

原 著

超音波ドプラ検査法と硬さセンサーによる肝線維化の評価

福島県立医科大学第2外科, 日本大学工学部電気電子工学科*

畠山 優一 佐久間 浩 柿沼 雄二 長谷川有史
佐藤 尚紀 小山 善久 井上 典夫 土屋 敦雄
竹之下誠一 尾股 定夫*

我々は肝線維化率が硬変肝切除後の肝再生能評価に有用であることを報告した。今回, 超音波ドプラによる肝静脈波形解析および硬さセンサーによる肝臓の硬さの定量化が簡便に肝線維化率を推定するのに有用かを検討した。1997年4月から1998年8月までの肝癌9例と他疾患6例の15例を対象とし, 術前に血液検査, ICG R15, K ICG の測定を行い, また超音波ドプラにより肝静脈波形を解析して pulsatility index (PI) と resistance index (RI) を得た。術中に硬さセンサーを用いて肝臓の硬さを定量化して tactile を得, 肝生検を行い肝線維化率を測定した。これら各データ間の関係を検討すると PI, tactile と肝線維化率との間には有意な関係が認められ, 重回帰分析からも肝線維化率の推定に有用との結果を得た。超音波ドプラの肝静脈波知解析による PI の測定は術前において, 硬さセンサーによる肝臓の硬さの定量化は術中において肝線維化率の推定に有用と示唆された。

はじめに

本邦の肝細胞癌の多くは肝硬変を合併し種々の肝機能障害を有している^{1,2)}。そのため肝切除の際, 肝不全を防止するため術前に慎重な肝機能評価が要求される。本邦では肝硬変合併肝癌症例の術前肝機能評価法として肝予備能を中心とした評価法が開発され³⁾⁻⁶⁾, それにより術後早期の肝不全の発症が減少した。しかし, 術後早期は耐術したもののそれ以後に肝不全を発症して在院死する症例もみられる。このような症例は肝再生能の不良に基づくものと考えられ, 硬変肝切除にあたっては術前に肝予備能に加え肝再生能の評価も必要と考えられる。

我々はこれまで肝硬変ラットを用いた実験を行い, 肝臓の線維化の程度を定量化した肝線維化率の測定が肝再生能の評価に有用であることを報告した⁷⁾。しかし, 肝線維化率の測定には術前の肝生検が必須であり, 侵襲的などところに問題がある。

そこで今回, 肝線維化率の評価として, 超音波ドプラによる肝静脈波形解析および硬さセンサーによる肝臓の硬さの定量化の有用性について検討した。

対象と方法

1. 対象

<1999年9月22日受理> 別刷請求先: 畠山 優一
〒960 1295 福島市光が丘1 福島県立医科大学第2外科

1997年4月から1998年8月までに福島県立医科大学第2外科で診療した原発性肝癌7例(肝細胞癌6例, 胆管細胞癌1例)および転移性肝癌2例, その他の疾患6例(甲状腺癌2例, 続発性上皮小体機能亢進症1例, 食道癌1例, 胆嚢癌1例, 肝破裂疑い1例)の計15例を対象とした。術前, 15例に血液検査と超音波ドプラによる肝静脈波形解析を行った。さらに開腹した8例(肝細胞癌4例, 胆管細胞癌1例, 転移性肝癌2例, 胆嚢癌1例)のうち6例で硬さセンサーにより肝臓の硬さを定量化し, 7例に肝生検を行い肝線維化率を求めた。8例のうち6例に肝切除を行ったが, 術式は左葉切除が1例, 中央2区域切除が1例, 部分切除が4例であった。

