



Title	MRI定量的磁化率マッピングによる肝硬変および肝線維化進行度の評価
Author(s)	吉川, 仁人
Description	配架番号 : 2670
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14987号
Issue Date	2022-03-24
DOI	<a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.k14987">https://doi.org/10.14943/doctoral.k14987</a>
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/88820">https://hdl.handle.net/2115/88820</a>
Type	doctoral thesis
File Information	YOSHIKAWA_Masato.pdf



# 学 位 論 文

MRI 定量的磁化率マッピングによる肝硬変および  
肝線維化進行度の評価

(Evaluation of liver cirrhosis and liver fibrosis  
using quantitative susceptibility mapping of MRI)

2022 年 3 月

北 海 道 大 学

吉 川 仁 人



# 学 位 論 文

MRI 定量的磁化率マッピングによる肝硬変および  
肝線維化進行度の評価

(Evaluation of liver cirrhosis and liver fibrosis  
using quantitative susceptibility mapping of MRI)

2022 年 3 月

北 海 道 大 学

吉 川 仁 人

# 目次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	5 頁
研究全体の緒言	6 頁

## 第1章 肝硬変の有無による肝内磁化率の評価

緒言	11 頁
方法	11 頁
結果	18 頁
考察	24 頁

## 第2章 肝線維化の進行度と肝内磁化率の関連性の検討

緒言	26 頁
方法	26 頁
結果	31 頁
考察	41 頁
結論	43 頁
謝辞	45 頁
利益相反	45 頁
引用文献	46 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発表した。

Quantitative Susceptibility Mapping versus R2\*-based Histogram Analysis for Evaluating Liver Fibrosis: Preliminary Results.

Masato Yoshikawa, Kohsuke Kudo, Taisuke Harada, Kazutaka Harashima, Jun Suzuki, Koji Ogawa, Taro Fujiwara, Mutsumi Nishida, Ryota Sato, Toru Shirai, Yoshitaka Bito.

Magnetic Resonance in Medical Sciences. 2021 Sep 4. [Epub ahead of print]

本研究の一部は以下の学会で発表した

Texture analysis of quantitative susceptibility mapping in cirrhotic liver.

Masato Yoshikawa, Kohsuke Kudo, Hiroyuki Kameda, Taisuke Harada, Taro Fujiwara.

European Congress of Radiology 2019, 2019/2/27-3/3, Vienna

## 要旨

### 【背景と目的】

肝線維化の診断は、慢性肝疾患の治療適応の判断、予後予測に重要である。低侵襲的評価法として超音波検査やMRI (magnetic resonance imaging)によるエラストグラフィが現在用いられているが、熟練度への依存等の課題があり、より再現性の高い評価法が望まれている。また、肝内鉄沈着のモニタリングも慢性肝疾患の病態把握に重要である。定量的磁化率マッピング(quantitative susceptibility mapping, QSM)は磁化率を定量的に画像化するMRIの手法であり、肝硬変を含む慢性肝疾患の肝臓では、肝内磁化率は鉄沈着の増加によって磁化率が上昇し、線維化の進行により磁化率が低下することが予想される。

第1章では、肝線維化の終末像とされる肝硬変に注目した。肝硬変では、鉄沈着と偽小葉の形成および各偽小葉間への線維性結合織の蓄積を反映して、肝内磁化率が正常肝と比較して変化していること、そしてこの変化は不均一・不規則であることが想定されたため、ヒストグラム解析に加えてテクスチャ解析も有効であると予想した。そこで、肝硬変患者と肝疾患の既往のない患者の肝QSM画像のヒストグラム解析と二次統計量によるテクスチャ解析を行い、肝硬変の有無による肝内磁化率の違いを検討した。

第2章では、第1章の結果を踏まえて、肝内磁化率のヒストグラム解析により肝線維化の進行度が段階的に予測可能かどうかを検討した。超音波によるエラストグラフィで測定された肝弾性度、および病理組織学的な肝線維化ステージと、肝内の磁化率画像およびR2\*マッピング画像のヒストグラム解析との相関性を中心に検討した。

### 【対象と方法】

第1章では、2016年6月から2018年1月までの期間、北海道大学病院において上腹部MRI(QSM)を撮像した20歳以上の患者を抽出し、画像所見または病理組織学的に肝硬変と診断された5例の患者(肝硬変群)と肝疾患の既往のない7名の患者(対照群)を選出した。QSM画像に対して円形Region of interest(ROI)を、各患者につき肝内のCouinaud分類の各亜区域(S1~S8)実質にそれぞれ1カ所ずつ、合計8カ所設置した。各ROIよりヒストグラム解析による9つの特徴量(平均、分散、歪度、尖度、1,10,50,90,99パーセンタイル値)と、二次統計量によるテクスチャ解析として距離1のGLCM解析による11項目の特徴量、RLM解析による5項目の特徴量を算出した。算出した各特徴量の平均値に関して、2群間の比較を行った。

第2章では、2017年7月から2019年10月までの期間、北海道大学病院において上腹部MRI(QSM)を撮像した20歳以上の患者を抽出し、MRI検査前後8ヶ月以内に超音波エラストグラフィによる肝弾性度測定が施行されている、かつ肝生検または肝切除標本を用いて新犬山分類に基づく肝線維化ステージが診断されている16症例を選出した。このう

ち、画像のアーチファクトが著明な 1 例や QSM の再構成に失敗したと考えられる 1 例を除外した。計 14 症例を解析対象として、各患者につき、QSM 画像に対して円形 ROI を第 1 章とほぼ同様の手法で設置した。各 ROI よりヒストグラム解析の各特微量を抽出し、患者毎に平均化した。各特微量と、肝弾性度および新犬山分類に基づく病理組織学的肝線維化ステージ (F0~F4) との相関を調べた。また、全症例を F0-1 (F0 + F1、線維化: 無し~軽度) 対 F2-4 (F2 + F3 + F4、中程度以上の線維化)、F0-2 (F0 + F1 + F2、線維化: 無し~中程度) 対 F3-4 (F3 + F4、重度の線維化~肝硬変) の 2 パターンの 2 群にわけ、それぞれのパターンでの 2 群間比較を行ったほか、さらに、F2 以上のステージの線維化と F3 以上のステージの線維化を予測・診断するため、各特微量の receiver-operator characteristics (ROC) 解析を行った。磁化率測定の実現性は級内相関係数を計算して評価した。

### 【結果】

第 1 章では、肝硬変群の 1 例において、肝内磁化率が突出して不自然なほどに不均一となっていた。同症例の  $R2^*$  が他の症例と比較して突出して高値を示しており、その影響で QSM の再構成に失敗したと判断し、同症例のデータを全て除外した上で解析を行った。肝硬変群と対照群の間で、磁化率の平均値に有意差を認めなかったが、分散は肝硬変群で有意に高値を示した。また、肝硬変群で 1, 10 のパーセンタイル値は有意に低値、90, 99 のパーセンタイル値は有意に高値を示した。一方、二次統計量によるテクスチャ解析で有意差を示した項目は全 16 項目中 2 項目に留まった。

第 2 章では、肝内磁化率の平均、50・90・99 パーセンタイル値が肝弾性度および肝線維化ステージと有意に相関していた。また、これらの特微量に関しては F2 以上、F3 以上の線維化診断のいずれにおいても ROC 解析の曲線下面積が 0.8 を上回った。級内相関係数は検者内・検者間のいずれも概ね良好に一致していた。

### 【考察】

第 1 章では、肝硬変群で肝内磁化率が不均一に高値と低値になっていることが示され、鉄沈着と線維化という、互いに磁化率として相反する作用を及ぼす現象が不均一にみられているのを反映していると思われた。QSM 画像でみる磁化率は肝内の鉄沈着のみならず線維化を反映し、ヒストグラム解析が肝線維化の評価に有用である可能性が示唆される。一方、二次統計量によるテクスチャ解析で有意差を示したのは 16 項目中 2 項目とわずかであった。本章では肝硬変群の中に解析対象の 4 例中代償性の症例が 2 例含まれていた。肝硬変の状態が代償性から非代償性に進行するに従って肝内磁化率のテクスチャの不均一性が顕著になると想定され、二次統計量によるテクスチャ解析では肝線維化の終末像である肝硬変の中でも比較的進行した症例でしか肝内磁化率のテクスチャの変化を検出でき

ない可能性があり、より早期の肝線維化の診断・評価の有用性に乏しいと考えられた。

第2章では、平均値、50, 90, 99 パーセンタイル値が肝弾性度および肝線維化ステージとの間で有意に相関する、という結果が得られた。本章では線維化がない症例から、線維化が高度だが肝硬変までには至らない程度の症例が多数含まれており、背景として前章の肝硬変群と比較して肝線維化の進行度が軽微であったと思われる。そのため、肝内線維成分を反映した磁化率低下の影響が相対的に少なかった一方で、肝萎縮による ROI 内の実質組織が減少し、沈着鉄による磁化率の相対的上昇が反映された可能性がある。また、分散も有意ではないが肝線維化ステージと中程度の相関を示しており、線維化の進行による肝内磁化率の不均一化を反映している可能性が考えられる。さらに平均値、50, 90, 99 パーセンタイル値は F2 以上・F3 以上の線維化診断において高い診断能を示した。肝の QSM 画像のヒストグラム解析は、肝線維化の段階的な進行度診断に寄与できる可能性がある。

#### 【結論】

磁化率を定量的に画像化する QSM 画像のヒストグラム解析により、肝硬変および肝線維化の進行に伴う線維結合織の蓄積と鉄沈着を反映すると思われる肝内磁化率の不均一な変化を定量的に検出することができた。QSM によって算出される肝内磁化率のヒストグラム解析は、肝線維化の段階的な進行度診断や病態把握に寄与できる可能性がある。

## 略語表

本文中および図中で使用した略語は以下の通りである

AUC	area under the curve
3D-GRE	three-dimensional gradient echo
GLCM	gray level co-occurrence matrix
GRE	gradient echo
ICC	Interclass correlation coefficient
MRE	magnetic resonance elastography
MRI	magnetic resonance imaging
NAFLD	nonalcoholic fatty liver disease
NASH	nonalcoholic steatohepatitis
NEX	number of excitations
QSM	quantitative susceptibility mapping
ROC	receiver-operator characteristics
ROI	region of interest
RLM	run length matrix
SWI	susceptibility weighted imaging
TR	repetition time
TE	echo times
WF	Water-fat separation

## 研究全体の緒言

### 1. 背景

肝臓の炎症が最低 6 ヶ月以上続く状態を慢性肝疾患という。原因としては B 型・C 型ウイルス性肝炎、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎によるものが多い(Sharma A, et al., 2021)。通常は炎症により肝細胞が破壊されると肝細胞の再生が起こるが、慢性に炎症が持続する場合は再生が不完全となり、組織欠損部はコラーゲンやタンパク質を含む線維性結合組織によって補完される、すなわち線維化をきたす(Bataller et al., 2005; Karsdal et al., 2020)。この繰り返しにより、最終的には、正常の肝小葉にみられるグリソン鞘と中心静脈との相互的位置関係が失われた不整形な偽小葉(再生結節)が肝全体にびまん性に形成され、それぞれの結節が蓄積した線維性結合組織によって囲まれ、肉眼的には表面が凹凸不整となり不均一な内部構造を呈する、すなわち肝硬変へと進展する(Ferrell L., 2000)。日本肝臓学会が発行している B 型肝炎治療ガイドライン、C 型肝炎治療ガイドラインによると、ウイルス性肝炎に対する抗ウイルス療法の適応判断には、線維化の進展度が重要項目として挙げられている(日本肝臓学会, 2021; 日本肝臓学会, 2020)。また、慢性肝疾患患者の生命予後に最も影響を与える肝細胞癌の発生リスクも線維化の進行に伴って増加する(Dhar et al., 2020)。従って、肝線維化の診断・評価は治療適応および予後予測の判断に重要である。

一方で、肝臓は鉄貯蔵臓器であり、健常者で 1 g ドライウェイト当たり 0.2-2 mg (1 kg ドライウェイト当たり 3.6-36  $\mu\text{mol}$  の鉄が肝内に貯蔵されているが(Sirlin et al., 2010)、しばしば鉄過剰を来す。原因として、遺伝性疾患であり鉄吸収が病的に亢進するヘモクロマトーシスや、輸血や鉄剤投与による二次性鉄過剰症が広く知られているが、C 型慢性肝炎や非アルコール性脂肪性肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH)/非アルコール性脂肪性肝疾患(Nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD)、アルコール性等の慢性肝疾患、肝硬変でも、肝細胞内への鉄沈着が増加する。ただし、慢性肝疾患における肝内鉄沈着はヘモクロマトーシスや二次性鉄過剰症との比較では軽度とされている(Mehta et al., 2019)。肝内に過剰に沈着した鉄は、強い組織障害性を有し発癌関連因子とされるフリーラジカルの産生を介して、肝炎の増悪や発癌に関与しているとされている(大竹ほか, 2010)。以上より、慢性肝疾患における肝内鉄沈着の定量的モニタリングも病態把握に重要である。

### 2. 研究テーマに関してわかっていることとわかっていないこと

#### ①肝線維化と肝内鉄沈着の画像診断の現状

肝線維化の診断の方法は肝生検による病理組織学的診断がゴールドスタンダードとされているが、侵襲性が高く、頻回のモニタリングには不適であるほか、出血、疼痛等の合併症

のリスクがある。また、生検で採取される組織は肝全体のおよそ 1/50,000 に過ぎず、さらに線維化の進展は肝全体に一樣に進行するわけではなく、部位によって異なるため、サンプリングエラーの問題もある (Rockey et al., 2006)。さらに、同一検体でも病理医により診断結果が異なる場合がある。そのため、低侵襲的な肝線維化の評価法が必要とされている。

近年、画像検査による低侵襲的評価法の中でエビデンスが蓄積され最も利用されているのは超音波を用いた *Transient elastography* で、それは体表から超音波プローブを用手的に押し付けて組織を圧迫・弛緩させ、その際の内部を伝播する弾性波の速度を測り、肝臓の硬さ (肝弾性度) を求める簡便で低侵襲な方法である (Sandrin et al., 2003; Foucher et al., 2006)。また、MRI (Magnetic resonance imaging) を用いた磁気共鳴エラストグラフィ (Magnetic resonance elastography, MRE) も普及が進んでおり、これは外部加振装置により生体組織内に弾性波を発生させ、位相コントラスト法により時間的に変化する組織内の弾性波分布を速写し、弾性算出法により弾性波画像から粘弾性分布を画像化することで肝弾性度を定量する手法である (Muthupillai et al., 1995; Singh et al., 2015)。いずれも低侵襲であり、かつエビデンスが蓄積されているが、前者では肝表に腹水貯留がある場合測定できない、脂肪肝や痩せ型の体型では測定の再現性・精度が低下する、検査者の熟練度に依存する (Castéra et al., 2010)、等の問題がある。後者では、通常の MRI 装置に加えて外部装置の導入が必要であり、加えて、測定領域の設定方法が複雑でトレーニングを要する、同一個体を同一機器・同一条件で撮像かつ解析した場合の測定値において、20%未満の変化が誤差の範囲内とするメタアナリシスの報告がある (Serai et al., 2017) 等、再現性にも課題がある。以上より、より簡便で再現性の高い低侵襲的な肝線維化評価法が望まれている。

また、肝内鉄沈着の定量法として知られているのは超伝導量子干渉計や MRI を用いた  $R_2$  マッピング、 $R_2^*$  マッピングである。しかしながら、超伝導量子干渉計は装置の流通が非常に少ない。 $R_2$  マッピングは自由呼吸下での撮像が可能だが、20分間の撮像時間を要するため呼吸によるアーチファクトで画質不良となりやすい (Serai et al., 2015) ほか、国内では流通していない専用のソフトウェアによる解析を必要とする。近年は  $R_2^*$  マッピングによる定量の報告が増加しており、それは鉄沈着による  $T_2^*$  減衰を間接的に画像化する方法で、鉄沈着の増加に伴い  $R_2^*$  は高値を示す (Wood et al., 2005)。近年、定量的磁化率マッピング (quantitative susceptibility mapping, QSM) という MRI 手法が開発されており、肝内鉄沈着に応用可能である。

