

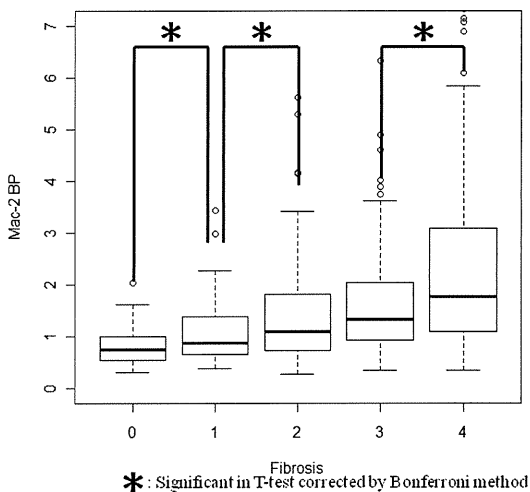
### C. 研究結果

#### 【検討1】

対象症例を F0-4 の 5 群に順序群別化し、各群における WFA+-M2BP の測定値の分布を群間比較した。

各群における WFA+-M2BP の平均値 (標準偏差) は 0.81 (0.37), 1.09 (0.63), 1.44 (1.14), 1.74 (1.52) および 2.85 (3.45) であった。

WFA+-M2BP の平均値について、F0-F1, F1-F2, F2-F3, F3-F4 間において有意水準  $p=0.0125$  で t 検定を行ったところ、F0-F1, F1-F2, F3-F4 間で有意差を認めた。



#### 【検討2】

WFA+-M2BP, APRI および FIB-4 に関し、新犬山分類 F0-4 を Gold standard とする Obchowski の overall accuracy を用いて診断精

度を比較した。

Penalty は診断誤差が 1~4 段階の場合それぞれ 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 とした。

Overall accuracy (SE) は WFA+-M2BP, APRI, FIB-4 でそれぞれ 0.869 (0.010), 0.867 (0.010), 0.847 (0.011) であった。

### D. 考察

WFA+-M2BP の分布は組織学的な肝線維化の進行に伴い有意な上昇傾向を示した。

診断精度に関しては、FIB-4 より高く、APRI とは同等という結果であった。

WFA+-M2BP は肝炎ウイルスや腫瘍因子といった背景病態による影響を強く受けることが知られているため、これらの因子を考慮に含めた診断基準に関するさらなる解析が必要である。

### E. 結論

WFA+-M2BP は術前肝線維化マーカーとして有用であり、他の線維化指標と遜色ない診断精度を示した。

### F. 研究発表

なし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

肝発癌例と非発癌例での血中 WFA+-M2BP の検討－発癌 3 年前の血清マーカーからの検討－

熊田 卓 大垣市民病院 消化器内科・副院長

研究要旨：2000 年 1 月から 2009 年 12 月の間に経験した B 型肝炎ウイルス（HBV）キャリアもしくは C 型肝炎ウイルス（HCV）キャリア 2750 例中、3 年以上経過観察されかつ血清保存された 1110 例で経過観察中に 83 例の肝細胞癌（HCC）が発生した。この 83 例と非発癌例の 1027 例で年齢、性、成因（HBV もしくは HCV）、Child-Pugh 分類、血小板、alanine aminotransferase（ALT）の 6 因子を propensity score 法でマッチさせて発癌例 79 例、非発癌例 79 を抽出した。これらの症例で HCC 診断時（非発癌例では最終血清保存日）、1 年前、2 年前、3 年前の保存血清で WFA 結合性 90 K/Mac-2 binding protein（WFA+-M2BP）、 $\alpha$ -fetoprotein（AFP）、lens culinaris agglutinin A-reactive $\alpha$ -fetoprotein（AFP-L3%）、DCP（des-gamma-carboxy prothrombin、FIB4 index、AST-to-platelet ratio index（APRI）を測定した。診断時の HCC の結節径は 1.8cm（1.0-3.0cm）、単発/多発は 53 例/26 例、TNM 分類 I/II/III は 36 例/30 例/13 例であった。HCC 診断前 3 年前の血清で ROC（Receiver Operatorating Characteristic）曲線を作成すると AUC（Area under the curve）は AFP（0.6626）、FIB4 index（0.6192）、WFA+-M2BP（0.6057）、APRI（0.5905）、AFP-L3%（0.5685）、DCP（0.4903）の順であった。WFA+-M2BP の ROC 曲線の AUC は発癌 3 年前、2 年前、1 年前、診断時ともに差を認めなかった。一方 AFP の ROC 曲線の AUC は発癌 3 年前、2 年前、1 年前、診断時と有意に増加した。以上から WFA+-M2BP は高発癌状態の指標となりうる可能性が示された。

研究協力者

豊田秀徳 大垣市民病院消化器科・医長  
多田俊史 大垣市民病院消化器科・医長

A. 研究目的

肝細胞癌（HCC）診断に腫瘍マーカーとして、 $\alpha$ -fetoprotein（AFP）、lens culinaris agglutinin A-reactive $\alpha$ -fetoprotein（AFP-L3%）および DCP（des-gamma-carboxy prothrombin あるいは protein induced vitamin K absence- II :

PIVKA II）の 3 種類が良く用いられている。2009 年 4 月からは AFP と DCP の 2 つの腫瘍マーカーの同時測定が保険診療上認められ、肝癌診療ガイドライン（2009 年版）にも、対象者を高危険群（B 型慢性肝炎、C 型慢性肝炎、肝硬変）と超高危険群（B 型肝硬変、C 型肝硬変）に分け、前者では 6 ヶ月に一度の超音波検査と腫瘍マーカー（AFP と AFP-L3% と DCP）の測定を、後者では 3-4 ヶ月毎の超音波検査と腫瘍マーカーの測定に加え 6-12 ヶ月毎の CT/MRI 検査（Option）が推奨されている。

一方、HCCは線維化の進行した例から発生しやすいことが知られており、線維化を正確に、非侵襲的に測定する方法が求められている。今回我々は線維化マーカーとして開発された血清WFA結合性90 K/Mac-2 binding protein (WFA+M2BP)を測定する機会を得て、保存血清を用いて肝発癌例、非発癌例でWFA+M2BPを測定し、その臨床的意義について検討した。

