

脂肪肝の非侵襲的肝線維化診断: ケミルミTIMP-1とELFテストの役割

Non-invasive tests for liver fibrosis in steatotic liver disease;
The Role of Chemiluminescent TIMP-1 and ELF test

こば やし たかし よね だ まさ と なか じま あつし
小 林 貴 : 米 田 正 人 : 中 島 淳
Takashi KOBAYASHI Masato YONEDA Atsushi NAKAJIMA

はじめに

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD) は、「alcoholic」や「fatty」といった表現が偏見につながるとして、2023 年に metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) へと国際的に呼称が変更された。MASLD は、一般人口の 30% が罹患しており、肝硬変や肝細胞癌の主要な原因として注目されている¹⁾。MASLD において、肝線維化は予後と最も強く関連する因子である。線維化が進行すると、死亡率や非代償性肝硬変、肝癌といった肝関連イベントだけでなく、心血管イベントや他臓器発癌のリスクも上昇することが報告されている^{2,3)}。そのため、MASLD の診療においては肝線維化の診断は極めて重要である。

これまでは肝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が、侵襲性や合併症リスク、医療コストなどの問題がある。そこで、肝生検に代わる非侵襲的検査 (non-invasive test: NIT) の進歩が急速に進んでいる。慢性肝疾患における肝線維化を評価する NIT の 1 つである TIMP-1 と、それをを用いたスコアリングシステムである ELF テストが、2024 年 2 月に保険収載された。ELF テストは、慢性肝疾患に対して保険適応となるが、特に MASLD でのエビデンスが豊富であるため、本稿では MASLD に焦点を絞る。以下に MASLD の線維化診断と ELF テストについて概説する。

I. MASLDの肝線維化診断

1. 肝生検の問題点

MASLD のうち、炎症などを伴う活動性の病態は、metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) と呼ばれる。肝生検は MASH の診断および MASLD の病気分類におけるゴールドスタンダードとされている。しかし、高い医療コストや侵襲性が問題となり、先進国で有病率約 30% と推定される MASLD 患者全員に肝生検を行うことは困難である。また、治療効果判定を目的として同一患者に繰り返し行うことも難しい。さらに、病理医間で診断が異なる現象や、同じ病理医でもタイミングによって評価が異なる現象が報告されている (inter-observer and intra-observer variability)。また、病理検査の本質的な問題点として、肝線維化は肝内で不均一に進行するとされており、組織を採取する部位によって診断が変わってしまうサンプリングエラーも問題となる。したがって、客観性が高く、かつ肝臓全体の状態を反映できるバイオマーカーの開発が求められている。

2. 肝線維化の NIT

肝線維化診断の NIT は、血液バイオマーカー、画像検査、複数の検査を組み合わせたパネルおよびスコアの 3 種類に大きく分けられる。

1) 血液バイオマーカー

血液バイオマーカーでは、本邦の保険診療で測定できるものとして、IV 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸 (HA)、プロコラーゲンⅢペプチド (P-Ⅲ-P)、Mac-2

結合蛋白糖鎖修飾異性体 (M2BPGi)、オートタキシンがある。このうちIV型コラーゲン 7S は、日本人において高度線維化 (Fibrosis stage ≥ 3) に対して AUROC >0.80 の高い診断能を示し国内で普及しているが、海外ではあまり使われない^{4,5)}。また、M2BPGi も Fibrosis stage ≥ 2 、もしくは ≥ 3 に対してIV型コラーゲン 7S と同等の診断能を持つとされており、有用とされる血液バイオマーカーの1つである^{6,7)}。

2) 画像検査

肝硬変の形態学的特徴には、肝辺縁の凹凸、肝床部の萎縮、尾状葉の腫大、脾腫、腹水の貯留、側副血行路の存在などがある。従来、肝線維化の評価は画像診断による形態学的評価が主流であった。しかし近年、超音波やMRIを用いた組織弾性イメージング法 (elasticity imaging) の登場により、肝臓の硬さを非侵襲的に測定し、肝線維化の状態を推定するエラストグラフィが可能となった。エラストグラフィの基本原理は、肝臓が線維化すると硬くなることを利用し、肝臓の硬さを測定して肝線維化を評価するものである。

