HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肝弾性度と肝脂肪量を組み合わせた慢性肝疾患患者の肝細胞癌発生リスク評価
Author(s)	出水, 孝章
Description	配架番号：2361
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12982号
Issue Date	2018-03-22
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k12982
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75202
Type	doctoral thesis
File Information	Takaaki_Izumi.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文

肝弾性度と肝脂肪量を組み合わせた

慢性肝疾患患者の肝細胞癌発生リスク評価

(Assessing the risk of hepatocellular carcinoma in chronic liver disease patients by combining liver stiffness measurement and the controlled attenuation parameter by FibroScan)

2018年3月

北海道大学

出水　孝章

学位論文

肝弾性度と肝脂肪量を組み合わせた

慢性肝疾患患者の肝細胞癌発生リスク評価

(Assessing the risk of hepatocellular carcinoma in chronic liver disease patients by combining liver stiffness measurement and the controlled attenuation parameter by FibroScan)

2018年3月

北海道大学

出水　孝章

目　　次

発表論文目録および学会発表目録 …… 1頁
緒言 …… 2頁
略語表 …… 5頁
研究方法 …… 7頁
研究結果 …… 9頁
考察 …… 30頁
総括および結論…… 33頁
謝辞 …… 34頁
引用文献 …… 35頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に投稿中である。

1. Takaaki Izumi, Takuya Sho, Kenichi Morikawa, Kazuharu Suzuki, Akihisa Nakamura, Masatsugu Ohara, Naoki Kawagishi, Machiko Umemura, Tomoe Shimazaki, Megumi Kimura, Masato Nakai, Goki Suda, Mitsuteru Natsuizaka, Koji Ogawa, Yusuke Kudo, Mutsumi Nishida, Kota Ono, Masaru Baba, Ken Furuya, and Naoya Sakamoto.
Assessing the risk of hepatocellular carcinoma in chronic liver disease patients by combining liver stiffness measurement and the controlled attenuation parameter by FibroScan
Journal of Hepatology (投稿中)

本研究の一部は以下の学会において発表した。

1. 出水孝章、森川賢一、坂本直哉
FibroScan を応用した各肝疾患における高発癌危険群の囲い込み
第 42 回日本肝臓学会西部会、2017 年 11 月 31 日～12 月 1 日、福岡

緒　言

肝臓は右横隔膜下に存在する最大の腹腔内臓器であり、成人では約 1,200g から 1,500g 前後の重量がある。肝臓では様々な代謝機構が行われおり、①経口摂取された蛋白質が消化酵素によりペプチドやアミノ酸に分解、小腸上皮より吸収、肝臓で生体蛋白に合成され生体内へ輸送、最終的に異化されエネルギー源となる、蛋白・アミノ酸代謝。②生体で生成されたアンモニアが、尿素サイクルで尿素に変換処理される、アンモニア代謝。③食物から摂取消化されたグルコース、肝臓に貯蔵されたグリコーゲンから、ATP 合成が行われる、糖代謝。④脂肪酸・コレステロールの分解合成がなされる、脂質代謝。⑤老廃赤血球・ヘモグロビンより由来し、脾臓で生成されたビリルビンが、アルブミンと結合され肝臓へ運搬され取り込まれ、小胞体膜上の UDP1A1 によりグルクロン酸抱合を受け、抱合型ビリルビンとなり、胆汁中に輸送されるビリルビン代謝。これらのような生体代謝機構に加え、薬物代謝やアルコール代謝も肝臓の重要な役割である。

様々な原因で正常な肝臓に障害がおこると、機能低下をきたすことがしられている。その原因として、ウイルス感染、アルコール、非アルコール性脂肪性肝疾患、自己免疫性肝疾患、代謝性肝疾患などが分かっている。これらの要因により慢性的な刺激がもたらされると、炎症細胞浸潤、肝細胞壊死、肝星細胞で産生される細胞外マトリックスの蓄積により、線維が肝臓に蓄積する。さらに慢性的な刺激の持続により肝硬変(LC)へと至り、最終的に肝細胞癌（HCC）を発症する[1]。ウイルス感染では、肝炎ウイルスが主な原因となる。肝炎ウイルスは現在 A 型から E 型までの 5 種類が知られているが[2]、中でも B 型肝炎ウイルス（HBV）と C 型肝炎ウイルス（HCV）は慢性肝炎を発症し、肝硬変、肝細胞癌と進展していく重要なウイルス感染症である。B 型肝炎ウイルスは、ヘパドナウイルス科に属する約 3.2kb の不完全二本鎖環状 DNA ウイルスで[3]、母子感染による垂直感染、医療行為や性交渉などによる水平感染が、感染経路とされている[4]。成人における B 型肝炎ウイルス初感染の大部分は一過性感染に終わるが、一部慢性化し、キャリアとなる。全世界において、2 億 5 千万人のウイルスキャリアが存在すると予測されている。本邦においては 0.71%のキャリア率であり、90 万人のキャリアが存在すると推定されている[5]。HBV 感染は核酸アナログ製剤により、ウイルス血症および肝炎のコントロールが可能となってきている。C 型肝炎ウイルスは、フラビウイルス科に属する約 9.6kb の RNA ウイルスであり、血液感染が主な感染経路である。ウイルスに暴露された場合の慢性化率は約 70%と、高率に慢性肝炎を発症する。全世界では 7 千万人の感染者がいると推定されており、本邦では 80 万人の感染者が存在していると推察されている[5]。近年開発された直接作用型抗ウイルス薬（DAAs）による治療を受けた患者さんの約 95％が、ウイルス排除が得られるよ

うになった。核酸アナログ製剤、DAAsによる治療により長期予後やHCC発生率の減少が見込まれているが、発癌の危険性は依然として残存する[6,7,8]。非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は、非アルコール性脂肪肝（NAFL）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、および非アルコール性脂肪性肝硬変が含まれる。NAFLDは全世界において、人口の25%程度存在すると考えられており、体重増加・肥満傾向が強まっている現代では、さらに症例が増えると予測されている[9]。本邦の検診集団において受診者の約30%が、脂肪肝を指摘されている[10]。

LCは持続する慢性炎症を原因とし、LCより高率にHCCを併発する。HCCは全世界で年間約78万人が新規発症しており、全癌種中男性5位、女性9位の発生頻度であり、第2位の死亡率を認めている[11]。本邦においても男性4位、女性5位と死亡率の高い癌腫である[12]。その背景として、以前よりHCV感染由来の発癌が50%以上を占めていたが、近年非B型非C型といわれる脂肪性肝疾患由来の発癌割合が、増加してきている[13]。また、HCCは他の癌腫と同様に、早期に発見され、治療がなされると予後が期待できると報告されている[14]。

HCCの発生は病因、人種、民族、性別、年齢、地域によって異なる[15]。しかし線維化の存在は最も重要で、慢性肝疾患（CLD）に共通したHCCのリスク因子であることが報告されている[16,17,18]。そのため肝線維化を定量的かつ正確に評価することが、HCCを早期に発見するため必要となる。肝線維化の進展を発見し、評価するために、血液学的検査では、ヒアルロン酸、4型コラーゲン7S、Ⅲ型プロコラーゲンN末端ペプチド(P-III-P)、M2BPGiが、肝線維化と相関するマーカーとして保険収載されている。これまで経皮的肝針生検が、肝線維化診断のゴールドスタンダードとされてきた。しかし、経皮的針肝生検は、技術的問題、禁忌症例、出血、感染やショック等合併症が存在する手技であり[19]、またその病理学的診断の精度や再現性に問題があることがわかっている。腹部超音波検査（US）は、日常診療においてCLDを評価する、最も一般的な方法として世界中で用いられている。USは、非侵襲的でありコスト面で優れているが、質的診断能、客観性、定量的評価に限界があるなどの問題がある。

近年、非侵襲的に肝線維化評価を行う目的でFibroScan（Echosens, Paris, France)が開発され、本邦でも2011年より保険収載された。測定原理は、体表からプローブより発生された剪断波の伝搬による肝臓の変位により、肝線維化を評価する。同時に、剪断波の肝臓内における減衰速度より、肝臓に沈着した脂肪量の定量も可能である。測定された肝弾性度（liver stiffness measurement(LSM)）はkPaで、脂肪量はControlled attenuation parameter（CAP）としてdB/mで測定される。LSMはC型慢性肝炎[20]、B型慢性肝炎[21]、NAFLD[22]において肝生検による肝線維化の評価と相関することが示されている。また、肝生検による肝脂肪量とCAP値が、相関関係であることも報告されている[23,24]。

本研究では、LSM と CAP を用いて、慢性 C 型肝炎患者、慢性 B 型肝炎患者、NAFLD 患者における HCC 発症のリスクを割り出し、高リスク群の囲い込みを行うことが可能か検討することとした。

その結果、LSM や CAP の HCC を予測・診断するためのカットオフ値は、各病因や HCC の状況（初発または既往含む）により異なることが示された。また、HCC 発生を予測・診断する LSM と CAP のカットオフ値算出は、CLD 患者の HCC 発生リスクを評価する日常診療においても使用可能な指標となりうる事が示された。

略 語 表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである

AFP	α-fetoprotein
Alb	albumin
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
AUC	area under the curve
BMI	body mass index
CAP	controlled attenuation parameter
Chi-Sq	chi-squared test
CLD	chronic liver disease
CT	computed tomography
DAAs	direct-acting antivirals
dB	decibels
DM	diabetes mellitus
Gd-EOB-DTPA	gadolinium ethoxybenzyl diethlenetriamine pentaacetic acid
HBsAg	hepatitis B surface antigen
HBV	hepatitis B virus
HCC	hepatocellular carcinoma
HCV	hepatitis C virus
IFN	interferon
kPa	kilopascals
LC	liver cirrhosis
LSM	liver stiffness measurement
M2BPGi	Wisteria floribunda agglutinin positive Mac-2 binding protein glycan isomer
MRI	magnetic resonance imaging
NAFL	non-alcoholic fatty liver
NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease
NASH	non-alcoholic steatohepatitis
No.	number
P-3-P	type III procollagen-N-peptide
Plt	platelet count
ROC	receiver-operator characteristic

SVR sustained virological response
T-Bil total bilirubin
US ultrasonography
γ-GT γ-glutamyl transpeptidase.

研 究 方 法

1.患者

患者は2012年1月から2017年8月まで、北海道大学病院、JCHO北海道病院においてFibroScanを用いてLSMとCAPを測定したCLD患者を対象とした。調査期間において1,520人のCLD患者がFibroScanを実施され、そのうちアルコール、自己免疫性肝疾患、薬剤性肝障害、うっ血などの他の原因を有する396人の患者を除外した1,124人、HCV群（124例のウイルス学的著効[SVR]を含む）453症例、HBV群407例、およびNAFLD群264例を解析した。それぞれの患者群は以下のように定義した。HCV群はHCV抗体陽性患者、HBV群はB型肝炎表面抗原（HBsAg）陽性患者、NAFLD群はHBs抗原陰性、HCV抗体陰性、抗核抗体陰性、抗ミトコンドリア抗体陰性の全てを満たし、腹部超音波検査にて肝腎コントラスト所見、深部超音波の減衰、肝内構造の描出不良、肝臓の脂肪沈着所見のいずれか1つ以上を認める患者とした。

HCC症例には、初発例およびHCCの既往を有する患者が存在しており、CLDを有する1,124例のうち、158例はHCC発症例であった。HCCが発症していない患者である966症例は、その後の追跡調査を腹部超音波検査、造影computed tomography（CT）検査またはガドキセト酸ナトリウム（Gd-EOB-DTPA）造影磁気共鳴画像法（MRI）を3～6ヶ月ごとに施行した。 HCCは、造影CT（動脈造影およびCT断層動脈造影を含む）および造影MRIによる動脈相におけるコントラスト増強、および平衡相におけるコントラストの減弱というHCCに特徴的な所見、ならびに肝腫瘍生検による組織像において診断された。

なお、本研究は、北海道大学病院倫理委員会（IRB017-0079）およびJCHO北海道病院（IRB2017-23）の倫理委員会の承認を得て行われ、研究参加に際しては書面による同意が得られた症例を対象とした。この研究は、UMIN000029437としてUMIN臨床試験に、登録されている。

2.肝弾性度およびCAP測定

LSMおよびCAP測定は、FibroScan502（Echosens, Paris, France）を用いて行われた。測定には、Mプローブと XLプローブを使用した。患者は仰臥位となり右上肢を挙上した姿勢となり、右肋間走査にて測定を受けた。 60%以上の有効測定と30%未満の四分位範囲で少なくとも10回の有効測定が得られた場合、その測定は有効と定義され、測定の結果として中央値が採用された。

3.分析方法

肝疾患の各群（HCV群、HBV群、NAFLD群）において、HCC症例、非HCC症例で、患

者背景、血液学的データおよびLSMおよびCAPを比較検討した。次に、各群においてHCC 発症を予測・診断するため LSM と CAP のカットオフ値を receiver-operator characteristics (ROC) curve 分析を用いて算出し、患者背景、血液学的データとともに、HCC 発症に関するリスク因子を検討するため統計学的解析を行った。登録時に HCC を発症していない966人の患者は、検査日を0日目と定義し、前向き研究のために追跡調査を行った。

4.統計解析

カテゴリーデータは、χ2検定およびフィッシャー検定によって解析した。数値データは、Wilcoxon 検定で解析した。 カットオフ値は、ROC 曲線分析において、Youden の指標が最大となるよう算出した。HCC 発症と関連する因子を検討するため、多重ロジスティックス回帰分析を行った。単変量解析において有意であった要素を、ステップワイズ法にて選別し、多変量解析を行った。非発癌症例からの累積発癌率は、Kaplan-Meier 法にて検討した。統計解析には、解析ソフトである JMP(v11.2.0 software package, SAS Institute Inc.,Cary,NC,USA)を使用した。

