小児期発症の非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)における

フィブロスキャンの有用性および遺伝子多型に関する研究

**愛知医科大学病院 小児科**

**研究責任者：本間　仁**

**作成年月日：令和3年4月18日**

**改訂年月日：令和6年10月20日**

1. **標題**

小児期発症の非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)におけるフィブロスキャンの有用性および遺伝子多型に関する研究

1. **研究の実施体制**

・代表研究機関および研究責任者

研究機関名：愛知医科大学

研究責任者：愛知医科大学病院小児科・助教・本間仁

 研究分担者：愛知医科大学病院小児科・助教・宮本亮佑

 研究分担者：愛知医科大学病院小児科・教授・奥村彰久

　研究分担者：愛知医科大学病院肝胆膵内科・准教授・角田圭雄

研究分担者：愛知医科大学病院肝胆膵内科・教授・米田政志

役割：研究の総括、検査、試料の採取、情報収集

・共同研究機関および研究責任者

株式会社特殊免疫研究所

共同研究責任者：代表取締役社長　伊藤 行夫

　役割：PNPLA3, TM6SF2, HSD17B13の遺伝子多型解析

1. **研究の背景・意義**

近年、肥満人口の増加に伴い、非アルコール性脂肪性肝疾患(non-alcoholic fatty liver disease：NAFLD)の増加が問題となっている。NAFLDは非アルコール性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver：NAFL)と 非アルコール性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis：NASH)に分類されるが、NASHは進行性で肝硬変や肝癌の発生母地となり得る。NAFLDは成人だけではなく、小児においても認められ、一般小児におけるNAFLDの有病率は4〜10%前後、小児肥満においては15〜55%の有病率と推測されているが、成人同様に今後増加が懸念されている。小児期のNAFLD患者が成人期にそのまま移行することにより、成人のNAFLD有病率がさらに高くなることが予想されるため，早期からの対応が求められている。

成人のNAFLD診療において、肝硬度や肝脂肪量を定量的に評価することのできるフィブロスキャンの有用性は多数報告されている。フィブロスキャンは小児にも適応があり、小児領域においてもその有用性に関する報告は近年増加傾向にある。小児においては肝生検などの侵襲を伴う検査を行うことが容易ではないため、フィブロスキャンなどの侵襲の少ない検査を流用することは小児のNAFLD 診療においても有用と考えられる。

また、近年、PNPLA3などの複数の遺伝子多型が、NAFLD発症および病態進展と関連することが報告されているが、小児における報告はまだ少ない。小児期発症のNAFLDと遺伝子多型の関連性を評価することは、小児期に発症するNAFLDの病態解明や将来NASHや肝硬変に進行するリスクを評価する上でも有用と考えられる。

1. **研究の目的**

本研究は、小児期発症のNAFLD患者におけるフィブロスキャンを用いた肝硬度や肝脂肪量測定の有用性を評価することを目的としている。また、NAFLDに関連する遺伝子多型の解析を行うことにより、小児期発症のNAFLDと遺伝子多型の関連性についても評価を行う。

1. **研究デザイン**

多施設共同、前向き研究

1. **研究対象者の選定方針**

**6-1. 対象者**

愛知医科大学病院で診療を受けているNAFLD患者、あるいは肥満や脂肪肝を認め、同疾患が疑われる6〜18歳の患者約100名を研究対象とする（肝機能異常を認め、組織診断あるいは画像診断で脂肪肝を指摘され、他の肝疾患が除外されたものをNAFLDと定義する）。

**6-2除外基準**

他の原因による肝疾患患者、ペースメーカーを使用している患者、非代償性肝硬変患者は除外する。また、患者本人および保護者が本研究に参加する意思がない場合も除外する。

**7.**　**研究期間**

倫理審査承認日〜2026年3月31日まで

**8．研究方法**

**8-1．具体的手順**

対象患者にフィブロスキャンを実施し、肝硬度（LSM値）や肝脂肪量（CAP値）を測定する。フィブロスキャンは、腹部超音波検査を行う際に、5-10分程度時間を延長して行う。実施時に軽い振動は生じるが、フィブロスキャンは小児にも適応があり、安全に行うことができる。また、年齢や性別、BMI、肥満度、AST/ALT値、血小板数、空腹時血糖値、血中インスリン値、TC/TG値、肝繊維化マーカー（Ⅳ型コラーゲン7S、M2BPGi等）、腹部超音波検査所見などの臨床データも収集する。フィブロスキャンで得られたLSM値およびCAP値と各種臨床データを比較検討し、関連性の有無を評価する。肝障害が遷延している症例においては、同意が得られれば肝生検も実施し、肝組織所見との比較検討も行う。