フィブロスキャン[®] (振動制御型瞬時エラストグラフィ: VCTE) は、超音波エラストグラフィの中でも最初に開発された肝線維化診断装置であり、最も広く利用されている。現在、世界 75 か国で臨床使用されており、日米欧のさまざまな慢性肝疾患のガイドラインでも推奨されている。多くのエビデンスがある肝線維化診断装置であり、MASLD 患者に対する VCTE (Mプローブ) のメタ解析では、線維化ステージ F2、F3、F4 の診断における AUROC はそれぞれ 0.85、0.92、0.94 であった⁸⁾。

MRI を利用したエラストグラフィである MR エラストグラフィ (MRE) は、肝線維化の診断において最も高い精度を誇る画像検査法である。肝臓全体を評価できるため、肝内の線維化が不均一であってもその影響を受けにくく、さらに画像データとして肝臓のスクリーニングも同時に行うことができる。628 名の MASLD 患者を含む 5 件の研究を対象としたメタ解析では、MRE による Fibrosis stage 2、stage 3 および stage 4 の診断に対する AUROC は、それぞれ 0.88、0.93、0.92 であった⁹⁾。現在、MRE は最も精度の高い非侵襲的な線維化測定方法として、開発中の薬剤治験の効果判定などにも使用されている。なお、日本では 2022 年度より保険適用となっており、今後さらに普及

が期待される。

3) 複数の検査を組み合わせたパネルもしくはスコア

一般的な検査項目から算出できるスコアリングシステムとして、FIB-4 index および NAFLD fibrosis score (NFS) がある。特に、FIB-4 はその有効性が多くの研究で検証され、世界中で広く使われている。MASLD において、Fibrosis Stage ≥ 3 に対する陰性的中率 (NPV) が 90%を超え、かつ低コストであるため、初期評価において高リスク症例の rule-out を目的として使われることが国内外のガイドラインで推奨されている^{10,11)}。しかし、陽性的中率は高くはないため、rule-in には使いづらい。

ELF テストはプロコラーゲンⅢペプチド (P-Ⅲ-P)、ヒアルロン酸 (HA)、tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) の3種の血液バイオマーカーから算出されるパネルであり、高い診断能を持つため海外では広く利用されている。2024 年 2 月に日本で保険適用となり、今後普及が見込まれる。以下で詳細を解説する。

II. ELFテストの有用性

1. ケミルミ TIMP-1 と ELF テスト

ケミルミはケミルミネセンス (Chemiluminescence) の略称であり、これは特定の化学反応により励起状態にある分子が生成され、その分子が基底状態に戻る際に光を放出する現象である。TIMP-1 は、新しいケミルミネセンス試薬であり、主に P Ⅲ P およびヒアルロン酸とともに ELF テストの算出に使われる。ELF テストは以下の計算式により計算される; ELF スコア = $2.278 + 0.851 \ln(\text{HA}) + 0.751 \ln(\text{P Ⅲ P}) + 0.394 \ln(\text{TIMP-1})$ 。

ELF テストは、Fibrosis stage ≥ 3 の線維化に対して AUROC:0.80以上の高い診断能を示すことが知られている^{12,13)}。米国肝臓学会 (AASLD) や、欧州肝臓学会 (EASL) のガイドラインでも高度線維化診断のバイオマーカーとして推奨されており、欧米では広く使われてきた^{14,15)}。日本人においても高度線維化NAFLD に対してAUROC 0.80–0.84の良好な診断能を示すことが分かり、2024年2月に本邦でも保険収載された^{16,17)}。肝線維化診断においては、超音波による肝硬度測

定であるVCTEと同等な正確性を持つと考えられている。血液検査であるため施設制限がなく、患者の費用負担も大きくないため、今後本邦でも急速に普及することが予想される。