2. 血液検査

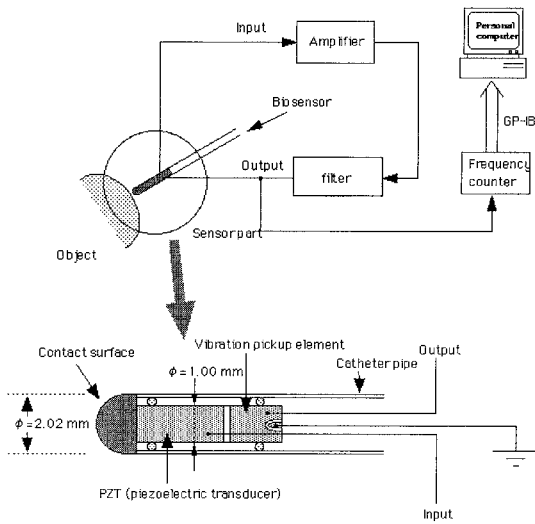
血液学的検査として白血球数(WBC), 赤血球数(RBC), 血色素(Hb), ヘマトクリット(Hct), 血小板数(PLT), 血液凝固系検査としてプロトロンビン時間(PT), ヘパラスチンテスト(HPT), 血液生化学検査としてGOT, GPT, ALP, γ -GTP, 総ビリルビン値(TB), 直接ビリルビン値(DB), TTT, ZTT, 血清総蛋白量(TP), 血清アルブミン量(Alb), γ グロブリン分画(γ gl)およびICG R15, K ICGを測定した。また一部の症例で血中ヒアルロン酸値(HA), プロコラーゲン III ペプチド値(PIIIP), IV型コラーゲン \cdot 7S値(IVC \cdot 7S), hepatocyte growth factor 値(HGF)を

Fig. 1 Definition of pulsatility index (PI) and resistance index (RI)

$$\text{pulsatility index} = \frac{\text{maximum velocity} - \text{minimum velocity}}{\text{mean velocity}}$$

$$\text{resistance index} = \frac{\text{maximum velocity} - \text{minimum velocity}}{\text{maximum velocity}}$$

Fig. 2 Schema of tactile sensor system



測定した。

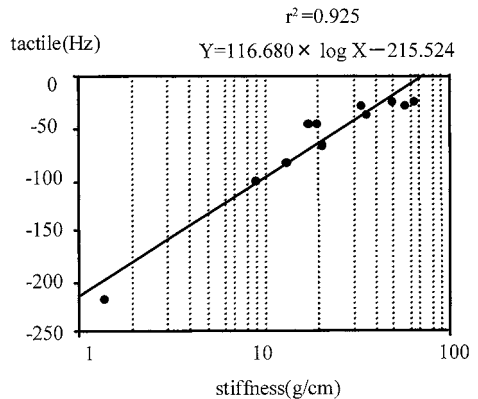
3. 超音波ドプラによる肝静脈波形解析

Aloca 社 SSD 1700を用いて腹部超音波検査を行った。その際超音波ドプラにより肝静脈波形を解析し、同器のプログラムを用いて Fig. 1のごとく定義される pulsatility index (PI) と resistance index (RI) を求めた。

4. 硬さセンサーによる肝臓の硬さの定量化

硬さの測定には尾股の開発した硬さセンサーを用いた^{8)~10)}。センサーの基本的な原理は接触コンプライアンス法の1つで、有限長棒の固有振動数が付加される音響インピーダンスにより変化する現象を利用している。センサー部は振動子と検出素子により構成される。検出素子からの出力信号を増幅し異相フィルターを経て再び振動子へフィードバックすることで発振回路計としている (Fig. 2)。このセンサーを臓器に接触させると回路計全体の共振周波数が変化する。センサー先

Fig. 3 Relation between stiffness and tactile



端部が球形のため、押し当てている物質が軟らかければ接触面積が増大して質量効果となり共振周波数はマイナス側に増加し、硬ければ点接触となりスティフネス効果となるのでプラス側に増加する。すなわちこのときの周波数の変化量 (単位 : Hz) は物質の硬さの特性を表し、これを tactile (Δf) と定義して硬さの定量値とした (Fig. 3)。開腹後、非癌部肝臓の任意の4点にプローブをあてて硬さを測定し、その平均値を症例の tactile とした。

5. 肝線維化率の測定

術中に肝生検を実施し、肝組織を20%ホルマリンに固定後パラフィンに包埋して3μ厚の組織標本を作製した。はじめに HE 染色標本でそれぞれの病理組織像を観察し、次に既報の通り肝線維化率の測定を行った⁷⁾。すなわち組織標本にアザン染色を行い核および細胞質を赤色に、膠原線維を主体とした間質を青色に染色した。肝線維化率の測定には自動画像解析装置 Color Image Processor SPICCA (日本 Avionics 社) を用いた。アザン染色標本の顕微鏡像を装置に取り込み、さらに色彩抽出法により画面上の青く染色されている部位を指定してコンピューターに選択色を記憶させ、選択色の部位と非選択色の部位に二値化処理 (binarization) を行った。取り込んだ視野全体における選択色の占める割合を求め、5視野の平均値を肝線維化率 (%) とした (Fig. 4)。