## B. 研究方法

B型肝炎ウイルス(HBV)キャリアもしくはC型肝炎ウイルス(HCV)キャリア2750例中、①HBs抗原もしくはHCV抗体が6カ月以上陽性、②HCC診断前3年以上経過観察されている、③血清が12カ月の間隔で少なくとも2点以上で保存されている、④発癌例では最大腫瘍径3cm以下3個以下で診断されている、⑤ワーファリンが内服されていない5点を満たす1110例を対象とした。経過観察中に83例で発癌が認められた。この83例と非発癌例1027例を年齢、性、成因(HBVもしくはHCV)、Child-Pugh分類、血小板、alanine aminotransferase (ALT)の5因子をpropensity score法を用いてマッチさせたところ、発癌群79例、非発癌群79例が抽出された。これらの症例でHCC診断時(非発癌例では最終血清保存日)、1年前、2年前、3年前の保存血清でWFA+M2BP、AFP、高感度AFP-L3%( $\mu$ TAS Wako i30)、DCPを測定した。また、3年前の血液データからFiB-4 = [年齢(y) × AST (IU/L)] / [血小板(109/L) × ALT (IU/L) 1/2]、AST-to-platelet ratio index (APRI) = [{AST (IU/L) / ALT\_ULN (IU/L)} × 100] / platelet count (109/L)を測定した。

## C. 研究結果

### 1) 背景因子

発癌群79例、非発癌群79例の背景因子を示す(表1)。年齢、性、成因、Child-Pugh分類、

ALT、血小板に差は認めていない。HCC診断時の腫瘍最大径は1.8cm(1.0-3.0cm)、単発53例、多発26例、stageはIが36例、IIが30例、IIIが13例であった。

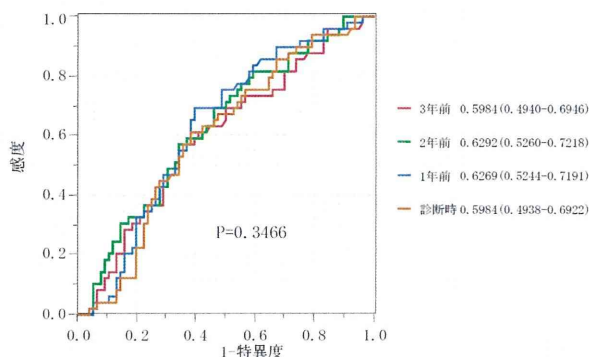
表1、背景因子(経過観察開始時)

Characteristics		HCC (n=79)	Non-HCC (n=79)	P
Age	Median (Range)	67 (34-81)	67 (14-84)	0.692
Gender	Male / Female	49 / 30	45 / 34	0.517
Etiology	B / C / B+C	13 / 65 / 1	11 / 67 / 1	0.906
Child-Pugh classification	A / B / C	63 / 13 / 3	67 / 10 / 2	0.699
ALT (IU/L)	Median (Range)	49 (7-361)	49 (12-321)	0.900
Platelet (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Median (Range)	9.9 (3.2-34.0)	12.2 (2.1-41.4)	0.124
診断時				
Tumor size (cm)	Median (Range)	1.8 (1.0-3.0)	NA	NA
Tumor number	Single / Multiple	53 / 26	NA	NA
TNM stage	I / II / III	36 / 30 / 13	NA	NA

### 2) WFA+M2BPのROC曲線のAUCの変化

AUCは3年前0.5984(95%信頼区間0.4940-0.6946)、2年前0.6292(0.5260-0.7218)、1年前0.6269(0.5244-0.7191)、診断時0.5984(0.4938-0.6922)であり差は認めなかった。(図1)。

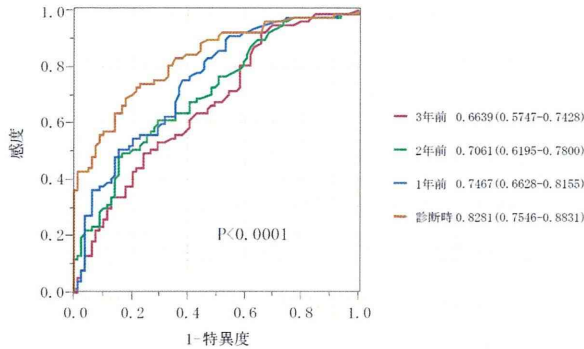
図1、M2BPの発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



### 3) AFPのROC曲線のAUCの変化

AUCは3年前0.6639(0.5747-0.7428)、2年前0.7061(0.6195-0.7800)、1年前0.7467(0.6628-0.8155)、診断時0.8281(0.7546-0.8831)であり診断時に近づくにつれて有意にAUCは増加した。(図2)。

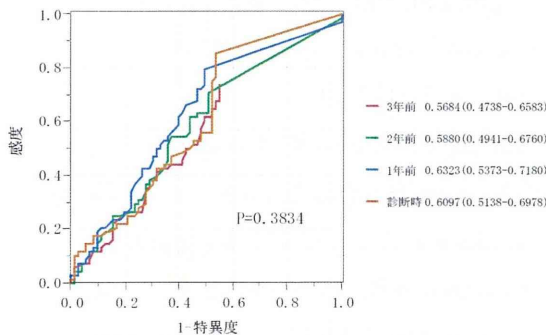
図2、AFPの発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



#### 4) AFP-L3%のROC曲線のAUCの変化

AUCは3年前 0.5684(0.4738-0.6583)、2年前 0.5880(0.4941-0.6760)、1年前 0.6323(0.5373-0.7180)、診断時 0.6097(0.5138-0.6978) であり差は認めなかった。(図3)。

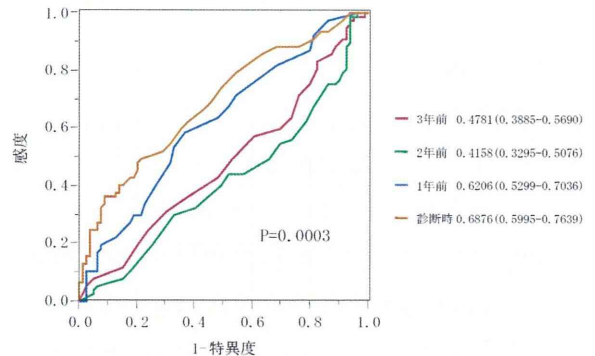
図3、AFP-L3%の発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



#### 5) DCPのROC曲線のAUCの変化

AUCは3年前 0.4781(0.3885-0.5690)、2年前 0.4158(0.3295-0.5076)、1年前 0.6206(0.5299-0.7036)、診断時 0.6876(0.5995-0.7639) であり診断時に近づくにつれて有意に増加した。(図4)。