カットオフ値については複数提案されているが、Fibrosis stage ≥ 3 では rule-out: < 7.7 , rule-in: ≥ 9.8 とし、Fibrosis stage ≥ 4 では rule-out: < 7.7 , rule-in: ≥ 11.1 とするのが一般的である^{18,19)}。ただし、自己免疫疾患など全身の炎症性疾患で偽陽性となる可能性が報告されている。

保険請求上の注意点として、ELFテストの算出には上記3項目の検査が必要となるが、HAおよびP-III-Pの費用はELFテストの点数に含まれるため、別に算定することができない。また、同時に他の線維化マーカーを算定することはできず、IV型コラーゲン、IV型コラーゲン7S、Mac-2結合蛋白糖鎖修飾異性体、オートタキシンおよびサイトケラチン18フラグメントのいずれかを同時に検査した場合、これらのうち1項目のみが算定される。

2. ELF テストと予後予測

ELFテストは、MASLDにおいて優れた線維化診断能をもつが、患者の予後を反映することも報告されている。Parkesらの研究では、MASLD患者457例を解析した結果、ELF >11.3 の患者は、ELF低値群と比べて肝関連イベントの発症リスクが5.0倍 (95%CI: 8.34-10.425) に上ることが報告された²⁰⁾。また、Harrisonらの研究では、線維化進行MASH患者に対するsimtuzumabの有効性を検討した第II層試験に登録された患者群を解析し、ベースラインのELFテストが肝硬変への進行 (C統計量: 0.80) や臨床イベントの発生 (C統計量: 0.69) を予測する能力を有することが報告された²¹⁾。このように、ELFは線維化マーカーとしてだけでなく予後予測マーカーとしても有効と考えられている。

3. 実臨床での活用法～2ステップアルゴリズムおよび3ステップアルゴリズム～

ELFテストやエラストグラフィは高い診断能を持つ一方で、特に海外では検査コストが高く、先進国の約30%とされるMASLD患者全員に行うことは現実的ではない。そこで、2つの検査を組み合わせる2ステップアルゴリズムが国内外の学会で推奨されている。具体的には、第1段階として陰性的中率が高く、施設限定のない

低コストな検査を用いることで高度線維化のリスクがある症例を絞り込み、第2段階でより専門性の高い検査を行う。

本邦の診療ガイドラインでは、健診などの1次スクリーニングにおいて、第1段階として血小板数、FIB-4 indexなどのスコアリングシステム、各種血液線維化マーカーのいずれかが推奨されている (図1)¹¹⁾。これらのいずれかが異常値を示す場合、専門医への紹介が推奨される。消化器病・肝臓専門医を対象とした2次スクリーニングでは、MASLD患者に対して第1段階としてFIB-4 indexまたはNFSを評価し、カットオフ値を超える場合は、エラストグラフィもしくは肝生検が考慮・推奨される (図2)¹¹⁾。これにより検査コストを抑え、侵襲的検査である肝生検の数を抑えることができる。しかし、このフローチャートでは、FIB-4 ≥ 1.3 のMASLD患者全体が専門医への紹介候補となってしまう、かかりつけ医では判断に迷う症例が増えることが想定される。また、エラストグラフィの機器を持たない専門施設では、多くの患者が肝生検候補となり、医療コストの増大が懸念される。

一方、AASLDのガイドラインでは、診療アルゴリズムに診断精度の高いELFテストが組み込まれている (図3)¹⁴⁾。具体的には、まずFIB-4を行い、 >2.67 であれば高リスク症例として専門医へ紹介し、 <1.3 では低リスク症例としてFIB-4の定期的な評価を続ける。1.3～2.67の中間リスク群の場合、ELFテストもしくはVCTEを行い、カットオフ値 (VCTE: 8.0 Kpa および ELF: 9.8) 以上であれば専門医への紹介を検討する。これにより、かかりつけ医で低リスクと判断できる患者が増えるとともに、専門医への紹介患者をより限定することが可能となる。