研　究　結　果

Ⅰ.HCC 初発例の解析

調査期間において 1,520 人の CLD 患者が、北海道大学病院と JCHO 北海道病院で FibroScan を実施された。 そのうちアルコール、自己免疫性肝疾患、薬剤性肝障害、うっ血などの他の原因を有する 396 人の患者を除外した後、初発 HCC 患者を含む患者群を分析した。初発 HCC は、Fibroscan 実施時に初発 HCC が存在している症例と定義し、既往症例は除外した。分析には、1,054 人の CLD 患者が含まれていた。対照群は各群の HCC の発症がない CLD 患者とした。HCV 群は初発 HCC 32 例を含む 419 例、HBV 群は初発 HCC 23 例を含む 377 例、NAFLD 群は初発 HCC 33 例を含む 258 例であった。

1.患者背景

HCV 群の LSM 中央値は、HCC 症例 18.4kPa、非 HCC 症例 6.1kPa と有意に HCC 症例で上昇していた。CAP の中央値は HCC 症例 193dB/m、非 HCC 症例 219dB/m であり HCC 症例で有意に低下していた。HBV 群の LSM 中央値は、HCC 症例 9.9kPa、非 HCC 症例 4.3kPa であり、HCC 症例で有意に上昇を認めた。CAP の中央値は、HCC 症例 225dB/m、非 HCC 症例 223dB/m と有意差を認めなかった。NAFLD 群の LSM 中央値は、HCC 症例 10.8kPa、非 HCC 症例 6.8kPa であり、HCC 症例で有意な上昇を認めた。CAP の中央値は、それぞれ 242dB/m、289dB/m であり HCC 症例で有意に低下していた。その他臨床データは、HCV 群で HCC 症例には男性が多く、年齢、AST、ALT、γ-GT、4 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、M2BPGi、AFP、糖尿病合併、高血圧合併が有意に増加していたが、血小板 (Plt)、血清アルブミン (Alb)、sustained virological response (SVR) 率は、有意に減少していた。HBV 群では、HCC 症例で男性の比率が高く、年齢、AST、ALT、γ-GT、ヒアルロン酸、AFP、高血圧合併、核酸アナログ製剤治療症例が有意に高値であったが、Plt、Alb は、有意に減少していた。NAFLD 群では年齢、γ-GT、4 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、AFP、糖尿病、高血圧合併症例 HCC 症例で有意に高かったが、Plt、Alb、BMI は有意に低下していた (表 1)。

表1. 患者背景

因子	HCV群 (n=419)			HBV群 (n=377)			NAFLD群 (n=258)		
	HCC (+) (n=32)	HCC (-) (n=387)	P	HCC(+) (n=23)	HCC(-) (n=354)	P	HCC(+) (n=33)	HCC(-) (n=225)	P
年齢 (歳)	73 (53-88)	63 (17-88)	0.0004	67 (60-88)	60 (19-89)	<0.0001	74 (39-94)	57 (16-87)	<0.0001
性別 (男/女)	23/9	186/201	0.0275	17/6	189/165	0.0287	21/12	117/108	0.2629
Plt(10^4/L)	11.7 (4.4-24.6)	16.8 (0.6-78.4)	0.0001	16.0 (4.4-25.4)	19.5 (2.6-69.0)	0.0010	17.3 (7.1-48.9)	20.9 (6.4-48.1)	0.0082
Alb (g/dL)	3.7 (2.7-4.7)	4.2 (2.6-5.5)	<0.0001	4.2 (2.1-4.8)	4.4 (1.9-5.7)	0.0335	3.8 (3.1-4.7)	4.4 (2.8-5.6)	<0.0001
T-Bil (mg/dL)	0.9 (0.3-3.8)	0.7 (0.1-12.0)	0.1195	0.9 (0.5-2.7)	0.8 (0.1-4.9)	0.1558	0.8 (0.4-31.6)	0.8 (0.1-2.4)	0.7296
AST (IU/L)	50 (18-189)	32 (9-221)	0.0006	40 (22-210)	24 (5-604)	<0.0001	44 (12-114)	37 (14-295)	0.4132
ALT (IU/L)	46 (14-155)	30 (6-347)	0.0038	29 (13-159)	20 (4-544)	0.0002	37 (10-189)	44 (7-410)	0.0771
γ-GT (IU/L)	41 (16-398	26 (7-641)	0.0008	45 (17-684)	21 (7-629)	<0.0001	74 (18-666)	58 (12-530)	0.0307
4型コラーゲン7S (ng/mL)	7.7 (2.8-16.0)	4.6 (2.5-16.7)	0.0007	4.8 (2.2-9.8)	3.9 (2.5-15.5)	0.0821	5.7 (3.8-13.9)	4.5 (2.7-16.8)	0.0130
ヒアルロン酸 (ng/mL)	324.5 (38.0-2730.0)	87.3 (10.0-2610.0)	<0.0001	65.6 (19.1-449.0)	38.9 (10.0-342.0)	0.0036	78.6 (27.5-508.0)	45.8 (10.0-2287.9)	0.0358
M2BPGi (C.O.I)	4.85 (0.56-14.30)	1.28 (0.21-20.00)	0.0114	1.20 (0.60-3.17)	0.68 (0.16-7.33)	0.1000	1.0 (0.69-3.44)	0.79 (0.33-6.00)	0.3136
AFP (ng/mL)	14.4 (2.3-45501.0)	4.0 (1.0-243.5)	<0.0001	4.5 (1.0-96.9)	2.7 (1.0-131.7)	<0.0001	6.0 (0.7-101388.5)	3.3 (1.4-336.8)	0.0007
LSM (kPa)	18.7 (5.1-75.0)	6.1 (2.3-45.0)	<0.0001	9.9 (3.3-75.0)	4.3 (1.9-31.6)	<0.0001	10.8 (4.3-75.0)	6.8 (2.6-75.0)	0.0002
CAP (dB/m)	193 (100-293)	219 (100-397)	0.0047	225 (100-351)	223 (100-396)	0.8427	242 (130-353)	289 (100-400)	<0.0001
糖尿病	11 (34.4%)	53 (13.7%)	0.0042	5 (21.7%)	42 (11.9%)	0.1862	23 (59.0%)	89 (39.6%)	0.0013
高血圧	16 (50%)	104 (26.9%)	0.0079	12 (52.2%)	61 (17.2%)	0.0003	26 (66.7%)	63(28.0%)	<0.0001
高脂血症	2 (6.3%)	43 (11.1%)	0.5576	3 (13%)	55 (15.5%)	1.0000	13 (33.3%)	92 (40.9%)	1.0000
BMI	23.6 (15.8-28.6)	22.5 (15.3-36.4)	0.1397	23.5 (13.6-30.5)	22.1 (13.3-33.2)	0.2509	23.7 (18.3-36.1)	27.5 (13.7-38.6)	<0.0001
IFN治療歴	11 (34.4%)	169 (43.7%)	0.3559	-	-		-	-	-
SVR	3 (9.3%)	110 (28.4%)	0.0212	-	-		-	-	-
核酸アナログ治療歴	-	-	-	16 (69.6%)	162(45.8%)	0.0313	-	-	-
HBV-DNA >4 log copies/mL	-	-	-	6 (26.1%)	75 (21.2%)	0.4136	-	-	-

中央値 (範囲)

-、非該当

2. カットオフ値の算出

ROC 曲線を用いて、初発 HCC 発生を予測・診断する LSM、CAP のカットオフ値を算出した。LSM のカットオフ値は、HCV 群では 8.0kPa より高値、HBV 群では 6.2kPa より高値、NAFLD 群では 5.4kPa より高値であった。CAP の HCC 発生を予測・診断するカットオフ値は、HCV 群では 221dB/m 未満、HBV 患者では 309dB/m 未満、NAFLD 患者では 265dB/m 未満であった。CAP のカットオフ値は、HCV 群と NAFLD 群において統計学的に有意であったが、HBV 群では有意ではなかった（表 2）。

表 2. 初発 HCC 発症に関する各群における LSM と CAP のカットオフ値

	HCV 群 (total=419, HCC=32)		HBV 群 (total=377, HCC=23)		NAFLD 群 (total=258, HCC=33)	
	LSM (kPa)	CAP (dB/m)	LSM (kPa)	CAP (dB/m)	LSM (kPa)	CAP (dB/m)
Chi-Sq	<0.0001	0.0082	<0.0001	0.8154	0.0069	<0.0001
AUC	0.80592	0.65044	0.79520	0.51240	0.69778	0.73556
Cutoff value	>8.0	<221	>6.2	<309	>5.4	<265