同時に、NAFLD関連遺伝子（PNPLA3, TM6SF2, HSD17B13）の遺伝子多型解析も行う。試料として血液（EDTA血1-2mL）を用いる。血液は通常の診療で行う採血の量を増量して採取する。得られた試料は匿名化処理を行い、愛知医科大学小児科学講座の研究室で凍結保存（-80℃）する。凍結保存した試料を株式会社特殊免疫研究所に提供し、DNAを抽出後、リアルタイムPCR法によってPNPLA3, TM6SF2, HSD17B13の遺伝子多型解析を行う。その場合、対応表は提供しない。得られた遺伝子多型解析データは、愛知医科大学においてフィブロスキャンデータやその他の臨床データと比較検討を行い、関連性の有無を評価する。解析後の試料は、愛知医科大学小児科学講座の研究室で厳重に保管するが、本研究以外の目的には利用しない。別の研究を行う場合は、改めてその研究計画を倫理委員会において審査し、承認を受けた上で利用する。

**8-2使用する試料・診療情報等の項目**

|  |  |
| --- | --- |
| ①試料 | [x] 血液【 [ ] 血清　[ ] 血漿 】 |
| [ ] 組織・細胞等【 [ ] 病理標本　[ ] その他（　　　）】 |
| [ ] 体液 |
| [ ] 尿 |
| [ ] その他【　　　】 |

|  |  |
| --- | --- |
| ②診療情報等 | [x] 年齢　[x] 性別　[x] 生年月日　[ ] 住所　[ ] 顔写真 |
| [x] 身長・体重 |
| [x] 病歴（要配慮個人情報） |
| [x] 既往歴 |
| [x] 治療歴（治療薬、投与量、治療開始日等） |
| [x] 血液検査データ【　　　】 |
| [x] 画像データ【腹部超音波検査、フィブロスキャン検査】 |
| [ ] アンケート（通常診療内で実施されたもの）【　　　】 |
| [x] 有害事象（副作用・合併症の発生等） |
| [x] その他【　肝組織所見（肝生検実施者）、遺伝子多型解析データ】 |

**8-3評価項目**

主要評価項目：小児NAFLD患者におけるフィブロスキャンを用いた肝硬度（LSM値）や肝脂肪量（CAP値）測定の有用性

副次評価項目：BMI、肥満度、AST/ALT値、血小板数、空腹時血糖値、血中インスリン値、TC/TG値、肝繊維化マーカー（Ⅳ型コラーゲン7S、M2BPGi等）、腹部超音波検査所見、肝組織所見（肝生検実施者）、遺伝子多型解析データ

9.**解析方法**

比率の比較にはカイ2乗検定、連続変数の比較には一元配置分散分析などを用いて解析を行う。また、共変量の調整のためにロジスティック回帰分析や重回帰分析などの多変量解析も行う。解析は愛知医科大学小児科の研究責任者及び研究分担者が行う。

**10．中止基準**

以下に該当する場合は、本研究を中止する。

* 目標症例数を大幅に下回り、研究の完遂が困難と判断した場合
* 当該研究以外から得られた関連情報により、研究継続の意義がないと判断された場合
* 倫理審査委員会又は研究機関の長から本研究を中止するよう通知された場合

**11．研究機関の長への報告について**

研究責任者は、年1回、定期的に研究の実施状況を研究機関の長へ報告する。

また、研究の終了後、速やかに研究終了報告書を研究機関の長へ提出する。

**12．研究対象者に予期される利益と不利益**

* 血液採取の際に血管穿刺が必要となり、唯一の侵襲となるが、診療の一環として行う血液検査の機会に同時に採血を行い、本研究のためだけに侵襲を与えないよう配慮する。
* フィブロスキャン実施のため、5-10分程度検査時間の延長が必要であるが、フィブロスキャンは小児にも適応があり、小児においても安全に行うことができる。
* 本研究に参加することによる研究対象者個人への直接的な利益は生じないが、今後の小児NAFLD診療に生かせる可能性がある。

**13.研究対象者の保護**

**13-1倫理原則の遵守**

本研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守し、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って実施する。なお本研究を実施するにあたり、愛知医科大学倫理委員会の審査を受け、病院長の許可を得た上で研究を実施する。

**13-2個人情報保護の方法**

研究の実施に関わる者は研究対象者の個人情報保護に十分配慮する。研究責任者は研究の実施に際して、データ等の保護に必要な体制を整備する。

**13-3匿名化の方法及び対応表について**

本研究では、個人情報等の保護のために、研究対象者の個人情報とは無関係の研究番号を付して管理し、どの研究対象者の試料・情報であるかが直ちに判別できないよう研究開始時に匿名化を行い、必要な場合に研究対象者を識別することができるよう対応表を作成する。本研究は共同研究機関に対して匿名化された試料の提供を行うが、対応表の提供は行わないため、提供先機関は特定個人を識別できない状態となる。対応表は、本研究に関与しない管理者が適切に管理する。対応表の保管期間は研究に係る情報等の保管と同様とする。

