4 ^{§#} | -43.7 [§] | -35.5 [#] | 0.0206 |
| Cho (mg/dl) | -6.8 | -40 | -15.9 | 0.9176 |
| HbA1c (%) | 1.7 [#] | 1.1 [*] | 0.01 ^{*#} | 0.0080 |
| HOMA-IR | 0.6 [§] | -2.4 ^{*§} | -0.94 [*] | 0.0685 |
| Fe (μg/dl) | 34 | -14 | -0.6 | 0.180 |
| フェリチン (ng/ml) | 93 ^{§#} | -109 [§] | -207 [#] | 0.009 |
| レプチン (ng/ml) | 1.7 | 1.1 | -4.5 | 0.2137 |
| アディポネクチン (μg/ml) | -2 | -3.2 [*] | -0.99 [*] | 0.1301 |
| hs-CRP (mg/dl) | -117 | -108 | -50.5 | 0.2540 |
| 血小板数 (×10 ⁴ /μl) | -0.9 | -2.2 | -0.01 | 0.6526 |
| 血清ヒアルロン酸 (ng/ml) | 34.9 [§] | -37.1 [§] | -11.2 | 0.0459 |
| P-III-P (U/ml) | 0.17 [#] | -0.2 | -0.15 [#] | 0.0935 |
| IV型コラーゲン 7S (ng/ml) | 1.1 ^{§#} | -1.2 [§] | -0.6 [#] | 0.0962 |
| 組織内炎症改善 | 28% [#] | 14% [*] | 85% ^{*#} | 0.002 |
| 組織内脂肪化改善 | 48% | 14% | 40% | 0.3463 |

*F1/2とF3, §F3とF4, #F1/2とF4, におけるP<0.05.

値, P-III-P, IV型コラーゲン 7S の変化率が有意に改善していた。さらに線維化改善群では組織内炎症所見も有意に改善していた (Table 2)。また, 初回肝生検と2回目肝生検の間の ALT 値の推移をみると, 線維化改善例では2回目肝生検前に ALT の持続正常化した症例が多かったが (Figure 2a), 肝硬変へと進展した症例は全例で, AST, ALT の変動が4~5年にわたって持続していた (Figure 2b)。その後, 体重や BMI が不変ながら, ALT, AST が低下し正常化をきたした2例では, 正常化後, 2年以上経過した時点で肝生検をしたが, 肝小葉内の脂肪化や炎症が減少し, burn-out NASH への進展が疑われた (Figure 2b)。

実際に初回 NASH F3 stage, 2回目で NASH 肝硬変 (F4 stage), 3回目の肝生検で burn-out NASH が疑われた症例の組織像を提示する (Fig-

ure 3a~d)。本症例は飲酒歴はなく, 各種ウイルスマーカー, 抗核抗体なども陰性で, 画像上高度脂肪肝を呈し, NASH を疑い, 2001年3月に初回肝生検を施行した。肝組織所見では約30%程度の大~中滴性の脂肪沈着と肝細胞の風船様変性を認めた。また, 線維化では中心静脈を中心とした pericellular fibrosis と P-P, P-C bridging を認め, NASH (F3 stage/grade 3) と診断した (Figure 3a, b)。その後も体重および肝機能の改善がみられなかったため, 2004年7月, 2回目の肝生検を施行した。肝組織所見では約30%程度の脂肪沈着を認めたが, 肝細胞の風船様変性は目立たなく, 大滴性の脂肪沈着も少なくなっていたが, 線維化の進展を認め, NASH (F4 stage/grade 3) と診断した (Figure 3c)。2回目肝生検以降, 体重の変化がないにもかかわらず, 肝機能は低下傾