われわれは第1段階でFIB-4を行い、第2段階として日本人において高い診断精度を有するIV型コラーゲン7SもしくはELFテストのいずれかを測定し、さらにこれらがカットオフ値を超えた場合のみVCTEを実施する3-step診断アルゴリズムの有用性を報告した (図4)²²⁾。高度線維化の有病率を検診コホートにマッチさせてシミュレーションを行うと、従来のFIB4-VCTEの2-stepアプローチと比べ、感度と陰性的中率を低下させず、特異度と陽性的中率が有意に上昇し、専門医への紹介と肝生検を有意に減らし、さらに医療コストを有意に削減できるとした。今後のさらなる検討が望まれる。

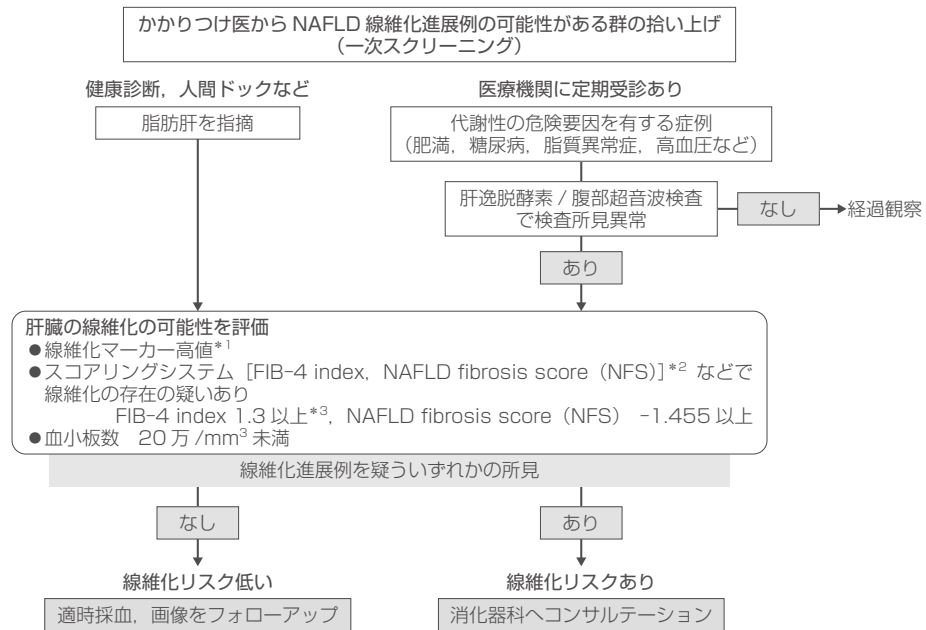


図 1. かかりつけ医での NAFLD 1 次スクリーニング¹¹⁾

「日本消化器病学会・日本肝臓学会編：NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2020，改訂第 2 版，p.xx，2020，南江堂」より許諾を得て転載。注釈を省略。実際に使用する際には、必ず原典を参照すること。

NAFLD 患者ではスコアリングシステム（FIB-4 index、NAFLD fibrosis score）、線維化マーカー（Ⅳ型コラーゲン 7S、M2BPGi など）および血小板値で線維化進展が疑われれば消化器科へ紹介する。線維化進展を疑う所見がなければ適時採血や画像検査によるフォローアップを行う。

$\text{FIB-4 index} = (\text{年齢} \times \text{AST}) / (\text{血小板数} \times \sqrt{\text{ALT}})$

$\text{NAFLD fibrosis score} = -1.675 + 0.037 \times \text{年齢} + 0.094 \times \text{BMI} + 1.13 \times (\text{空腹時血糖} / 18) + 0.99 \times \text{AST/ALT 比} - 0.013 \times \text{血小板数} - 0.66 \times \text{アルブミン (g/dL)}$