## ②定量的磁化率マッピング(QSM)

あらゆる物質は外部磁場に対して磁氣的反応(磁化)を示す。磁化率とは、物質の磁化のしやすさを表す物性値であり、物質ごとに固有の値を持つ。QSM は MRI の位相画像から局所の磁化率を算出する手法である。この磁化率を知ることによって、画像のボクセルの分枝情

報や化学組成を非侵襲的に類推することが可能となる。磁化率強調像(Susceptibility weighted imaging, SWI)は臨床的に広く使われているが、磁化率を定性的に強調するものであるのに対し、QSMは磁化率を定量的に画像化する手法である。

QSM画像では、磁化率の大きい常磁性体は白く、磁化率の小さい反磁性体は黒く描出される。常磁性体には、組織鉄のフェリチンや出血後のヘモジデリン、血腫内や静脈内のデオキシヘモグロビンなどがある。一方、反磁性体には、石灰化や、大脳白質に存在するミエリンなどがある。

QSMの撮像法は、3次元グラディエントエコー(Three-dimensional gradient echo, 3D-GRE)法で強度画像と位相画像をマルチエコーで撮像する。解析法はまず、3D-GRE法の実画像と虚画像から強度画像と位相画像を再構成する。位相画像から位相折り返しを除去した全体磁場マップを作成し、そこから背景磁場を除去した局所磁場マップを取得する。これに対して双極子磁場を推定することで、磁化率マップ(QSM)を取得できる。

QSMは、微小出血や静脈の描出、出血と石灰化の鑑別が可能であり、神経変性疾患における脳内組織鉄の沈着が広く研究対象となっており、主に脳で臨床応用が進んでいる。一方、体幹部においては呼吸・心拍・消化管蠕動・血管拍動等の動き、脂肪の存在、肺や消化管の空気の存在などが障壁になるが、近年撮影法や解析方法の改良がなされてきた。そして、水と脂肪のボクセルを別々に再構成してから両者を合成する手法(Water-fat separation法、WF法)により、体幹部でも息止め可能な撮像時間(19秒)で画像取得ができるようになり、QSMによる安定した磁化率の評価が可能となった(図1)(Sato et al., 2020)。

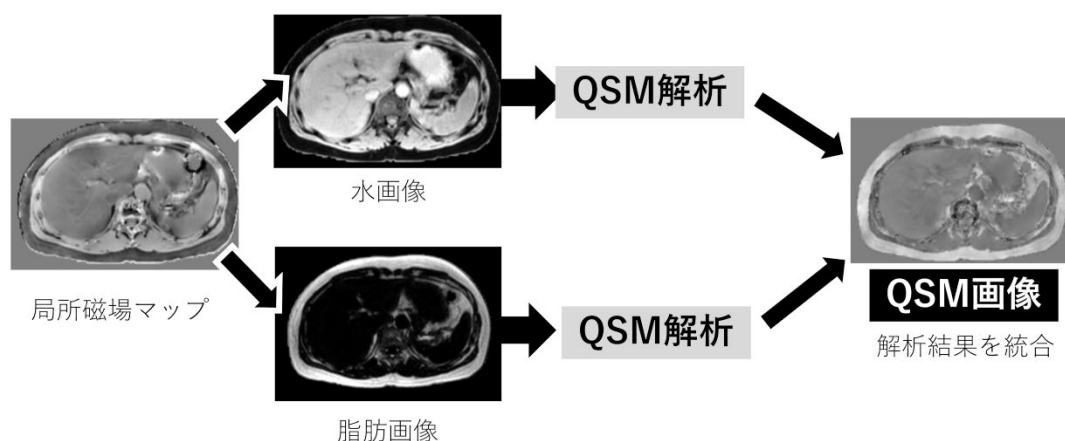


図1: Water-fat separation法によるQSM解析フロー

Water-fat separation法(WF法)では、局所磁場マップから水画像と脂肪画像を作成した上でQSM解析を行い、解析結果を統合する。

### ③QSMの肝への応用

QSMの肝への臨床応用に関しては、肝内鉄沈着の定量的評価に関する報告がみられている。肝内鉄過剰の診断または疑いがある患者と肝内鉄過剰のない患者を対象にした研究で、QSMで算出した磁化率がR2\*マッピング、R2マッピングでそれぞれ算出した鉄量とよく相関した、とする報告がある(Sharma et al., 2015; Lin et al., 2018)。また、ファントムや肝疾患の既往のない患者、および肝内鉄過剰が疑われる患者を対象にした研究で、QSMはR2\*マッピングと比較して脂肪、線維組織等による影響がより少ない、とする報告がある(Li et al., 2018)。

一方、肝線維化とQSMで算出した磁化率との関連性を調べた報告はほとんどない。QSM画像上、肝内の貯蔵鉄は常磁性体であり磁化率は高い。一方、ファントムとしてウシ血清アルブミンを使った先行研究で、タンパク質を含んだ水溶液は分子内軌道電子密度の増大により、高度な反磁性を示すという報告がある(Luo et al., 2010)。QSM画像の解析で、体内線維の主成分であるコラーゲンの濃度は磁化率との間に線形的な負の相関を示したとするインビトロの研究報告がある(Li et al., 2018)。以上より、肝線維化の線維結合織は反磁性体であり磁化率は低い。肝硬変を含む慢性肝疾患の肝臓では、肝内磁化率は鉄沈着の増加によって磁化率が上昇し、線維化の進行により磁化率が低下することが予想されるが、磁化率の変化に関してインビボの具体的な先行研究はない。

### ④テクスチャ解析

テクスチャとは、物体の疾患や模様、手触りを表す概念である。近年、医用画像に対して画像の模様を数値化するテクスチャ解析を適応する研究が盛んに行われている。テクスチャ解析では画素の濃度に着目して、画像の性質を表す統計量(粗さ、一様性、粒状/線状性、方向性、コントラスト変化、規則性)を特徴として求めることで、形状が明確でない画像の性質を抽出可能である。テクスチャ解析は、一次統計量としてヒストグラムから算出する平均・分散・歪度・尖度・パーセンタイル値の他に、画像のパターンを任意の行列に変換することによって得られる二次統計量がある。代表的な二次統計量として、濃度共起行列やランレングス行列が挙げられる。ヒストグラム解析では画素の濃度分布に関する単純統計量を簡便にみることができる。二次統計量では、二次元的な濃度変化のパターンを定量的に捉えることが可能である。

## 3. 本研究で何を明らかにしようとしているのか

第一章では、肝線維化の終末像とされる肝硬変に注目した。肝硬変の肝内では、病理学的に不整形な偽小葉の形成と各偽小葉間への線維性結合織の蓄積に加えて鉄沈着がみられるので、肝内磁化率が正常肝と比較して不均一・不規則に変化していることが想定され

る。その変化を QSM 画像のテクスチャ解析で定量的に検出できる、と予想した。そこで、肝硬変患者と、肝疾患の既往のない患者の肝 QSM 画像のテクスチャ解析を比較し、肝硬変の有無による肝内磁化率の違いを調べた。

第二章では、肝硬変の有無にのみ注目した第一章の結果を踏まえて、肝内磁化率のヒストグラムによる解析により肝線維化の進行度が段階的に予測可能である、という仮説を立てた。そこで、超音波による Transient elastography で測定された肝弾性度、および病理組織学的な肝線維化ステージと、肝の QSM 画像および R2\*マッピング画像のヒストグラム解析との相関性を中心に検討した。

## 第1章

### 肝硬変の有無による肝内磁化率の評価

#### 緒言

肝硬変では偽小葉のびまん性形成と線維性結合織の蓄積により、肉眼的に正常肝と比較して実質内部の構造が不均一となるほか、鉄沈着をきたす。そのため、肝硬変症例での肝内磁化率は正常肝と比較して不均一・不規則な変化を来していることが予想される。そこで、QSM 画像に対して画素の濃度に注目したテクスチャ解析を行うことで、磁化率の変化を数値化して定量的に検出できる可能性がある。本章では肝硬変患者と肝疾患の既往のない成人の肝 QSM 画像のテクスチャ解析を行い比較し、2 群間の特徴量の違いを調べた。

#### 方法

##### <対象>

本観察研究は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会で承認された(研究番号:017-0460)。2016年6月から2018年1月までの期間、北海道大学病院において上腹部臓器の疾患疑いで第2MRI装置(日立製作所製)による腹部MRI(QSM)を撮像した20歳以上の患者から、下記の基準に従い臨床的または病理組織学的に肝硬変と診断された患者(以下「肝硬変群」と肝疾患の既往のない患者(以下「対照群」)を選出した。これらの患者には病院のウェブサイトを通じて拒否の機会を保証した。また、全ての被験者の画像を確認し、肝硬変群、対照群のいずれも後述の如く Region of interest (以下 ROI)が設置できない亜区域がある場合を除外とした。

・肝硬変患者(肝硬変群):

肝生検組織標本の病理組織学的検査により肝硬変(新犬山分類:F4)と診断された症例、または北大病院での画像検査(超音波検査、CT、MRI)を確認し、肝硬変に特徴的な所見を呈した症例を選択し、まず 10 例が選出された。このうち、肝の区域切除の既往を有する症例 3 例を除外し、さらに MRI 画像を確認した結果、呼吸性のアーチファクトにより著しく画質が不良であった症例 2 例を除外した。最終的に病理で確定されたのが 1 例、画像で確定されたのが 4 例、合計 5 例が解析対象となった。MRI 撮像から前後 3 日以内の血液検査・画像所見・臨床所見を基にした Child-Pugh スコアは次の通り:5(2 例)、7(1 例)、9(1 例)、13(1 例)。群内の年齢、性別、疾患は表1に示した。

・肝疾患既往のない患者(対照群)

MRI 画像を確認し、肝内に占拠性病変や形態異常を認めない、かつ肝胆道系疾患の既往歴がない症例を選択、まず 9 例が選出された。MRI 画像を確認したところ、そのうち 2 例は全体に呼吸性アーチファクトが強く画質が著しく不良であったため除外した。最終的に 7 例が解析対象となった。群内の年齢、性別、疾患は表 1 に示した。

表1: 各群の内訳

	肝硬変群	対照群
N(男/女)	5(5/0)	7(5/2)
年齢(歳)	52-74 (中央値:64)	57-83 (中央値:73)
疾患	慢性 C 型肝炎 (2) 慢性 B 型肝炎 (1) NASH (1) 原因不明 (1)	膵管内乳頭粘液性腫瘍 (5) 食道癌 (1) 膵癌 (1)

### <MRI 撮像方法および画像処理方法>

MRI 撮像:3 テスラ装置((株)日立製作所製) TRILLIUM OVAL, 3 次元グラディエントエコー法: 繰り返し時間 (repetition time, TR) = 22.6 ms, エコー時間 (echo times, TEs) = 3.1/6.6/10.1/13.6/17.1/20.6 ms, フリップ角 = 10°, 視野 = 350 mm, スライス厚 = 3 mm, スラブ厚 = 192 mm, matrix = 160×128×32 (reconstructed to 256×256×64), and NEX (number of excitations) = 1. 撮像時間:19 秒、息止め併用。

上記の設定で得られた画像を、WF 法で再構成して QSM 画像を作成した。

### <ROI 計測>

直径 11 ピクセル(15.0mm、面積 1.76 cm<sup>2</sup>)の円形 ROI を、以下のルールを全て満たすよう手動で QSM 画像に設置した。

①各患者につき、肝内の Couinaud 分類の各亜区域(S1~S8)実質にそれぞれ 1 カ所ずつ、8 カ所の ROI を設置

②脈管をよける

③肝の辺縁や腫瘍の辺縁から 5 ピクセル以上の距離を確保する

④ゴーストアーチファクト(心拍動により位相エンコード方向に生じるアーチファクト)をよける

なお、ROI 設置にあたって②③④の構造は QSM 画像のみでは不明瞭な場合があるため、図 2 に示すとおり解剖構造が明瞭に描出される元画像(TE = 3.1ms の強度画像)を適宜参照した。

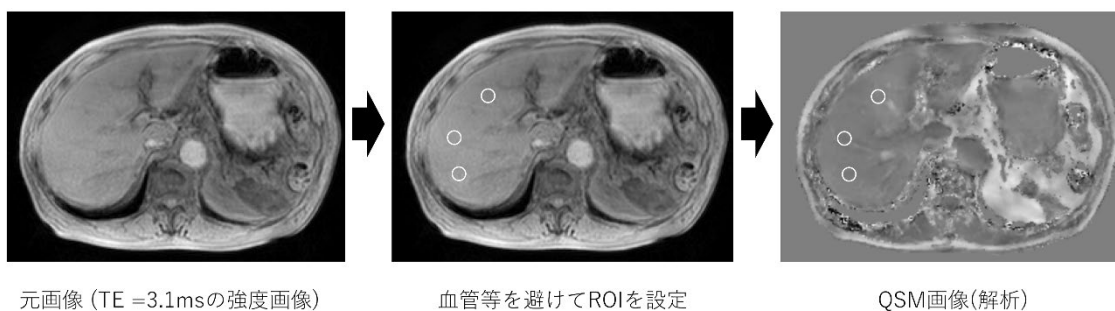


図 2:ROI の設定方法

QSM 画像は脈管や肝の辺縁、小さなアーチファクト等不明瞭な場合があるため、解剖構造が明瞭に描出される TE = 3.1 ms の強度画像を適宜参照しながら ROI を設定した。

各 ROI より、後述する histogram 解析、gray level co-occurrence matrix (GLCM)解析と run length matrix (RLM)解析の特徴量を抽出した。解析には MaZda software version 4.6 (Technical University of Lodz, Institute of Electronics, Poland)を使用した(Szczypiński et al., 2009)。

(1) ヒストグラム解析

全体が 1.0 になるように正規化された濃度ヒストグラム  $P(i)$  ( $i = 0, 1, \dots, n-1$ ) を作成する。そのヒストグラムから以下の特徴が求められる。

• 平均  $\mu = \sum_{i=0}^{n-1} i \cdot P(i)$

• 分散  $\sigma^2 = \sum_{i=0}^{n-1} (i - \mu)^2 \cdot P(i)$

• 歪度 =  $\sum (i - \mu)^3 \cdot P(i) / \sigma^3$

ヒストグラムの形状が対称な形からどれだけ歪んでいるのかの程度を表す。

• 尖度 =  $\sum (i - \mu)^4 \cdot P(i) / \sigma^4$

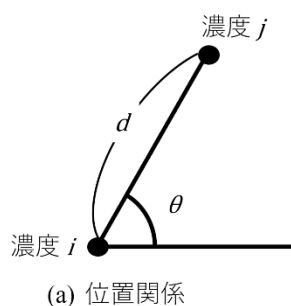
ヒストグラムの分布が平均値の周りに集中しているか、端の方へ広がっているのかの程度を表す。

MaZda では、この他に 1, 10, 50, 90, 99 パーセンタイル値も取得される。

本研究のヒストグラム解析では、これらの 9 つの特徴量を求めた。

(2) 濃度共起行列 (Grey level co-occurrence matrix: GLCM)

R.M.Haralickらによって提案された代表的なテクスチャ解析法で、図3に示すような濃度  $i$ 、濃度  $j$  の画素対の出現頻度を距離  $d$  と方向  $\theta$  の別に求め、行列  $p(i, j)$  として整理し、この行列よりテクスチャの特徴量を算出する(Haralick et al., 1973)。  $p(i, j)$  は、画像の濃度階調数を  $g$  とすると  $g$  行  $g$  列の正方行列となる。通常は、距離については近接から遠方へ数種類だが  $d = 1$  とした解析が一般的である。方向は  $0^\circ$ 、 $45^\circ$ 、 $90^\circ$ 、 $135^\circ$  の 4 種類である。