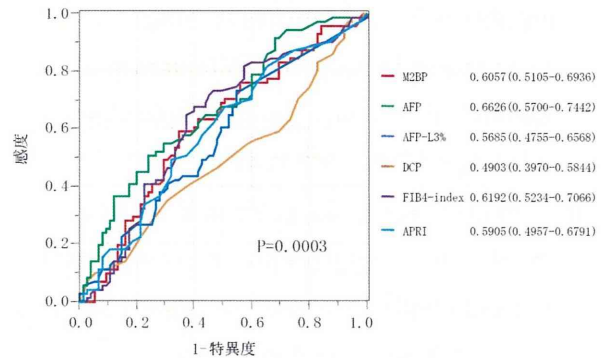
図4、DCPの発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



#### 6) 発癌3年前の各種マーカーのROC曲線

3年前の各種マーカーのAUCを求めるとAFPが0.6626(0.5700-0.7442)で最も高く、次いでFIB-4 index 0.6192(0.5234-0.7066)、WFA+-M2BP 0.6057(0.5105-0.6936)、APRI 0.5905(0.4957-0.6791)、AFP-L3% 0.5685(0.4755-0.6568)、DCP 0.4903(0.3970-0.5844)の順であった。

図5、発癌3年前の各種マーカーのROC曲線



#### D. 結論

背景因子を合わせた肝発癌群79例と非発癌群79例のWFA+-M2BP、AFP、高感度AFP-L3%、DCP、FIB-4 index、APRIを測定しその有用性について検討した。

①線維化マーカーであるWFA+-M2BPは発癌前の3年間で有意な変化は認めなかった。

②WFA+-M2BPは発癌前3年前のROC曲線のAUCでAFP、FIB-4 indexに次いで0.6057(0.5105-0.6936)を示し、高発癌状態の一

つの指標となる可能性が示された。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Niinomi T, Ito T, Sone Y, Kaneoka Y, Maeda A. Non-hypervascular hypointense nodules detected by Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI are a risk factor for recurrence of HCC after hepatectomy. *J Hepatol.* 2013 Jun;58(6):1174–1180.
- 2) Arao T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, **Kumada T**, Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, Izumi N, Arii S, Nishio K, Kudo M. FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2013 Apr;57(4):1407–1415.
- 3) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T. Lower incidence of hepatocellular carcinoma in patients with transient virologic response to peginterferon and ribavirin combination therapy: Is it really the effect of the therapy? *J Hepatol.* 2013 Apr;58(4):838–839.
- 4) **Kumada T**, Toyoda H, Tada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Andou Y, Yamamoto K, Tanaka J. Effect of nucleos(t)ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: A propensity score analysis. *J Hepatol.* 2013 Mar;58(3):427–433.
- 5) Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S, Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, Yatsuhashi H, Oketani M, **Kumada H**. Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN $\alpha$ -2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol.* 2013 Mar;48(3):382-390.
- 6) **Kumada T**, Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J. Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Feb;28(2):357–364.
- 7) Honda T, Katano Y, Kuzuya T, Hayashi K, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Toyoda H, **Kumada T**, Yamamoto K, Matsushita T, Kojima T, Takamatsu J, Goto H. Comparison of the efficacy of ribavirin plus peginterferon alfa-2b for chronic hepatitis C infection in patients with and without coagulation disorders. *J Med Virol.* 2013 Feb;85(2):228–234.
- 8) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Murakami Y. Higher hepatic gene expression and serum levels of matrix metalloproteinase-2 are associated with steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver diseases. *Biomarkers.* 2013 Feb;18(1):82-87.
- 9) Toyoda H, **Kumada T**, Shimada N,

- Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Baseline factors and early viral response (week 4) to antiviral therapy with peginterferon and ribavirin for predicting sustained virologic response in patients infected with hepatitis C virus genotype 1: A multicenter study. *J Med Virol.* 2013 Jan;85(1):65–70.
- 10) Hayashi K, Katano Y, Masuda H, Ishizu Y, Kuzuya T, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, **Kumada T**, Goto H. Pegylated interferon monotherapy in patients with chronic hepatitis C with low viremia and its relationship to mutations in the NS5A region and the single nucleotide polymorphism of interleukin-28B. *Hepatol Res.* 2013 Jan;In press.
- 11) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A. Placement of a Sodium Hyaluronate Solution onto the Liver Surface as a Supportive Procedure for Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinomas Located on the Liver Surface: A Preliminary Report. *J Vasc Interv Radiol.* 2012 Dec;23(12):1639–1645.
- 12) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Niinomi T, Ito T, Kaneoka Y, Maeda A. Prognostic significance of a combination of pre- and post-treatment tumor markers for hepatocellular carcinoma curatively treated with hepatectomy. *J Hepatol.* 2012 Dec;57(6):1251–1257.
- 13) Toyoda H, **Kumada T**, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Significance of a reduction in HCV RNA levels at 4 and 12 weeks in patients infected with HCV genotype 1b for the prediction of the outcome of combination therapy with peginterferon and ribavirin. *BMC Infect Dis.* 2012 Nov;12:324.
- 14) Toyoda H, **Kumada T**, Katano Y, Goto H. Week 4 viral response to peginterferon and ribavirin: How should it be used in combination with a baseline predictive factor? *J Hepatol.* 2012 Oct;57(4):927–928.
- 15) Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, **Kumada T**, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi Y-h. Comprehensive miRNA Expression Analysis in Peripheral Blood Can Diagnose Liver Disease. *PLoS One.* 2012 Oct;7(10).
- 16) Toyoda H, **Kumada T**. Incidence of hepatocellular carcinoma and response to interferon therapy in HCV-infected patients: effect of factors associated with the therapeutic response and incidence of HCC. *Liver Int.* 2012 Jul;32(6):1029–1031.
- 17) 多田 俊史、**熊田 卓**、桐山 勢生、谷川 誠、豊田 秀徳、久永 康宏、金森 明、曾根 康博、小川 定信. 大垣市民病院における EOB-MRI の肝細胞相で検出される乏血性結節の自然経過. *肝胆膵画像.* 2012 Jun;14(4)増刊号 特集 早期肝細胞癌の画像診断 update:345-350.
- 18) **熊田 卓**、豊田 秀徳、多田 俊史、金森 明、竹島 賢治、乙部 克彦. 4-2 造影超音波診断 (症例編) 肝細胞癌以外の肝腫瘍典型例. *Medical Technology 別冊 超音波エキスパート 13 肝癌の造影超音波検査.* 2012 Jun;

医歯薬出版（東京）、西田 睦、高梨 昇・  
編:43-58.