6. 統計学的検討

以上により得られたデータ相互の関係を Statview for Window (Ver. 5) を用いて統計学的に検討した。2群間の相関関係は Pearson 相関係数を求めて検定し、重回帰分析は Stepwise 変数増加法により検定した。

Fig. 4 Automated image analysis of hepatic fibrosis index on Azan-stained liver tissue

a : Input, b : Binalization, c : Calculation of hepatic fibrosis index

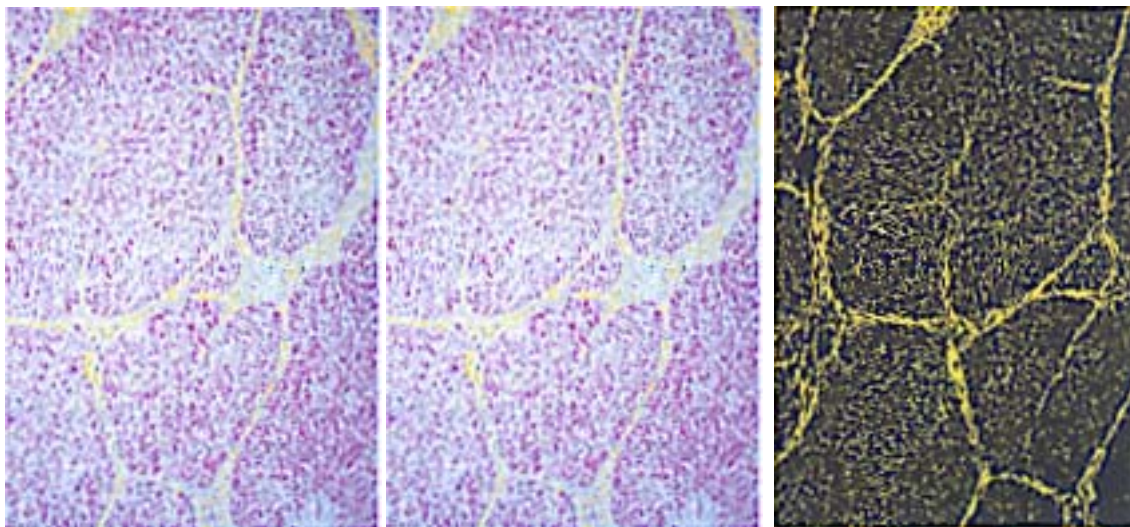


Table 1 Relation between PI, RI, tactile and other data

	PI	RI	tactile
PLT	$r = 0.073, p = 0.7963$	$r = 0.022, p = 0.9388$	$r = -0.849, p = 0.0326^*$
PT	$r = 0.359, p = 0.1890$	$r = 0.247, p = 0.3222$	$r = 0.185, p = 0.7257$
HPT	$r = 0.358, p = 0.2297$	$r = 0.247, p = 0.4157$	$r = -0.596, p = 0.2891$
TTT	$r = -0.233, p = 0.4041$	$r = -0.244, p = 0.3807$	$r = 0.571, p = 0.2367$
ZTT	$r = -0.297, p = 0.2825$	$r = -0.234, p = 0.4008$	$r = 0.813, p = 0.0494^*$
Alb	$r = 0.341, p = 0.2129$	$r = 0.311, p = 0.2591$	$r = -0.984, p = 0.0004^*$
HA	$r = -0.367, p = 0.2404$	$r = -0.305, p = 0.3352$	$r = 0.794, p = 0.1088$
P III P	$r = -0.234, p = 0.7042$	$r = -0.707, p = 0.1822$	not calculate
IV C · 7S	$r = -0.785, p = 0.2147$	$r = -0.307, p = 0.6928$	not calculate
HGF	$r = -0.391, p = 0.2087$	$r = -0.328, p = 0.2980$	$r = 0.620, p = 0.2645$
ICG R15	$r = -0.176, p = 0.5469$	$r = -0.066, p = 0.8219$	$r = 0.766, p = 0.0755$
K ICG	$r = 0.207, p = 0.4774$	$r = 0.128, p = 0.6617$	$r = -0.911, p = 0.0116^*$