1	1	1	1	1
3	1	3	2	1
3	0	2	2	0
2	0	2	1	0
3	3	2	3	3

(b) 画像

$$p(i, j) = \begin{matrix} & \begin{matrix} \rightarrow j \\ 0 & 1 & 2 & 3 \end{matrix} \\ \begin{matrix} 0 \\ 1 \\ 2 \\ 3 \end{matrix} \downarrow i & \begin{bmatrix} 0 & 0 & 2 & 0 \\ 1 & 4 & 0 & 1 \\ 2 & 2 & 1 & 1 \\ 3 & 1 & 1 & 2 \end{bmatrix} \end{matrix}$$

(c)  $(d, \theta) = (1, 0^\circ)$

$$p(i, j) = \begin{matrix} & \begin{matrix} \rightarrow j \\ 0 & 1 & 2 & 3 \end{matrix} \\ \begin{matrix} 0 \\ 1 \\ 2 \\ 3 \end{matrix} \downarrow i & \begin{bmatrix} 2 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 3 & 2 \\ 2 & 3 & 1 & 1 \end{bmatrix} \end{matrix}$$

(d)  $(d, \theta) = (1, 90^\circ)$

図3: 濃度共起行列

本研究では階調数は 16 bit = 65536、 $d = 1$  として特徴量の計算を行った。なお、各画像の座標は整数であるため、 $45^\circ$  および  $135^\circ$  の場合は画素の距離が $\sqrt{2}$ で、 $0^\circ$  および  $90^\circ$  ( $d = 1$ )の場合とでは距離が微妙に異なる。ただし、本研究では対象画像に特定の方向性を想定してはおらず、特徴量は 4 方向の平均をとっており、距離の差の影響は小さいと考えられる。

MaZda では、この行列から以下の 11 の特徴量が計算される。本研究でもこれらの特徴量を算出している。

- Angular second moment (AngScMom) =  $\sum_i \sum_j \{p(i, j)\}^2$

テクスチャの一様性を示す。値が大きいときは一様性が高いことを示唆する。

- Contrast =  $\sum_{n=0}^{g-1} n^2 [\sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^g p(i, j)]$

局所的な濃度変化の強さを示す。濃度差の高い画素対が多いほど大きな値を示す。

- Correlation (Correlat) =  $\{\sum_i \sum_j (i, j)p(i, j) - \mu^2\} / \sigma^2$

ただし

$$p(i) = p(j) = \sum_i p(i, j) = \sum_j p(i, j), i, j = 1, \dots, g$$

$$\mu = \sum_i p(i) = 1/g, \sigma = \sqrt{\sum_i \{p(i) - \mu\} / (g - 1)}$$

相関の強さを示す。画像内に特定のパターンが現れる場合にこの値が大きくなる。

- Sum of squares (SumOfSqs) =  $\sum_i \sum_j (i - \mu)^2 p(i, j)$

画素対の局所的な濃淡のばらつきを示す。

- Inverse difference moment (InvDfMom) =  $\sum_i \sum_j \{(p(i, j)) / (1 + i - j)\}$

濃度変化の一様性を示す。画像が局所的な変化に乏しい場合に大きな値を示す。

- Sum average (SumAverg) =  $\sum_{i=1}^{2g} i \cdot p_{x+y}(i)$

ただし、 $p_{x+y}(k) = \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^g p(i, j), k = 2, 3, \dots, 2g$   
 $i+j=k$

濃淡の平均の大きさを表す。

- Sum variance (SumVarnc) =  $\sum_{i=1}^{2g} (i - \text{SumAverg})^2 \cdot p_{x+y}(i)$

Sum average を元にした画像全体の濃淡の変化を指す。一様な画像であれば小さな値を示す。

- Sum entropy (SumEntrp) =  $-\sum_{i=1}^{2g} p_{x+y}(i) \log \{p_{x+y}(i)\}$

濃淡の分布のパターンの不規則性を表す。

- Entropy =  $-\sum_i \sum_j p(i, j) \log \{p(i, j)\}$

画像の複雑さの尺度である。画像中に多くの階調が満遍なく現れている場合に大きな値を示す。

- Difference variance (DifVarnc) =  $\sum_{i=0}^{g-1} (i - \mu_{x-y})^2 p_{x-y}(i)$

ただし、 $\mu_{x-y}$  は  $p_{x-y}$  の差分分布の平均値、 $p_{x-y}(k) = \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^g p(i, j)$ 、 $k = 0, \dots, g-1$   
 $|i-j|=k$

画像の濃淡の差分分布を表す。

• Difference entropy (DifEntrp) =  $-\sum_{i=0}^{2g} p_{x-y}(i) \log \{p_{x-y}(i)\}$   
 濃淡の差分分布の不規則性を表す。

### (3) ランレングス行列 (Run length matrix: RLM)

ランレングスとは、ある方向( $\theta$ )に沿って並んだ一列の画素集合に対して、同じ階調をもつ画素の連続する(ラン)長さを指す。

あるテクスチャ画像内で、 $\theta$  の方向に関して濃度  $i$  の点が  $j$  個続く頻度(そのランの個数)を要素とするランレングス行列  $P(i, j; \theta)$  を求める。

M.M. Galloway は、ランレングス行列から求める 5 種類の特徴を提案している。大きさが  $N \times N$ 、階調数が  $g$  である画像から、ある方向  $\theta$  に関して作成されたランレングス行列の要素の合計値  $T$  を

$$T = \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^N P(i, j; \theta)$$

とすると、ランレングス行列から作成される 5 種類の特徴は以下の計算で抽出される。

$$\text{Short runs emphasis inverse moments (ShrtREmph)} = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^N P(i, j; \theta) / j^2$$

$$\text{Long runs emphasis moments (LngREmph)} = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^N j^2 P(i, j; \theta)$$

$$\text{Grey level nonuniformity (GLvNonUni)} = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^g [\sum_{j=1}^N P(i, j; \theta)]^2$$

$$\text{Run length nonuniformity (RLNonUni)} = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^N [\sum_{j=1}^g P(i, j; \theta)]^2$$

$$\text{Fraction of image in runs (Fraction)} = \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^N P(i, j; \theta) / N^2$$

ShrtREmph は短いランレングスの発生する頻度、LngREmph は長いランレングスの発生する頻度、GLNonUni は濃度の偏ったランの発生率、RLNonUni はランレングスの発生の偏り、Fraction はランを構成する画素の数の割合をそれぞれ表す(Galloway et al., 1975)。

MaZda ではこれら 5 種類の特徴量が全て計算可能で、本研究でもこれらの特徴量を算出した。GLCM 同様、特徴量は 4 方向( $0^\circ$ 、 $45^\circ$ 、 $90^\circ$ 、 $135^\circ$ )の平均をとった。

<統計解析>

Histogram、GLCM、RLM の各特徴量の平均値に関して、2 群間の比較を対応のない Student の t 検定で行い、統計学的有意差を  $p < 0.05$  とした。なお、GLCM と RLM においては、方向による影響を除くため、各特徴量につき 4 方向( $\theta = 0, 45, 90, 135$ )で算出の特徴量を平均化した値を比較した。解析には JMP ソフトウェア(v14.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を使用した。

## 結果

### <解析エラーが生じた1例>

図に对照群と肝硬変群の肝QSM画像を図2に示す。肝硬変群のNo.2の症例において、肝内磁化率が突出して不自然なほどに不均一となっていた。QSMの解析エラーが疑われたため、詳細な検討を行った。

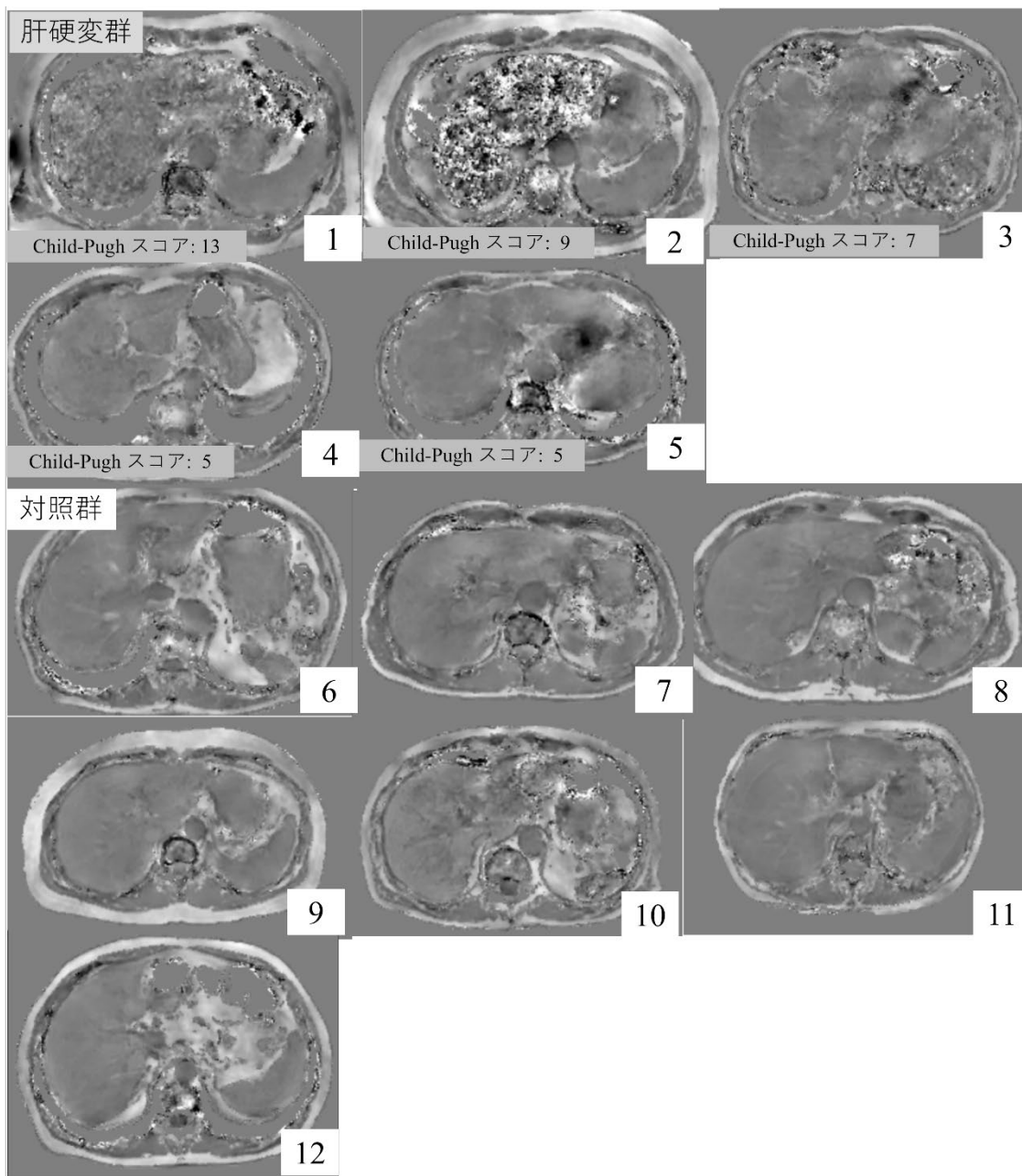


図4: 各症例のQSM画像

No.2の症例において、肝内磁化率が他の症例と比較しても極端に不均一となっている。

各症例の long TE 像を比較すると、No.2 の症例のみにおいて、強度画像では肝内の信号が著明かつ均一に低下していた(図 5)。

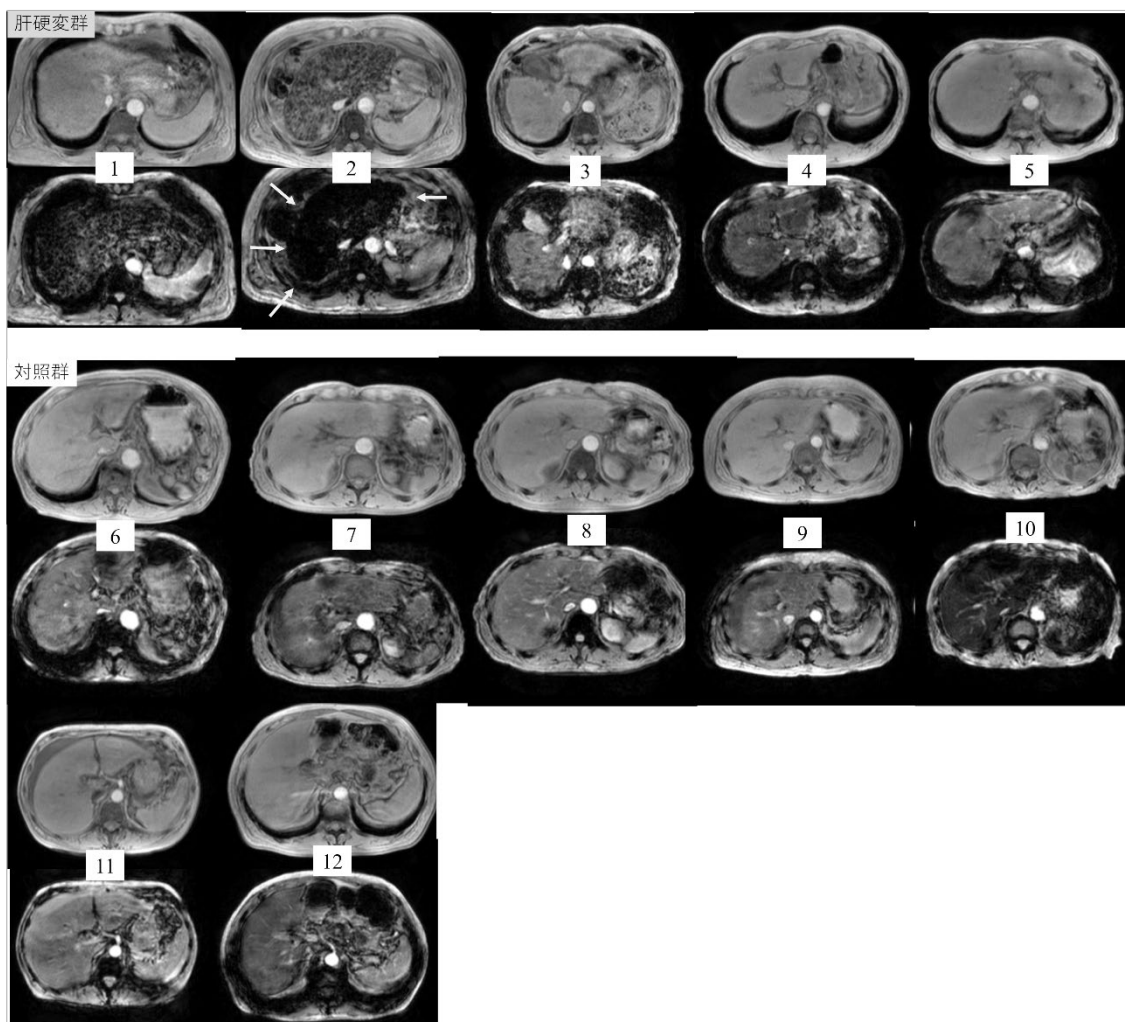


図 5: 各症例の強度画像(上:TE = 3.1 ms、下:TE = 20.6 ms)

グラディエントエコー法による撮像法では、long TE 像で元々鉄が沈着している肝内の信号が低下する。いずれの症例でも TE = 20.1 ms の強度画像では TE = 3.1 ms と比較して肝内の信号が低下しているが、No.2 の症例では肝内の著明かつ均一な信号低下がみられる(矢印)。R2\*の著明高値による影響と考えられる。