- 19) 貴田岡 正史、熊田 卓、松田 康雄、飯島 尋子、小川 眞広、工藤 信樹、小原 和史、紺野 啓、高倉 玲奈、西田 睦、南 康範、森 秀明、山田 昌彦. 肝腫瘍の超音波診断基準. 超音波医学. 2012 Jun;39 巻 3 号:317-326.
- 20) 多田 俊史、熊田 卓、桐山 勢生、谷川 誠、豊田 秀徳、久永 康宏、金森 明、新家 卓郎、安東 直人、坂井 圭介、安田 諭、木村

純、安藤 祐資、山本 健太. B型肝炎に対する核酸アナログ投与例の長期予後. 消化器内科 2012 May;54(5):608-613.

- 21) Toyoda H, Kumada T, Osaki Y, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A. Novel method to measure serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin for hepatocellular carcinoma in patients taking warfarin: A preliminary report. Cancer Sci. 2012 May;103(5):921-925.

## C 型肝硬変症例における WFA+-M2BP の経時的変動と肝発癌

髭 修平 札幌厚生病院 第3 消化器科・主任部長

研究要旨：肝疾患の新規病態マーカーとしての WFA+-M2BP の臨床的有用性について、C 型肝硬変症例を対象として検討した。39 例の C 型肝硬変症例を平均 63 ヶ月（7～103 ヶ月）経時的に観察し、登録時の肝予備能、計測時期の他の血液生化学検査成績と WFA+-M2BP 値との関連を検討し、さらに、発癌の有無による WFA+-M2BP 値の検討を行った。

その結果、対象症例の WFA+-M2BP 値は、肝予備能や線維化マーカーと良好な相関性を認めた。しかし、発癌の有無で群別した場合には、両群間の WFA+-M2BP 実測値や経時変化に差は認めず、主に肝線維化の指標として臨床的有用性を有することが示された。

### A. 研究目的

C 型肝硬変症例を対象として、本研究班で明らかにされた新規マーカーである WFA+-M2BP を測定し、肝予備能、線維化マーカーとの関連を検討し、さらに、肝発癌の有無と WFA+-M2BP の経時変動の関連を検討する。

### B. 研究方法

#### 1. 検討対象

2003 年を起点として、定期的に血清が保存され、肝発癌を含めた予後が確認されている C 型肝硬変症例 39 例（男性 15 例、女性 24 例、登録時平均年齢 64.2 歳）を対象とした。

Child-Pugh 分類 A/B/C では、それぞれ、32 例/6 例/1 例。経過中の肝癌発生は 15 例、非発癌例は 24 例であった。

#### 2. 測定方法

WFA+-M2BP の測定時期は、発癌例では、①登録開始時、②発癌 1 年前、③肝癌発見時、非発癌例では、①登録開始時、②開始から最終期までの中間時、③観察最終期とした。

3. 上記の各測定時期における、血液生化学検査

として、血小板数、プロトロンビン時間、アルブミン、AST、ALT、 $\gamma$ GTP、コリンエステラーゼ、総コレステロール、 $\alpha$ フェトプロテイン、PIVKA-II を測定。

#### 4. WFA+-M2BP との検討項目

- 1) 登録時の Child-Pugh 分類との関連
- 2) 各測定時期の血液生化学検査成績との関連
- 3) 他の fibrosis index として、APRI、FIB-4 との関連

それぞれの計算式は以下の通りとした。

$APRI = \frac{AST(\times upper\ limit\ of\ normal) \times 100}{platelets\ (109/L)}$

$FIB-4 = \frac{age\ (years) \times AST\ (U/L)}{platelets\ (109/L) \times ALT\ (U/L)^{1/2}}$

- 4) 経時的変動と肝発癌との関連

### C. 研究結果

対象例の発癌の有無と背景因子の検討では、発癌例/非発癌例の平均年齢が 68.0/61.8 歳（ $p=0.053$ ）と前者で高齢の傾向を示したが、他の血液生化学データには有意差を認めなかった。

- 1) 登録時の 39 例の WFA+-M2BP 値と



Child-Pugh スコアには正の相関（相関係数： $r=0.74$ 、 $p<0.001$ ）を認めた。

2) WFA+-M2BP 値と血液生化学検査との関連では、血小板数 ( $r=-0.44$ )、プロトロンビン時間 ( $r=-0.39$ )、アルブミン ( $r=-0.61$ )、コリンエステラーゼ ( $r=-0.67$ )、総コレステロール ( $r=-0.41$ ) で有意な逆相関を認めた（いずれも  $p<0.001$ ）。

3) WFA+-M2BP 値と APRI とは  $r=0.48$ 、FIB-4 とは  $r=0.46$  と、それぞれに正の相関を認めた。

4) 各症例について経時的に測定した WFA+-M2BP 値は、発癌の有無別症例群の群間に差を認めなかった。非発癌例の登録時 WFA+-M2BP 値 (C.O.I) は、 $7.24\pm 6.10$  で、経時的変化は  $0.27\pm 1.51$  (C.O.I./年) であった。発癌例の登録時 WFA+-M2BP 値は  $7.41\pm 5.22$  で非発癌群と有意差は認めなかった。発癌前 1 年間の WFA+-M2BP 値変化は  $-0.18\pm 2.06$  (C.O.I) で、登録時から発癌 1 年前までの年次変化量は  $0.04\pm 2.12$  (C.O.I./年) であった。

#### D. 考察

今回検討した WFA+-M2BP では、他の肝線維化指標である APRI や FIB-4 と高い相関を示しており、線維化マーカーとして有用であると思われる。また、Child-Pugh 分類とも良好な相関を示し、血液生化学検査成績との関連性からも、肝予備能の指標としても有用であると考えられた。

今回の検討では、観察登録時点で肝硬変例のみを対象としており、比較的病期が進行した症例を選択している。症例全体の WFA+-M2BP の平均値は 7.30 (C.O.I.) と他の検討集団と比較して高値を示し、WFA+-M2BP 値 10 以上の症例が 10 例 (25.6%) を占めた。最長 8.5 年の経過中の肝発癌有無別の WFA+-M2BP 値は、発癌/非発癌の両群それぞれに経過中の上昇、あるいは、下降例を認めており、一定の傾向は認めら