* significant

いずれも $p < 0.05$ をもって統計学的に有意と判定した。

結 果

1. 対象症例の臨床病理学的な背景

対象15症例の平均年齢は63.7歳(47~76歳)で、男女比は12:3であった。臨床病理学的な背景を検討する

と、既往歴に慢性肝機能障害を有するものは5例(33.3%)、輸血歴を有する症例は6例(40%)、肝炎ウイルスマーカーでHBs抗原陽性は3例(20%)、HCV抗体陽性は9例(60%)であった。主な血液検査の平均値(最小値~最大値)はPTが82.9%(32.2~126.4)、HPT

Fig. 5 Relation between PI, RI and tactile (n=6)
 (a : PI and tactile, b : RI and tactile)

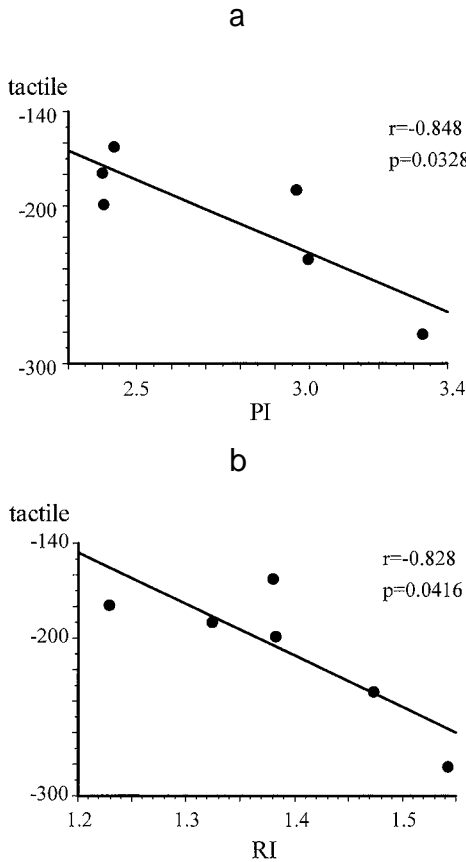
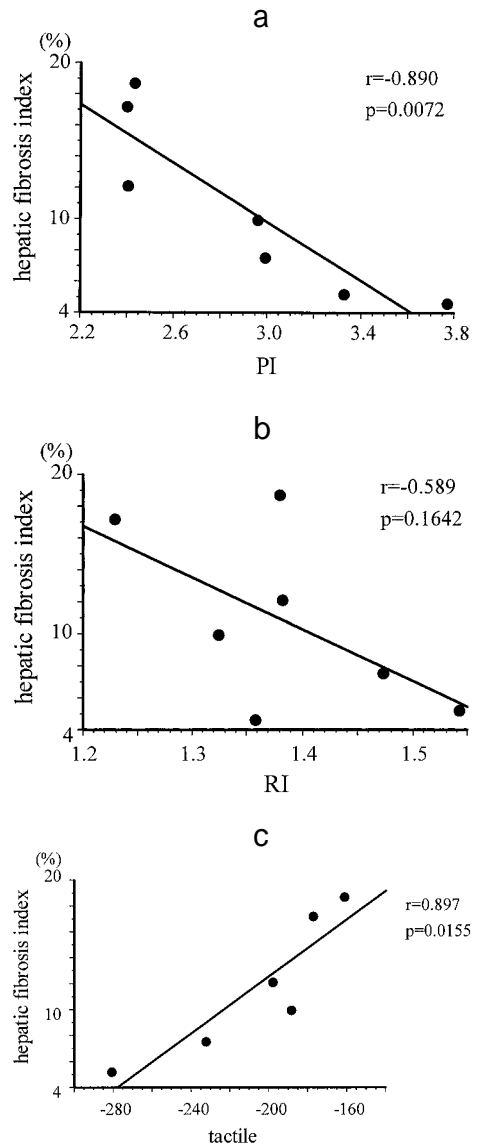


Fig. 6 Relation between PI, RI, tactile and hepatic fibrosis index (n=7)
 (a : PI and hepatic fibrosis index, b : RI and hepatic fibrosis index, c : tactile and hepatic fibrosis index)



が101.0%(42 ~ 146), GPT が55.31U/I(21 ~ 125), ALP が334.91U/I(175 ~ 1,208), TB が0.96mg/dl(0.2 ~ 2.2), ZTT が13.6KU(4.8 ~ 25.3), ALB が3.46g/dl(2.4 ~ 4.5), ヒアルロン酸が173.2ng/m(20 ~ 985.4), ICG R15が16.0 % (5 ~ 37.1%), K ICG が0.130 (0.059 ~ 0.267)であった .