また、位相画像では肝内に波を認めなかった(図 6)。

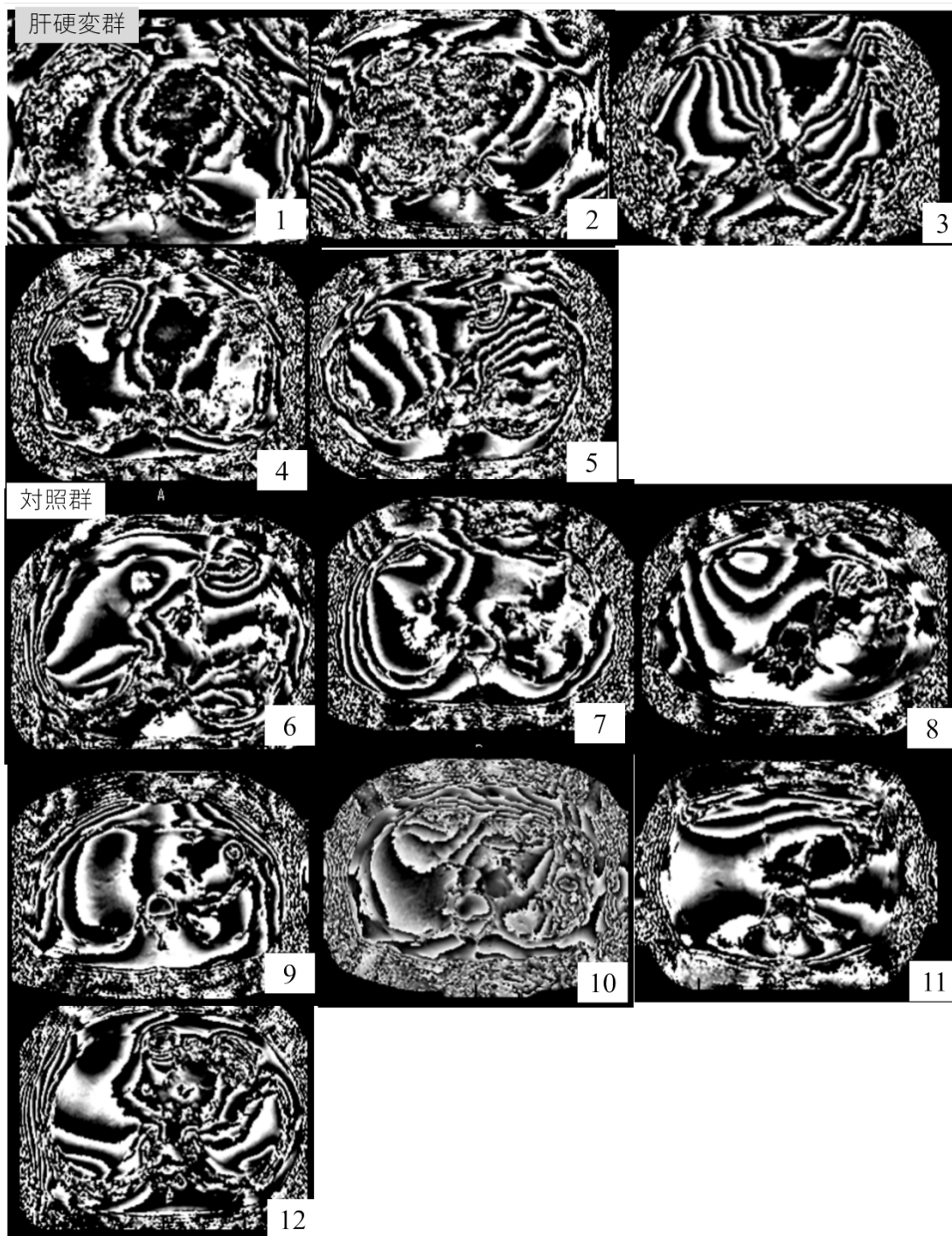


図 6: 各症例における long TE (TE = 20.1 ms) 像の位相画像

No.2 の症例では肝内に相当する部分に波を認めないが、他の症例では肝内に相当する部分に coherent な波がみられる。No.2 では強度画像における肝内信号の著明かつ均一な低下を反映していると思われる。

QSM 再構成のための MRI 画像は、方法に記載の通り 3D-GRE 法により 6 つの  $TEs = 3.1/6.6/10.1/13.6/17.1/20.6 \text{ ms}$  で取得される。一般的に、臓器内鉄の濃度により緩和速度の指標である  $R2^*$  が線形に上昇し、それによって臓器内磁場がより不均一となる。GRE 法では long TE 像において不均一な磁場を示す臓器内の信号がより低下するという特徴がある。すなわち、 $R2^*$  が著明高値の場合に、強度画像の肝内信号が著しく低下し、それにより得られる位相画像の信号が不適切なものとなり QSM の再構成に失敗した可能性が考えられた。これを踏まえて、各症例の  $R2^*$  マッピングの画像を図 7 に示す。症例 No.2 において、他の症例と比較して肝内全体に高輝度 ( $R2^*$  の高値) が目立っていた。

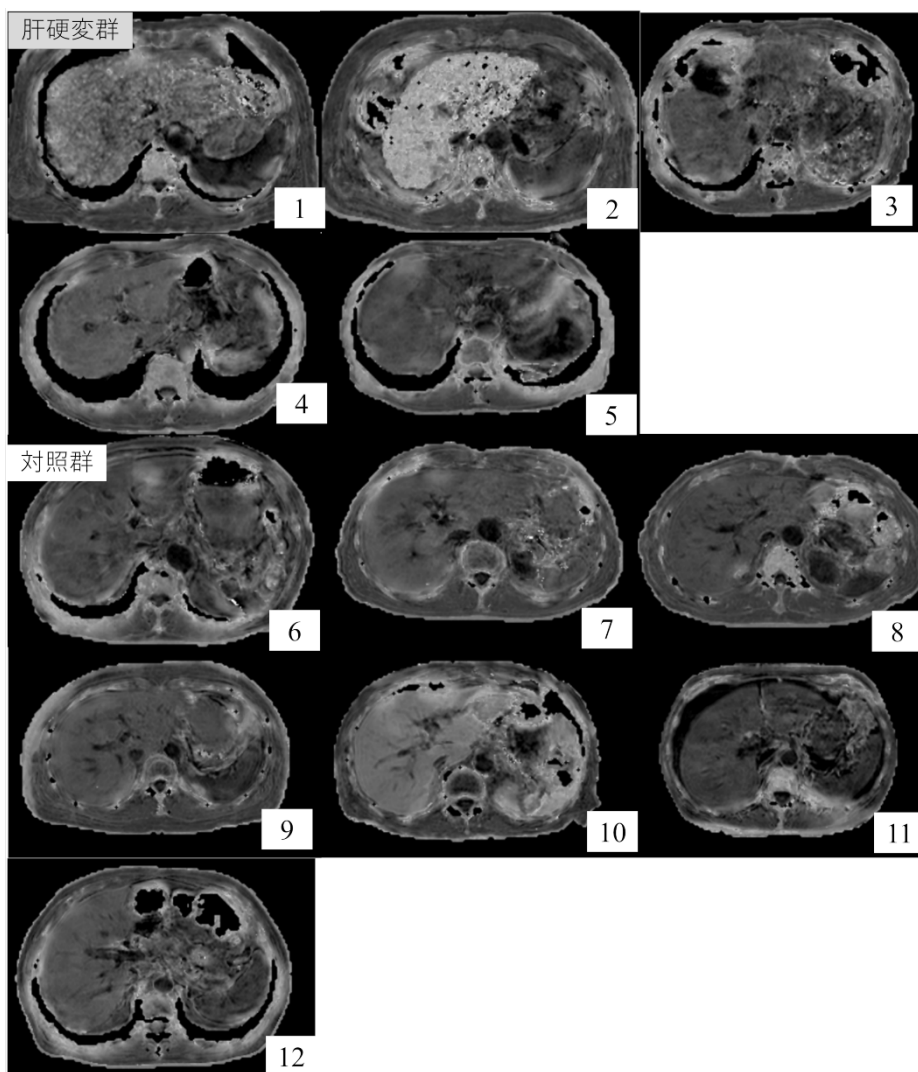


図 7: 各症例の  $R2^*$  マッピング画像

No.2 の症例において、肝内  $R2^*$  が他の症例と比較しても極端に(高輝度)高値を示している。その他、同症例の肝内には画素値が 0 となる不自然な点状領域が散見され、計算エラーの影響を疑う。

磁化率の分散と同様、各患者につき 8 個の ROI のデータを平均化して、各患者における R2\*の平均値を抽出した。その結果をグラフとして図 8 に示す。R2\*マッピング画像およびグラフの如く、症例 No.2 において他の症例と比較して R2\*の突出した高値が目立っていた。R2\*の値に関して Smirnov-Grubbs 検定を行ったところ、1 回目の検定で症例 No.2 の値において帰無仮説が  $p=0.007$  で棄却された。症例 No.2 の値を除いた 2 回目の検定では、帰無仮説は棄却されなかった。以上より、症例 No.2 の R2\*が外れ値と判定された。そのため、以降の検討では症例 No.2 を除外した。

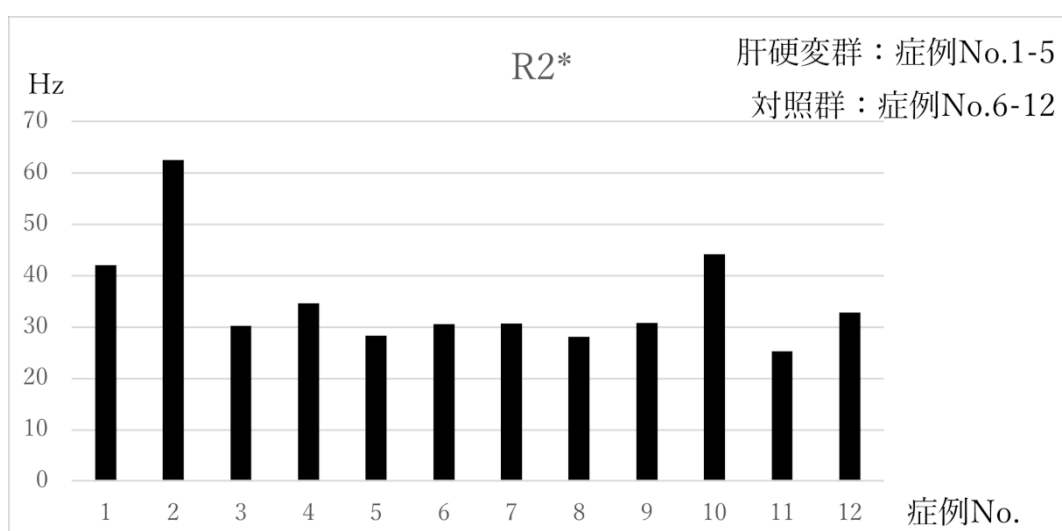


図 8: 各患者の ROI(8 個)内における R2\*の平均値。肝硬変群の症例 No.2 において R2\*が他の症例と比較して突出して高値を示している。Smirnov-Grubbs 検定を行ったところ、症例 No.2 の値のみが外れ値と判定された。

No.2 の症例を除外した後の患者背景を表 2 に示す。

表 2. 各群の内訳 (No.2 の症例を除外した後)

	肝硬変群	対照群
N(男/女)	4(4/0)	7(5/2)
年齢(歳)	52-74 (中央値:68.5)	57-83 (中央値:73)
疾患	慢性 C 型肝炎 (2) NASH (1) 原因不明 (1)	膵管内乳頭粘液性腫瘍 (5) 食道癌 (1) 膵癌 (1)

<2 群間比較>

各特徴量の2群間比較の結果を表3に示す。磁化率の平均値に有意差を認めなかったが、分散は肝硬変群で有意に高値を示した。また、肝硬変群で1, 10のパーセンタイル値は有意に低値、90, 99のパーセンタイル値は有意に高値を示した。GLCMではいずれの特徴量においても2群間に有意差を認めなかった。RLMでは、肝硬変群で2項目(RLNonUni, GLevNonU)において数値が有意に上昇していた。

表3: 肝硬変群、対照群の肝内磁化率における各特徴量の比較

	平均値(標準誤差)(単位:ppb)		t値 (86)	P 値
	肝硬変群(n = 32)	対照群(n = 56)		
ヒストグラム				
平均	-1.711 (7.804)	4.299 (5.899)	0.6144	0.5405
分散	5756.49 (803.55)	1340 (607.43)	-4.3845	<0.0001*
歪度	0.3710 (0.1221)	0.2068 (0.0923)	-1.0722	0.2866
尖度	1.1741 (0.4617)	0.4047 (0.3490)	-1.3294	0.1872
1パーセンタイル	-145.63 (14.79)	-68.89 (11.18)	4.1373	<0.0001*
10パーセンタイル	-74.00 (9.27)	-35.911 (7.01)	3.2749	0.0015*
50パーセンタイル	-6.09 (8.24)	3.23 (6.23)	0.9026	0.3692
90パーセンタイル	78.87 (10.86)	47.91 (8.21)	-2.2728	0.0255*
99パーセンタイル	183.96 (22.13)	88.32 (16.73)	-3.4471	0.0009*
GLCM				
AngScMom	0.54938 (0.03744)	0.59697 (0.02830)	1.0139	0.3134
Contrast	0.18716 (0.01541)	0.15381 (0.01165)	-1.7266	0.0878
Correlat	0.33757 (0.02868)	0.39547 (0.02168)	1.6106	0.1109
SumOfSqs	0.15461 (0.01401)	0.14044 (0.01059)	-0.80655	0.4222
InvDfMom	0.90641 (0.00770)	0.92309 (0.00582)	1.7266	0.0878
SumAverg	64.9155 (0.11455)	65.0839 (0.08659)	1.1729	0.2441
SumVarnC	0.43127 (0.04265)	0.40796 (0.03224)	-0.4359	0.6639
SumEntrp	0.31915 (0.02374)	0.29496 (0.01795)	-0.8129	0.4185
Entropy	0.37549 (0.02806)	0.34126 (0.02121)	-0.9730	0.3332
DifVarnC	0.14139 (0.01004)	0.12213 (0.00759)	-1.5314	0.1293
DifEntrp	0.19201 (0.01155)	0.17264 (0.00873)	-1.3375	0.1846
RLM				
RLNonUni	6.28246 (0.40185)	5.15641 (0.30377)	-2.2353	0.0280*
GLevNonU	14.9986 (0.41854)	13.9150 (0.31638)	-2.0652	0.0419*
LngREmph	20.4957 (2.0381)	23.5170 (1.5406)	1.1825	0.2402
ShrtREmp	0.33627 (0.01593)	0.31497 (0.01204)	-1.0669	0.2890
Fraction	0.30530 (0.01311)	0.27693 (0.00991)	-1.7266	0.0878

## 考察

肝硬変群では QSM 画像でみる磁化率の分散が有意に高値を示した。1、10 パーセンタイル値が有意に低値、90、99 パーセンタイルの値は有意に高値を示しており、分散が大きくなった原因と考えられた。肝内への鉄沈着による磁化率上昇が 90、99 パーセンタイル値に、線維化の蓄積による磁化率低下が 1、10 パーセンタイル値にそれぞれ反映され、分散に関しては鉄沈着と線維化という、互いに磁化率として相反する作用を及ぼす現象が不規則にみられているのを反映していると思われた。QSM 画像でみる磁化率は肝内の鉄沈着のみならず線維化を反映し、ヒストグラム解析が肝線維化の評価に有用である可能性が示唆される。