**14．研究対象者の同意（インフォームド・コンセント）**

愛知医科大学大学病院で主治医または研究チーム医師により、研究の意義・社会への貢献度・方法などを具体的に説明し協力を依頼する。

対象者またはその代諾者から文書によるインフォームドコンセントを得る。インフォームドコンセントには、倫理委員会で承認された説明文書、同意文書を使用する。

代諾者からインフォームドコンセントを受ける場合は、以下の通りである。①対象者が16歳未満の場合、②16歳以上だが知的障害などにより本人のインフォームドコンセントが得られない場合。代諾者は、対象者の親権者とする。

本研究開始後、研究結果の公表前に研究対象者および代諾者から本研究参加の同意を撤回する申出があった場合には、該当する試料や情報等は本研究には使用しない。

**15.研究対象者の費用負担、補償について**

**15-1費用負担**

１）検査等の費用負担

研究に参加することによる研究対象者の費用負担は発生しない。

２）研究参加の謝礼

交通費や謝礼金の支給も発生しない。

**15-2健康被害に関する補償**

血液採取の際の血管穿刺が唯一の侵襲となるが、血液は診療等に伴い採取する試料の量を増量して使用するため、採血手技とそのリスクは通常の医療行為と同様である。したがって、本研究において健康被害が発生した場合、特別な損失補償はなく、通常の保険診療での対応となる。

**16．情報（データ）の管理方法**

**16-1試料・情報の保管と廃棄の方法**

個人情報や試料は、愛知医科大学小児科学講座の施錠可能な研究室にて厳重に保管し、本研究のためだけに使用する。保管期間は、研究終了の報告後5年，又は結果の最終の公表について報告された日から3年を経過した日のいずれか遅い日までとする。試料を廃棄する場合は、研究開始時に匿名化された状態のまま、密封容器に廃棄あるいは焼却処分とする。紙媒体での情報はシュレッダーにて裁断のうえ廃棄する。電子データに関しては、全ての電子媒体から消去する。

**16-2試料・情報の授受に関する記録**

取得した試料・情報の共同研究機関への提供に関しては、提供に関する記録を作成し、試料・情報を提供した日から3年間保管する。

**17．本研究の資金源、利益相反について**

本研究は、愛知医科大学小児科学講座の研究資金で実施する。その他開示すべき利益相反はない。

**18．研究成果（特許権等）の帰属先**

本研究で新たな知的財産が生じた場合の権利は、愛知医科大学及び共同研究機関に帰属する。

**19．研究結果の開示、情報公開について**

本研究での研究成果は、学会および論文等において発表することにより公表する。

**20．データの二次利用について（別の研究について）**

本研究で得られたデータ（試料・情報）を別の研究に利用する可能性がある。その場合の試料及び情報等は本研究と同様に匿名化し、個人情報の保護を図る。別の研究を行う場合は、改めてその研究計画を倫理委員会において審査し、承認を受けた上で利用する。

**21．問い合わせ先**

愛知医科大学医学部　小児科学講座　助教　本間　仁

住所：〒480-1195　愛知県長久手市岩作雁又1-1

電話：0561-62-3311

E-mail:honma.hitoshi.045@mail.aichi-med-u.ac.jp

**22．参考文献**

1. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease
in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). JPGN. 2017;64:319-334.
2. Turuta G, Tanaka N, Hongo M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Japanese junior high school students: its prevalence and relationship to lifestyle habits. J Gastroenterol. 2010;45:666-672.
3. Yoneda M, Imajo K, Takahashi H, et al. Clinical strategy of diagnosing and following patients with nonalcoholic fatty liver disease based on invasive and noninvasive methods. J Gastroenterol. 2018;53:181-196.
4. Isoura Y, Cho Y, Fujimoto H, et.al. Effects of obesity reduction on transient elastography–based parameters in pediatric non-alcoholic fatty liver disease．Obese Res Clin Pract. 2020;14:473-478.
5. Kwon YD, Ko KO, Lim JW, et al. Usefulness of Transient Elastography for Non-Invasive Diagnosis of Liver Fibrosis in Pediatric Non-Alcoholic Steatohepatitis. J Korean Med Sci. 2019;34:e165.
6. Hudert CA, Selinski S, Rudolph B, et al. Genetic determinants of steatosis and fibrosis progression in paediatric non‐alcoholic fatty liver disease. Liver Int. 2019;39:540-556.
7. Lin YC, Chang PF, Hu FC, et al. A Common Variant in the PNPLA3 Gene is a Risk Factor for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obese Taiwanese Children. J Pediatr. 2011;158:740-744.