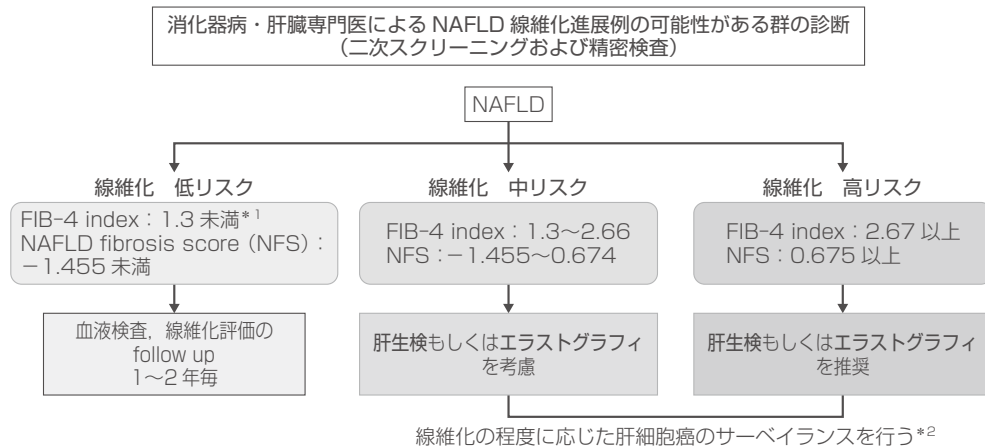


図 2. 消化器病・肝臓専門医による NAFLD2 次スクリーニングおよび精密検査¹¹⁾

「日本消化器病学会・日本肝臓学会編：NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2020，改訂第 2 版，p.xxi，2020，南江堂」より許諾を得て転載。注釈を省略。実際に使用する際には、必ず原典を参照すること。

FIB-4 index もしくは NAFLD fibrosis score により肝線維化リスクを評価する。肝生検もしくはエラストグラフィで F0-1 相当であった場合は生活習慣の改善を指導し、1 年後にエラストグラフィによる再評価を考慮する。肝硬変であった場合は 6 か月ごとの超音波検査と腫瘍マーカー測定による肝細胞癌のサーベイランスを行う。また、男性で F2 以上、女性で F3 以上であった場合は 6 ～ 12 か月ごとの超音波検査による肝細胞癌のサーベイランスを行う。

$\text{FIB-4 index} = (\text{年齢} \times \text{AST}) / (\text{血小板数} \times \sqrt{\text{ALT}})$

$\text{NAFLD fibrosis score} = -1.675 + 0.037 \times \text{年齢} + 0.094 \times \text{BMI} + 1.13 \times (\text{空腹時血糖} / 18) + 0.99 \times \text{AST/ALT 比} - 0.013 \times \text{血小板数} - 0.66 \times \text{アルブミン (g/dL)}$

