

氏 名	宮 里 舞
(ふ り が な)	(みやさと まい)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 授 与 番 号	甲 第 号
学 位 審 査 年 月 日	平成 26 年 7 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 名	The Cytokeratin-18 Fragment Level as a Biomarker of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus (2 型糖尿病患者における非アルコール性脂肪肝の バイオマーカーとしての血清サイトケラチン 18 フ ラグメント濃度の検討)
論 文 審 査 委 員	(主) 教授 樋 口 和 秀 教授 廣 瀬 善 信 教授 内 山 和 久

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《目 的》

近年、2型糖尿病は非アルコール性脂肪肝(NAFLD)や非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)をしばしば合併することが明らかになり、NAFLD や NASH の存在が糖尿病患者の生命予後に影響する可能性が懸念されている。しかし、NAFLD や NASH の診断や評価に有用な血清のバイオマーカーは、必ずしも明らかにされていない。血清 cytokeratin-18 fragment 濃度 (CK-18) は、上皮系細胞のアポトーシスを反映するといわれている。CK-18 は非アルコール性脂肪肝(NAFLD)の組織学的活動性スコアと相関し、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)において高値であったという報告があるが、糖尿病患者を対象とした検討は未だなされていない。そこで、本研究では、2 型糖尿病患者における CK-18 を測定し、NAFLD との関連や臨床的意義を検討することを目的とした。

《方 法》

対象は、2011 年 4 月から 2013 年 12 月までの期間において、大阪医科大学附属病院糖尿病代謝内科外来通院中もしくは入院中の 2 型糖尿病患者で、男女不問の 20 歳以上、選択基準を満たした患者である。コントロール群は、糖尿病を有さない男女不問の 20 歳以上で、同様に選択基準を満たした非糖尿病患者とした。除外基準は以下の通りである。アルコール摂取量が 1 日 20g 以上、HBs 抗原もしくは HCV 抗体が陽性、抗核抗体陽性、NYHA II 以上の心不全、糖尿病腎症 3 期以上、甲状腺機能亢進症ないし低下症、悪性新生物、自己免疫性疾患、先天性代謝疾患、感染症、妊娠、薬剤性肝障害、原発性胆汁性肝硬変や原発性硬化性胆管炎等の慢性肝疾患。

本研究は、横断研究と縦断研究の二つの研究に分けて行った。

横断研究では、選択基準を満たした患者 200 名および非糖尿病患者 58 名を対象とした。2 型糖尿病患者と非糖尿病患者は、NAFLD の有無で 2 つの群にそれぞれ分けた (DM/NAFLD、DM/非 NAFLD、非 DM/NAFLD、非 DM/非 NAFLD)。NAFLD の診断は、濱口らのスコアリングシステムに基づいて行った。具体的には、腹部超音波検査を行い、得られた画像所見を最大で 6 点となるように点数化し、0 点、1 点を非 NAFLD、2 点以上で NAFLD と診断した。

縦断研究では、NAFLD を合併する 2 型糖尿病患者 137 名のうち、経過を観察し得た 40 症例において、3 か月間の CK-18 の変化量 (Δ)、及び各種臨床データの変化量 (Δ) を観察し、 Δ CK-18 と Δ 各種臨床データの関連を検討した。

CK-18 は、ELISA 法 (M-30 アポトーセンス ELISA キット) を用いて測定した。統計学的解析は、統計ソフト Stat View for Windows 5.0.1 及び JMP 10 を用いて行った。

《結 果》

横断研究：2 型糖尿病患者 200 名のうち、NAFLD と診断された者は 137 名であった。非糖尿病患者 58 名のうち、NAFLD と診断された者は 27 名であった。NAFLD の有無で、各種臨床データを比較検討したところ、糖尿病患者、非糖尿病患者のいずれにおいても、