Chi-Sq, chi-squared test. AUC, area under the curve

各グループの患者の散布図、LSM および CAP のカットオフ値により区分した患者比率の分布を図 1～図 6 に示した。

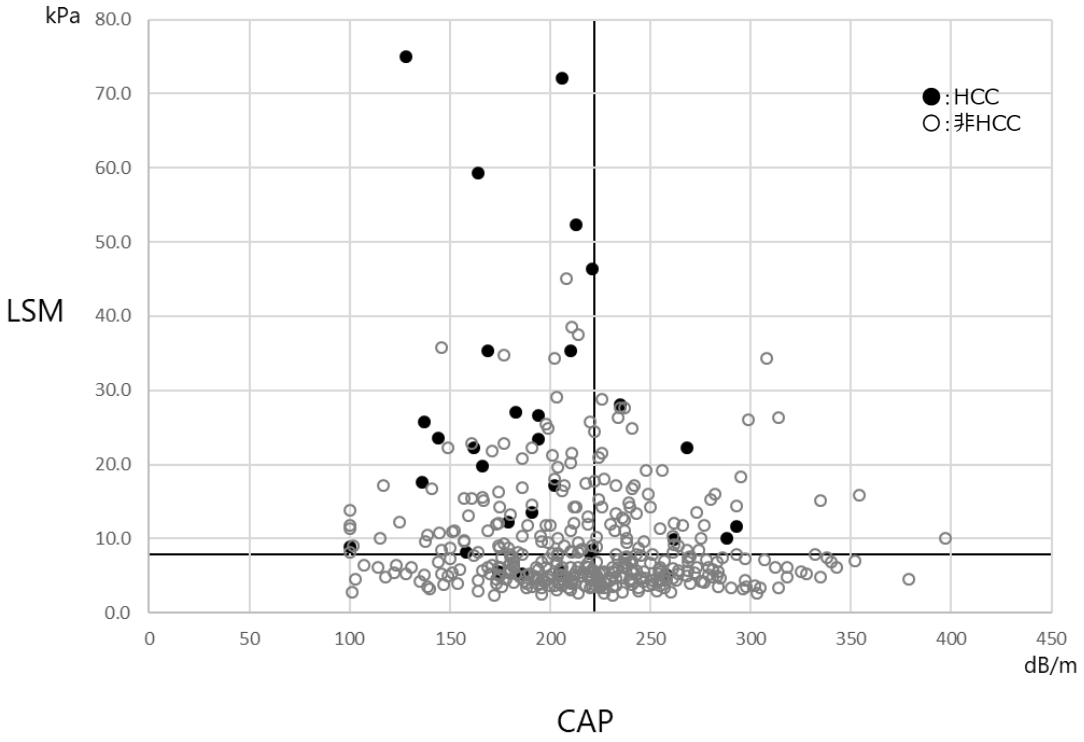


図 1. HCV 群患者における LSM と CAP による初発 HCC 患者の分布

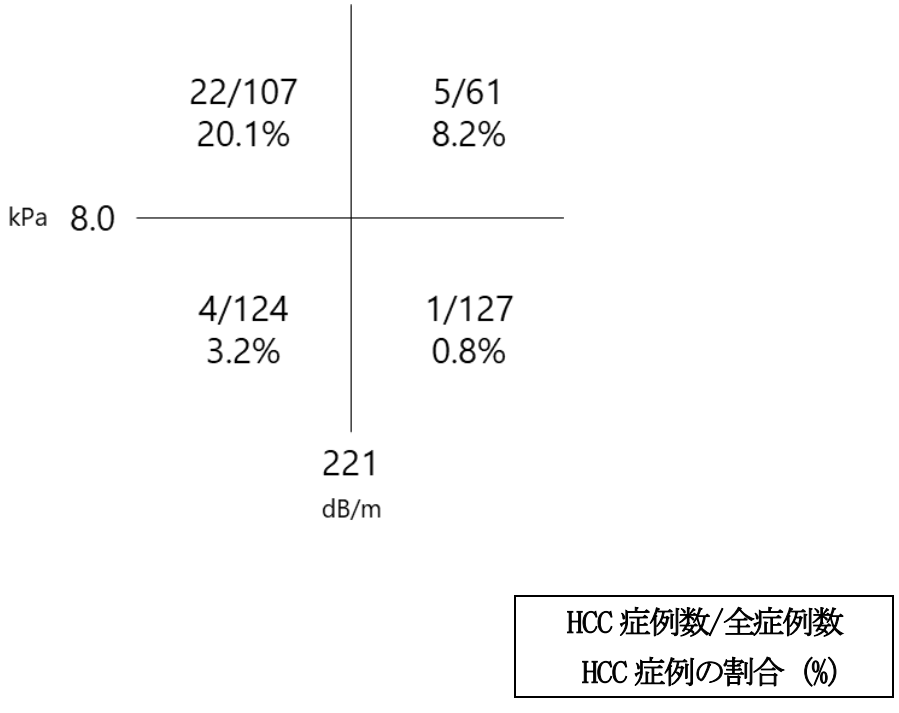


図 2. LSM と CAP のカットオフ値による HCV 群患者の HCC 割合

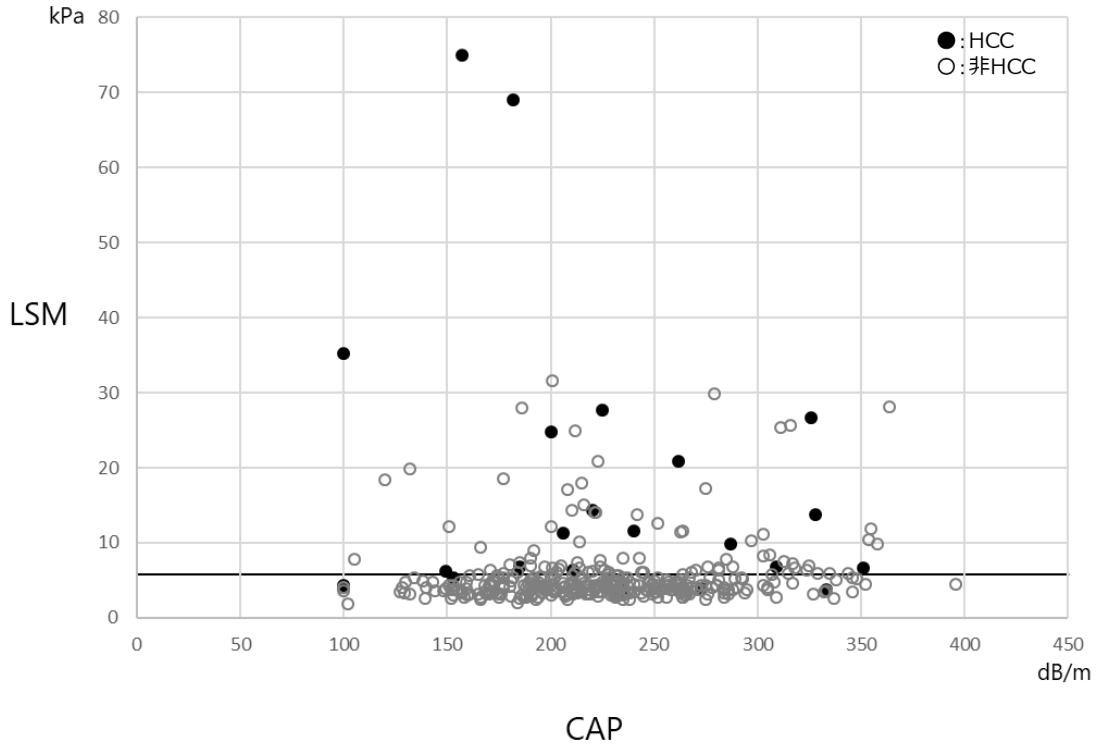


図 3. HBV 群患者における LSM と CAP による初発 HCC 患者の分布

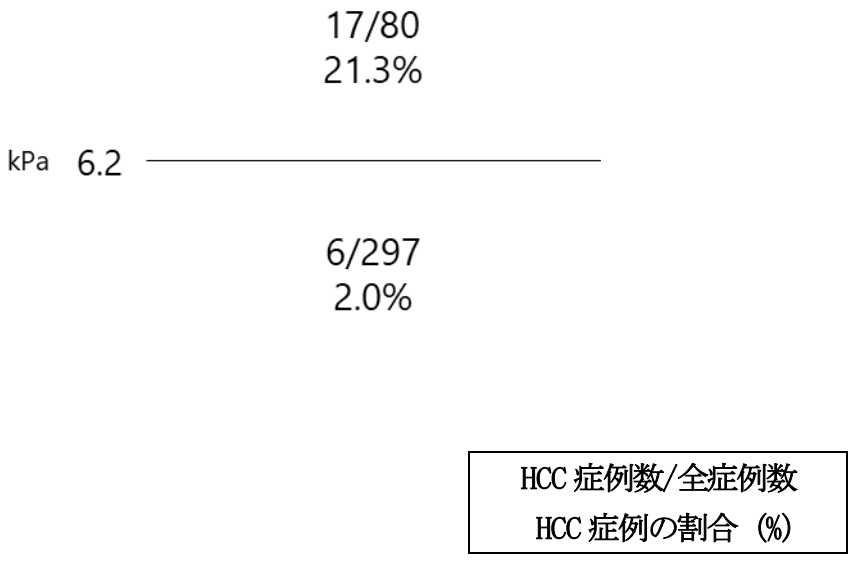


図 4. LSM と CAP のカットオフ値による HBV 群患者の HCC 割合

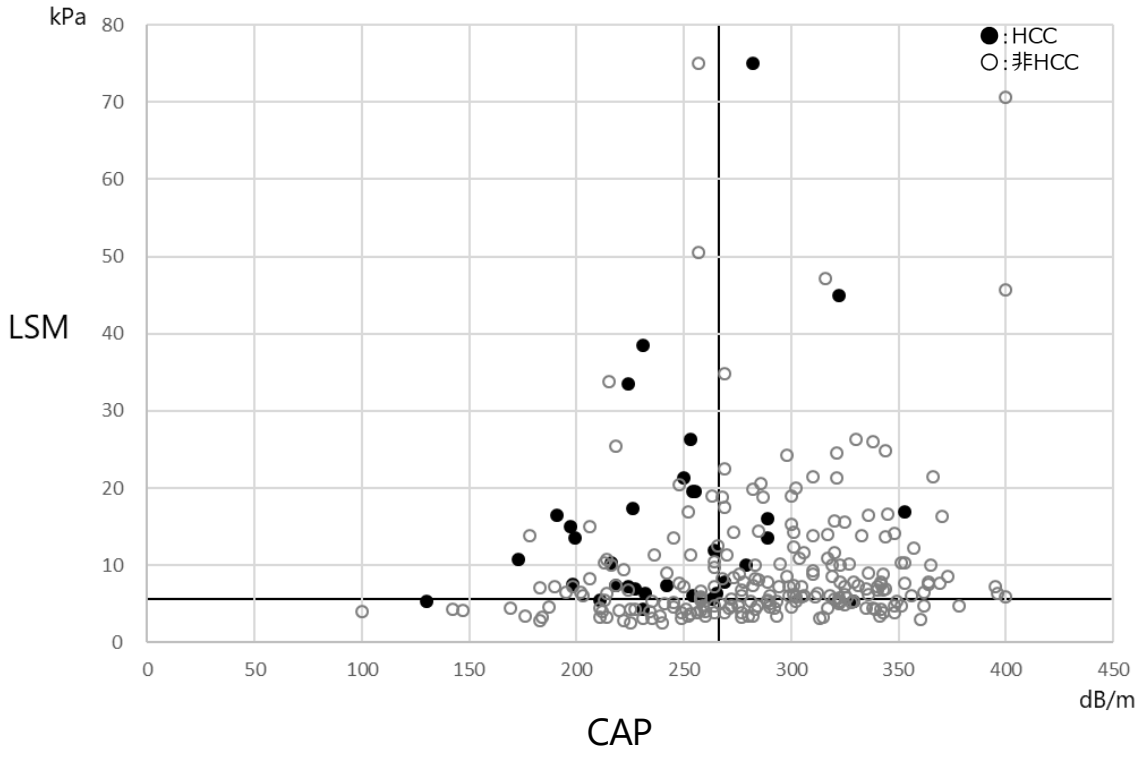


図 5. NAFLD 群患者における LSM と CAP による初発 HCC 患者の分布

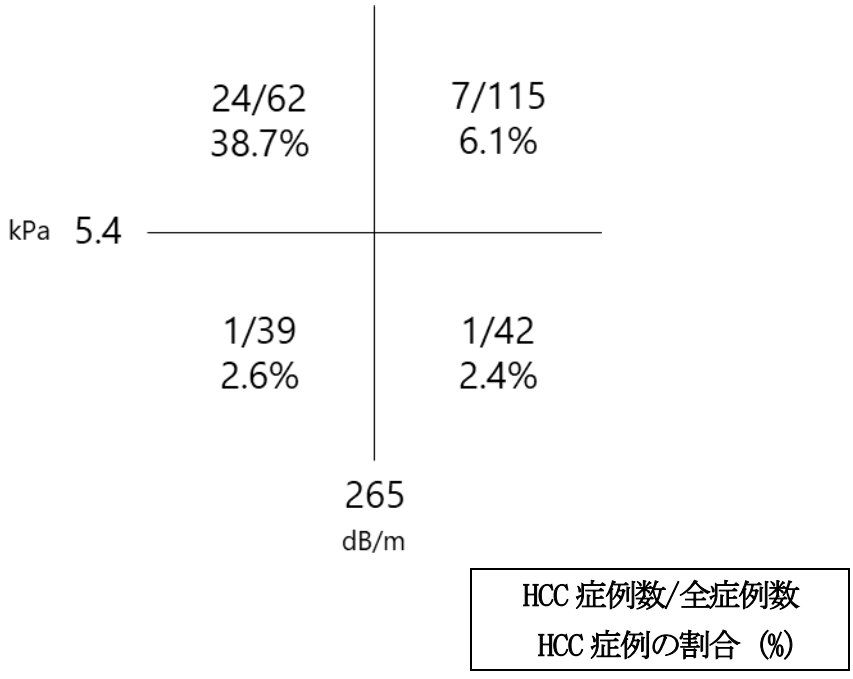


図 6. LSM と CAP のカットオフ値による NAFLD 群患者の HCC 割合

3. 初発 HCC 発症のリスク因子解析

単変量解析では HCV 群、HBV 群、NAFLD 群それぞれで LSM が上昇すると、オッズ比の上昇を認めた。一方、CAP は測定値が低下すると、HBV 群以外の HCV 群と NAFLD 群でオッズ比の上昇を認めた（表 3)。

表3. 初発HCC発症のリスク因子の単変量解析

因子	HCV群 (n=419)			HBV群 (n=377)			NAFLD群 (n=258)		
	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P
年齢 (歳)	1.06	1.03-1.11	0.0001	1.08	1.04-1.13	<0.0001	1.11	1.07-1.16	<0.0001
性別 (男/女)	2.38	1.12-5.37	0.023	3.14	1.22-9.68	0.0161	1.62	0.77-3.53	0.2074
Plt(10^4/L)	0.88	0.82-0.94	0.0001	0.86	0.79-0.93	0.0001	0.96	0.91-1.01	0.0877
Alb (g/dL)	0.12	0.05-0.25	<0.0001	0.27	0.12-0.57	0.0010	0.08	0.03-0.20	<0.0001
T-Bil (mg/dL)	1.10	0.67-1.48	0.6097	1.65	0.72-3.30	0.2124	1.24	1.01-3.08	0.0410
AST (IU/L)	1.01	1.01-1.02	0.0023	1.01	1.00-1.01	0.0760	1.00	0.99-1.01	0.8645
ALT (IU/L)	1.00	1.00-1.01	0.1669	1.00	1.00-1.01	0.2271	0.99	0.98-1.00	0.0323
γ-GT (IU/L)	1.00	1.00-1.01	0.0296	1.01	1.00-1.01	0.0003	1.00	1.00-1.01	0.0158
4型コラーゲン7S (ng/mL)	1.28	1.12-1.46	0.0005	1.24	0.91-1.61	0.1472	1.16	0.97-1.37	0.0984
ヒアルロン酸 (ng/mL)	1.00	1.00-1.00	0.0013	1.01	1.00-1.02	0.0013	1.00	1.00-1.00	0.9680
M2BPGi (C.O.I)	1.20	1.05-1.37	0.0097	1.40	0.61-2.33	0.3319	1.09	0.51-1.80	0.7786
AFP (ng/mL)	1.02	1.01-1.04	<0.0001	1.04	1.02-1.07	0.0006	1.01	1.00-1.02	<0.0001
LSM (kPa) > カットオフ値 ‡	9.42	3.85-28.28	<0.0001	13.09	5.21-37.49	<0.0001	8.39	2.45-52.63	0.0002
CAP (dB/m) < カットオフ値¶	3.85	1.65-10.52	0.0012	-	-	-	6.13	2.74-15.11	<0.0001
LSM (kPa) > カットオフ値 & CAP (dB/m) < カットオフ値	7.82	3.65-17.86	<0.0001	-	-	-	13.12	5.84-31.94	<0.0001
糖尿病	3.30	1.46-7.12	0.0050	2.06	0.65-5.49	0.1991	3.51	1.64-8.06	0.0011
高血圧	2.72	1.31-5.67	0.0079	5.24	2.20-12.61	0.0003	9.55	4.15-24.89	<0.0001
高脂血症	0.53	0.08-1.85	0.3611	0.82	0.19-2.48	0.7430	0.94	0.44-1.97	0.8701
糖尿病 + 高血圧	2.96	1.03-7.39	0.0437	6.75	2.01-19.92	0.0034	7.37	3.41-16.34	<0.0001
BMI	1.05	0.95-1.15	0.3534	1.05	0.94-1.18	0.3510	0.83	0.75-0.92	0.0001
IFN治療歴	0.68	0.31-1.41	0.3025	-	-	-	-	-	-
SVR	0.26	0.06-0.75	0.0103	-	-	-	-	-	-
核酸アナログ治療歴	-	-	-	2.71	1.13-7.20	0.0255	-	-	-
HBV-DNA >4 log copies/mL	-	-	-	1.52	0.53-3.84	0.4160	-	-	-

‡ LSMカットオフ値 HCV 群 8.0 kP、HBV 群 6.2 kPa、NAFLD群 5.4 kPa
¶CAPカットオフ値 HCV群 221 dB/m、NAFLD群 265 dB/m
-、非該当

その他、単変量解析にて有意差を示した因子をステップワイズ法にて順位付けし、初発 HCC 発症に関するリスク因子を多変量解析にて検討した。

HCV 群では、LSM が 8.0kPa より高値でオッズ比が 4.06 と有意に上昇し、CAP が 221dB/m 未満でオッズ比が 2.80 と有意に上昇した。Alb 低値、AFP 高値も有意なリスク因子であった（表 4)。

