

肝線維化マーカーの臨床的検討と肝癌悪性化マーカーの検出  
調 査 九州大学大学院・医学研究院・消化器・総合外科・准教授

研究要旨：1.肝線維化マーカーの臨床的検討：本研究班で新規レクチンアレイ法による画期的な線維化マーカーとして *Wisteria floribunda* agglutinin-positive human Mac-2 binding protein (WFA+ -M2BP)が同定されたことから臨床的な意義の検証を行った。糖鎖の発現と肝線維化の相関解析には、肝炎/肝硬変/肝癌 240 症例における肝切除症例/肝移植症例における術前の血液サンプルを用いて、肝線維化マーカーとしての有用性を検討した。血清 WFA+ -M2BP 値は、肝線維化(カットオフ、F0:1.62, F1:1.82, F2:3.02, F3:3.32, F4:3.67)の進行に伴い、有意に増加した。ROC 曲線を用いた解析では、肝線維化を診断する WFA+ -M2BP 値による AUROC 値は 0.812 であり、最新の肝線維化の指標である VTTQ 値を用いた AUROC 値 0.814 に匹敵するとともに、LMR index 0.766, APRI 0.694, 血清ヒアルロン酸値 0.683, 血清 4 型コラーゲン値 0.625 よりも有意に優れた診断能を認めていた。WFA+ -M2BP の測定は肝線維化マーカーとして臨床上有用であることが明らかとなった。2. 肝癌悪性化マーカーの検出：われわれは産業技術総合研究所と共同で肝癌悪性化のマーカーを検出するため、異なる分化度の存在するいわゆる nodule-in-nodule の肝癌で laser microdissection を行い、異なる分化度の腫瘍部分で相互にレクチンマイクロアレイを行うことで、肝癌悪性度のマーカーを検出する研究に着手した。

研究協力者

戸島剛男 九州大学大学院・消化器・総合外科・医師(共同研究員)  
吉屋匠平 九州大学大学院・消化器・総合外科・大学院生

A. 研究目的

(1) 肝線維化マーカーの臨床的検討：

慢性肝疾患の問題点として、経時的に肝線維化、肝硬変へと進展し、肝機能が低下することが挙げられる。また、肝硬変は肝癌発症の大きな成因の一つでもある。現在、肝線維化の状態

を診断するためには侵襲的な検査である、肝生検が必須となっている。非侵襲的な検査法として、VTTQ や fibroscan などの検討がなされているが検査実施者の技術に依存することもあり確立された検査方法ではない。近年、肝線維化の糖鎖マーカーとして新規レクチンアレイ法による画期的な線維化マーカーとして *Wisteria floribunda* agglutinin-positive human Mac-2 binding protein (WFA+ -M2BP)が同定された。WFA+ -M2BP と肝線維化の相関が解明されれば、検査実施者の技術によらない血液検査からのみで肝線維化の状態を把握することが可能となる。上記糖鎖の発

現と肝線維化の相関解析には、肝炎/肝硬変/肝癌症例における肝切除症例/肝移植症例における術中・術前の血液サンプルを用いて、肝線維化マーカーとしての有用性を検討するとともに、肝切除術後の腹水発生状況との関連を検討する予定である。

(2) 肝癌悪性化マーカーの検出：

肝癌は分化度により、悪性度が異なることが報告されており、低分化になるほど、悪性度が高い。したがって、治療前よりその腫瘍の biological behavior が明らかになれば、治療方針決定に重要な情報となる。

## B. 研究方法

(1) 肝線維化マーカーの臨床的意義の検討：

2000年1月1日から2013年12月31日までに九州大学病院で肝切除・肝移植施行した症例のうち、術前に非侵襲的肝線維化測定方法である VTTQ 値と血液学的線維化マーカー(血清ヒアルロン酸値、血清コラーゲン値、血清 APRI 値)を測定し得た 240 症例において、検査施行後の余剰血液サンプルを対象とする。

解析方法としては、これら線維化マーカーが測定済みである 240 症例の対象患者において、すでに採取済みである余剰血液サンプルを用いて、肝線維化マーカーとして同定された WFA<sup>+</sup>-M2BP の測定を行い、WFA<sup>+</sup>-M2BP 値と線維化(F0-4)の相関を解析、同時に既に測定済みである VTTQ 値や血液学的線維化マーカー(血清ヒアルロン酸値、血清コラーゲン値、血清 APRI 値)を比較検討した。

(2) 肝癌悪性化の糖鎖マーカーの検出：

24 症例の異なる分化度の存在するいわゆる nodule-in-nodule の肝癌で laser microdissection を行い、異なる分化度の腫瘍について相互にレクチンマイクロアレイを行うこ

とで、ターゲットとなる糖鎖マーカーを検出する。

(倫理面への配慮)

本研究は、上述の通り健康被害が発生する介入研究ではない。

臨床上必要に応じて既に採取された血液のうち、すでに検査施行後の余剰血液サンプルを用いた臨床研究であり、新たなサンプル採取などの不利益は生じない。その他の線維化マーカー(VTTQ 値：腹部エコーと同等、血清ヒアルロン酸値・血清コラーゲン値・血清 APRI 値)や肝切除術後の腹水発生状況(肝細胞癌の肝切除症例 60 症例、臨床上既に測定済み)に関しては、臨床上通常の前検査として既に測定済みであるので、新たな医療費など発生することはなく、不利益は生じない。

被験者が得られる利益としては、余剰血液サンプルを用いた WFA<sup>+</sup>-M2BP 値を測定することで、肝線維化の予測がより正確となり、手術に際しての術式決定・術後管理における投薬治療、または肝炎に対する投薬治療の参考となり、肝切除術後もよりよい治療が行えるという利益が生まれると考えられる。

肝癌悪性化の糖鎖マーカーについては通常の病理業務の残余プレパラートを用いて、連結不可能匿名化を行い、検討を進めることで、倫理的な問題はない。

なお、本研究は九州大学の臨床研究倫理審査委員会における承認を得て行われた。

## C. 研究結果

(1) 肝線維化マーカーの臨床的意義の検討：

血清 WFA<sup>+</sup>-M2BP 値は、肝線維化(カットオフ、F0:1.62, F1:1.82, F2:3.02, F3:3.32, F4:3.67)の進行に伴い、有意に増加した。ROC 曲線を用いた解析では、肝線維化を診断する WFA<sup>+</sup>-M2BP 値による AUROC 値は 0.812

であり、VTTQ 値を用いた AUROC 値 0.814 に匹敵するとともに、LMR index 0.766, APRI 0.694, 血清ヒアルロン酸値 0.683, 血清 4 型コラーゲン値 0.625 よりも有意に優れた診断能を認めていた。

(2) 肝癌悪性化の糖鎖マーカーの検出：

レクチンマイクロアレイを終了し、候補となる糖鎖マーカーを 2 つに絞込んでいる。

#### D. 結論

WFA+ -M2BP の測定は肝線維化マーカーとして臨床上有用であることが明らかとなった。今後、肝癌悪性度マーカーとして有望な糖鎖を有する蛋白が明らかになりつつある。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Toshima T, **Shirabe K**, Ikegami T, Yoshizumi T, Kuno A, Togayachi A,

Gotoh M, Narimatsu H, Korenaga M, Mizokami M, Nishie A, Aishima S, Maehara Y. A novel serum marker, glycosylated Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA+-M2BP), for assessing liver fibrosis. J Gastroenterol. 2014 Mar; In press.

##### 2. 学会発表

なし

#### F. 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