れなかった。

#### E. 結論

C 型肝硬変症例において、WFA+-M2BP 値は、肝予備能や線維化マーカーと相関性を認めた。対象例を経過中の発癌の有無で群別した場合に、両群間には、WFA+-M2BP の実測値や経時変化に差を認めなかった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, **Hige S**, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, Narimatsu H. A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep*. 2013 Jan;3.
- 2) Kobayashi T, **Hige S**, Terashita K, Nakai M, Horimoto H, Sho T, Nakanishi M, Ogawa K, Chuma M, Sakamoto N, Asaka M. Anemia and thrombocytosis induced by ribavirin monotherapy in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 2012 Nov;47(11):1228-1237.
- 3) Saito H, Ito K, Sugiyama M, Matsui T, Aoki Y, Imamura M, Murata K, Masaki N, Nomura H, Adachi H, **Hige S**, Enomoto N, Sakamoto N, Kurosaki M, Mizokami M, Watanabe S. Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res*. 2012 Oct;42(10):958-965.
- 4) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka

- Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, Mizokami M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 2012 Oct;56(4):1448–1456.
- 5) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012 Jun;7(6).
- 6) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet*. 2012 Jun;13(47).
2. 学会発表
- 1) 髙 修平、小関 至、木村 睦海、荒川 智宏、中島 知明、桑田 靖昭、佐藤 隆啓、大村 卓味、狩野 吉康、豊田 成司. O-4 ラミブジン耐性アデホビル併用 B 型肝炎に対する耐性出現の検討. 第 39 回 日本肝臓学会東部会 (2012.12.06-07@東京) 2012 Dec;一般演題 -B 型肝炎 1.
- G. 知的所有権の出願・登録状況  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

C型肝炎からの肝発癌リスク因子の解析

泉 並木 武蔵野赤十字病院・副院長／消化器科部長

研究要旨：C型慢性肝炎や肝硬変から高率に肝発癌がみられるが、このリスク因子を解析し発癌防止につなげていくことが重要な課題である。当院でインターフェロン治療を行なった症例を長期経過観察し、肝発癌に関わるリスク因子を解析した。肝生検によって診断されたC型慢性肝炎と肝硬変2,168例を集計した。インターフェロン単独で治療を受けた例が758例、インターフェロンとリバビリン併用による24週間の治療が275例、ペグインターフェロン単独で治療されたのが307例、ペグインターフェロンとリバビリン併用治療を受けた例が828例である。ウイルス排除(sustained virological response; SVR)が得られたのが1,049例、得られなかったのが1,119例であり、0.51～19.0年（平均6.9年）経過観察を行なった。肝発癌はSVRから30例、非SVRから137例みられた。肝発癌に関与する因子について単変量解析を行ったところ、年齢が10歳きざみに高齢になること、肝生検の炎症活動性と線維化、ALT値が40 IU/L以上、血清AFP値が6.5 ng/mL以上であることが有意であり、HCVRNAは有意とはならなかった。ALTとAFPについて、肝発癌に関与する値のROC曲線で解析すると、ALT 40 IU/L以上とAFP 6.5 ng/mL以上が最も判別効率が高かった。インターフェロンを行ってALT値が40 IU/L未満に低下した例では、肝発癌率が低下していたが、正常値からインターフェロン治療後に40 IU/L以上に上昇した例では、もともと40 IU/L以上の例と同じ程度に肝発癌がみられた。また、AFP値がインターフェロン治療後に6.5 ng/mL未満に低下した場合には、肝発癌率が低かったが、インターフェロン後に6.5 ng/mL以上に上昇した場合には、肝発癌率が高かった。宿主遺伝子のIL28BのSNP別に、肝発癌率を解析すると、SVRが得られた例ではIL28Bがminor alleleであっても肝発癌率が低かったが、SVRが得られなかった場合には、major alleleの症例よりもminor alleleの方が肝発癌率が高かった。以上より、インターフェロン投与によってSVRが得られなかった場合には、ALTを40 IU/L未満とAFPを6.5 ng/mL未満に低下させることが、肝発癌防止につながると考えられた。

研究協力者

朝比奈靖浩 武蔵野赤十字病院消化器科・  
部長

黒崎雅之 武蔵野赤十字病院消化器科・部

長

A. 研究目的

C型慢性肝炎や肝硬変では、高率に肝癌を発

症し、肝癌で死亡する患者数が年間 3 万人に達する。肝癌になりやすいリスク因子を解析し、適切に対処法をたてて、肝癌による死亡者数を減少させる対策が重要な課題となっている。最近、ペグインターフェロンとリバビリン併用療法の効果に宿主遺伝子の IL 28B の遺伝子多型 (SNP) が重要であることが報告された。しかし、IL 28B と SNP と肝癌の関連については十分あきらかにされていない。また、抗ウイルス薬の開発がめざましく、難治例であってもウイルス排除が得られる率が向上している。そこで、C 型肝炎に感染している場合に効果的な肝癌の予防策をたてるために、肝癌リスクを明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

1992 年より当院で C 型慢性肝炎や肝硬変で、肝生検をうけ、インターフェロンを中心とした抗ウイルス療法を受け、経過観察が行っている 2,168 例を対象とした。インターフェロン単独で治療を受けた例が 758 例、インターフェロンとリバビリン併用による 24 週間の治療が 275 例、ペグインターフェロン単独で治療されたのが 307 例、ペグインターフェロンとリバビリン併用治療を受けた例が 828 例である。治療後にウイルス排除 (Sustained virological response; SVR) が得られた例が、1,049 例 (48.3%) であり、SVR が得られなかった 1,119 例 (51.6%) であった。これらの症例を、0.51 年から 19.0 年、平均 6.9 年経過観察し、肝癌に関与する因子を解析した。SVR の 1,049 例中 30 例 (2.9%) に肝癌がみられた。一方、非 SVR の 1,119 例のうち、肝癌がみられたのは 137 例 (12.2%) であった。この症例について、性、年齢、BMI、肝生検の活動性 (activity; A1, A2, A3) と線維化 (F1, F2, F3 F4)、治療前 ALT 値、 $\gamma$ GTP 値、AFP 値、C 型肝炎ウイルス (HCV) 遺伝子型、HCVRNA 量について、肝癌リスクとして解析した。これら

を単変量で Kaplan-Meier 法で表示し Logrank test で検討した。また、有意な因子を解析するため、Cox 比例ハザードモデルによって多変量解析を行った。さらに、経過中の因子が重要と考えられるため、インターフェロン終了後の血中 ALT 値、AFP 値と HCVRNA 量について解析した。経過中の肝発癌を予測する目的で、ALT 値と AFP 値について、ROC 曲線を解析し、最も発癌を予測する確率が高い数値を求めた。