表 4. HCC 発症のリスク因子解析（HCV 群）： 多変量解析

因子	All (n=419), HCC (n=32)		
	OR	95% CI	P
Alb (g/dL)	0.36	0.14-0.89	0.0276
AFP (ng/mL)	1.01	1.00-1.03	0.0003
LSM (kPa) > 8.0kPa	4.06	1.46-13.19	0.0066
CAP (dB/m) < 221dB/m	2.80	1.07-8.81	0.0355

HBV 群では、LSM が 6.2kPa より高値でオッズ比が 11.22 と有意に上昇するという結果であった。加齢も有意に単位オッズ比の上昇を認め、Plt 増加で単位オッズ比が、低下する傾向にあった。(表 5)

表 5. HCC 発症のリスク因子解析（HBV 群）： 多変量解析

因子	All (n=377), HCC (n=23)		
	OR	95% CI	P
年齢 (歳)	1.08	1.04-1.14	0.0002
Plt (10^4/L)	0.95	0.87-1.02	0.1549
LSM (kPa) > 6.2kPa	11.22	4.10-34.49	<0.0001

NAFLD 群では、LSM が 5.4kPa より高値でオッズ比が 7.53 と有意に上昇し、CAP が 265dB/m 未満でオッズ比が 4.56 と有意に上昇した。また Alb 低値、高血圧合併で、オッズ比の有意な変動を認めた（表 6)。

表 6. HCC 発症のリスク因子解析（NAFLD 群）： 多変量解

因子	All (n=258), HCC (n=33)		
	OR	95% CI	P
Alb (g/dL)	0.20	0.07-0.56	0.0020
LSM (kPa) > 5.4kPa	7.53	1.97-49.81	0.0018
CAP (dB/m) < 265dB/m	4.56	1.80-12.46	0.0012
高血圧	6.25	2.46-17.66	<0.0001

初発 HCC 患者においては LSM 上昇で、HCC 発症リスクが高まることが示された。また HBV 群を除く 2 群では、CAP 低下で HCC 発症リスクが高まるという結果であった。

Ⅱ. HCC 全症例の解析

初発例、既往例、再発例を含む HCC 全症例についても前項Ⅰと同様に解析を行った。HCV 群は発癌 66 症例含む 453 症例、HBV 群は発癌 53 症例含む 407 例、および NAFLD 群は発癌 39 症例含む 264 例であった

1. 患者背景

HCV 群の LSM 中央値は、HCC 症例 14.6kPa、非 HCC 症例 6.1kPa と有意に HCC 症例で上昇していた。CAP の中央値は、HCC 症例 202dB/m、非 HCC 症例 219dB/m であり HCC 症例で有意に低下していた。HBV 群の LSM 中央値は、HCC 症例 10.2kPa、非 HCC 症例 4.3kPa であり、有意に HCC 症例で上昇を認めた。CAP の中央値は、HCC 例 220dB/m、非 HCC 例 223dB/m と有意差を認めなかった。NAFLD 群では、LSM 中央値は HCC 症例 11.6kPa、非 HCC 症例 6.8kPa であり、HCC 症例で有意な上昇を認めた。CAP の中央値はそれぞれ 239dB/m、289dB/m であり HCC 症例で有意に減少している結果であった。その他の臨床データは、HCV 群では HCC 症例には男性が多く、年齢、総ビリルビン（T-Bil）、AST、ALT、γ-GT、4 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、M2BPGi、AFP、糖尿病合併、高血圧合併が有意に増加し、Plt、Alb は有意に減少していた。HBV 群では、HCC 症例で男性の比率が高く、年齢、T-Bil、AST、ALT、γ-GT、4 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、AFP、高血圧合併、核酸アナログ製剤治療症例の割合が、有意に高値であった。Plt、Alb は有意に減少していた。NAFLD 群では、年齢、ALT、4 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、AFP、糖尿病合併、高血圧合併が、HCC を有する症例で有意に高かったが、Plt、Alb、BMI は有意に低下していた。（表 7）

表7. 患者背景

因子	HCV群 (n=453)			HBV群s (n=407)			NAFLD群 (n=264)		
	HCC (+) (n=66)	HCC (-) (n=387)	P	HCC(+) (n=53)	HCC(-) (n=354)	P	HCC(+) (n=39)	HCC(-) (n=225)	P
年齢 (歳)	74 (53-88)	63 (17-88)	<0.0001	66(37-88)	60(19-89)	<0.0001*	73(39-94)	57 (16-87)	<0.0001
性別 (男/女)	38/28	186/201	0.2344	39/14	189/165	0.0072	26/13	117/108	0.1168
Plt(10^4/L)	11.3 (3.2-35.5)	16.8 (0.6-78.4)	<0.0001	13.9(3.2-27.7)	19.5(2.6-69)	<0.0001	16.0 (7.1-48.9)	20.9 (6.4-48.1)	0.0006
Alb (g/dL)	3.7 (2.6-4.7)	4.2 (2.6-5.5)	<0.0001	4.2(2.1-5.0)	4.4(1.9-5.7)	0.0383	3.8 (3.1-4.7)	4.4 (2.8-5.6)	<0.0001
T-Bil (mg/dL)	0.9 (0.3-4.2)	0.7 (0.1-12.0)	0.0208	1.0(0.5-4.1)	0.8(0.1-4.9)	0.0001	0.9 (0.4-31.6)	0.8 (0.1-2.4)	0.1986
AST (IU/L)	44 (18-189)	32 (9-221)	0.0002	30(13-210)	24(5-604)	<0.0001	44 (12-126)	37 (14-295)	0.4344
ALT (IU/L)	37 (12-155)	30 (6-347)	0.0665	26(8-166)	20(4-544)	0.0209	37 (10-189)	44 (7-410)	0.0432
γ-GT (IU/L)	37 (11-398)	26 (7-641)	0.0007	38(11-1852)	21(7-629)	<0.0001	74 (18-666)	58 (12-530)	0.0593
4型コラーゲン７S (ng/mL)	7.2 (2.5-16.0)	4.6 (2.5-16.7)	<0.0001	4.9(2.1-9.8)	3.9(2.5-15.5)	0.0019	5.5 (3.2-13.9)	4.5 (2.7-16.8)	0.0295
ヒアルロン酸 (ng/mL)	296.0 (38.0-2730.0)	87.0 (10.0-2610.0)	<0.0001	76.9(19.1-449.0)	38.9(10.0-342.0)	<0.0001	83.0 (27.5-508.0)	45.8 (10.0-2287.9)	0.0009
M2BPGi (C.O.I)	4.56 (0.53-15.96)	1.28 (0.21-20.00)	<0.0001	0.84(0.55-4.00)	0.68(0.16-7.33)	0.0574	1.20 (0.69-3.44)	0.79 (0.33-6.00)	0.1342
AFP (ng/mL)	11.0 (2.1-45501.0)	4.0 (1.0-243.5)	<0.0001	3.7(1.0-248.8)	2.7(1.0-131.7)	0.0004	5.0 (0.7-101388.5)	3.3 (1.4-336.8)	0.0022
LSM (kPa)	14.6 (3.3-75.0)	6.1 (2.3-45.0)	<0.0001	10.2(3.3-75.0)	4.3(1.9-31.6)	<0.0001	11.6 (4.3-75.0)	6.6 (2.6-75.0)	<0.0001
CAP (dB/m)	202 (100-347)	219 (100-397)	0.0107	220(100-351)	223(100-396)	0.2964	239 (130-353)	289 (100-400)	<0.0001
糖尿病	17 (25.8%)	53 (13.7%)	0.0166	11(20.8%)	42(11.9%)	0.0812	26(66.7%)	89 (39.6%)	0.0026
高血圧	33 (50.0%)	104 (26.9%)	0.0003	22(41.5%)	61(17.2%)	0.0002	28 (71.8%)	63 (28.0%)	<0.0001
高脂血症	3 (4.5%)	43 (11.1%)	0.1237	8(15.1%)	55(15.5%)	1.0000	14 (35.9%)	92 (40.9%)	0.5997
BMI	23.6 (15.7-34.4)	22.5 (15.3-36.4)	0.0629	23.3(13.6-32)	22.1(13.3-33.2)	0.0566	24.3 (18.3-36.1)	27.5 (13.7-38.6)	0.0002
IFN治療歴	27 (40.1%)	169 (43.7%)	0.6896	-	-	-	-	-	-
SVR	14 (21.2%)	110 (28.4%)	0.2954	-	-	-	-	-	-
核酸アナログ治療歴	-	-	-	45(84.9%)	162(45.8%)	<0.0001	-	-	-
HBV-DNA >4 log copies/mL	-	-	-	7(13.5%)	70(19.8)	0.3454	-	-	-

中央値 (範囲)

-、非該当

2. カットオフ値の算出

ROC 曲線を用いて、HCC 発生を予測・診断するため LSM、CAP のカットオフ値を算出した。LSM 値のカットオフ値は、HCV 群で 9.9kPa より高値、HBV 群で 6.2kPa より高値、NAFLD 群で 10.4kPa より高値であった。CAP の HCC 発生に関するカットオフ値は、HCV 群で 221dB/m 未満であり、HBV 患者で 190dB/m 未満であり、NAFLD 患者で 289dB/m 未満であった。CAP のカットオフ値は、HCV 群と NAFLD 群において統計学的に有意であったが、HBV 群では有意ではなかった。(表 8)

表 8. 全 HCC 発症に関する各群における LSM と CAP のカットオフ値

	HCV 群 (total=453, HCC=66)		HBV 群 (total=407, HCC=53)		NAFLD 群 (total=264, HCC=39)	
	LSM (kPa)	CAP (dB/m)	LSM (kPa)	CAP (dB/m)	LSM (kPa)	CAP (dB/m)
Chi-Sq	<0.0001	0.0200	<0.0001	0.2563	0.0018	<0.0001
AUC	0.79663	0.5981	0.81740	0.54448	0.69954	0.73829
Cutoff value	>9.9	<221	>6.2	<190	>10.4	<289