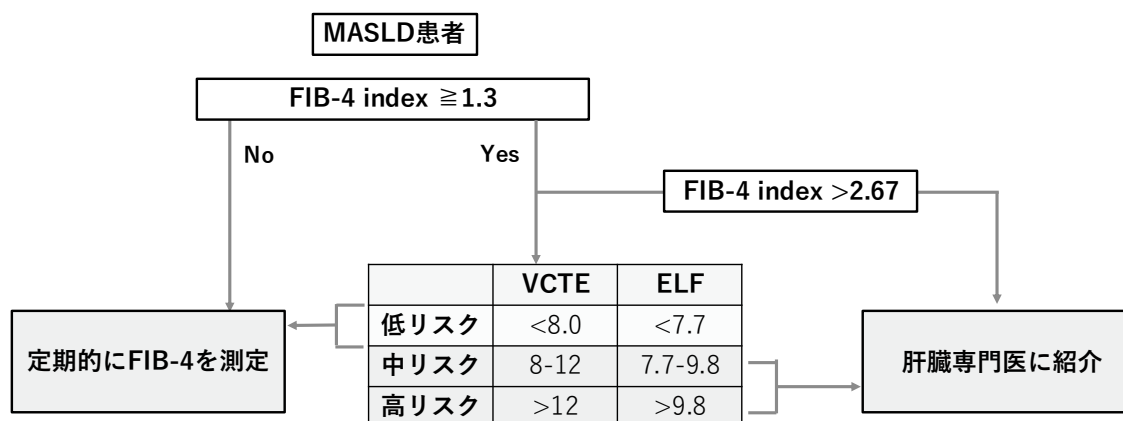


図 3. AASLD の MASLD 診療アルゴリズム

1 次検査として FIB-4 index による線維化リスクの評価を行う。1.3<FIB-4 ≤ 2.67 の中間リスク群に対しては VCTE もしくは ELF test によるリスク評価を追加する。

$\text{FIB-4 index} = (\text{年齢} \times \text{AST}) / (\text{血小板数} \times \sqrt{\text{ALT}})$

VCTE: vibration-controlled transient elastography

ELF: enhanced liver fibrosis test

文献 14) を参考に筆者作成

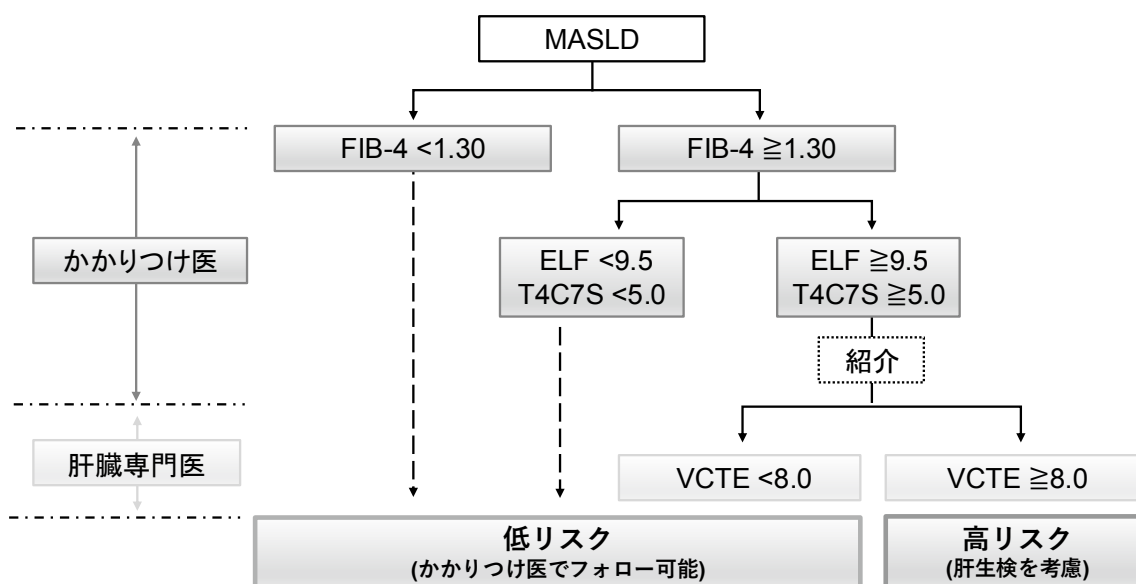


図 4. MASLD の新規 3 ステップ診断アルゴリズム

FIB-4 で中間～高リスクと診断された症例に対して、VCTE を行う前に ELF もしくは IV 型コラーゲン 7S を評価する。これらがカットオフ値以下であれば低リスクとしてかかりつけ医でフォロー可能と判断する。従来の 2-step アルゴリズムと比較して感度と陰性的中率を低下させず、特異度と陽性的中率が有意に上昇し、専門医への紹介と肝生検を有意に減らし、さらに医療コストを有意に削減できることを報告した。

$\text{FIB-4 index} = (\text{年齢} \times \text{AST}) / (\text{血小板数} \times \sqrt{\text{ALT}})$

ELF: enhanced liver fibrosis test; T4C7S: IV 型コラーゲン 7S; VCTE: vibration-controlled transient elastography