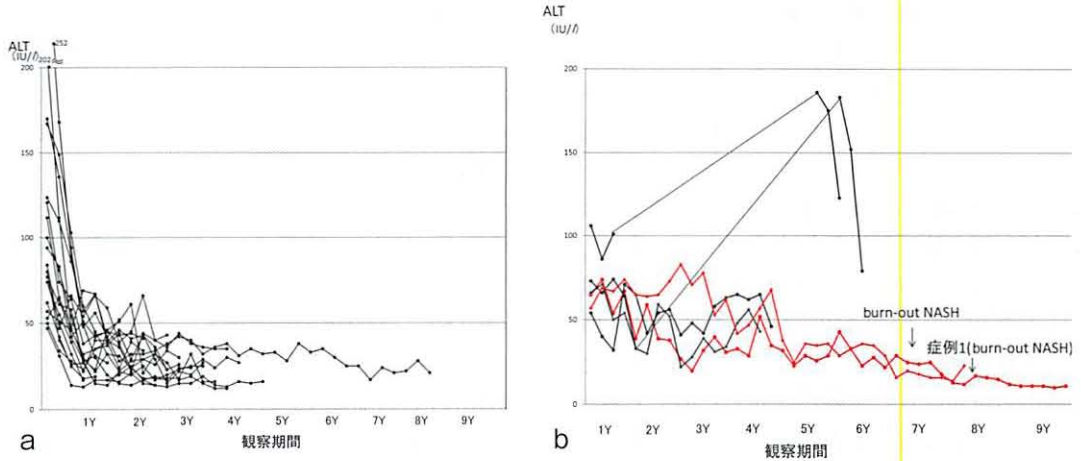


Figure 2. a. 初回肝生検 NASH (F3) から 2 回目肝生検で NASH (F1/2) へと改善した 20 症例の ALT の変動. b. 初回肝生検 NASH (F3) から 2 回目肝生検で NASH (F4) へと進展した 6 症例の ALT の変動. うち 2 例は肝生検で burn-out NASH が疑われた.

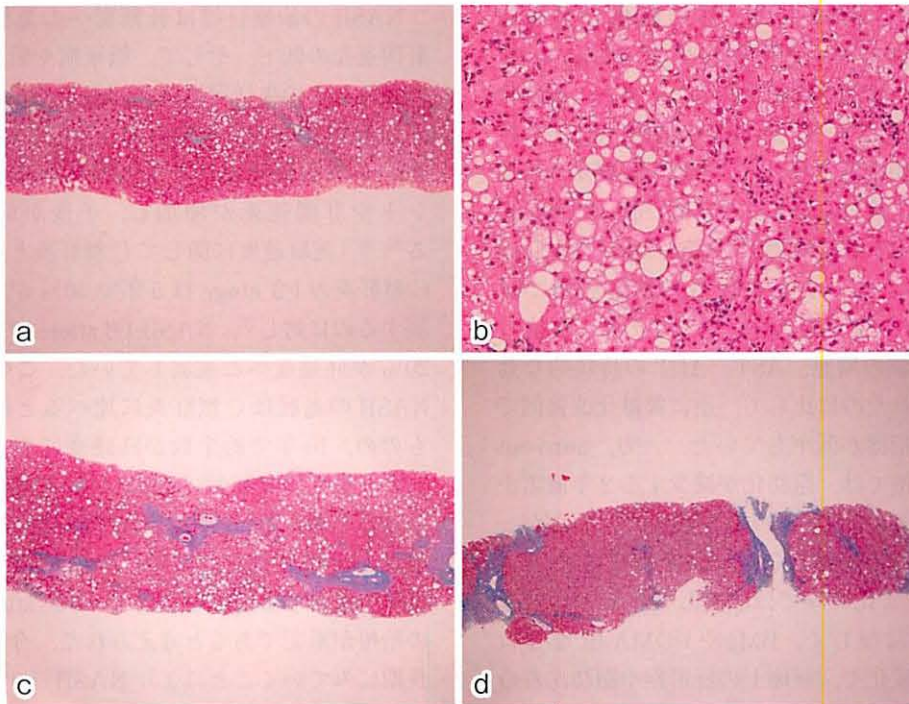


Figure 3. 症例 1 の 1 ~ 3 回目組織像 a. 1 回目肝生検 (Azan 染色). b. 1 回目肝生検 (H-E 染色). c. 2 回目肝生検 (Azan 染色). d. 3 回目肝生検 (Azan 染色).

向にあったが、2007年7月頃からは ALT 30IU/l 以下が持続し、肝機能は正常化した (Figure 2b). 2009年8月、3回目の肝生検を施行した。肝組織

所見では脂肪沈着や炎症細胞浸潤はほぼ消失し、また、小葉構造の改築を認めた (F4 stage/grade 1) (Figure 3d).