Chi-Sq, chi-squared test. AUC, area under the curve

各グループの患者の散布図、LSM および CAP のカットオフ値により区分した患者比率の分布を図 7～図 12 に示した

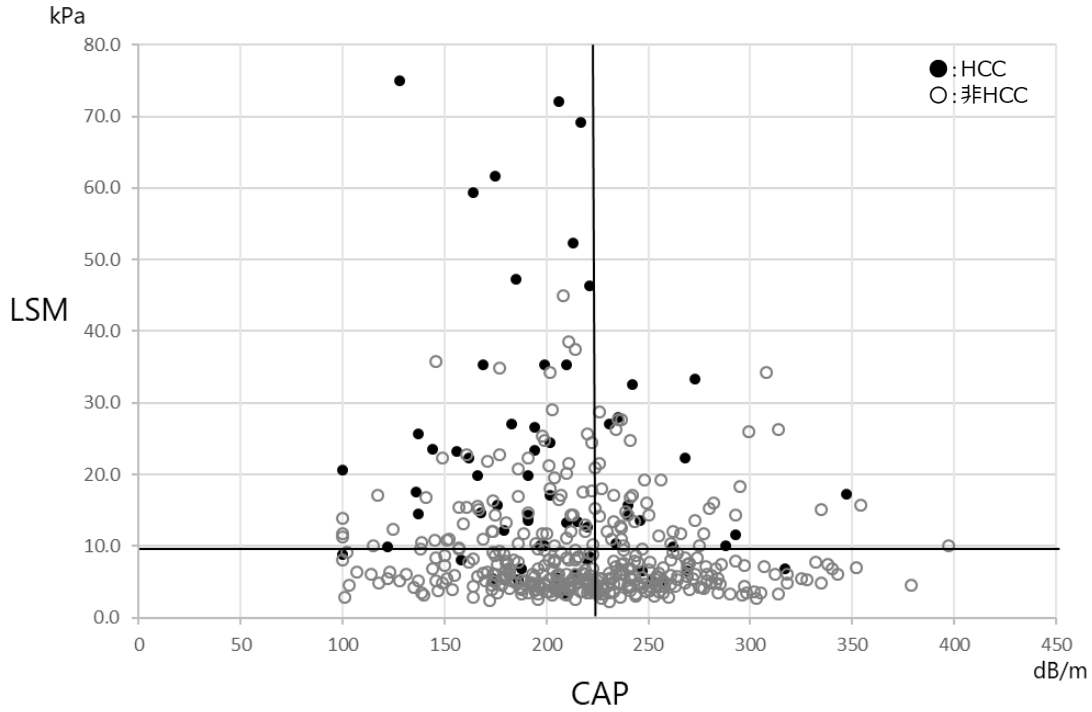


図 7. HCV 群患者における LSM と CAP による全 HCC 患者の分布

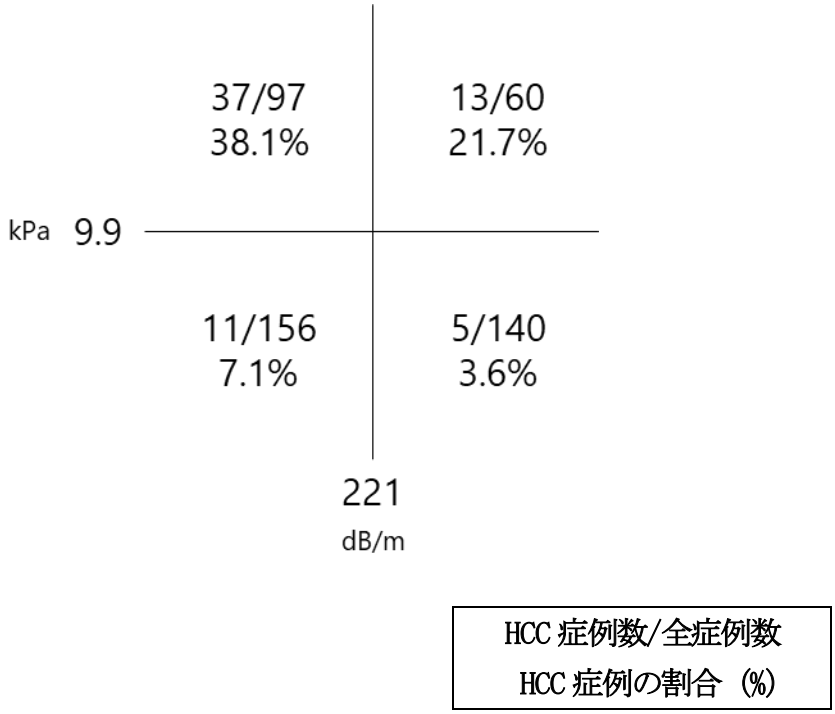


図 8. LSM と CAP のカットオフ値による HCV 群患者の HCC 割合

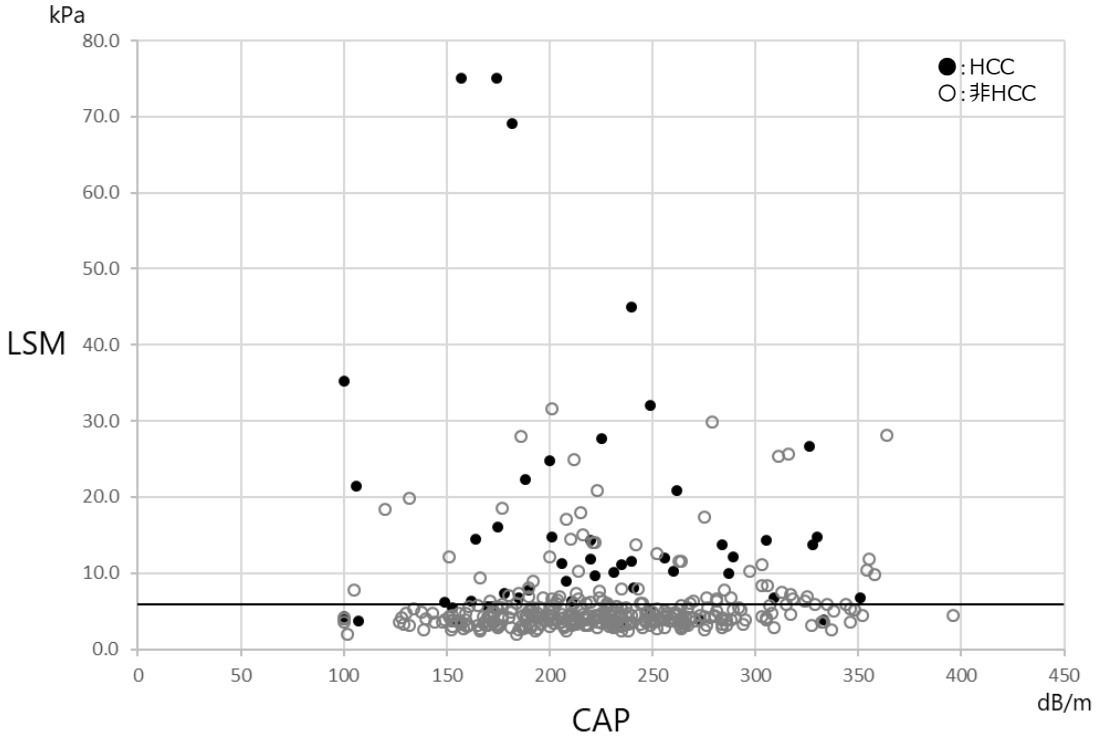


図 9. HBV 群患者における LSM と CAP による全 HCC 患者の分布

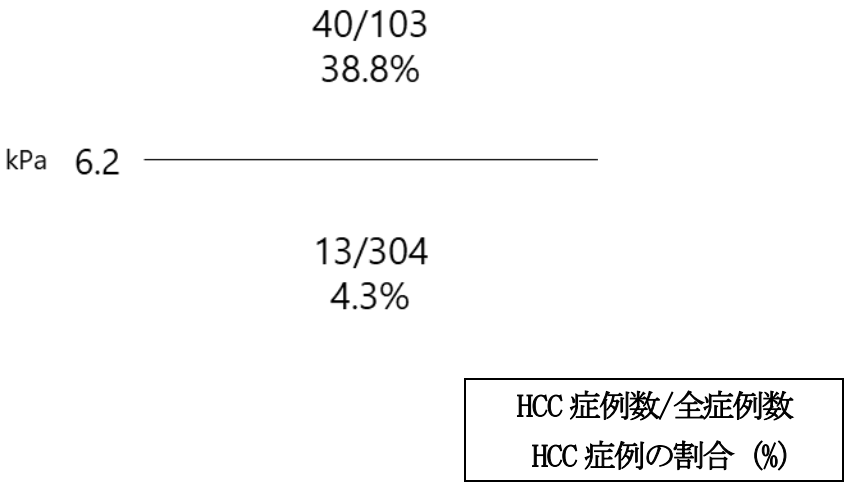


図 10. LSM と CAP のカットオフ値による HBV 群患者の HCC 割合

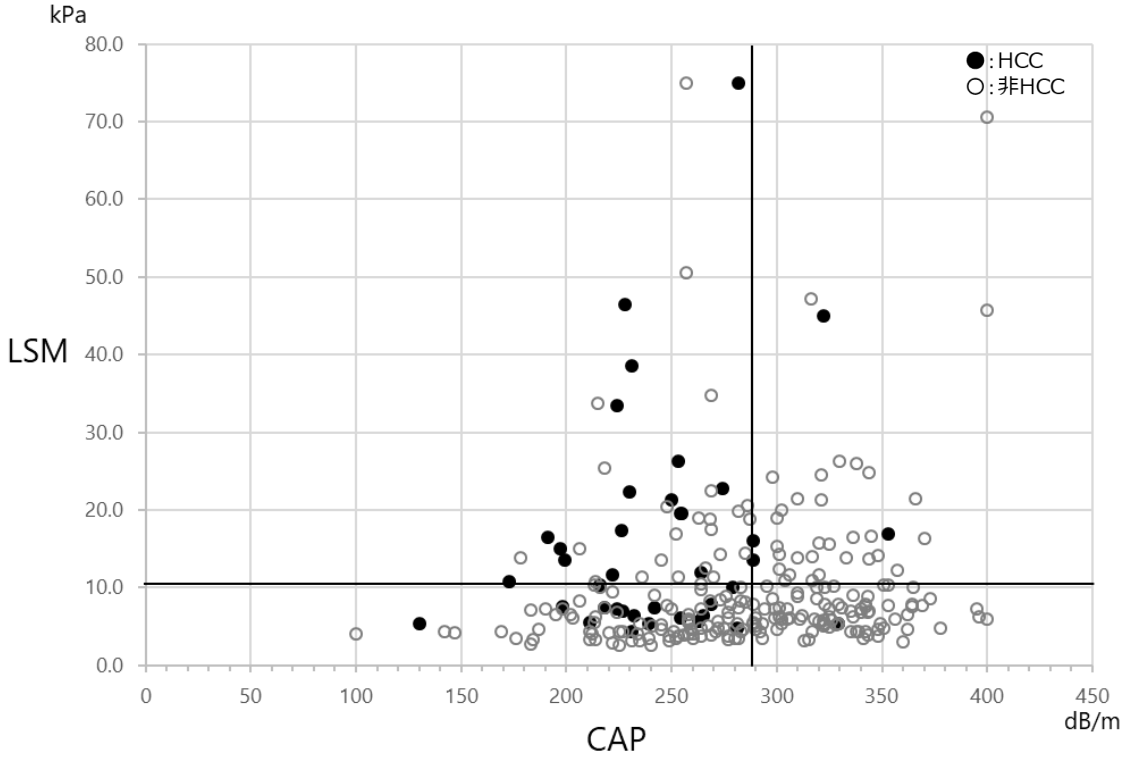


図 11. NAFLD 群患者における LSM と CAP による全 HCC 患者の分布

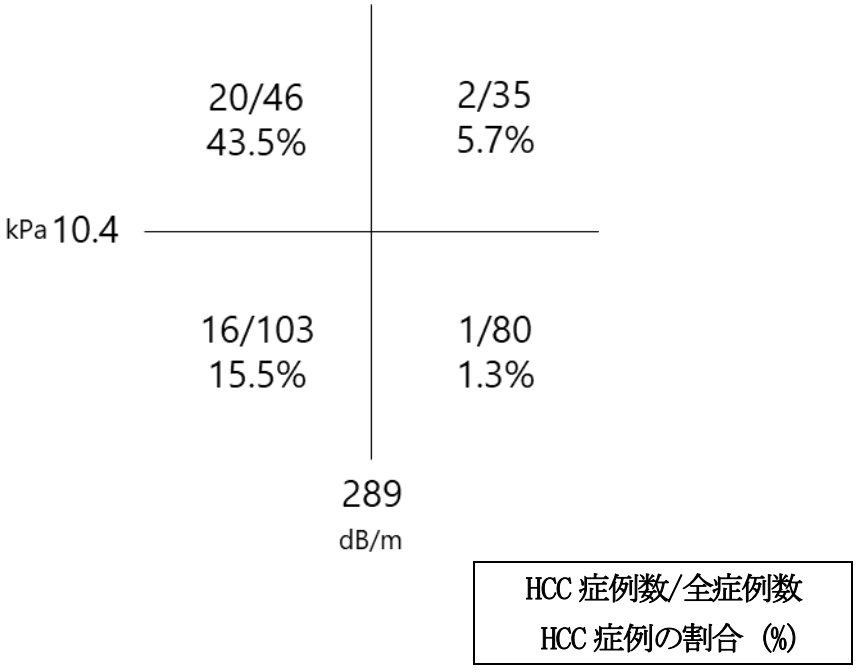


図 12. LSM と CAP のカットオフ値による NAFLD 群患者の HCC 割合

3. HCC 発症のリスク因子解析

単変量解析ではHCV群、HBV群、NAFLD群それぞれでLSMが上昇すると、オッズ比上昇を認めた一方、CAPは測定値が低下すると、HBV群以外のHCV群とNAFLD群でオッズ比の上昇を認めた。(表9)

表9. 全HCC発症に関するリスク因子の単変量解析

因子	HCV patients (n=453)			HBV patients (n=407)			NAFLD patients (n=264)		
	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P
年齢 (歳)	1.08	1.05-1.11	<0.0001	1.06	1.03-1.09	<0.0001	1.11	1.07-1.16	<0.0001
性別 (男/女)	1.38	0.82-2.35	0.2293	2.43	1.30-4.78	0.0047	1.85	0.92-3.88	0.0863
Plt(10^4/L)	0.87	0.83-0.92	<0.0001	0.83	0.78-0.88	<0.0001	0.94	0.89-0.99	0.0097
Alb (g/dL)	0.13	0.07-0.24	<0.0001	0.39	0.22-0.71	0.0022	0.11	0.05-0.25	<0.0001
T-Bil (mg/dL)	1.15	0.85-1.50	0.3250	2.23	1.32-3.93	0.0032	1.98	1.05-4.62	0.0130
AST (IU/L)	1.01	1.00-1.02	0.0183	1.00	1.00-1.01	0.1373	1.00	0.99-1.01	0.8570
ALT (IU/L)	1.00	0.99-1.01	0.8768	1.00	1.00-1.01	0.4301	0.99	0.98-1.00	0.0116
γ-GT (IU/L)	1.00	1.00-1.01	0.0414	1.01	1.00-1.01	0.0003	1.00	1.00-1.01	0.0243
4型コラーゲン7S (ng/mL)	1.27	1.15-1.42	<0.0001	1.30	1.06-1.63	0.0139	1.13	0.95-1.32	0.1674
ヒアルロン酸 (ng/mL)	1.00	1.00-1.00	<0.0001	1.01	1.00-1.01	<0.0001	1.00	1.00-1.00	0.9509
M2BPGi (C.O.I)	1.22	1.11-1.34	<0.0001	1.30	0.78-1.94	0.2722	1.04	0.57-1.61	0.8833
AFP (ng/mL)	1.02	1.01-1.04	<0.0001	1.03	1.01-1.06	0.0010	1.01	1.00-1.02	<0.0001
LSM (kPa)>カットオフ値	8.18	4.56-15.40	<0.0001	14.21	7.36-29.10	<0.0001	3.64	1.82-7.42	0.0003
CAP (dB/m)<カットオフ値	2.37	1.35-4.31	0.0023	-	-	-	11.89	4.14-50.29	<0.0001
LSM (kPa) > カットオフ値 & CAP (dB/m) < カットオフ値	6.95	3.99-12.25	<0.0001	-	-	-	8.06	3.82-17.23	<0.0001
糖尿病	2.19	1.15-4.02	0.0182	1.95	0.89-3.96	0.0906	3.06	1.52-6.43	0.0016
高血圧	2.72	1.60-4.65	0.0003	3.41	1.83-6.27	0.0001	6.55	3.15-14.47	<0.0001
高脂血症	0.38	0.09-1.09	0.0743	0.97	0.40-2.06	0.9336	0.81	0.39-1.62	0.5550
糖尿病＋高血圧	2.02	0.86-4.36	0.1009	4.97	1.97-12.02	0.0011	5.71	2.77-11.89	<0.0001
BMI	1.06	0.98-1.13	0.1230	1.06	0.98-1.15	0.1455	0.86	0.78-0.94	0.0005
IFN治療歴	0.89	0.52-1.51	0.6751	-	-	-	-	-	-
SVR	0.68	0.35-1.24	0.2144	-	-	-	-	-	-

‡LSMカットオフ値 HCV群 9.9 kP、HBV群 6.2 kPa、NAFLD群 10.4 kPa

¶CAPカットオフ値 HCV群 221 dB/m、NAFLD群 289 dB/m

-、非該当

初発症例の検討と同様、単変量解析にて有意差を示した因子をステップワイズ法にて順位付けし、HCC 発症に関するリスク因子を多変量解析にて検討した。

HCV 群では、LSM が 9.9kPa より高値の場合オッズ比が 15.28 と有意に上昇した。加齢、AFP 高値も有意なリスク因子として抽出された（表 10）。