NAFLD 群は非 NAFLD 群に比し、CK-18 が有意に高値であったのに加え、BMI、ALT、TG が有意に高値であり、HDL-C が有意に低値であった。また、CK-18 の値は、糖尿病患者と非糖尿病患者の間で有意差は認められなかった。

腹部超音波検査によるスコアと各種臨床パラメータとの相関を調べた結果、CK-18 は NAFLD のスコアと強い正の相関を示した ($\rho=0.565$ $p<0.0001$)。

CK-18 および AST、ALT の ROC 曲線下面積 (AUROC) (95%CI) は、それぞれ、CK-18 は 0.75 (0.67-0.81)、AST は 0.73 (0.65-0.79)、ALT は 0.62 (0.54-0.70) であり、NAFLD を診断するにあたり、CK-18 は AST、ALT と比較し、感度および特異度が高かった。

NAFLD の有無に関連する因子を調べたところ、CK-18 (Odds ratio 1.01、95%CI 1.00-1.02、 $p=0.004$) と BMI (Odds ratio 1.25、95%CI 1.10-1.43、 $p=0.001$) は、独立して NAFLD の有無に関連する因子であった。CK-18 と各種臨床データの相関について解析した結果、単回帰分析では、CK-18 は AST、ALT、BMI、HDL-C との有意な相関が認められた。年齢、性別、および BMI で調整した重回帰分析でも、CK-18 は AST ($\beta=0.65$ $p<0.0001$) および ALT ($\beta=0.63$ $p<0.0001$) と有意に相関していた。

縦断研究：NAFLD を有する 2 型糖尿病患者 40 例の Δ CK-18 と Δ 各種臨床データとの相関を検討したところ、 Δ AST と Δ BMI が独立して Δ CK-18 と関連した ($R^2=0.79$ 、 $p<0.0001$)。

《考察および結論》

CK-18 は、すでに NAFLD の診断と重症度の評価に有用なバイオマーカーであることが示唆されているが、今回 2 型糖尿病を有する患者においても有用であることを明らかにした。また、CK-18 の低下が BMI の低下と関連することが示され、2 型糖尿病患者における NAFLD の治療に減量が有効である可能性が示唆された。CK-18 を測定することにより進行性の肝疾患の危険性を層別化することが可能となり、CK-18 の測定は糖尿病患者の死亡率を改善する一助となる可能性がある。

論文審査結果の要旨

近年、2型糖尿病に非アルコール性脂肪肝(NAFLD)や非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)がしばしば合併し、糖尿病患者の生命予後に影響すると考えられている。申請者は、2型糖尿病に合併するNAFLDやNASHの診断や評価に有用な血清のバイオマーカーを明らかにするため、上皮系細胞のアポトーシスを反映するといわれる *cytokeratin-18 fragment* 濃度 (CK-18) に着目し、検討を行った。まず、横断研究の結果、次の成績を得た。1) 血清 *cytokeratin-18 fragment* 濃度(CK-18)は非アルコール性脂肪肝(NAFLD)患者において高値であり、糖尿病の有無に左右されなかった。2) 2型糖尿病患者において、CK-18 濃度は最良の独立した決定因子であった。3) 2型糖尿病患者において、CK-18 は腹部エコー検査で得られたスコアと有意な正の相関を示した。4) CK-18 濃度は2型糖尿病患者において、AST と ALT と有意な相関を認めた。

以上の結果から申請者は、CK-18 は2型糖尿病患者において NAFLD の診断と重症度の評価に有用なバイオマーカーであると結論している。また、縦断研究において、NAFLD を合併した2型糖尿病患者において、CK-18 の減少が BMI の減少と有意な関連を認めたことから、2型糖尿病患者の NAFLD の治療に減量が有効である可能性を示唆している。

今回の研究は、2型糖尿病患者において、CK-18 が NAFLD の診断および重症度の評価、さらには治療の評価に有用なマーカーであることを示したもので、NAFLD を合併した2型糖尿病患者の診療に有益な示唆を与える研究といえる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Clinica Chimica Acta 433: 184-189, 2014