2 . PI , RI , tactile と他のデータとの関係

PI の平均値 (最小値 ~ 最大値) は2.125 (0.557 ~ 3.764) で, RI は1.097 (0.454 ~ 1.542)であった . 一方, tactile の平均値 (最小値 ~ 最大値) は - 200.0 (- 281.0 ~ - 161.5)であった . PI , RI と血液検査で得られたデータとの関係を検討したが, 有意な相関関係は認められなかった . 一方, tactile とPLT , ZTT , Alb , K ICG との間にはそれぞれ $r = - 0.849, 0.813, - 0.984, - 0.911$ ($p=0.0326, 0.0494, 0.0004, 0.0116$) の有意な相関関係が認められた (Table 1).

3 . PI , RI , tactile の相互関係

PI , RI と tactile の関係を検討すると, それぞれ $r = - 0.848, - 0.828$ ($p=0.0328, 0.0416$) の有意な負の相関関係が認められた (Fig. 5).

4 . PI , RI , tactile と肝線維化率との関係

肝線維化率の平均値 (最小値 ~ 最大値) は11.55%

Fig. 7 Multivariate statistical analysis to estimate of hepatic fibrosis index

I . Including tactile	II . Without tactile
1 .ICG K15 only	1 .PI only
F value = 15.006	F value = 12.922
p = 0.0304	p = 0.0229
Y = -102.669 × ICG K15 + 24.568	Y = -8.925 × PI + 36.917
2 .tactile + ICG K15	2 .PI + Alb
F value = 33.104	F value = 15.637
p = 0.0293	p = 0.0259
Y = 0.091 × tactile - 63.467 × ICG K15 + 37.611	Y = -7.413 × PI - 5.313 × Alb
3 .tactile + ICG K15 + PT	
F value = 107.771	
p = 0.0071	
Y = 0.138 × tactile - 0.757 × ICG K15 - 0.083 × PT	
4 .tactile + PT	
F value = 322.968	
p = 0.0031	
Y = 0.139 × tactile - 0.084 × PT + 46.876	

(4.63 ~ 18.78)であった。PI, RI, tactile と肝線維化率との間にはそれぞれ $r = -0.890, -0.589, 0.897$ ($p = 0.0072, 0.1642, 0.0155$) で, PI, tactile と肝線維化率との間に有意な相関関係が認められた (Fig. 6)。

5. 肝線維化率推定のための重回帰分析

肝線維化率を従属変数として各データを重回帰分析したところ, K ICG 単独, tactile と K ICG, tactile と PT, tactile と K ICG と PT の4つの変数の組合せが統計学的に有意であり, なかでも tactile と PT は肝線維化率を推定するのに最も重要な変数の組合せであった。

一方, 術前を考慮し tactile を除外して重回帰分析すると, PI 単独, PI と Alb の組み合わせが肝線維化率を推定するのに有用であった (Fig. 7)。

考 察

これまで本邦では, 肝硬変合併肝癌症例の術前肝機能評価法として肝予備能に注目した肝機能評価法が報告されてきた^{3)~6)}。これら種々の肝予備能評価法は, 肝切除手技の向上と相まって術後肝不全発症の減少に寄与してきた。しかし一方で, これらの評価法を利用して耐術可能と判定され, 術後早期は比較的問題なく経過したにもかかわらず, 術後1か月後より難治性の腹水や肝機能障害を呈して肝不全のため入院する症例がある。このような症例は術後の肝再生能の不良に基因するものと考えられる。これまで肝再生能を術前に評価する方法は報告されておらず, その開発は肝硬変合併肝細胞癌の肝切除において極めて重要と考えら

れる。

われわれはこれまで肝硬変ラットモデルを用いた実験を行い, 硬変肝組織の線維化の程度をアザン染色と自動画像解析装置を用いて定量化した肝線維化率の測定が肝再生能の予測に有用であると報告した⁷⁾。すなわち, 肝線維化率と肝切除後の肝再生能との間には統計学的に有意な負の相関関係があり, 術前に肝生検を行い既報⁷⁾の方法で検討すると肝再生能を予測できることになる。しかし, 肝線維化率の測定のためには比較的多くの組織を肝生検により得る必要がある。この点で臨床応用は難しいと考えられ, 非侵襲的に肝線維化率を推定できる方法の開発を検討した。