表 10. リスク因子解析（HCV 群）： 多変量解析

因子	All (n=453), HCC (n=66)		
	OR	95% CI	P
年齢 (歳)	1.06	1.00-1.12	0.0323
Alb (g/dL)	0.52	0.13-1.98	0.3332
4 型コラーゲン 7S (ng/mL)	0.90	0.66-1.21	0.5099
M2BPGi (C.O.I)	1.03	0.86-1.24	0.7362
AFP (ng/mL)	1.01	1.00-1.02	0.0230
LSM (kPa) > 9.9 kPa	15.28	3.35-86.14	0.0004
CAP(dB/m) < 221dB/m	1.38	0.43-4.72	0.5898

HBV 群では、LSM が 6.2kPa より高値の場合、オッズ比が 9.22 と有意に上昇した。また、加齢によって有意にオッズ比の上昇を認め、Plt 高値では、オッズ比が有意に低下した（表 11）。

表 11. リスク因子解析（HBV 群）： 多変量解析

因子	All (n=407), HCC (n=53)		
	OR	95% CI	P
年齢 (歳)	1.06	1.02-1.09	0.0005
Plt (10^4/L)	0.89	0.83-0.95	0.0002
γ-GT (IU/L)	1.00	1.00-1.00	0.1052
LSM (kPa) > 6.2kPa	8.17	3.77-18.49	<0.0001
高血圧症	2.01	0.93-4.28	0.0756

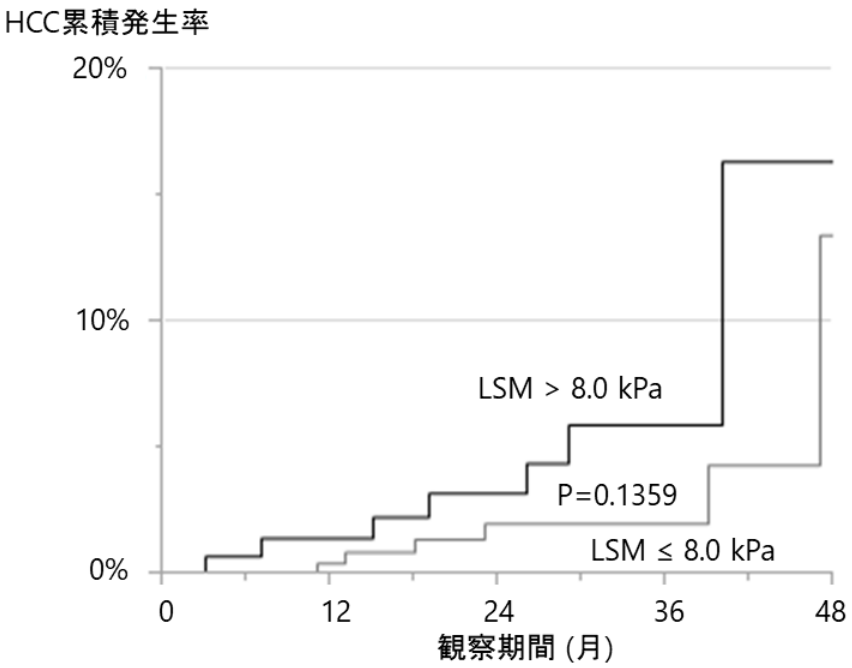
NAFLD 群では、LSM が 10.8kPa より高値でオッズ比が 3.06 と有意に上昇し、CAP が 281dB/m 未満でオッズ比が 7.81 と有意に上昇した。また加齢、高血圧合併で、オッズ比の有意な上昇を認めた（表 12）。

表 12. リスク因子解析（NAFLD 群）： 多変量解析

因子	All (n=264), HCC (n=39)		
	OR	95% CI	P
年齢 (歳)	1.07	1.03-1.12	<0.0001
LSM (kPa) > 10.4kPa	3.06	1.34-7.18	0.0079
CAP (dB/m) < 289dB/m	7.81	2.46-35.02	0.0002
高血圧	2.98	1.27-7.28	0.0121

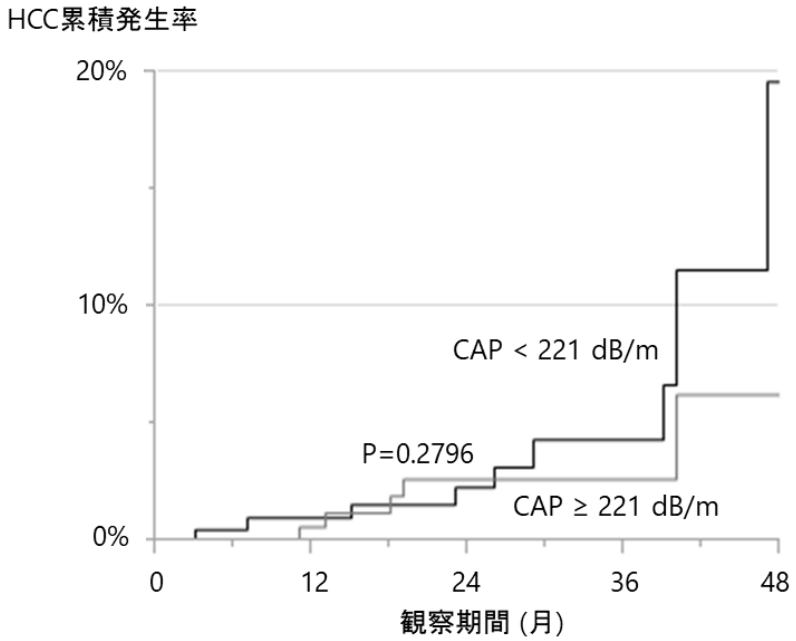
Ⅲ. 新規 HCC の累積発生率

検査時に HCC を有していない 966 人の患者を追跡調査し、初発 HCC 発生を予測・診断する LSM および CAP のカットオフ値の有用性を検討した。HCV 群では 387 例のうち観察期間中（中央値 27 ヶ月間）、17 例に新規 HCC を認めた。これらの患者を、LSM のカットオフ値（図 13）、CAP のカットオフ値（図 14）、および LSM と CAP のカットオフ値の組み合わせ（図 15）に従ってそれぞれ 2 つのクラスに分類した。Kaplan-Meier 法による解析の結果、HCC の発生率は、LSM が 8.0kPa より高値と CAP が 221dB/m 未満の組み合わせで、その他のクラスより有意に高かった（P = 0.0429、ログランクテスト）。



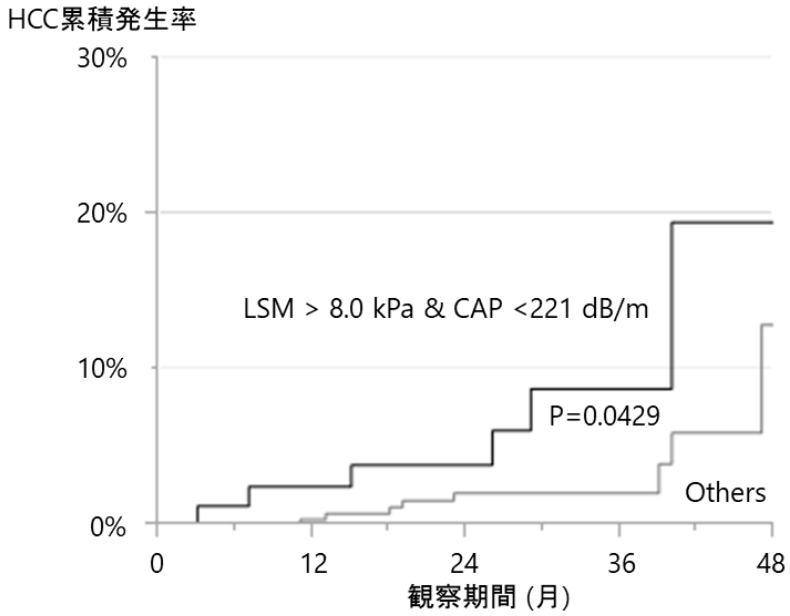
No. at risk					
LSM > 8.0 kPa	139	122	90	36	10
LSM ≤ 8.0 kPa	248	225	152	47	16

図 13. LSM でクラス分けした HCC 累積発生率 (HCV 群)



No. at risk					
CAP < 221 dB/m	201	184	130	47	52
CAP ≥ 221 dB/m	186	163	112	36	11

図 14. CAP でクラス分けした HCC 累積発生率 (HCV 群)

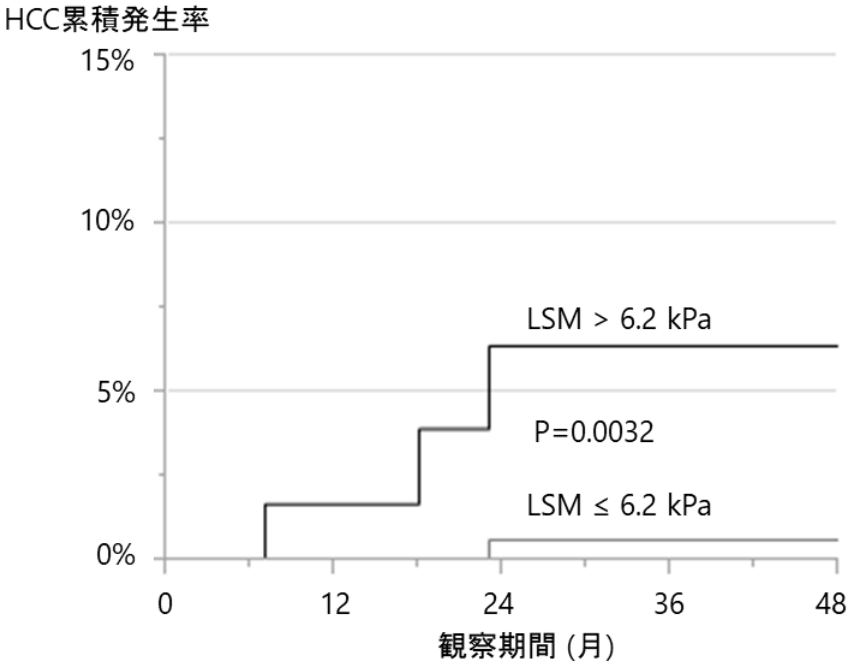


No. at risk					
LSM > 8.0 kPa & CAP < 221 dB/m	82	74	50	21	5
Others	305	273	192	62	21

図 15. LSM、CAP の組み合わせでクラス分けした HCC 累積発生率（HCV 群）

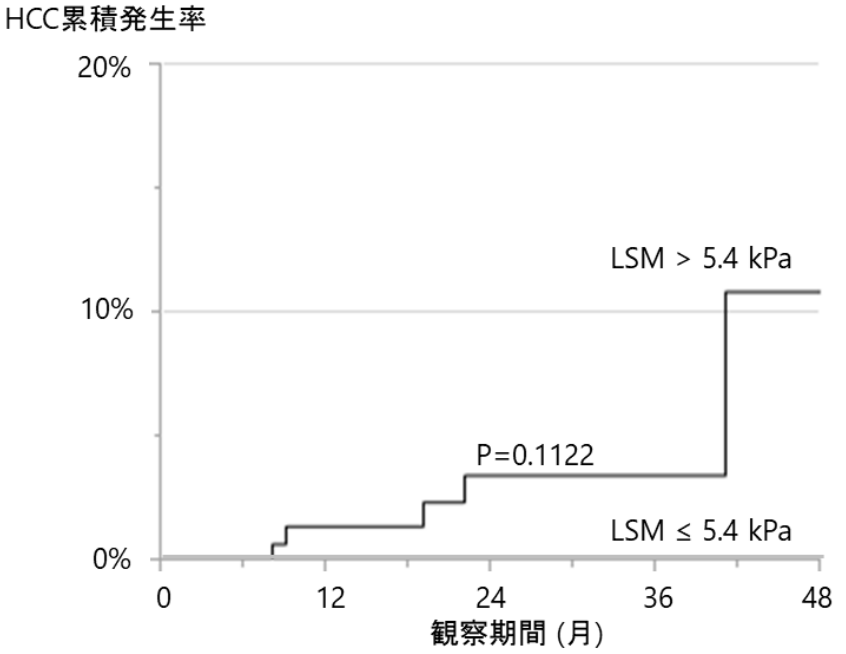
HBV 群では、354 例のうち観察期間中（中央値 24 ヶ月間）に、4 例に新規 HCC を認めた。これらの患者を LSM のカットオフ値にしたがって 2 つのクラスに分類した（図 16）。Kaplan-Meier 法による解析の結果、HCC 発症の発生率は、LSM が 6.2 kPa より高値のクラスでは、LSM が 6.2 kPa 以下のクラスよりも有意に高かった（P = 0.0032、ログランクテスト）。

NAFLD 群 225 例では、6 例が観察期間中（中央値 25 ヶ月間）に新規 HCC を発症した。これらの患者を、LSM のカットオフ値（図 17）、CAP のカットオフ値（図 18）、および LSM と CAP のカットオフ値の組み合わせ（図 19）にて 2 つのクラスに分類した。Kaplan-Meier 法による解析の結果、HCC の発生率は、他のクラスの患者よりも LSM が 5.4kPa より高値と CAP が 265dB/m 未満の組み合わせで有意に高かった（P = 0.0025、 ログランクテスト）。