ただし、今回の ROI は直径 11 ピクセル (15.0mm、面積 1.76 cm<sup>2</sup>) と小さめである。また、本章では個々の ROI のデータを独立したものとして扱ったが、肝内の線維化の進行は一樣ではないとされており、一患者内における 8 カ所の ROI 内データ間のばらつきの影響を受けていると考えられる。より大きな面積の ROI をとり、患者毎に各 ROI の特徴量の値を平均化して比較してみる必要がある。

一方、二次統計量では RLM の 2 項目 (RLNonUni、GLevNonU) が肝硬変群で有意に上昇していた。これらは ROI 内画素値の不均一性の指標であり、ヒストグラム同様肝内の鉄沈着と高度な線維化による肝内磁化率の不均一性を反映していると思われる。しかしながら、二次統計量の特徴量で有意差を示したのは 16 項目 (GLCM の 11 項目 + RLM の 5 項目) 中 2 項目に留まっていた。肝硬変の偽小葉のサイズは成因でも異なるが、小さいタイプでは 3mm 以下で正常肝小葉の大きさ (直径 1-2 mm) と同程度であり、その場合は一般に偽小葉の大小不同は少なく整っており、それを隔てる線維結合織も比較的幅が狭いとされている (諸星ほか, 1983) が、肝硬変が進行すると偽小葉のサイズが増大、および線維結合織の幅が拡大することが報告されている (Kawasaki et al., 1992 | 梅川ほか, 1991)。本研究での QSM 画像はピクセルの一辺がおおよそ 1mm に相当する。つまり、肝硬変の初期段階、すなわち代償性の状態では正常肝と比較して肝内磁化率の二次元的な不均一化が軽微で目立たず、進行して非代償性の状態になるに従って不均一性が顕著になると推定される。本研究では肝硬変群の中に解析対象の 4 例中 Child-Pugh スコアが 5 点 (代償性) の症例が 2 例含まれており、これらの症例において対照群と比較して肝内磁化率の二次元的なテクスチャの変化が乏しく、二次統計量に関して有意差を示す項目が少なかった原因である可能性がある。二次統計量による解析では、肝線維化の終末像である肝硬変の中でも比較的進行した症例でしか肝内磁化率の二次元的な濃度の変化を検出できない可能性があり、より早期の肝線維化の診断・評価の有用性に乏しいと考えられる。

また、肝硬変群において極端に肝内磁化率が不均一な 1 例が見られ、画像取得時のエラーが疑われた。症例毎の比較では同症例で磁化率の分散と同時に R2\* が他と比較して

突出して高値を示していた。この結果を踏まえると鉄沈着が著明で  $R2^*$  が極端に高値を示す場合においては、QSM の再構成に失敗すると考えられるため、QSM 解析の臨床応用においては注意が必要となりえる。

今回は肝線維化の終末像である肝硬変群と正常肝との比較であったが、今後は他のバイオマーカーや肝線維化の各ステージの病理組織標本をリファレンスとした比較が望まれる。その上で、肝線維化の診断指標としての有用性を検討するため、カットオフ値の設定も検討するのが望ましいと考えられた。

## 第2章

### 肝線維化の進行度と肝内磁化率の関連性の検討

#### 緒言

前章では、肝疾患のない患者と比較して、肝硬変患者において肝内の磁化率が不均一に変化しており、ヒストグラム解析は肝内鉄沈着に加えて肝線維化を反映していると思われる結果を示し、肝線維化の診断・評価に有用な可能性があると考えられた。前章の結果を踏まえると、肝線維化の進行に比例して、鉄沈着と線維性結合織の蓄積により肝内磁化率が不均一・不規則に変化することが予想される。ヒストグラム解析でその変化を定量することで、肝線維化の進行度が予測出来る可能性がある。他方、二次元的な濃度変化を定量する二次統計量による解析では、進行した肝硬変でなければ肝内磁化率の変化が検出できない可能性が示唆され、肝硬変に至る前の肝線維化の評価への有用性は乏しいと考えられた。

QSM解析による肝線維化診断の実現可能性についてはex-vivoの先行研究がある(Jafari et al., 2021)。この報告では、19例の肝摘出標本の切片に対してQSMとR2\*マッピングの画像を取得し、磁化率とR2\*の中央値をそれぞれ計算して線維化無し/有りの2群間で比較した結果、磁化率においては有意差を認めなかったが、R2\*が線維化有りの群で有意に高値を示していた。しかしながら、同報告では磁化率、R2\*に関して中央値以外には注目しておらず、線維化した肝内の磁化率およびR2\*の分布を十分に反映しているとは言えないと思われる。また、in vivoでの報告はない。本章では、超音波によるTransient Elastographyと生検等の標本を用いた肝線維化ステージの病理組織学的診断という、どちらも肝線維化に関して参照基準となっている評価が両方なされている症例を対象に肝QSM画像のヒストグラム解析を行い、Transient elastographyにより測定された肝弾性度および病理組織学的な肝線維化ステージとの相関を調べた。

#### 方法

##### <対象>

本研究は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会での承認を得て行われ(研究番号:017-0460)、研究参加に際してはオプトアウトとした。選出された患者には病院のウェブサイトを通じて拒否の機会を保証した。2017年7月から2019年10月までの期間、北海道大学病院において上腹部臓器の疾患疑いで第2MRI装置(日立製作所製)による腹部MRI(QSM)を撮像した患者のうち、以下の基準をすべて満たす肝線維症または慢性肝疾患の患者を対象とした。

- 1) 20歳以上

- 2) MRI 検査前後 8 ヶ月以内に Transient elastography による肝弾性度測定が行われている
- 3) 肝生検または肝切除標本を用いて、新犬山分類に基づく肝線維化ステージが診断されている

調査期間において以上の基準を全て満たす患者 16 名を選出した。全症例の QSM, R2\* マッピング画像、long TE の位相画像を図 9 に示す。この中で、No.15 の症例は、息止め不良によるモーションアーチファクトの影響で著しく画質不良なため除外した。また、No.16 の症例において肝内 R2\*が他の症例と比較して高値を示し、long TE の位相画像では肝内の波が認められず、肝内磁化率が他症例と比較して極端に不均一となっており QSM 再構成の失敗が疑われた。

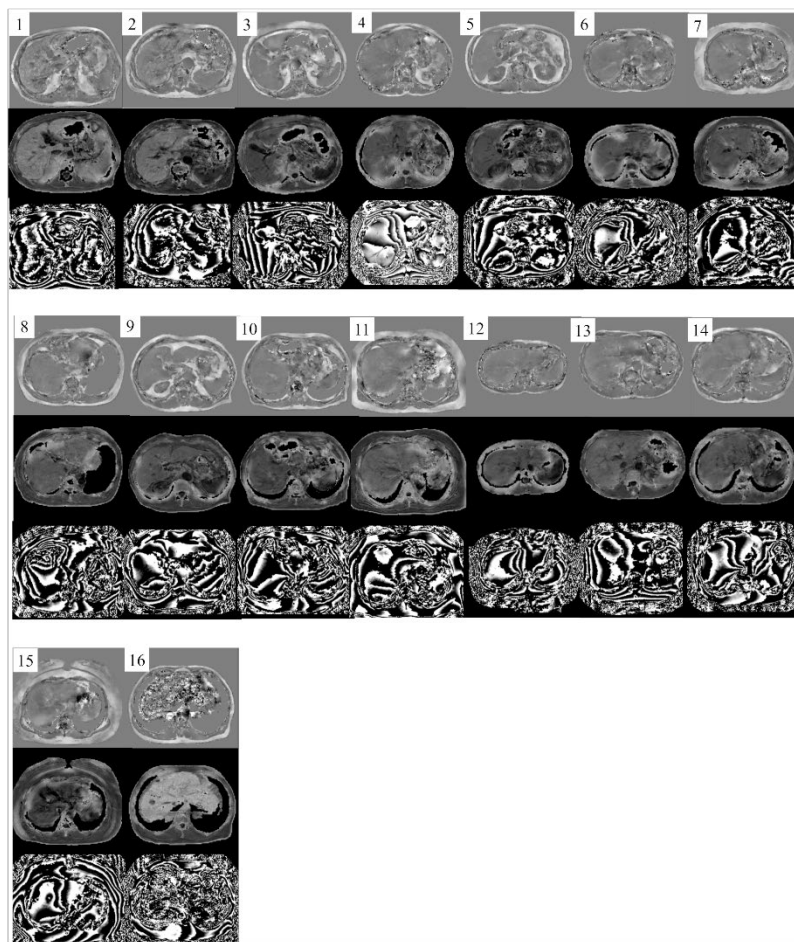


図 9: 各症例の QSM 画像(上)、R2\*マッピング画像(中)、TE = 20.1 ms の位相画像(下)  
 No.15 と 16 は除外した症例。No.15 では QSM、R2\*のマッピング画像で息止め不良によるモーションアーチファクトの影響で肝内の信号が不自然に不均一となっている。No.16 では肝内で R2\*の高輝度(高値)が目立ち、位相画像で肝内に波がみられない。QSM 画像では肝内の信号が著しく不均一となっており、再構成の失敗を見ていると考える。

第1章と同様に、各患者の ROI 内 R2\*平均の平均値を算出したところ、同症例において R2\*が他症例と比較して突出して高値を示し(図 10)、Smirnov-Grubbs 検定を行うと No.16 の値のみが外れ値と判定された。以上より同症例のデータも不適切と考えられ除外した。

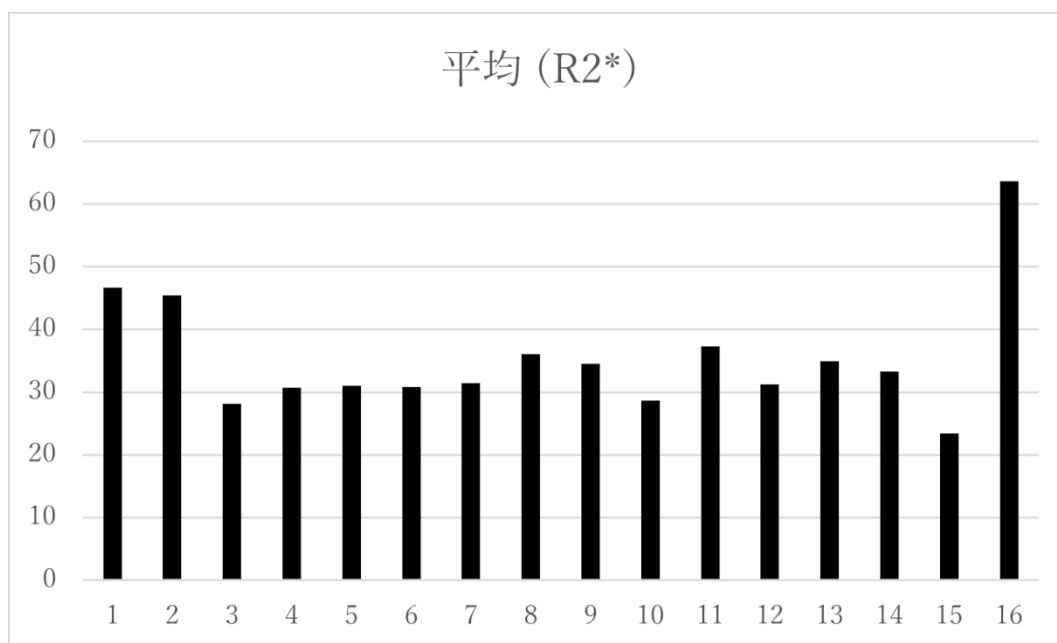


図 10: 各患者の ROI(8 個)内における R2\*の平均値。症例 No.16 において R2\*が他の症例と比較して突出して高値を示している。Smirnov-Grubbs 検定を行ったところ、症例 No.16 の値のみが外れ値と判定された。

最終的に 14 名の患者を評価対象とした。男性 10 名、女性 4 名、年齢:33-85 歳(中央値: 73 歳)。疾患の内訳は以下の通り:B 型ウイルス性肝炎(6 名)、C 型肝炎ウイルス(2 名)、NAFLD (3 名)、肝エキノコックス(2 名)、転移性肝腫瘍(1 名)。組織標本の採取は 5 名が肝生検、9 名が肝切除により行われた。

#### <MRI 撮像方法>

第 1 章と同様とした。

#### <画像処理方法>

第 1 章と同様とした。

#### <肝弾性度測定>

肝弾性度測定は、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。

測定は 6 名の北海道大学病院所属超音波検査技師により行われた。経験年月は 5 年(4 名)、1 年 6 ヶ月(1 名)、7 ヶ月(1 名)。

#### <病理所見>

新犬山分類(1996)に基づく肝線維化ステージは、生検または切除によって得られた組織標本の病理組織診断報告書に記載されているデータを取得した。診断報告書に異なる線維化ステージが併記されている場合は、より進行したステージを採用した。

なお、新犬山分類は以下の通り:F0 = 線維化なし、F1 = 門脈域の線維性拡大(軽度の線維化)、F2 = 線維性架橋形成(中程度の線維化)、F3 = 小葉のひずみを伴う線維性架橋形成(重度の線維化)、and F4 = 肝硬変。

#### <画像解析>

直径 17 ピクセル(23.2mm、面積 4.22 cm<sup>2</sup>)の円形 ROI を、以下のルールを全て満たすよう手動で QSM 画像と R2\*マッピング画像の同じ部位に設置した(前章と比較して ROI のサイズを拡大した)。

①各患者につき、肝内の Couinaud 分類の各亜区域(S1~S8)実質に 1 カ所ずつ、8 カ所の ROI を設置

②脈管をよける

③肝の辺縁や腫瘍の辺縁から 5 ピクセル以上の距離を確保する

④ゴーストアーチファクト(心拍動により位相エンコード方向に生じるアーチファクト)をよける

⑤切除された亜区域、および②・③・④の条件をすべて満たせるように ROI が設置出来ない亜区域(例:実質が萎縮している、巨大な腫瘍による占拠されている、等)は ROI 設置の対象から除外する

なお、ROI 設置にあたって②③④の構造は QSM 画像や R2\*マッピング画像のみでは不明瞭な場合があるため、第 1 章と同様、解剖構造が明瞭に描出される元画像を適宜参照した。

各 ROI より、第 1 章と同様の手法で histogram 解析の特徴量を抽出した。

#### <統計解析>

患者毎で肝内の各亜区域に設置した ROI より得られた各特徴量の平均値をとった。各特徴量と、肝弾性度および病理組織学的肝線維化ステージとの相関を調べるため、それぞれ Pearson の相関係数、Spearman の順位相関係数を計算した。

また、全症例を F0-1 (F0 + F1、線維化:無し～軽度)対 F2-4 (F2 + F3 + F4、中程度以上の線維化)、F0-2 (F0 + F1 + F2、線維化:無し～中程度)対 F3-4 (F3 + F4、重度の線維化～肝硬変)の 2 パターンの 2 群にわけ、それぞれのパターンでの 2 群間比較を対応のない Student の t 検定で行った。

さらに、F2(中程度)以上のステージの線維化と F3(重度)以上のステージの線維化を予測・診断するため、各特徴量の receiver-operator characteristics (ROC)解析を行い、曲線下面積 (Area under the curve, AUC)、感度、特異度、精度、カットオフ値を算出した。カットオフ値は、Youden の指標が最大となるよう算出した。

磁化率測定 of 再現性の評価は級内相関係数 (Interclass correlation coefficient, ICC)を使用した。本研究では、Shrout らの分類の ICC(1, 1)を用いて検者内の再現性を評価した。また、他の 2 名の放射線診断専門医にも ROI を設定してもらい、ICC(2, 1)を用いて検者間の再現性を評価した。

P 値が 0.05 未満の場合を統計学的に有意とした。なお、ROC 解析や ICC に関しては、95%信頼区間はサンプルサイズが小さいため適切な値が算出されないと判断し、計算しなかった。統計解析には、JMP ソフトウェア(v14.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)およびエクセル統計(v3.20, (株)社会情報サービス)を使用した。