IL28B の遺伝子多型を rs8099917 について解析し、TT の例を major allele, TG または GG を minor allele として肝発癌との関連を解析した。(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した (新 GCP に遵守)。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得ている。

## C. 研究結果

### C 型慢性肝炎の肝発癌リスク因子

C 型慢性肝炎と肝硬変の症例では、単変量解析で年齢が 10 歳きざみで上昇すること、肝生検による炎症の活動性が A3 であることと肝線維化が F3/F4 に進展していることが有意な因子であった。多変量解析を行うと年齢が高齢であることと、肝線維化が進展していることが有意な因子として抽出された。さらに、経過観察中の因子を加えると、血清 ALT 値が、40 IU/L 以上であることと、AFP 値が 10 ng/mL 以上であることが独立で有意な因子として抽出された。

経過中の ALT 値と AFP 値の肝発癌を予測するのに重要なカットオフ値を解析すると、ALT 値が 40 IU/L 以上と AFP 値が 6.5 ng/mL 以上が ROC 曲線で最も有意であり、それぞれ negative predictive value が 0.967 と 0.963 と

判別効率がよいことが判明した。経過中 ALT 値が 40 IU/L が持続した症例が肝発癌が低く、40 IU/L 以上が持続した例が肝発癌が高率にみられた。しかし、インターフェロン治療によって ALT 値が 40 IU/L 以上から 40 IU/L 未満に低下すると、もともと 40 IU/L 未満であった例と同程度に肝発癌率が低下したのに対し、ALT 値が 40 IU/L 未満であったのにインターフェロン治療後に 40 IU/L 以上に上昇すると、40 IU/L が持続した症例と同程度に肝発癌が高率にみられた。また、血清 AFP 値が 6.5 ng/mL が持続した症例では、肝発癌が低かったのに対して、6.5 ng/mL 以上が持続していた場合に肝発癌率が高かった。一方、AFP 値が 6.5 ng/mL 未満であった例がインターフェロン治療後に 6.5 ng/mL 以上に上昇した場合には、AFP 値が 6.5 ng/mL 以上が持続した症例と同じくらいに肝発癌が高率にみられたが、6.5 mg/mL 以上から 6.5 ng/mL 未満に低下した場合に肝発癌率が低下していた。

### C 型慢性肝炎例で IL 28B の SNP と肝発癌率の関連

IL28B の SNP を解析できた症例について、肝発癌率との関連を解析した。IL 28B が TT の major allele の 574 例と minor allele の 199 例について、経過中の肝発癌率を解析した。10 年間の観察で、minor allele の例が、major allele の例に比較して有意に肝発癌が高率に認められた。そこで、SVR が得られたか否かを分けて解析した。SVR 381 例の中で、minor allele が 53 例みられたが、この症例では 1 例も経過中に肝発癌はみられなかった。しかし、major allele の 338 例では 5 年間で 4.1%に発癌がみられた。また、非 SVR 例では、IL 28B が major allele 236 例の経過観察を行い、5 年間で 8.6%の発癌率であったが、minor allele の 146 例では 5 年間に 12.1%と高率に発癌が認められた。非 SVR 例では、IL 28B が minor allele の例で、major

allele に比較して有意に肝発癌が高率にみられた。

### D. 考察

C 型慢性肝炎と肝硬変では、SVR を得ることによって肝発癌率が低下することが認められている。今回の解析では、年齢が高齢になることと肝線維化が進展することが、肝発癌の有意な因子であり、従来報告と合致する成績であった。さらに、経過中の因子を含めると、血中 ALT 値が 40 IU/L 以上になることと、AFP 値が 6.5 ng/mL 以上の場合に肝発癌が高いことが認められた。インターフェロン治療によって、ALT 値が 40 IU/L 未満になった場合や AFP 値が 6.5 ng/mL 未満になった場合には、肝発癌が低下していたが、逆に正常であった例でも上昇した症例では、もともと高値であった例と同じくらいの肝発癌率になっていた。したがって、ALT 値 40 IU/L と AFP 値 6.5 ng/mL が肝発癌の予測に重要であることが確認された。また、ALT 値と AFP 値を低下させることが、肝発癌を防止するために重要であると考えられる。

IL 28B の SNP と肝発癌の関連を解析したところ、全体では IL 28B が minor allele の例で肝癌が高率にみられた。しかし、minor allele の例では SVR 率が低いことが関与している可能性があるため、SVR と非 SVR 例に分けて肝発癌を解析した。SVR 例では、IL 28B が minor allele の例での発癌がみられなかったが、これは minor allele の症例は、肝線維化が軽度であり脂肪化が軽度であることや、若年者が多いという背景が関与していると考えられた。しかし、非 SVR 例に限ると、IL 28B が minor allele の例のほうが肝発癌が高いという結果であった。これは、minor allele の例ではインターフェロンが奏功しにくいことが関与していると思われるが、minor allele であることが肝発癌に関与するか否かについてインターフェロンの影響を

除いて詳細に解析する必要があると考えられた。

## E. 結論

C型慢性肝炎と肝硬変症例で経過中に肝発癌するリスク因子を解析すると、年齢が高齢になることと肝線維化が進展することがリスク因子であった。さらに、経過中にALT値が40 IU/L以上とAFP値が6.5 ng/mL以上が高率に発癌する予測になると考えられた。IL 28BのSNPと発癌を解析すると、非SVRの症例では、IL 28Bのminor alleleの例の方が肝発癌率が高かった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, **Izumi N**, Ichida T, Kudo M, Ku Y, Sakamoto M, Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey. *J Hepatol*. 2013 Apr;58(4):724–729.
- 2) Arai T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, Kumada T, Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, **Izumi N**, Arii S, Nishio K, Kudo M. FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2013 Apr;57(4):1407–1415.
- 3) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K,

Mizokami M, **Izumi N**. Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 2013 Mar;85(3):449–458.

- 4) **Izumi N**, Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S, Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, Yatsushashi H, Oketani M, Kumada H. Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN $\alpha$ -2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol*. 2013 Mar;48(3):382-390.
- 5) Kudo M, Matsui O, Sakamoto M, Kitao A, Kim T, Ariizumi S, Ichikawa T, Kobayashi S, Imai Y, **Izumi N**, Fujinaga Y, Arii S. Role of Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in the Management of Hepatocellular Carcinoma: Consensus at the Symposium of the 48th Annual Meeting of the Liver Cancer Study Group of Japan. *Oncology*. 2013 Feb;84(Suppl 1):21-27.
- 6) Oze T, Hiramatsu N, Mita E, Akuta N, Sakamoto N, Nagano H, Itoh Y, Kaneko S, **Izumi N**, Nomura H, Hayashi N, Tetsuo Takehara. A multicenter survey of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. *Hepatol Res*. 2013 Jan;43(1):35–43.