超音波ドプラーにより得られる肝静脈の波形は正常では3相性, 慢性肝炎では2相性, 肝硬変では1相性を示すことが知られている¹¹⁾¹²⁾。この波形を解析するパラメーターとして pulsatility index (PI), resistance index (RI) がある。PI や RI は ICG R15 に関係しており, 肝線維化の状態や組織の硬さを反映しているとの報告がある¹³⁾。そこで今回, このPI および RI に注目し, 肝線維化率との関係を検討した。われわれの検討では PI, RI と血液検査で得られたデータとの間には相関関係が認められなかった。一方, tactile とは PI, RI とともに有意な負の相関関係を示し, PI, RI が肝組織の硬さを反映しているということを証明することができた。また PI は肝線維化率との間に有意な負の相関関係を示し, 術前の非侵襲的な肝線維化率評価に有用と考えられた。今回の検討では, RI と肝線維化率との間に

有意な関係を証明することができなかったが、症例数が少ないことも一因と考えられ、さらに症例を重ねて検討する必要があると考えられる。

われわれは肝硬変ラットモデルを作り、尾股が開発した硬さセンサー⁸⁾⁻¹⁰⁾を用いて動物実験を行い、肝臓の硬さを定量化して得られる tactile が肝線維化率と正の相関関係にあり、また肝再生能と負の相関関係にあることを報告した¹⁴⁾。今回、手術中に使用できるプローブを開発したため臨床に応用し、肝臓の硬さを定量化して検討した。動物実験で得られた結果と同様に tactile はヒトでも肝線維化率と有意な正の相関関係にあることが示された。現時点では術前に tactile を測定することはできないが、その測定は非常に簡便であり、手術中に肝線維化率を推定するのに有用と考えられる。

ところで肝線維化の程度を血液検査で知ることができれば、さらに非侵襲的で有用と考えられる。現在最も注目されているのはプロコラーゲン III ペプチド値 (PIIIP) であるが、PIIIP は肝線維化の程度とよく相関するとの報告がある¹⁵⁾⁻¹⁹⁾。一方、むしろ肝線維化の程度よりも肝硬変の臨床病期に相関して動いているとの反対意見もある²⁰⁾。その他ラミニン、ヒアルロン酸も単独では肝線維化の程度を判定することは困難であると考えられる。そこでこれらの肝線維化マーカー、ICG R15、K ICG を含めた血液検査データと PI、RI、tactile を重回帰分析して、肝線維化率を推定する際の各因子の重要性を検討した。それによると tactile は肝線維化率を推定するのに重要な変数であった。また術前を考慮して tactile を因子から除いて検討すると、PI が肝線維化率を推定するのに重要な変数であることが示された。

今回の検討により、超音波ドプラによる肝静脈波形解析の PI は術前において、硬さセンサーによる肝臓の硬さの定量値 (tactile) は術中において肝線維化率の推定に極めて有用であることが示されたが、動物実験では肝線維化率は硬変肝の再生能に関係しており、PI、tactile の測定も硬変肝の再生能評価に貴重な情報をもたらす可能性がある。今後、症例を重ね、また硬さセンサーに改良を加えて、さらに検討していきたいと考えている。