## 結果

### <F0 症例と F4 症例の画像比較>

各線維化ステージの症例数はそれぞれ F0: 4 例、F1: 2 例、F2: 3 例、F3: 1 例、F4: 4 例であった。MRI 検査から肝組織標本採取(生検または切除)までの日数(中央値)は F0-3: 23 日(四分位範囲 2-288 日)、F4: 4195 日(四分位範囲 652-5699 日)であった。

線維化ステージ:F0 と F4 の症例の MRI 画像を、それぞれ図 11、図 12 に提示する。図に示す通り、F4 の症例では全体的に肝内の磁化率が上昇する傾向を示していた。

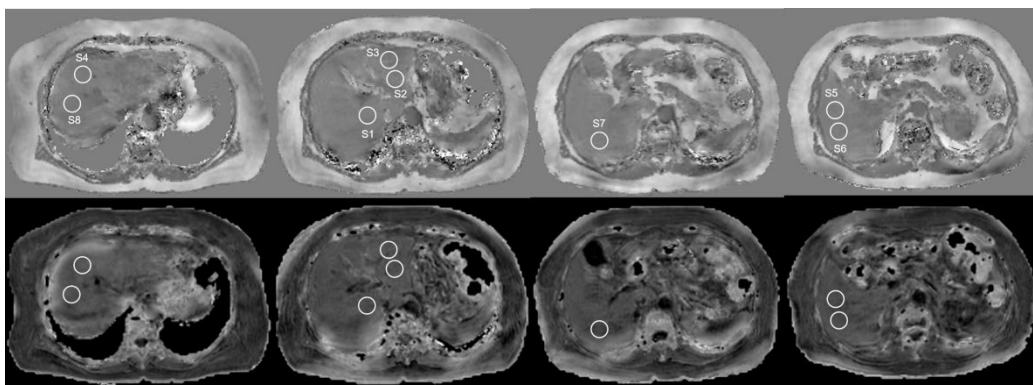


図 11: 肝線維化ステージ: F0、肝弾性度: 5.9 kPa の症例における QSM 画像(上)と R2\* マッピング画像(下)

各 ROI 内における磁化率と R2\*の平均値は S1 (-8.516 ppb, 30.552 Hz)、S2 (-0.281 ppb, 31.715 Hz)、S3 (-28.683 ppb, 33.127 Hz)、S4 (-26.204 ppb, 34.878 Hz)、S5 (-5.43 ppb, 29.837 Hz)、S6 (-7.475 ppb, 30.199 Hz)、S7 (-1.787 ppb, 27.493 Hz)、S8 (-34.063 ppb, 32.471 Hz)。全 ROI における平均値は-14.055 ppb、31.284 Hz。

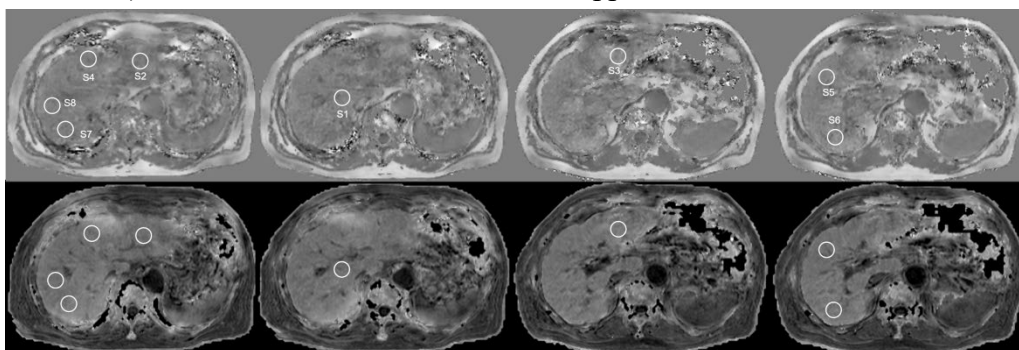


図 12: 肝線維化ステージ: F4、肝弾性度: 11.6 kPa の症例における QSM 画像(上)と R2\* マッピング画像(下)

各 ROI 内における磁化率と R2\*の平均値は S1 (10.471 ppb, 44.398 Hz)、S2 (-35.837 ppb, 44.253 Hz)、S3 (114.814 ppb, 48.765 Hz)、S4 (1.109 ppb, 45.959 Hz)、S5 (24.982 ppb, 42.688 Hz)、S6 (76.480 ppb, 45.674 Hz)、S7 (-18.986 ppb, 47.778 Hz)、S8 (-2.072 ppb, 43.482 Hz)。全 ROI における平均値は 21.370 ppb、45.419 Hz。

また、心臓や消化管の近くで著明なアーチファクトの発生はみられていない(図 13)。

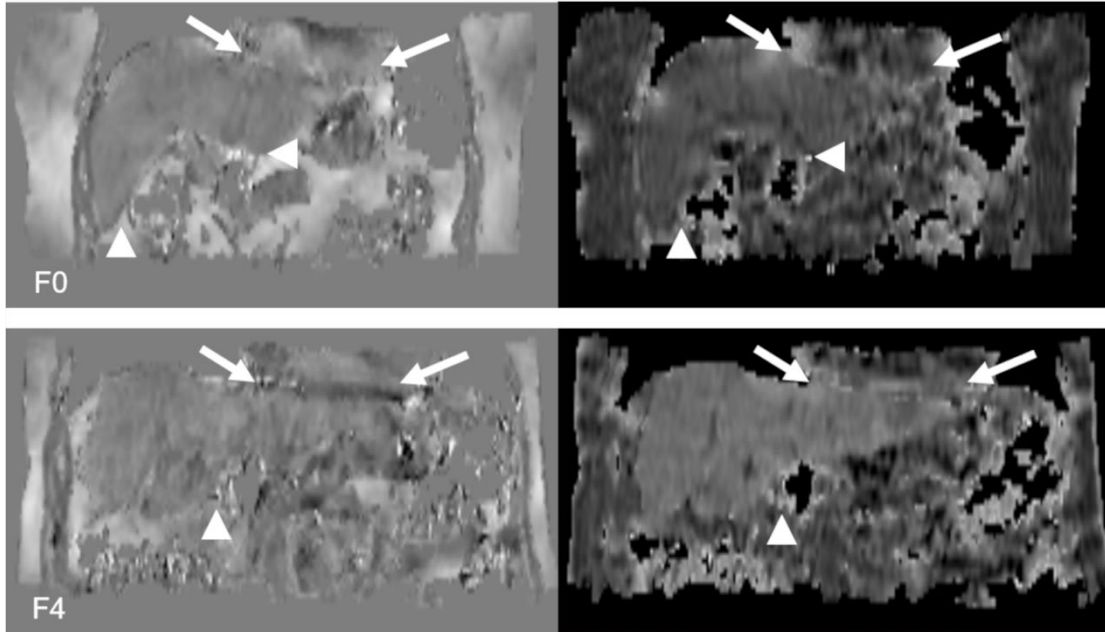


図 13: 肝線維化ステージ:F0(上)、F4(下)の冠状断再構成画像(左:QSM、右:R2\*マッピング)。

心臓の近傍(矢印)や消化管の近傍(矢頭)でアーチファクトは目立たず、画質は良好である。

<各特微量と肝弾性度の相関>

各特微量と肝弾性度の散布図を図 14 に示す。肝弾性度は肝内磁化率の平均、分散、1・50・90・99 パーセンタイル値と有意に相関していた(図 14)。

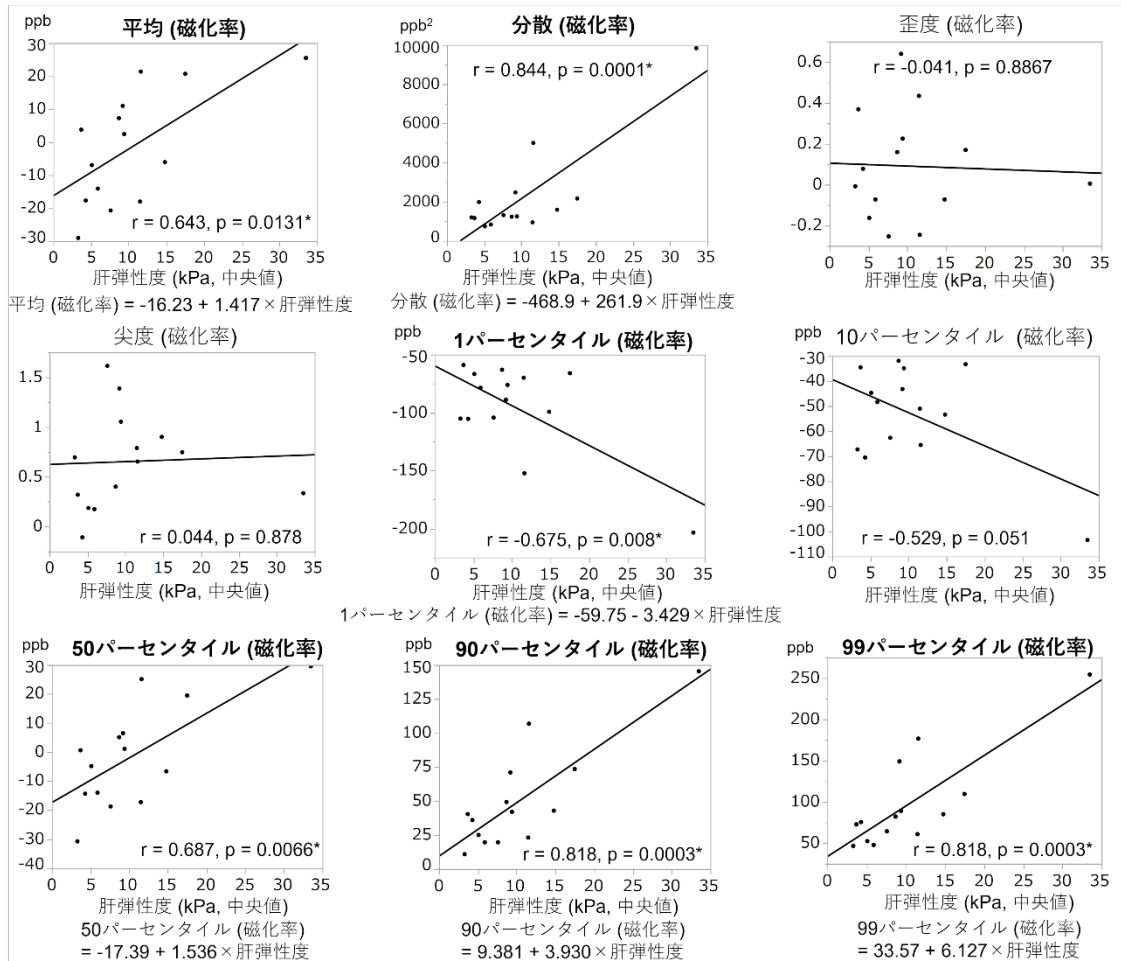


図 14: 肝弾性度と磁化率の各特微量の散布図

平均、分散、1、50、90、99 パーセンタイル値において肝弾性度との間に有意な相関がみられる。

一方、肝内 R2\*に関しては、平均、歪度、10・50・90・99 パーセンタイル値と肝弾性度の間  
に有意な相関がみられた(図 15)。

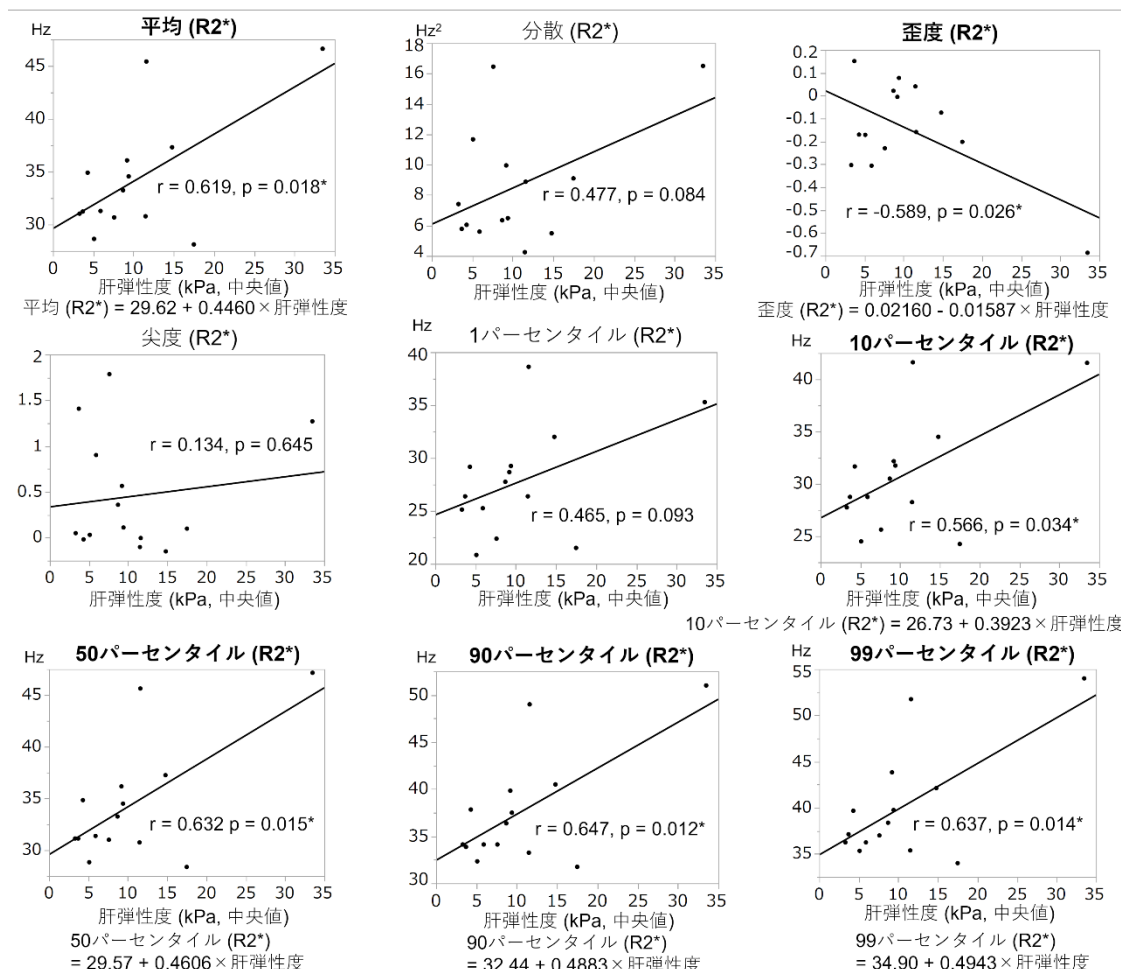


図 15: 肝弾性度と R2\* の各特徴量の散布図

平均、歪度、10、50、90、99 パーセンタイル値において肝弾性度との間に有意な相関がみ  
られた。

<各特微量と肝線維化ステージの相関>

肝線維化 Stage と各特微量の相関を表 4 に示す。肝内磁化率については、平均、50・90・99 パーセンタイル値が肝線維化ステージと有意な相関を示した。R2\*についてはいずれの特微量も肝線維化ステージとの間に有意な相関を認めなかった。なお、肝弾性度と肝線維化ステージの相関は  $\rho = 0.680$ , P 値 = 0.0074 であった。

表 4: 各特微量と肝線維化ステージとの相関

	磁化率		R2*	
	$\rho$	P 値	P	P 値
平均	0.637	<b>0.0142*</b>	0.327	0.2525
分散	0.486	0.0780	0.219	0.4513
歪度	0.244	0.4002	0.377	0.1832
尖度	0.526	0.0529	-0.104	0.7235
1 パーセンタイル	0.074	0.7999	0.431	0.1238
10 パーセンタイル	0.368	0.1948	0.418	0.1362
50 パーセンタイル	0.671	<b>0.0086*</b>	0.316	0.2697
90 パーセンタイル	0.706	<b>0.0048*</b>	0.345	0.2268
99 パーセンタイル	0.723	<b>0.0035*</b>	0.409	0.1458