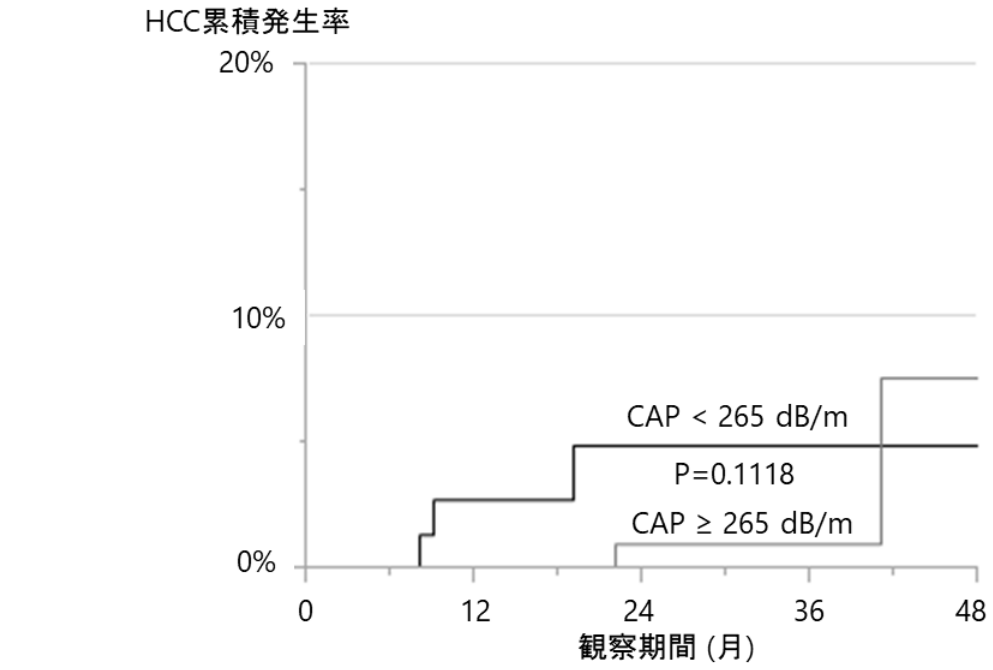
No. at risk					
LSM > 6.2 kPa	62	55	34	8	5
LSM ≤ 6.2 kPa	292	254	146	31	18

図 16. LSM でクラス分けした HCC 累積発生率 (HBV 群)



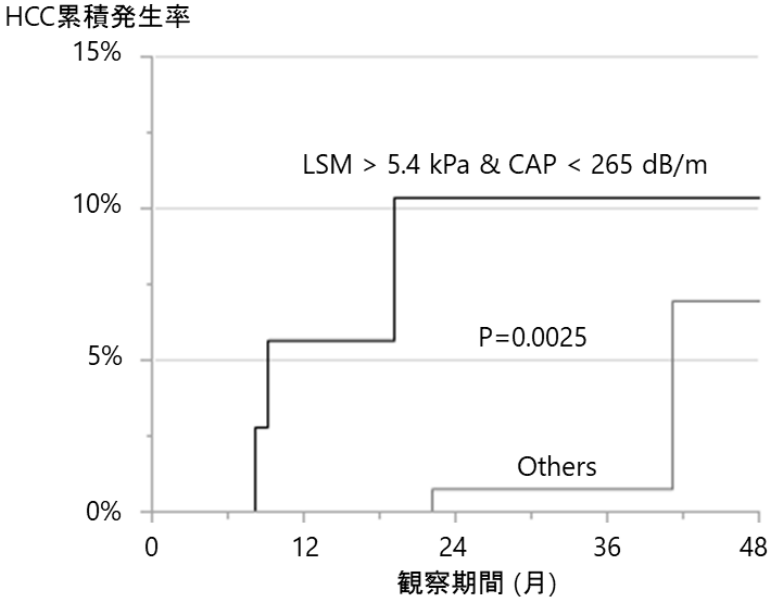
No. at risk					
LSM > 5.4 kPa	145	126	84	28	8
LSM ≤ 5.4 kPa	80	70	44	10	4

図 17. LSM でクラス分けした HCC 累積発生率 (NAFLD 群)



No. at risk					
CAP < 265 dB/m	76	66	36	8	3
CAP ≥ 265 dB/m	149	130	92	30	9

図 18. CAP でクラス分けした HCC 累積発生率 (NAFLD 群)



No. at risk					
LSM > 5.4 kPa & CAP < 265 dB/m	38	33	17	4	2
Others	187	163	111	34	10

図 19. LSM、CAP でクラス分けした HCC 累積発生率 (NAFLD 群)

考　察

新規薬剤の開発により、HCV やHBV といったウイルス性肝炎が制御可能な時代となったが、肝発癌は依然として大きな問題である。HCC による全死亡率は約0.95 と推定され、HCC は世界中で非常に予後不良の疾患である[11]。しかし早期診断により完全治癒するHCC 症例も存在し[14]、さらに早期診断が長期生存に寄与すると報告されている。したがって、HCC 発症の高リスク患者を早期に識別することは、日常診療での早期診断に貢献すると考えられる。CLD からのHCC 発症を検討したメタアナリシスによれば[16 17 18]、進行した肝線維化がCLD 間でHCC を発症する共通の危険因子であると報告されている。この根拠に基づいて、多くのグループがLSM に基づくHCC のリスク評価をおこなっている[25,26,27,28,29,30]。

肝臓は人体における最大の代謝臓器であり、脂質代謝の中心として知られている。HCV は、ウイルスライフサイクルのために宿主の脂質代謝を利用し、肝臓に脂肪沈着を引き起こすことが基礎研究より明らかにされている[31,32]。また、肥満およびインスリン抵抗性を有するメタボリックシンドロームの１つとして知られるNAFLD は、世界中で増加しており、肝脂肪沈着が病態進展に寄与している。それらを踏まえ、HCC 発症のリスクを肝線維化の進行だけで評価することは、不十分である可能性がある。肝臓の硬さに加えて肝臓の脂肪量を評価することで、肝の病態進展をさらに深く理解できると考えられる。

慢性C 型肝炎では、まず肝脂肪沈着と肝炎がおきる。続いて線維化がおき軽度肝硬変を生じる。最終的に脂肪沈着が減少した、より肝線維化の進展した肝硬変となると予想されている。本研究でHCC 症例のLSM は、非HCC 症例より高値であり、CAP はより低値であり、負の相関が認められた。これらの事実より、HCC の高リスク群として知られている進行した肝硬変は、LSM 上昇、CAP 低下で表される状態であることを示した。この結果は、NAFLD 群ではBurned-out NASH-LC といわれる状態でより顕著となる。一方、HBV 群では、CAP に関してHCV およびNAFLD 群とは同じ傾向を示さなかった。

本研究では、FibroScan により肝硬度と脂肪量を評価した。さらに初発HCC 発症、および既往症例を含む全HCC 発症を予測・診断するLSM およびCAP のカットオフ値を算出し、CLD 患者におけるHCC 発症のリスク評価が、日常臨床に有用であるか否かを検討した。その結果本研究でLSM 高値が全群、CAP 低値がHCV 群とNAFLD 群でHCC 発症のリスク因子であることを明らかにした。HCC 症例のLSM は、すべてのグループにおいて非HCC 症例より有意に高かった。一方、HBV 群を除いて、HCV およびNAFLD 群の非HCC 症例よりHCC 症例のCAP が、有意に低かった（表1、表7)。CLD においてHCC 発症を予測・診断するLSM のカットオフ値が、疾患によって異なることは報告さ

れている[28]。しかしCAPがHCC発症を予測・診断する因子であることは、本研究が初めて報告したものである。

C型慢性肝炎におけるLSMのHCC発症を予測・診断するカットオフ値は12kPa[33]、15.9kPa[27]とした報告がなされている。本研究で導かれたカットオフ値は、初発で8.0kPa、既往含むと9.9kPaと比較的低値であった。LSM以外に初発ではAlb、既往例では加齢、両群ではAFPが独立したリスク因子であった。高齢、男性、Alb低値、AFP高値がHCCのリスク因子であることは、これまでに報告されている[16,34-36]。肝病態として、肝硬変が進行した状態でAlbが低下し、腫瘍マーカーであるAFPが高くなると、発癌が増加することも納得のいく結果であった。さらに、HCCのない387例を27ヶ月（観察期間の中央値）追跡調査し、17例が新規HCCを発症した。HCC発症の累積発生率をLSMのカットオフ値（図13)、CAPのカットオフ値（図14)、およびLSMとCAPのカットオフ値の組み合わせ（図15）に分けて分析した。 HCCの発生率は、他のクラスに比べてLSM 8.0kPaより高値およびCAP 221dB/m未満の組み合わせで有意に高かった（P =0.0429、ログランク検定)。

HBV群においては、各線維化ステージ別のLSMのカットオフ値はF2で7.9kPa、F3で8.8kPa、F4で11.7kPa[37]、5.8-8.8kPaでF2以上の明らかな線維化を認める[38]という報告がなされている。本研究では初発、既往ともに6.2kPaと線維化ステージ早期からHCCリスクが高まるという結果であった。慢性B型肝炎患者においては、線維化の進展していない非LC症例でもHCCの発症を認めると報告されている[39,40,41,42,43]。本研究結果でカットオフ値が低値であったことも、慢性B型肝炎に特徴的な傾向を示していると考えられる。HBVを有する患者では、年齢、男性および遺伝子型Cが、肝硬変とは独立したHCCの危険因子であることが報告されている[17]。既往含む全HCC症例の解析では、年齢およびPltは、HCCに関連する独立したリスク因子であった。さらに、HCCのない354例を24ヶ月（観察期間の中央値）追跡したところ、4例が新規HCCを発症した。 HCC発生の累積発生率をLSMのカットオフ値によって2つのクラスに分けて分析したところ（図16)、HCC発症の累積発生率は、LSM 6.2 kPaより高値の群が、LSM 6.2 kPa以下の群より有意に高かった（P = 0.0032、ログランク検定)。

NAFLD群においては初発HCC症例、既往HCC症例ともにLSM、CAPが独立したリスク因子であるという結果であった。線維化進展したNAFLDからの5年発癌率は、11.3%[44]という報告もされており、脂肪性肝疾患においても肝線維化は、発癌の重要なリスク因子であることが確認された。CAPが肝脂肪量と相関していることは既報にあるが[23]、CAPが低値である、つまり脂肪量が低いほど発癌リスクが高まることは、今回明らかになったことの一つである。また、近年いくつかのグループよりNAFLD患者では、ある一定数の患者群が、非硬変肝よりHCCを発症すると報告がある[45,46,47,48]

[49]。これらの報告は、HCV と比較して、NAFLD における肝線維化の初期段階で HCC が発生する可能性があることを示しており、本検討における初発 HCC 発症に関連する LSM のカットオフ値は 5.4kPa と低値であったこととも矛盾しない。また、NASH において線維化が進行すると脂肪化、炎症細胞浸潤など特徴的な変化がなくなり Burned-out NASH-LC と呼ばれる病態になることが知られている[50]。今回の検討で、LSM が高値かつ CAP が低値である病態が、この Burned-out NASH-LC を反映している可能性が示唆される。また、高血圧の合併もリスク因子であった。肝弾性度測定をもとにした検討から NAFLD 患者に高血圧合併が多いことが報告されている[51]。また、NASH から発症した HCC 患者には、高血圧合併症例が多いとも報告されている[52]。本研究の結果も、これまでの報告に矛盾しないものであるといえる。さらに、HCC のない 225 人の患者を 25 ヶ月間（観察期間の中央値）追跡したところ、6 例が新規 HCC を発症した。 HCC の累積発生率を、LSM のカットオフ値（図 17)、CAP のカットオフ値（図 18)、および LSM と CAP のカットオフ値の組み合わせ（図 19）で 2 つのクラスに分けて分析した。 HCC の累積発生率は、他の群よりも LSM 5.4kPa より高値および CAP 265dB/m 未満の組み合わせで有意に高かった（P = 0.0025、ログランク検定)。

技術の進歩により、Transient elastography をそなえた超音波装置は、コスト効率の観点から、日常診療においてさらに広く使用されるようになると予想される。非侵襲的診断技術が広まることは、CLD 患者にとって有益となると考えられた。

今回、我々は FibroScan を用いて肝弾性度と肝脂肪量による慢性肝疾患患者における高発癌危険群のリスク評価を検討し、それぞれの HCC 発症を予測・診断するカットオフ値を算出した。各カットオフ値は、病因や HCC の発生状況により異なることが明らかとなった。肝弾性度によるカットオフ値は、全群で初発 HCC および累積 HCC ともに有用であった。肝脂肪量によるカットオフ値は、HBV 群を除いた HCV 群と NAFLD 群で有用であった。特に肝弾性度および肝脂肪量の組み合わせは、非発癌症例の新規 HCC 発症を見分ける上で、日常診療においても簡便に使用可能な指標となる可能性が示された。今後、多施設共同研究による症例数の蓄積や、新規 HCC の累積発癌率の長期間の検討により、我々が得た結果の信頼性や有用性の向上が期待される。

総括および結論

本研究では以下の知見が得られた。

・LSM や CAP の HCC を予測・診断するためのカットオフ値は、各病因や HCC の状況（初発または既往含む）により異なることが示された。

・LSM の検討は、HCV、HBV、NAFLD 群における HCC リスク評価に有用であった。

・CAP の検討は、HCV および NAFLD 群における HCC リスク評価に有用であった。CAP が HCC 発生予測に使用可能であるという事は、本研究により新たに発見されたものである。

・HCC 発生を予測・診断する LSM と CAP のカットオフ値算出は、CLD 患者の HCC 発生リスクを評価する日常診療においても使用可能な指標となりうる事が示された。

・特に HCV および NAFLD 群において、LSM と CAP のカットオフ値の併用は、新規 HCC 発生高リスク群を抽出するためのスクリーニングとして、有用と考えられた。

今後は、多施設共同研究による症例の集積や非発癌症例の新規 HCC 発生の累積発癌を長期間調査することが、本研究で明らかとなった事実のさらなる検証に必要と考えられた。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり、終始有益な御指導・御助言をいただきました北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室：坂本直哉教授に深く感謝いたします。