- 7) Toyoda H, Kumada T, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Baseline factors and early viral response (week 4) to antiviral therapy with peginterferon and ribavirin for predicting sustained virologic response in patients infected with hepatitis C virus genotype 1: A multicenter study. *J Med Virol*. 2013 Jan;85(1):65–70.
- 8) Tamaki N, Kurosaki M, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, Izumi N. Noninvasive estimation of fibrosis progression overtime using the FIB-4 index in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2013 Jan;20(1):72–76.
- 9) Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Izumi N. Age and total ribavirin dose are independent predictors of relapse after interferon therapy in chronic hepatitis C revealed by data mining analysis. *Antivir Ther*. 20Dec;17(1):35-43.
- 10) Ueda T, Tsuchiya K, Hashimoto S, Inoue T, Enomoto N, Inao M, Tanaka A, Kaito M, Imazeki F, Nishiguchi S, Mochida S, Yokosuka O, Yatsuhashi H, Izumi N, Kudo M. Retreatment with Peginterferon  $\alpha$ -2a + Ribavirin in Patients Who Failed Previous Peginterferon  $\alpha$ -2b + Ribavirin Combination Therapy. *Dig Dis*. 2012 Dec;30(6):554–560.
- 11) Toyoda H, Kumada T, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Significance of a reduction in HCV RNA levels at 4 and 12 weeks in patients infected with HCV genotype 1b for the prediction of the outcome of combination therapy with peginterferon and ribavirin. *BMC Infect Dis*. 2012 Nov;12:324.
- 12) Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Kumada H. Fibrosis score consisting of four serum markers successfully predicts pathological fibrotic stages of chronic hepatitis B. *Hepatol Res*. 2012 Nov;In press.
- 13) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, Mizokam M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 2012 Oct;56(4):1448–1456.
- 14) Osaki Y, Ikeda K, Izumi N, Yamashita S, Kumada H, Hatta S, Okita K. Clinical effectiveness of bipolar radiofrequency ablation for small liver cancers. *J Gastroenterol*. 2012 Oct;In press.
- 15) Akiba T, Hora K, Imawari M, Sato C, Tanaka E, Izumi N, Harada T, Ando R, Kikuchi K, Tomo T, Hirakata H, Akizawa T. 2011 Japanese Society for Dialysis Therapy Guidelines for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection in Dialysis Patients. *Ther Apher Dial*. 2012 Aug;16(4):289–310.
- 16) Kudo M, Tateishi R, Yamashita T, Ikeda M, Furuse K, Ikeda K, Kokudo N, Izumi N,

Matsui O. Current Status of Hepatocellular Carcinoma Treatment in Japan. Clin Drug Investig. 2012 Aug;32(2\_Supplement):37-51.

- 17) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. PLoS One. 2012 Jun;7(6).
- 18) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura

K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. BMC Med Genet. 2012 Jun;13(47).

## 2. 書籍

- 1) 土谷 薫、泉 並木. II.肝臓 10.肝臓の画像診断. Annual Review 消化器 2013. 2013 Jan;中外医学社（東京）、林 紀夫、日比 紀文、上西 紀夫、下瀬川 徹・編:148-157.
- 2) 泉 並木. 肝臓病診療ゴールデンハンドブック 改訂第2版. 2012 Oct;南江堂（東京）.
- 3) 泉 並木. よくわかる最新医学 肝臓病の最新治療. 2012 Jul;主婦の友社（東京）.

## G. 知的所有権の出願・取得状況

- 1.特許取得  
なし



C 型肝炎患者における非侵襲的線維化診断法の比較  
市田 隆文 順天堂大学医学部附属静岡病院 消化器内科・教授

研究要旨:C 型肝炎患者の代替肝線維化マーカーとしての WFA+-M2BP の有用性を、既存の非侵襲的肝線維化マーカーと比較検討した。WFA+-M2BP は既存の線維化マーカーである LSM、HA、APRI と同様に、組織学的肝線維化ステージと良好な相関関係を示した。ROC による肝線維化ステージ診断能は、全体としては LSM が最も良好な成績を示したが、血清マーカーの中では WFA+-M2BP の診断能が最も高く、特に F $\geq$ 3 の診断に関しては LSM に近い成績を示した。LSM 測定の汎用性や測定困難例の存在を考慮すると、WFA+-M2BP は C 型肝炎患者における代替肝線維化マーカーとして有用性が高いと考えられた。

研究協力者

玄田拓哉 順天堂大学医学部附属静岡病院  
消化器内科・准教授

A. 研究目的

C 型肝炎患者の代替肝線維化マーカーとしての WFA+-M2BP の有用性を、既存の非侵襲的肝線維化マーカーと比較検討する。

B. 研究方法

順天堂静岡病院消化器内科において、肝生検と FibroScan®による肝弾性値測定 (liver stiffness measurement; LSM) を同時に実施し、有効な LSM の測定結果が得られた C 型肝炎患者。肝生検を gold standard として LSM、血清ヒアルロン酸値 (HA)、AST 血小板比 (APRI)、血中 WFA+-M2BP 値の肝線維化ステージに対する診断能を比較した。

C. 研究結果

対象症例は 78 例 (男性 43 例、55.1%) で年

齢の中央値は 60 歳 (29-76 歳)。病理所見は F stage (0-1/2/3/4):20/20/20/18 例、Agrade (0-1/2/3): 17/54/7 例であった (表 1)。

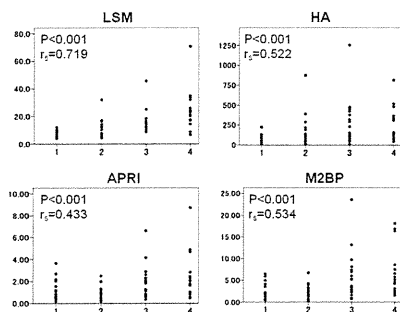
表 1 : 患者背景 (n=78)