<2 群間比較>

F0-1 対 F2-4 の群間比較の結果を表 5 に示す。肝内磁化率の平均、50・90・99 パーセン  
 タイル値が F2-4 群で有意に高値を示した。肝内 R2\*に関しては、いずれの特徴量におい  
 ても有意差を認めなかった。

表 5: 各特徴量における F0-1 対 F2-4 の 2 群間比較

特徴量	平均値 (標準誤差) (磁化率 : ppb, R2* : Hz)		t 値 (12)	P 値
	F2-4 (n=8)	F0-1 (n=6)		
磁化率				
平均	8.043 (4.7942)	-14.084 (5.5358)	3.02144	<b>0.0106*</b>
分散	3060.18 (823.66)	1203.05 (951.08)	1.476057	0.1657
歪度	0.16471 (0.09069)	-0.00800 (0.10472)	1.246666	0.2363
尖度	0.783488 (0.16787)	0.480415 (0.19383)	1.181941	0.2601
1 パーセンタイル	-102.35 (14.342)	-86.48 (16.561)	-0.72422	0.4828
10 パーセンタイル	-52.059 (7.1999)	-54.653 (8.3138)	0.23586	0.8175
<b>50 パーセンタイル</b>	7.884 (5.0005)	-13.674 (5.7741)	2.82226	<b>0.0154*</b>
<b>90 パーセンタイル</b>	69.2567 (11.096)	25.2500 (12.813)	2.596317	<b>0.0234*</b>
<b>99 パーセンタイル</b>	125.804 (17.649)	59.806 (20.379)	2.448095	<b>0.0307*</b>
R2*				
平均	36.5153 (1.8279)	31.2930 (2.1107)	1.870297	0.0860
分散	8.37510(1.4363)	8.82549 (1.6585)	-0.20529	0.8408
歪度	-0.12344 (0.07723)	-0.17156 (0.08918)	0.407919	0.6905
尖度	0.268946 (0.22010)	0.693291 (0.25415)	-1.26217	0.2309
1 パーセンタイル	29.9315 (1.5895)	24.8542 (1.8354)	2.091202	0.0585
10 パーセンタイル	33.0766 (1.7382)	27.8403 (2.0072)	1.972102	0.0721
50 パーセンタイル	36.6324 (1.8524)	31.3819 (2.1389)	1.855619	0.0882
90 パーセンタイル	39.9010 (1.9142)	34.4028 (2.2104)	1.880353	0.0845
99 パーセンタイル	42.4010 (1.9850)	36.9375 (2.2921)	1.8019	0.0967

F0-2 対 F3-4 の群間比較の結果を表 6 に示す。肝内磁化率の平均と 50 パーセンタイル値が F3-4 群で有意に高値を示した。肝内 R2\* に関しては、いずれの特徴量においても有意差を認めなかった。

表 6: 各特徴量における F0-2 対 F3-4 の 2 群間比較

特徴量	平均値 (標準誤差) (磁化率 : ppb, R2* : Hz)		t 値 (12)	P 値
	F3-4 (n=5)	F0-2 (n=9)		
<b>磁化率</b>				
平均	12.566 (6.2708)	-9.221 (4.6740)	2.785589	<b>0.0165*</b>
分散	2422.01 (1131.1)	2176.64 (843.1)	0.173936	0.8648
歪度	0.190055 (0.11655)	0.035491 (0.08687)	1.063268	0.3086
尖度	0.848516 (0.21310)	0.545313 (0.15883)	1.140815	0.2762
1 パーセンタイル	-89.242 (18.394)	-99.048 (13.710)	0.427434	0.6766
10 パーセンタイル	-41.733 (8.1468)	-59.524 (6.0723)	1.750955	0.1054
<b>50 パーセンタイル</b>	11.475 (6.7250)	-8.483 (5.0125)	2.379455	<b>0.0348*</b>
90 パーセンタイル	68.5250(16.281)	40.3254 (12.135)	1.388761	0.1901
99 パーセンタイル	121.250 (25.967)	84.335 (19.354)	1.139856	0.2766
<b>R2*</b>				
平均	35.4815 (2.5916)	33.6082 (1.9317)	0.579554	0.5729
分散	8.15268 (1.8138)	8.79892 (1.3519)	-0.28567	0.7800
歪度	-0.05345 (0.09280)	-0.19440 (0.06917)	1.217758	0.2467
尖度	0.226447 (0.28508)	0.575454 (0.21249)	-0.98157	0.3457
1 パーセンタイル	29.1583 (2.2935)	26.9762 (1.7095)	0.762839	0.4603
10 パーセンタイル	32.0583 (2.4913)	30.1515 (1.8569)	0.613704	0.5509
50 パーセンタイル	35.5833 (2.6226)	33.7149 (1.9548)	0.571197	0.5784
90 パーセンタイル	38.8917(2.7120)	36.7963 (2.0214)	0.61947	0.5472
99 パーセンタイル	41.5417 (2.7794)	39.2361 (2.0717)	0.665087	0.5186

<ROC 解析>

F2以上の線維化診断能における、各特微量の AUC、カットオフ値、感度、特異度および精度を表7に示す。磁化率の場合は、平均、分散、50, 90, 99 パーセンタイル値の AUC が 0.8 を上回った。一方、R2\*の場合は AUC が 0.8 を上回ったのは 1 パーセンタイル値のみであった。

表 7: F2(中程度)以上の肝線維化診断能における肝弾性度および各特微量の AUC

F0-1 対 F2-4	AUC	カイ 2 乗検定	カットオフ値	感度	特異度	精度
肝弾性度	1.0000	<0.0001	8.7	1.0000	1.0000	1.0000
磁化率						
平均	<b>0.875</b>	0.0068	-6.0269	0.8750	0.8333	0.8571
分散	<b>0.8125</b>	0.0352	1228.651	0.8750	0.6667	0.7857
歪度	0.7083	0.1887	0.159719	0.6250	0.8333	0.7142
尖度	0.7708	0.2124	0.33479	1.0000	0.6667	0.8571
1 パーセンタイル	0.5000	0.4271	-152.250	0.2500	1.0000	0.5714
10 パーセンタイル	0.6250	0.7998	-43.167	0.5000	0.6667	0.6428
<b>50 パーセンタイル</b>	<b>0.8750</b>	0.0075	1.1250	0.7500	1.0000	0.8571
<b>90 パーセンタイル</b>	<b>0.9375</b>	0.0024	42.000	0.8750	1.0000	0.9285
<b>99 パーセンタイル</b>	<b>0.9375</b>	0.0012	82.1250	0.8750	1.0000	0.9285
R2*						
平均	0.7500	0.0412	33.24212	0.7500	0.8333	0.7857
分散	0.5000	0.8252	5.49029	0.2500	1.0000	0.5714
歪度	0.6875	0.6620	-0.158959	0.7500	0.8333	0.7857
尖度	0.6458	0.1961	0.56550	0.8750	0.5000	0.7142
<b>1 パーセンタイル</b>	<b>0.8229</b>	0.0321	27.75000	0.7500	0.8333	0.7857
10 パーセンタイル	0.7917	0.0378	31.75000	0.6250	1.0000	0.7857
50 パーセンタイル	0.7292	0.0408	33.25000	0.7500	0.8333	0.7857
90 パーセンタイル	0.7292	0.0373	36.37500	0.7500	0.8333	0.7857
99 パーセンタイル	0.7500	0.0456	39.75000	0.6250	1.0000	0.7857

F3以上の線維化診断能における、各特徴量の AUC、カットオフ値、感度、特異度および精度を表 8 に示す。磁化率では、平均、10、50、90、99 パーセンタイル値の AUC が 0.8 を上回った。R2\*では、いずれの特徴量においても AUC が 0.8 を下回った。

表 8: F3(重度)以上の肝線維化診断能における肝弾性度および各特徴量の AUC

F0-2 対 F3-4	AUC	カイ2乗検定	カットオフ値	感度	特異度	精度
肝弾性度	0.7333	0.7582	8.7	1.0000	0.6667	0.7857
磁化率						
平均	<b>0.8667</b>	0.0113	2.4674	1.0000	0.7778	0.8571
分散	0.7556	0.8527	1228.651	1.0000	0.5556	0.7142
歪度	0.6889	0.2707	0.159719	0.8000	0.7778	0.7857
尖度	0.7111	0.2380	0.40102	1.0000	0.5556	0.7142
1 パーセンタイル	0.6222	0.6376	-88.833	0.8000	0.5556	0.6428
<b>10 パーセンタイル</b>	<b>0.8222</b>	0.0508	-43.167	0.8000	0.8889	0.8571
<b>50 パーセンタイル</b>	<b>0.8889</b>	0.0250	1.1250	1.0000	0.8889	0.9285
<b>90 パーセンタイル</b>	<b>0.8667</b>	0.1642	42.0000	1.0000	0.7778	0.8571
<b>99 パーセンタイル</b>	<b>0.8667</b>	0.2467	82.1250	1.0000	0.7778	0.8571
R2*						
平均	0.6000	0.5416	33.24212	0.8000	0.6667	0.7142
分散	0.6222	0.7558	9.95394	1.0000	0.3333	0.5714
歪度	0.7111	0.1791	-0.158959	0.8000	0.6667	0.7142
尖度	0.5111	0.2840	0.56550	1.0000	0.4444	0.6428
1 パーセンタイル	0.6444	0.4220	27.75000	0.8000	0.6667	0.7142
10 パーセンタイル	0.6444	0.5171	30.50000	0.8000	0.6667	0.7142
50 パーセンタイル	0.6000	0.5476	33.25000	0.8000	0.6667	0.7142
90 パーセンタイル	0.6000	0.5156	36.37500	0.8000	0.6667	0.7142
99 パーセンタイル	0.6444	0.4865	38.37500	0.8000	0.6667	0.7142

<再現性評価>

検者間、検者内級内相関係数を表9に示す。検者間では、分散、1, 90, 99パーセンタイル値においてほぼ一致、平均、10パーセンタイル値においてかなり一致、50パーセンタイル値において適当に一致していた。検者内では、平均、分散、1, 10, 50, 90, 99パーセンタイル値においてほぼ一致、歪度、尖度において適当に一致していた。

表9: QSM 画像におけるヒストグラム解析の級内相関係数

	検者間	検者内
平均	0.703	0.921
分散	0.977	0.989
歪度	0.060	0.449
尖度	0.023	0.565
1パーセンタイル	0.860	0.957
10パーセンタイル	0.768	0.929
50パーセンタイル	0.582	0.924
90パーセンタイル	0.930	0.981
99パーセンタイル	0.909	0.980

## 考察

本章では、QSM 画像、R2\*マッピング画像のいずれにおいてもヒストグラム解析の特徴量のうち複数の項目において肝弾性度との間に有意な相関がみられたが、特に平均、50, 90, 99 パーセンタイル値に関して強い相関が目立っていた。病理組織学的な肝線維化ステージとの間では R2\*のいずれの特徴量にも有意な相関を認めなかった。一方、肝内磁化率の平均、50, 90, 99 パーセンタイル値は肝線維化ステージとの間で有意に相関し、かつ中程度以上の線維化および重度以上の線維化において  $AUC > 0.8$  の優れた診断能を示した。

肝内磁化率に関する結果を前章と対比すると、前章では肝硬変群において分散、90, 99 パーセンタイルが有意に高値、1, 10 パーセンタイル値が有意に低値を示したのに対して、本章では平均値、50, 90, 99 パーセンタイル値が肝弾性度および病理組織学的肝線維化ステージとの間で有意に相関し、かつ中程度以上の線維化および重度以上の線維化において  $AUC > 0.8$  の優れた診断能を示した。前章では肝線維化の終末像とされる肝硬変群と対照群との比較であったが、本章では F0~F3、すなわち線維化がなし~高度だが肝硬変までには至らない程度の症例が多数含まれており、背景として前章の肝硬変群と比較して肝線維化の進行度が軽微で合ったと思われる。肝線維化の進行と鉄沈着の関連に関する先行研究の結果は成因によって異なり、NAFLD の症例においては有意に相関していたとする報告がある (Nelson et al., 2011) が、ウイルス性肝炎では相関を認めなかったとする報告がある (Guyader et al., 2007; Beinker et al., 1996)。これらの先行研究も鑑みて、本章では鉄沈着と肝線維化ステージ自体の関連性ははっきりせず、磁化率に有意な影響を与えているとはいえない。他方、ウイルス性肝炎では肝線維化の進行に従って肝萎縮がみられたとする報告がある (Son et al., 2020)。以上より、本章では肝内線維成分を反映した磁化率の低下の影響が相対的に少なかった一方で、肝萎縮による ROI 内の実質組織が減少し、沈着鉄による磁化率の相対的上昇が反映され、平均値や 50, 90, 99 パーセンタイル値で有意な相関を示した可能性がある。

本章の研究内でも磁化率において、相関、ROC 解析、群間比較の間で特徴量の傾向が一致しないものが散見される。まず、分散は肝弾性度との間で有意な相関、肝線維化ステージとの間には有意ではないが中程度の相関を示し、F2 以上の線維化に対して  $AUC > 0.8$  の予測能を示したが、F0-1 対 F2-4 の群間比較では有意差を認めなかった。次に、90, 99 パーセンタイル値は F3 以上の線維化に対して  $AUC > 0.8$  の予測能を示したが F0-2 対 F3-4 の群間比較では有意差を認めなかった。以上の通りの不一致を来したのは、線維化ステージ:F4 の 4 症例がいずれもウイルス性肝炎で、かつ標本採取-MRI 検査の間隔が 1 年 9 ヶ月~15 年 7 ヶ月(中央値: 11 年 6 ヶ月)前と、F0-F3(1 年未満、中央値: 23 日と比較して長期の経過であることに起因すると思われる。抗ウイルス療法により硬変肝の線維化が改善したとする先行研究があり (Dienstag et al., 2003; Colmenero et al, 2009)、長期経過が肝線

維化の改善を反映し、相関、ROC 解析、群間比較の間において先述の特徴量が不一致を示す原因となっている可能性がある。

一方、R2\*マッピングのヒストグラム解析では平均、10,50,90,99 パーセンタイル値が肝弾性度と有意の正の相関を示したが、これらの相関係数は磁化率の特徴量と比較すると低値を示していた。また、R2\*マッピングにおいてはいずれの項目も肝線維化ステージとの間に有意な相関を認めなかった。R2\*は常磁性の鉄沈着だけでなく反磁性の線維化でも上昇し、ファントムを用いた研究では線維組織の主成分であるコラーゲンの濃度上昇によって非線形的に R2\*が上昇するのに対し、磁化率は線形的に低下するとの報告がある(Li et al., 2018)。この、コラーゲンの磁化率への線形的影響と R2\*への非線形的影響という性質の違いが、肝弾性度および肝線維化ステージとの相関の有無および程度に影響した可能性がある。

本章の研究では、肝内磁化率のヒストグラム解析が、超音波によるエラストグラフィで測定された肝弾性度や病理組織学的な肝線維化ステージと有意に相関し、かつ F2 以上および F3 以上の肝線維化に対して高い予測能を示した。QSM によって算出される肝内磁化率のテクスチャ解析は、肝線維化の段階的な進行度診断や病態把握に寄与できる可能性がある。