本論文の要旨は第99回日本外科学会総会 (1999年3月、福岡市) において発表した。

文 献

1) The liver cancer study group of Japan : Primary

- liver cancer in Japan. clinicopathologic features and results of surgical treatment. *Ann Surg* 211 : 277-287, 1990
- 2) 日本肝癌研究会 : 原発性肝癌に関する追跡調査第10報 . *肝臓* 34 : 805-813, 1993
- 3) 小沢和恵, 浮草 実, 戸部隆吉 : 代謝動態からみた肝切除の適応決定 . *日消外会誌* 13 : 84-89, 1980
- 4) 岡本英三, 山中若樹, 加藤年啓 : 肝細胞癌の外科的治療 . *癌と化療* 16 : 40-45, 1989
- 5) 水本龍二, 野口 孝 : 肝予備力と治療法の選択 . *消病セミナー* 26 : 5-18, 1987
- 6) 野口 孝, 水本龍二, 中川 毅 : 肝切除限界並びに肝再生能の画像診断による術前評価 . *日画像医誌* 3 : 723-741, 1984
- 7) 畠山優一, 小野俊之, 阿部力哉 : 肝線維化率からみた硬変肝切除後の肝再生能に関する実験的研究 . *日消外会誌* 29 : 691-698, 1996
- 8) Omata S : New tactile sensor like the human hand and its applications. *Sensors and Actuators A* 35 : 9-15, 1992
- 9) 尾股定夫 : 圧電素子を利用した硬さ測定用触覚センサー . *超音波 TECHNO* 4 : 37-41, 1992
- 10) Omata S : Measurement of the hardness of a soft material with a piezoelectric vibrometer and their analysis. *Jpn J Med Electron Biol Eng* 28 : 1-8, 1990
- 11) 森川パブロ, 石田秀明, 長沼晶子ほか : Color Doppler 法による肝硬変における肝静脈血流の検討 . *日超医論文集* 56 : 565-566, 1990
- 12) Bolondi L, Bassi SL, Gaiani S et al : Liver cirrhosis : Changes of Doppler wave-form of hepatic veins. *Radiology* 178 : 513-516, 1991
- 13) 安藤洋子, 斎藤明子, 森山真理子ほか : 超音波パルスドプラ法による慢性肝疾患の肝静脈血流波形の検討 . *超音波医* 20 : 674-679, 1993
- 14) 小野俊之, 畠山優一, 原 潔ほか : 硬さセンサーを用いた肝線維化率の定量的評価に関する基礎的検討 . *日消外会誌* 30 : 1720-1724, 1997
- 15) Sato S, Nouchi T, Warner TM et al : Liver fibrosis in alcoholics. *JAMA* 256 : 1471-1473, 1986
- 16) Savolainen ER, Goldberg B, Leo MA et al : Diagnostic value of serum procollagen peptide measurements in alcoholic liver disease. *Alcoholism : Clin Exp Res* 8 : 384-389, 1984
- 17) Rojkind M : The blue glass and the predictive value of serum amino-terminal propeptide of type III procollagen as a marker of liver fibrosis. *Hepatology* 4 : 977-978, 1984
- 18) Galambos MR, Collins DC, Galambos JT : A radioimmunoassay procedure for type III procollagen : its use in the detection of hepatic fibrosis. *Hepatology* 5 : 38-42, 1985

19) Tanaka Y, Minato Y, Hasumura Y et al : Evaluation of hepatic fibrosis by serum proline and aminoterminal type III procollagen peptide level in patients with chronic liver disease. Dig Dis Sci

31 : 712 - 717, 1986

20) Plebani M, Burlina A : Biochemical markers of hepatic fibrosis. Clin Biochem 24 : 219 - 239, 1991

The Evaluation of Hepatic Fibrosis by the Doppler Ultra-sonography and the Tactile Sensor

Yuichi Hatakeyama, Hiroshi Sakuma, Yuji Kakinuma, Arifumi Hasegawa
Naoki Sato, Yoshihisa Koyama, Norio Inoue, Atsuo Tsuchiya,
Seiichi Takenoshita and Sadao Omata*

The Second Department of Surgery, Fukushima Medical University School of Medicine,
Department of Electrical and Electronic Engineering, College of Engineering, Nihon University*

We reported that the hepatic fibrosis index is useful to estimate hepatic regeneration activity after resection of cirrhotic liver. In this study, we examined the potential utility of Doppler ultrasonographic analysis of the hepatic vein and quantification of hardness of the liver in the evaluation of the hepatic fibrosis index. Blood examination, ICG R15 test, K ICG test and Doppler ultrasonographic analysis of the hepatic vein were performed preoperatively in fifteen patients(9 with liver cancer and 6 with other disease) . The pulsatility index (PI) and the resistance index (RI) were measured by Doppler ultrasonographic analysis. In addition, we performed intraoperative quantification of the hardness of the liver using the tactile sensor and liver biopsy for measurement of the hepatic fibrosis index. A significant correlation was recognized between the hepatic fibrosis index and the PI or the tactile. A multivariate analysis also indicated that the PI and the tactile were important in the evaluation of the hepatic fibrosis index. This study showed that measurement of the PI by Doppler ultrasonographic analysis of the hepatic vein is useful before hepatectomy and intraoperative measurement of the hardness of the liver is useful during operation in order to evaluate the hepatic fibrosis index.

Key words : Doppler ultrasonography, hepatic fibrosis, liver cirrhosis, liver resection

[Jpn J Gastroenterol Surg 33 : 156 - 162, 2000]

Reprint requests : Yuichi Hatakeyama The Second Department of Surgery, Fukushima Medical University
School of Medicine
1 Hikarigaoka, Fukushima, 960 1295 JAPAN