同教室：森川賢一助教には、研究遂行にあたり、実験方法、データベース作成、データ解釈、論文作成など多方面にわたり御指導・御援助頂きました、感謝の意を申し上げます。

同教室：荘　拓也助教には、研究遂行にあたり、実験方法、データベース作成、データ解釈など多方面にわたり御指導・御援助頂きました、感謝の意を申し上げます。

腹部超音波検査・FibroScan 測定に御協力いただいた北海道大学病院検査輸血部、超音波センター：西田　睦先生、工藤悠輔先生に感謝いたします。

統計解析を御指導頂いた北海道大学病院臨床研究開発センター：大野浩太先生に感謝いたします。

また本研究に御参加頂いた、JCHO 北海道病院：古家　乾先生、馬場　英先生に感謝いたします。

臨床における技術指導や、検体の採取、症例登録、臨床試験参加同意取得などにご尽力頂きました、北海道大学病院消化器内科 肝臓グループの諸先生方には、深謝いたします。

2018 年 3 月
出水　孝章

引 用 文 献

1. Pellicoro, A., Ramachandran, P., Iredale, J. P. & Fallowfield, J. A. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 181-194 (2014).
2. Zuckerman, A. J. in *Medical Microbiology* (1996).
3. Hoofnagle, J. H., Doo, E., Liang, T. J., Fleischer, R. & Lok, A. S. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 45, 1056-1075 (2007).
4. 矢野右人 & YANO, M. B 型肝炎. *medicina* 17, 878-881 (1980).
5. Tanaka, J., Koyama, T., Mizui, M., Uchida, S., Katayama, K., Matsuo, J., Akita, T., Nakashima, A., Miyakawa, Y. & Yoshizawa, H. Total numbers of undiagnosed carriers of hepatitis C and B viruses in Japan estimated by age- and area-specific prevalence on the national scale. *Intervirology* 54, 185-195 (2011).
6. Hosaka, T., Suzuki, F., Kobayashi, M., Seko, Y., Kawamura, Y., Sezaki, H., Akuta, N., Suzuki, Y., Saitoh, S., Arase, Y., Ikeda, K., Kobayashi, M. & Kumada, H. Long-term entecavir treatment reduces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection. *Hepatology* 58, 98-107 (2013).
7. Kobayashi, M., Suzuki, F., Fujiyama, S., Kawamura, Y., Sezaki, H., Hosaka, T., Akuta, N., Suzuki, Y., Saitoh, S., Arase, Y., Ikeda, K. & Kumada, H. Sustained virologic response by direct antiviral agents reduces the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV infection. *J. Med. Virol.* 89, 476-483 (2017).
8. Kumada, T., Toyoda, H., Tada, T., Kiriyama, S., Tanikawa, M., Hisanaga, Y., Kanamori, A., Niinomi, T., Yasuda, S., Andou, Y., Yamamoto, K. & Tanaka, J. Effect of nucleos(t)ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: a propensity score analysis. *J. Hepatol.* 58, 427-433 (2013).
9. Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L. & Wymer, M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 64, 73-84 (2016).
10. Kojima, S., Watanabe, N., Numata, M., Ogawa, T. & Matsuzaki, S.

Increase in the prevalence of fatty liver in Japan over the past 12 years: analysis of clinical background. *J. Gastroenterol.* 38, 954-961 (2003).

11. WHO. *GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Indidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*, <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx> (2012).
12. Foundation for Promotion of Cancer Research. cancer statistics in Japan. (2016).
13. Tateishi, R., Okanoue, T., Fujiwara, N., Okita, K., Kiyosawa, K., Omata, M., Kumada, H., Hayashi, N. & Koike, K. Clinical characteristics, treatment, and prognosis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma: a large retrospective multicenter cohort study. *J. Gastroenterol.* 50, 350-360 (2015).
14. Osaki, Y. & Nishikawa, H. Treatment for hepatocellular carcinoma in Japan over the last three decades: Our experience and published work review. *Hepatol. Res.* 45, 59-74 (2015).
15. Schutte, K., Bornschein, J. & Malfertheiner, P. Hepatocellular carcinoma--epidemiological trends and risk factors. *Dig. Dis.* 27, 80-92 (2009).
16. Bandiera, S., Billie Bian, C., Hoshida, Y., Baumert, T. F. & Zeisel, M. B. Chronic hepatitis C virus infection and pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Curr. Opin. Virol.* 20, 99-105 (2016).
17. Raffetti, E., Fattovich, G. & Donato, F. Incidence of hepatocellular carcinoma in untreated subjects with chronic hepatitis B: a systematic review and meta-analysis. *Liver Int.* 36, 1239-1251 (2016).
18. White, D. L., Kanwal, F. & El-Serag, H. B. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 10, 1342-1359.e1342 (2012).
19. Rockey, D. C., Caldwell, S. H., Goodman, Z. D., Nelson, R. C. & Smith, A. D. Liver biopsy. *Hepatology* 49, 1017-1044 (2009).
20. Nakamura, Y., Aikata, H., Fukuhara, T., Honda, F., Morio, K., Morio, R., Hatooka, M., Kobayashi, T., Nagaoki, Y., Kawaoka, T., Tsuge, M., Hiramatsu, A., Imamura, M., Kawakami, Y., Ochi, H., Kobayashi, T., Ohdan, H., Shiroma, N., Arihiro, K. & Chayama, K. Liver fibrosis

assessment by FibroScan compared with pathological findings of liver resection specimen in hepatitis C infection. *Hepatol. Res.* 47, 767-772 (2017).

21. Yu, J. H. & Lee, J. I. Current role of transient elastography in the management of chronic hepatitis B patients. *Ultrasonography* 36, 86-94 (2017).
22. Seki, K., Shima, T., Oya, H., Mitsumoto, Y., Mizuno, M. & Okanoue, T. Assessment of transient elastography in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol. Res.* 47, 882-889 (2017).
23. de Ledinghen, V., Hiriart, J. B., Vergniol, J., Merrouche, W., Bedossa, P. & Paradis, V. Controlled Attenuation Parameter (CAP) with the XL Probe of the Fibroscan(R): A Comparative Study with the M Probe and Liver Biopsy. *Dig. Dis. Sci.* (2017).
24. Sasso, M., Beaugrand, M., de Ledinghen, V., Douvin, C., Marcellin, P., Poupon, R., Sandrin, L. & Miette, V. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med. Biol.* 36, 1825-1835 (2010).
25. Jeon, M. Y., Lee, H. W., Kim, S. U., Heo, J. Y., Han, S., Kim, B. K., Park, J. Y., Kim, D. Y., Ahn, S. H. & Han, K. H. Subcirrhotic liver stiffness by FibroScan correlates with lower risk of hepatocellular carcinoma in patients with HBV-related cirrhosis. *Hepatol. Int.* 11, 268-276 (2017).
26. Jung, K. S., Kim, S. U., Ahn, S. H., Park, Y. N., Kim, D. Y., Park, J. Y., Chon, C. Y., Choi, E. H. & Han, K. H. Risk assessment of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma development using liver stiffness measurement (FibroScan). *Hepatology* 53, 885-894 (2011).
27. Masuzaki, R., Tateishi, R., Yoshida, H., Goto, E., Sato, T., Ohki, T., Imamura, J., Goto, T., Kanai, F., Kato, N., Ikeda, H., Shiina, S., Kawabe, T. & Omata, M. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology* 49, 1954-1961

(2009).

28. Tatsumi, A., Maekawa, S., Sato, M., Komatsu, N., Miura, M., Amemiya, F., Nakayama, Y., Inoue, T., Sakamoto, M. & Enomoto, N. Liver stiffness measurement for risk assessment of hepatocellular carcinoma. *Hepatol. Res.* 45, 523-532 (2015).
29. Wang, J. H., Yen, Y. H., Yao, C. C., Hung, C. H., Chen, C. H., Hu, T. H., Lee, C. M. & Lu, S. N. Liver stiffness-based score in hepatoma risk assessment for chronic hepatitis C patients after successful antiviral therapy. *Liver. Int.* 36, 1793-1799 (2016).
30. Wong, G. L., Chan, H. L., Wong, C. K., Leung, C., Chan, C. Y., Ho, P. P., Chung, V. C., Chan, Z. C., Tse, Y. K., Chim, A. M., Lau, T. K. & Wong, V. W. Liver stiffness-based optimization of hepatocellular carcinoma risk score in patients with chronic hepatitis B. *J. Hepatol.* 60, 339-345 (2014).
31. Moriishi, K. The potential of signal peptide peptidase as a therapeutic target for hepatitis C. *Expert Opin. Ther. Targets* 21, 827-836 (2017).
32. Suzuki, T. Hepatitis C Virus Replication. *Adv. Exp. Med. Biol.* 997, 199-209 (2017).
33. Wang, H. M., Hung, C. H., Lu, S. N., Chen, C. H., Lee, C. M., Hu, T. H. & Wang, J. H. Liver stiffness measurement as an alternative to fibrotic stage in risk assessment of hepatocellular carcinoma incidence for chronic hepatitis C patients. *Liver Int.* 33, 756-761 (2013).
34. Asahina, Y., Tsuchiya, K., Tamaki, N., Hirayama, I., Tanaka, T., Sato, M., Yasui, Y., Hosokawa, T., Ueda, K., Kuzuya, T., Nakanishi, H., Itakura, J., Takahashi, Y., Kurosaki, M., Enomoto, N. & Izumi, N. Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 52, 518-527 (2010).
35. Asahina, Y., Tsuchiya, K., Nishimura, T., Muraoka, M., Suzuki, Y., Tamaki, N., Yasui, Y., Hosokawa, T., Ueda, K., Nakanishi, H., Itakura, J., Takahashi, Y., Kurosaki, M., Enomoto, N., Nakagawa, M., Kakinuma, S., Watanabe, M. & Izumi, N. alpha-fetoprotein levels after interferon therapy and risk of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 58, 1253-1262 (2013).

36. Lewis, S., Roayaie, S., Ward, S. C., Shyknevsky, I., Jibara, G. & Taouli, B. Hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C in the absence of advanced fibrosis or cirrhosis. *Am. J. Roentgenol.* 200, W610-616 (2013).
37. Chon, Y. E., Choi, E. H., Song, K. J., Park, J. Y., Kim, D. Y., Han, K. H., Chon, C. Y., Ahn, S. H. & Kim, S. U. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis. *PLoS One* 7, e44930 (2012).
38. Parikh, P., Ryan, J. D. & Tsochatzis, E. A. Fibrosis assessment in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. *Ann. Transl. Med.* 5, 40 (2017).
39. Machado, M. V., Oliveira, A. G. & Cortez-Pinto, H. Hepatic steatosis in hepatitis B virus infected patients: meta-analysis of risk factors and comparison with hepatitis C infected patients. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 26, 1361-1367 (2011).
40. Rastogi, A., Sakhuja, P., Kumar, A., Hissar, S., Jain, A., Gondal, R. & Sarin, S. K. Steatosis in chronic hepatitis B: prevalence and correlation with biochemical, histologic, viral, and metabolic parameters. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 54, 454-459 (2011).
41. Wong, V. W., Wong, G. L., Chu, W. C., Chim, A. M., Ong, A., Yeung, D. K., Yiu, K. K., Chu, S. H., Chan, H. Y., Woo, J., Chan, F. K. & Chan, H. L. Hepatitis B virus infection and fatty liver in the general population. *J. Hepatol.* 56, 533-540 (2012).
42. Yilmaz, B., Koklu, S., Buyukbayram, H., Yalcin, K., Korkmaz, U., Posul, E., Can, G. & Kurt, M. Chronic hepatitis B associated with hepatic steatosis, insulin resistance, necroinflammation and fibrosis. *Afr. Health. Sci.* 15, 714-718 (2015).
43. Ghouri, Y. A., Mian, I. & Rowe, J. H. Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis. *J. Carcinog.* 16, 1 (2017).
44. Yatsuji, S., Hashimoto, E., Tobari, M., Taniai, M., Tokushige, K. & Shiratori, K. Clinical features and outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis compared with cirrhosis caused by chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 24, 248-254 (2009).
45. Paradis, V., Zalinski, S., Chelbi, E., Guedj, N., Degos, F.,

Vilgrain, V., Bedossa, P. & Belghiti, J. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology* 49, 851-859 (2009).

46. Kawada, N., Imanaka, K., Kawaguchi, T., Tamai, C., Ishihara, R., Matsunaga, T., Gotoh, K., Yamada, T. & Tomita, Y. Hepatocellular carcinoma arising from non-cirrhotic nonalcoholic steatohepatitis. *J. Gastroenterol.* 44, 1190-1194 (2009).
47. Margini, C. & Dufour, J. F. The story of HCC in NAFLD: from epidemiology, across pathogenesis, to prevention and treatment. *Liver Int.* 36, 317-324 (2016).
48. Charrez, B., Qiao, L. & Hebbard, L. Hepatocellular carcinoma and non-alcoholic steatohepatitis: The state of play. *World J. Gastroenterol.* 22, 2494-2502 (2016).
49. Cholankeril, G., Patel, R., Khurana, S. & Satapathy, S. K. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis: Current knowledge and implications for management. *World J. Hepatol.* 9, 533-543 (2017).
50. Caldwell, S. H., Oelsner, D. H., Iezzoni, J. C., Hespenheide, E. E., Battle, E. H. & Driscoll, C. J. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 29, 664-669 (1999).
51. Wang, Y., Zeng, Y., Lin, C. & Chen, Z. Hypertension and non-alcoholic fatty liver disease proven by transient elastography. *Hepatol. Res.* 46, 1304-1310 (2016).
52. Yasui, K., Hashimoto, E., Komorizono, Y., Koike, K., Arii, S., Imai, Y., Shima, T., Kanbara, Y., Saibara, T., Mori, T., Kawata, S., Uto, H., Takami, S., Sumida, Y., Takamura, T., Kawanaka, M. & Okanoue, T. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 9, 428-433; quiz e450 (2011).