本研究には限界と課題がいくつか存在する。①14 症例中 5 例は組織標本が肝生検によるもので、サイズが非常に小さくサンプリングエラーの可能性を否定できない。②本研究では患者毎に全 ROI のデータを平均化しているため、エラストグラフィの測定部位や組織標本の採取部位における肝弾性度および肝線維化のステージを厳密には反映していない可能性がある。③一般的に肝内の線維化の進行は一樣ではないとされており、亜区域によって線維化のステージが異なる可能性はあるが、亜区域毎の比較は行っていない。④本研究における再現性は観察者内・観察者間のいずれにおいても概ね良好であったが、経験の少ない観察者における再現性が未知数である。⑤肝疾患別での検討が今後必要である。⑥先述の通り F4 の全 4 症例がウイルス性肝炎で、組織標本採取—MRI 検査の間隔が非常に長期であり線維化が改善したことによりデータの歪みを生じている可能性がある。ただし、ほとんどの先行研究では組織学的評価で F4 が F2 や F3 までの改善に留まっており、F1 へ改善した症例は極めて稀であるため、F0-1 対 F2-4 や F0-2 対 F3-4 の群間比較の妥当性は失われていないと考える。⑦脂肪による R2\*の上昇に伴う磁化率への影響が報告されている(Kühn et al., 2012; Mamidipalli et al., 2018; Karlsson et al., 2019; Bashir et al, 2019)。一方で、脂肪成分の磁化率に与える影響は少ないとする報告もある(Lu et al, 2018)が、今後肝内脂肪の測定も併用した上での検討が望まれる。

## 結論

### 1. 本研究から得られた新しい知見

#### ○第1章

- 肝硬変患者と肝疾患の既往のない成人の肝 QSM 画像のテクスチャ解析を行い比較し、2群間の特徴量の違いを調べた。
- 肝硬変群の1例において、肝内磁化率が突出して不自然なほどに不均一となっていた。同症例の R2\*が他の症例と比較して突出して高値を示しており、その影響で QSM の再構成に失敗したと判断し、同症例のデータを全て除外した上で解析を行った。
- ヒストグラム解析では、肝硬変群と対照群の間で磁化率の平均値に有意差を認めなかったが、分散は肝硬変群で有意に高値を示した。また、肝硬変群で 1, 10 のパーセンタイル値は有意に低値、90, 99 のパーセンタイル値は有意に高値を示した。
- 一方、二次統計量によるテクスチャ解析で有意差を示した項目は全 16 項目中 2 項目に留まった。

➤

#### ○第2章

- 超音波を用いた Transient Elastography による肝弾性度測定と、生検等の標本を用いた肝線維化ステージの病理組織学的診断が両方なされている症例を対象に肝 QSM 画像のヒストグラム解析を行い、肝弾性度および肝線維化ステージとの相関を調べた。
- 肝内磁化率の平均、50・90・99 パーセンタイル値が肝弾性度および肝線維化ステージと有意に相関していた。また、これらの特徴量に関しては F2 以上、F3 以上の線維化診断のいずれにおいても ROC 解析の AUC が 0.8 を上回った。
- 再現性に関する検討では、級内相関係数は検者内・検者間のいずれも概ね良好に一致していた。

### 2. 新知見の意義

肝硬変を含む慢性肝疾患の肝臓では、肝内磁化率は鉄沈着の増加によって磁化率が上昇し、線維化の進行により磁化率が低下することが予想されるが、磁化率の変化に関してインビボの具体的な先行研究はこれまでなかった。今回の研究では、磁化率を定量的に画像化する QSM 画像のヒストグラム解析により、肝硬変および肝線維化の進行に伴う線維結合織の蓄積と鉄沈着を反映すると思われる肝内磁化率の不均一な変化を定量的に検出することができた。QSM によって算出される肝内磁化率のヒストグラム解析は、肝線維化の段階的な進行度診断や病態把握に寄与できる可能性がある。

一方、二次統計量による解析では、肝線維化の終末像である肝硬変の中でも比較的進

行した症例でしか肝内磁化率の二次元的な濃度の変化を検出できない可能性があり、より早期の肝線維化の診断・評価の有用性に乏しいと考えられる。

### 3. 本研究から得られた新知見から今後展開されうる研究

低侵襲的な肝線維化のマーカーとして MRE のほか、血清マーカーであるヒアルロン酸や M2BPGi、FIB-4 index 等が日常臨床で用いられているが、これらのマーカーにおける肝線維化診断の正確度や精度等の比較を通して、QSM の肝線維化評価としての有用性や臨床的意義をさらに詳細に検討する研究が考えられる。

次に、種々の慢性肝疾患の治療前後および治療期間中の一定間隔で QSM を撮像して肝内磁化率の変化を定量することで、治療効果判定の指標としての有用性を検討する研究も展開されうる。

また、本研究では鉄沈着と線維化による肝内磁化率の違いを厳密には判別できていない。そこで、動物実験で肝内鉄沈着や肝線維化のモデルを作成し、膠原線維や鉄に対して特殊染色を施した肝組織標本の染色陽性面積と QSM 画像解析の比較により、鉄沈着と線維化の生体内における磁化率変化への影響を詳細に評価する研究も考えられる。

### 4. 今後の課題

本研究では第 1 章、第 2 章ともに、 $R2^*$ が著明高値を示した影響で QSM の再構成に失敗した症例がみられており、 $R2^*$ の値が高値な症例でも QSM の解析が可能となるような改良が必要と考える。

次に、本研究では呼吸によるアーチファクトが著明で画質不良につき除外した症例も散見されており、アーチファクトを低減してより安定した撮像が行われるような撮像法の改良が必要と思われる。

さらに、本研究では肝内脂肪の磁化率に与える影響に関して、補正を行っているとはいえ厳密に排除できていないと言え、脂肪に影響されない撮像法の開発が求められる。

## 謝辞

本研究を行うに当たり、多くの方々にご協力を頂きました。

特に画像診断学教室の工藤與亮教授には科学的な姿勢や MRI の基礎から本研究の計画や解析、論文執筆など、本研究の全体的なご指導を頂きました。心より深く感謝を申し上げます。

併せて、北海道大学病院放射線部の藤原太郎様、(株)富士フイルムヘルスケアユニット(旧日立製作所)の佐藤良太様、白猪亨様、尾藤良孝様には MRI 機器の調整について多大なるサポートをして頂き、深い感謝の意を表します。

加えて、臨床的な観点から様々な助言を頂きました、北海道大学病院消化器内科 小川浩司助教や、同病院超音波センター 西田睦副部長に深く感謝致します。

最後に、本論文は臨床データおよび画像データを利用させて頂いた患者の皆様、北海道大学病院放射線診断科・放射線部の皆様、その他多くの方々のご指導とご協力に支えられて完成したものであり、研究に携わった全ての方々に対して心から感謝の意を表します。

## 利益相反

この研究は、(株)富士フイルムヘルスケアユニット(旧日立製作所)からの支援を受けて行った。

## 引用文献

Bashir MR, Wolfson T, Gamst AC, Fowler KJ, Ohliger M, Shah SN, Alazraki A, Trout AT, Behling C, Allende DS, et al. (2019). Hepatic R2\* is more strongly associated with proton density fat fraction than histologic liver iron scores in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Magn Reson Imaging*. 49, 1456-1466.

Bataller R and Brenner DA. (2005). Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 115, 209-218.

Beinker NK, Voigt MD, Arendse M, Smit J, Stander IA, and Kirsch RE. (1996). Threshold effect of liver iron content on hepatic inflammation and fibrosis in hepatitis B and C. *J Hepatol*. 25, 633-638.

Castéra, L., Foucher, J., Bernard, P. H., Carvalho, F., Allaix, D., Merrouche, W., Couzigou, P., and de Lédinghen, V. (2010). Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 51, 828–835.

Colmenero J, Bataller R, Sancho-Bru P, Domínguez M, Moreno M, Forns X, Bruguera M, Arroyo V, Brenner DA, and Ginès P. (2009). Effects of losartan on hepatic expression of nonphagocytic NADPH oxidase and fibrogenic genes in patients with chronic hepatitis C. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 297, G726-34.

Dhar D, Baglieri J, Kisseleva T, and Brenner DA. (2020.) Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. *Exp Biol Med (Maywood)*. 245, 96-108.

Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL, Gardner S, Gray DF, and Schiff ER. (2003). Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology*. 124, 105-117.

Ferrell L. (2000). Liver Pathology: Cirrhosis, Hepatitis, and Primary Liver Tumors. Update and Diagnostic Problems. *Mod Pathol*. 13, 679–704.

Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, and de Ledinghen V. (2006). Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut*. 55, 403-408.

Galloway MM. (1975). Texture analysis using gray level run lengths. *Computer graphics and image processing*. 4, 172-179.

Guyader D, Thirouard AS, Erdtmann L, Rakba N, Jacquelinet S, Danielou H, Perrin M, Jouanolle AM, Brissot P, and Deugnier Y. (2007). Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 46, 87-95.

Haralick RM, Shanmugam K, and Dinstein IH. (1973). Textural features for image classification. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*. SMC-3, 6, 610-621.

Jafari R, Hectors SJ, Koehne de González AK, Spincemaille P, Prince MR, Brittenham GM, & Wang Y. (2021). Integrated quantitative susceptibility and  $R_2^*$  mapping for evaluation of liver fibrosis: An ex vivo feasibility study. *NMR in biomedicine*. 34(1), e4412.

Karlsson M, Ekstedt M, Dahlström N, Forsgren MF, Ignatova S, Norén B, Dahlqvist Leinhard O, Kechagias S, and Lundberg P. (2019). Liver  $R_2^*$  is affected by both iron and fat: A dual biopsy-validated study of chronic liver disease. *J Magn Reson Imaging*. 50, 325-333.

Karsdal MA, Daniels SJ, Holm Nielsen S, Bager C, Rasmussen DGK, Loomba R, Surabattula R, Villesen IF, Luo Y, Shevell D, et al. (2020). Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis. *Liver Int*. 40, 736-750.

Kawasaki H, and Ogata T. (1992). Scanning electron microscopic study on the three-dimensional structure of the collagen fibrillar framework in the chronic active hepatitis and liver fibrosis. *Tohoku J Exp Med*. 166, 355-373.

Kühn JP, Hernando D, Muñoz del Rio A, Evert M, Kannengiesser S, Völzke H, Mensel B, Puls R, Hosten N, and Reeder SB. (2012). Effect of multippeak spectral modeling of fat for liver iron and fat quantification: correlation of biopsy with MR imaging results. *Radiology*, 265, 133–142.

Li J, Lin H, Liu T, Zhang Z, Prince MR, Gillen K, Yan X, Song Q, Hua T, Zhao X, et al. (2018). Quantitative susceptibility mapping (QSM) minimizes interference from cellular pathology in  $R2^*$  estimation of liver iron concentration. *J Magn Reson Imaging*. 48, 1069-1079.

Lin H, Wei H, He N, Fu C, Cheng S, Shen J, Wang B, Yan X., Liu C, and Yan F. (2018). Quantitative susceptibility mapping in combination with water-fat separation for simultaneous liver iron and fat fraction quantification. *European radiology*, 28, 3494–3504.

Luo J, He X, d'Avignon DA, Ackerman JJ, and Yablonskiy DA. (2010). Protein-induced water  $^1H$  MR frequency shifts: contributions from magnetic susceptibility and exchange effects. *J Magn Reson*. 202, 102-108.

Lu X, Wang Z, Li, AG, and Yang WH. (2018). A simulation study on the fat caused chemical shift effects on the magnetic susceptibility measurement of IONPs with ultra-short TEs. *IEEE Trans Magn*. 54, 1–4.

Mamidipalli A, Hamilton G, Manning P, Hong CW, Park CC, Wolfson T, Hooker J, Heba E, Schlein A, Gamst A, et al. (2018). Cross-sectional correlation between hepatic  $R2^*$  and proton density fat fraction (PDFF) in children with hepatic steatosis. *J Magn Reson Imaging*. 47, 418-424.

Mehta KJ, Farnaud SJ, and Sharp PA. (2019). Iron and liver fibrosis: mechanistic and clinical aspects. *World J Gastroenterol* 25, 521–538.

Muthupillai R, Lomas DJ, Rossman PJ, Greenleaf JF, Manduca A, and Ehman RL. (1995). Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating acoustic strain waves. *Science*. 269, 1854-1879.

Nelson JE, Wilson L, Brunt EM, Yeh MM, Kleiner DE, Unalp-Arida A, Kowdley KV, and Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. (2011). Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 53, 448-457.

Rockey DC and Bissell DM. Noninvasive measures of liver fibrosis. (2006). *Hepatology*. 43, S113-120.

Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, et al. (2003). Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 29, 1705-1713.

Sato R, Shirai T, Soutome Y, Bito Y, and Ochi H. (2020). Quantitative susceptibility mapping of prostate with separate calculations for water and fat regions for reducing shading artifacts. *Magn Reson Imaging*. 66, 22-29.

Serai SD, Obuchowski NA, Venkatesh SK, Sirlin CB, Miller FH, Ashton E, Cole PE, and Ehman RL. (2017). Repeatability of MR Elastography of Liver: A Meta-Analysis. *Radiology*. 285, 92-100.

Serai SD, Fleck RJ, Quinn CT, Zhang B, and Podberesky DJ. (2015). Retrospective comparison of gradient recalled echo R2\* and spin-echo R2 magnetic resonance analysis methods for estimating liver iron content in children and adolescents. *Pediatr Radiol*. 45, 1629-1634.

Sharma A, and Nagalli S. (2021). *Chronic Liver Disease* (Treasure Island, FL: StatPearls Publishing).

Sharma SD, Hernando D, Horng DE, and Reeder SB. (2015). Quantitative susceptibility mapping in the abdomen as an imaging biomarker of hepatic iron overload. *Magn Reson Med*. 74, 673-683.

Singh S, Venkatesh SK, Wang Z, Miller FH, Motosugi U, Low RN, Hassanein T, Asbach P, Godfrey EM, Yin M, et al. (2015). Diagnostic performance of magnetic resonance elastography in staging liver fibrosis: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 13, 440–451.

Sirlin CB and Reeder SB. (2010). Magnetic resonance imaging quantification of liver iron. *Magnetic resonance imaging clinics of North America*. 18, 359–ix.

Son JH, Lee SS, Lee Y, Kang BK, Sung YS, Jo S, and Yu E. (2020). Assessment of liver fibrosis severity using computed tomography-based liver and spleen volumetric indices in patients with chronic liver disease. *Eur Radiol.* 30, 3486-3496.

Szczypiński PM, Strzelecki M, Materka A, and Klepaczko A. (2009). MaZda--a software package for image texture analysis. *Comput Methods Programs Biomed.* 94, 66-76.

Wood, J. C., Enriquez, C., Ghugre, N., Tyzka, J. M., Carson, S., Nelson, M. D., & Coates, T. D. (2005). MRI R2 and R2\* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood.* 106, 1460–1465.

梅川康弘. (1991). 肝硬変の進展過程における結節径及び肝内総結節数の変化. *日本消化器内視鏡学会雑誌* 33, 478-489.

大竹 孝明, 生田 克哉, 高後 裕. (2010). 2. 鉄と発癌, *日本内科学会雑誌*. 99, 1277-1281.

日本肝臓学会編：B型肝炎治療ガイドライン，第3.4版，2021，  
([https://www.jsh.or.jp/lib/files/medical/guidelines/jsh\\_guidlines/B\\_v3.4.pdf](https://www.jsh.or.jp/lib/files/medical/guidelines/jsh_guidlines/B_v3.4.pdf))

日本肝臓学会編：C型肝炎治療ガイドライン，第8版，2020，  
([https://www.jsh.or.jp/lib/files/medical/guidelines/jsh\\_guidlines/C\\_v8\\_20201005.pdf](https://www.jsh.or.jp/lib/files/medical/guidelines/jsh_guidlines/C_v8_20201005.pdf))

諸星利男, 永山剛久, 神田実喜男, 勝股真人, 八田善夫. (1983). 肝硬変. *昭和医学会雑誌* 43, 421-425.