III 考 察

欧米においてはNASHの組織学的変化や予後、経過については多数の報告^{1)~9)}があるが、本邦におけるNASHの経過、特に肝硬変への進展についてはいまだ十分検討がなされていない。

Argoら¹⁾は複数の論文をまとめ、NASH 221例の繰り返し肝生検の組織学的変化について検討している。平均期間5.3年で肝線維化の進展症例は38%、不変21%、改善41%と報告している。さらに、線維化進展に関わる因子としては初回肝生検組織中の炎症所見と年齢が独立した因子であった。その他にも多数の報告で肝組織進展の指標としては線維化マーカーの上昇、またそのリスクとしては加齢、BMI値、糖尿病などが挙げられている^{1)~5)7)}。

以前、われわれが検討したNASH 50例の繰り返し肝生検の報告¹⁰⁾でも、肝線維化の進展例14%、不変例42%、改善例44%で、Argoら¹⁾の報告とほぼ同程度の成績であった。また、線維化進展例ではBMIやHOMA-IRの増悪、ALTの持続的動揺例が観察された¹⁰⁾。今回、肝硬変への進展に注目して検討したところ、NASH F3 stageにおいては4.5年の経過で約20%の症例が肝硬変へと進展していた。これらの進展症例ではBMI、HOMA-IR、HbA1c、フェリチン、血清ヒアルロン酸値の増悪、AST、ALTの持続的な動揺が認められたのに比して、逆に線維化改善例ではこれらの指標が低下していた。一方、burn-out NASH 2症例では、脂肪化が減少する2年前頃からALT、ASTの持続正常化が続いた。したがって、肝硬変へと進展したNASH症例ではALT、AST値の正常化のみでは改善しているのかどうかの判定には難しく、BMIやHOMA-IRなどの臨床所見の変化や、画像上の肝形態や脂肪沈着の変化にも注意が必要である。

今回NASH肝硬変の2例で脂肪沈着が減少し、NASHに特徴的な肝細胞の障害像が消失した、burn-out NASHと思われる症例を経験した。本邦ではYoshiokaら¹⁴⁾がはじめて、肝細胞の風船様変性やマロリー体をともなうNASH肝硬変から4年後に肝臓内の脂肪沈着が完全に消失し、

burn-out NASHとなった症例を報告している。この脂肪化が消失する原因についてはまだ解明されていないが、肝硬変による微小構造の改築のため、門脈血流が低下し、インスリンの肝臓への流入低下や、類洞構造の変化にともない、リポプロテインの流入低下によりおこるといわれている^{15)~17)}。Nagayaら¹⁸⁾はNASHの高度線維化例で、中性脂肪合成系のfatty acid synthase (FAS)、acetyl-coenzyme A carboxylase-1 (ACC1)、diacylglycerol acyltransferase-1 (DGAT1)の発現や、これらを制御しているsterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c)の発現が有意に低下していることにより、肝細胞内の中性脂肪合成系が抑制され、肝細胞中の中性脂肪が減り、脂肪沈着の消失につながるのではないかと推測している。

NASHの治療目標は肝硬変への進展の抑制と肝関連死の低下、そして、糖尿病や脂質異常症、高血圧などの生活習慣病に起因する心血管イベントの抑制である。NASHはF3、F4のadvanced stage、特に肝硬変になると明らかに心血管イベントや肝関連死が増加し、予後が低下してくる^{19)~22)}。進展速度に関してC型肝炎と比べると、C型肝炎のF3 stageは5年で50%が肝硬変に進展するのに対し²³⁾、NASH F3 stageでは5年で約20%が肝硬変へと進展していた。このことからNASHの進展はC型肝炎に比べると緩徐であるものの、10年で約半数が肝硬変になる上、比較的若い世代にでもF3 stage NASH症例が存在することを考えると、F3 stage NASHの治療の重要性が示唆された。実際、今回F3からF3不変ないし改善することが判明し、F3 stage NASHの治療が重要であると考えられた。今後、さらに長期的にみていくことによりNASH F0~F2 stageからの肝硬変症例も出現してくると思われる。そのような症例も含め、多数のNASH症例を前向きに長期的に検討していくことが重要と考えられた。

結 語

繰り返し肝生検を行ったNASH症例において、肝硬変への進展を検討した。平均約4.6年の

経過ではNASH 肝硬変へと進展した症例はいずれもNASH F3 stageの症例からのみであり、約20%に認められた。ALTの変動やBMI, HOMA-IR, 血清ヒアルロン酸値の増悪は進展の指標として有用な因子である。しかし、burn-out NASHになるとALTが改善するため、過去の臨床所見や画像所見がさらに重要となる。今後さらに本邦における多数のNASH症例を前向き検討し、NASH 肝硬変への進展率や進展の診断に有用な因子を明らかにすることがNASHの予後の改善に重要と思われた。