文献 22) より転載、一部改変

おわりに

以上、ケミルミ TIMP-1 と ELF テストの肝線維化診断における有用性について解説した。今後は ELF のような世界基準の検査を用いつつ、日本の医療環境や日本人の生物学的特性に合わせた診療システムの発展が望まれる。

文 献

- 1) Wong VW, Ekstedt M, Wong GL, et al. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *J Hepatol*. 2023;79(3):842-852.
- 2) Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features, Is Associated With Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(2):389-397 e10.
- 3) Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547-1554.
- 4) Shima T, Ohtakaki Y, Kikuchi H, et al. A novel rapid immunoassay of serum type IV collagen 7S for the diagnosis of fibrosis stage of nonalcoholic fatty liver diseases. *Hepatol Res*. 2021;51(3):263-276.
- 5) Honda Y, Yoneda M, Kobayashi T, et al. Meta-analysis of the diagnostic accuracy of serum type IV collagen 7S concentration for the staging of liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. 2023;53(3):219-227.
- 6) Abe M, Miyake T, Kuno A, et al. Association between Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein and the fibrosis stage of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology*. 2015;50(7):776-784.
- 7) Ogawa Y, Honda Y, Kessoku T, et al. Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2-binding protein and type 4 collagen 7S: useful markers for the diagnosis of significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018;33(10):1795-1803.
- 8) Jiang W, Huang S, Teng H, et al. Diagnostic accuracy of point shear wave elastography and transient elastography for staging hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *BMJ open*. 2018;8(8):e021787.
- 9) Xiao G, Zhu S, Xiao X, et al. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Hepatology*. 2017;66(5):1486-1501.
- 10) McPherson S, Stewart SF, Henderson E, et al. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2010;59(9):1265-1269.
- 11) 日本消化器病学会・日本肝臓学会編.NAFLD/NASH診療ガイドライン2020(改訂第2版).2020;xx-xxi.
https://www.jsge.or.jp/committees/guideline/guideline/pdf/naflfnash2020_2_re.pdf.
- 12) Guha IN, Parkes J, Roderick P, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008;47(2):455-460.
- 13) Anstee QM, Lawitz EJ, Alkhouri N, et al. Noninvasive Tests Accurately Identify Advanced Fibrosis due to NASH: Baseline Data From the STELLAR Trials. *Hepatology*. 2019;70(5):1521-1530.
- 14) Kanwal F, Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, et al. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: Update and impact of new nomenclature on the American Association for the Study of Liver Diseases practice guidance on nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2024;79(5):1212-1219.doi:10.1097/HEP.0000000000000670.
- 15) EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). *J Hepatol*. 2024.
- 16) Inadomi C, Takahashi H, Ogawa Y, et al. Accuracy of the Enhanced Liver Fibrosis test, and combination of the Enhanced Liver Fibrosis and non-invasive tests for the diagnosis of advanced liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. 2020;50(6):682-692.
- 17) Seko Y, Takahashi H, Toyoda H, et al. Diagnostic accuracy of enhanced liver fibrosis test for nonalcoholic steatohepatitis-related fibrosis: Multicenter study. *Hepatol Res*. 2023;53(4):312-321.
- 18) Vali Y, Lee J, Boursier J, et al. Enhanced liver fibrosis test for the non-invasive diagnosis of fibrosis in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2020;73(2):252-262.
- 19) Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, et al. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2023;77(5):1797-1835.
- 20) Parkes J, Roderick P, Harris S, et al. Enhanced liver fibrosis test can predict clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *Gut*. 2010;59(9):1245-1251.
- 21) S.A. Harrison, M.F. Abdelmalek, A.M. Diehl, et al. Prospective validation of the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test for the prediction of disease progression in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis. *Hepatology*, 66 (2017), pp. 1120a-1121a.
- 22) Kobayashi T, Ogawa Y, Shinoda S, et al. A 3-step approach to predict advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: impact on diagnosis, patient burden, and medical costs. *Scientific reports*. 2022;12(1):18174.
Licence:CC BY 4.0 Deed(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>)