Variables	
Age (year)	60 (29-76)
Male (%)	55.1
Fibrosis stage (F1/2/3/4)	20/20/20/18
Inflammatory grade (A1/2/3)	17/54/7
Liver stiffness (kPa)	12.0 (4.0-70.7)
HCV-genotype-1 (%)	66.7
Albumin (g/dL)	4.1 (3.4-4.8)
ALT (IU/L)	76 (13-423)
Total bilirubin (mg/dL)	0.7 (0.3-1.6)
$\gamma$ GTP (IU/L)	63 (11-490)
Hyaluronic acid (ng/mL)	60 (10-1253)
White blood cell count ( $\times 10^3/\mu$ L)	5.0 (2.3-10.3)
Hemoglobin (g/dL)	13.6 (10.2-17.5)
Platelet count ( $\times 10^4/\mu$ L)	14.7 (5.2-26.5)
Prothrombin time (%)	103 (58-153)
M2BP	2.62 (0.25-23.57)

Statistica software as median (range)

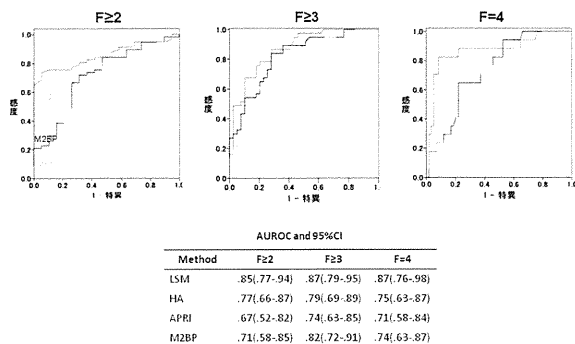
肝生検病理所見を gold standard として F stage ごとの LSM、HA、APRI、WFA+-M2BP 値を検討すると F stage の進行に伴って LSM、HA、APRI、WFA+-M2BP 値が増加する有意な関係を認めた (図 1)。

図1：各種線維化マーカーと組織学的線維化ステージの相関



F $\geq$ 2 予測における ROC を検討すると LSM, HA, APRI, WFA+-M2BP の AUROC はそれぞれ 0.85, 0.77, 0.67, 0.71 であった。同様に F $\geq$ 3, F=4 予測における AUROC はそれぞれ 0.87, 0.79, 0.74, 0.82 と 0.87, 0.75, 0.71, 0.74 であった (図2)。

図2：組織学的線維化ステージに対する各種線維化マーカーの診断能に関する ROC 解析



カットオフを 1.96 とした場合の F $\geq$ 2 予測における WFA+-M2BP は感度 72%、特異度 70%、陽性的中度 88%、陰性的中度 47%、正確度 72% であった。カットオフ値を 2.27 とした場合の F $\geq$ 3 予測における WFA+-M2BP は感度 84%、特異度 73%、陽性的中度 74%、陰性的中度 83%、正確度 78% であった。カットオフ値を 2.27 とした場合の F=4 予測における WFA+-M2BP は感度

67%、特異度 78%、陽性的中度 48%、陰性的中度 89%、正確度 76% であった。

#### D. 考察

WFA+-M2BP は LSM, HA, APRI と同様に、組織学的肝線維化ステージと良好な相関関係を示した。肝線維化ステージ診断能は、全体としては LSM が最も良好な成績を示した。一方、血清マーカーの中では WFA+-M2BP の診断能が最も高く、特に F $\geq$ 3 の診断に関しては LSM に近い成績を示した。LSM 測定に高額な機器が必要であることや、肥満例などの測定困難例が存在することを考慮すると、WFA+-M2BP は C 型肝炎患者における代替肝線維化マーカーとして有用性が高いと考えられた。

#### E. 結論

血中 WFA+-M2BP 測定は C 型肝炎患者における非侵襲的代替肝線維化マーカーとして有用である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Izumi N, **Ichida T**, Kudo M, Ku Y, Sakamoto M, Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey. J Hepatol. 2013 Apr;58(4):724-729.

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

慢性肝疾患における Virtual Touch Tissue Quantification (VTTQ) と新規糖鎖マーカー  
(WFA+-M2BP)の比較

溝上 雅史 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター長

研究要旨：近年、核酸（DNA）、タンパク質に続く第三の鎖状生命分子として、糖鎖分子が注目されている。糖鎖研究は、遺伝子機能解析やタンパク質の構造・機能解析などを中心とするポストゲノム研究に続く、ポスト・ポストゲノム研究と考えられており、広く医療分野への応用が望まれている。産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターで開発された新規線維化マーカー(WFA+-M2BP)と、非侵襲的線維化診断法である ARFI 法を用いて VTTQ を測定し、その有用性を比較・検討したところ、肝発癌リスクが増加する F3 以上の鑑別には WFA+-M2BP が有効であり、経過観察により肝硬変と診断後もその数値が上昇するものは、発癌症例も存在した。また、ALT 正常であっても非慢性肝疾患症例と C 型肝炎ウイルス感染者を比較すると WFA+-M2BP は前者で有意に低値であった。本マーカーを用いることで、VTTQ では表現されない肝発癌リスクを有する症例を早期に囲い込むことができる可能性が考えられた。

研究協力者

是永匡紹 国立国際医療研究センター肝  
炎・免疫研究センター・肝疾患研  
修室長  
杉山真也 国立国際医療研究センター肝  
炎・免疫研究センター・上級研究  
員

A. 研究目的

本邦には約 300 万人の B・C 型肝炎患者が存在し、年間約 3 万人が肝臓で死亡している。肝線維化の進行につれ肝硬変を経て肝臓に増加するため、肝線維化を知ることは临床上重要であるが生検に頼らざるを得ない点が临床上大きな隘路となっている。

産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターではレクチンに着目し、活用することにより肝臓

で産生される急性期蛋白である  $\alpha 1$  酸性糖タンパク質（AGP）の糖鎖構造変化が、肝線維化の進展を非侵襲的に検査しうるマーカーとなることを明らかにした。さらに、肝炎患者、肝硬変患者および健常者より AGP を簡易精製し、レクチンマイクロアレイによる比較糖鎖解析を行ったところ、シグナルの得られたレクチンのうち、非肝硬変群と肝硬変群で、顕著な変化を示したレクチン 6 種を見いだした。そこで、肝炎ウイルスに罹患し、肝生検により線維化の程度

(staging) が病理診断された患者群を対象に分析し、統計学的に肝線維化の進展と最も相関があるレクチンをさらに選抜してきており、われわれも、共同研究することで、線維化マーカー (WFA+-M2BP) を報告してきた (Kuno A, et al Science Reports 2013)。

今回、他の肝線維化予測式や Fibroscan、ARFI といった非侵襲的な肝線維化予測法との