本論文内容に関連する著者の利益相反

: なし

文 献

- 1) Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, et al: Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 51: 371-379: 2009
- 2) Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH: The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol* 98: 2042-2047: 2003
- 3) Fassio E, Alvarez E, Domínguez N, et al: Natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 40: 820-826: 2004
- 4) Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, et al: The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 42: 132-138: 2005
- 5) Matteoni CA, Younossi ZA, Gramlich T, et al: Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 116: 1413-1419: 1999
- 6) Dam-Larsen, Becker U, Franzmann MB, et al: Final results of a long-term, clinical follow-up fatty liver patients. *Scand J Gastroenterol* 44: 1236-1243: 2009
- 7) Angulo P: Long-term mortality in nonalcoholic fatty liver disease: is liver histology of any prognostic significance? *Hepatology* 51: 373-375: 2010
- 8) Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al: The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 129: 113-121: 2005
- 9) Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, et al: Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 44: 865-873: 2006
- 10) Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, et al: A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 53: 372-384: 2010
- 11) 川中美和, 山田剛太郎: 単純性脂肪肝からNASHへの進展. *肝・胆・膵* 60: 987-992: 2010
- 12) 川中美和, 山田剛太郎: NASH・Burn-out NASHへの進展と肝発癌, 酸化ストレスと肝疾患, 第8巻, メディカルトリビューン, 東京, 73-80: 2012
- 13) Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, et al: Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 94: 2467-2474: 1999
- 14) Yoshioka Y, Hashimoto E, Yatsuji S, et al: Nonalcoholic steatohepatitis: cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and burnt-out NASH. *J Gastroenterol* 39: 1215-1218: 2004
- 15) Matsui O, Kadoya M, Takahashi S, et al: Focal sparing of segment IV in fatty livers shown by sonography and CT: correlation with aberrant gastric venous drainage. *AJR Am J Roentgenol* 164: 1137-1140: 1995
- 16) Nosadini R, Avogaro A, Mollo F, et al: Carbohydrate and lipid metabolism in cirrhosis. Evidence that hepatic uptake of gluconeogenic precursors and of free fatty acids depends on effective hepatic flow. *J Clin Endocrinol Metab* 58: 1125-1132: 1984
- 17) Caldwell SH, Crespo DM: The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 40: 578-584: 2004
- 18) Nagaya T, Tanaka N, Suzuki T, et al: Down-regulation of SREBP-1c is associated with the development of burned-out NASH. *J Hepatol* 53: 724-731: 2010
- 19) Yatsuji S, Hashimoto E, Tobari M, et al: Clinical feature and outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis compared with cirrhosis caused by chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 24: 248-254: 2009
- 20) 川中美和, 山田剛太郎: 当院におけるNASHの臨床経過と予後の検討. 酸化ストレスと肝疾患, 第7巻, メディカルトリビューン, 東京, 59-64: 2011
- 21) Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, et al: Characteristics of patients with nonalcoholic steatohe-

- patitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 9:428-433; quiz e50:2011
- 22) Hashimoto E, Yatsuji S, Tobar M, et al: Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol* 44 (suppl 19): 89-95: 2009
- 23) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, et al: Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 88: 240-243: 1993

(論文受領, 2012年3月14日)
 (受理, 2012年6月3日)

Clinical characteristics of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients who progressed from F3 stage fibrosis to cirrhotic NASH

Miwa KAWANAKA, Takahito OKA, Noriyo URATA, Tomonari KIMURA, Jun NAKAMURA, Daisuke GOTO, Ryumei YAMATO, Ken NISHINO, Mitsuhiro SUEHIRO, Hirofumi KAWAMOTO and Gotaro YAMADA¹⁾

¹⁾ *Department of General Internal Medicine 2, Kawasaki Hospital, Kawasaki Medical School*

The present study investigated the clinical characteristics of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients who progressed from stage 3, zone 3 bridging fibrosis (F3 stage NASH) to cirrhosis. Of 95 NASH patients with repeated liver biopsies during a period of 4.6 years, 6 patients progressed to cirrhosis. The initial liver biopsies of these 6 patients were diagnosed as F3 stage NASH. Simple clinical variables and non-invasive biological tests were evaluated in 33 cases of F3 stage NASH. Increases in body mass index and fluctuations in transaminase levels, as well as the evaluation of homeostatic model assessment-insulin resistance, ferritin, and hyaluronic acid in F3 stage NASH patients may prove useful in identifying individuals at risk of progression to cirrhosis.