

## NAFLD における肝線維化評価と WFA<sup>+</sup>-M2BP の有用性

髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長

研究要旨：近年、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD) の症例は増加傾向にあり、臨床的重要性が増しているが、正確な診断のためには、現時点では肝生検が必須である。そこで、線維化マーカーとして新規に開発された WFA<sup>+</sup>-M2BP を用いて肝生検施行 NAFLD 症例の線維化を評価し、他の血液生化学検査や線維化マーカーとの比較検討を行った。その結果、NAFLD 症例における WFA<sup>+</sup>-M2BP 測定値は、肝生検組織所見と良好な相関を示し、線維化レベル別の判定法として優れていることが明らかにされた。

### A. 研究目的

非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD) は、近年、増加傾向にあり、我が国の慢性肝障害の原因としても注目が高まっている。なかでも、肝組織の壊死・炎症や線維化を伴う非アルコール性脂肪肝炎(NASH) への進展により、肝硬変や肝発癌のリスクが高まるため、疾患群の診断が重要となる。しかし、現時点で NASH 症例を診断するためには肝の組織学的診断が必須であり、観血的検査が必要となるが、その一方で、検体採取量は限定的であるため組織診断が不十分となる可能性も指摘されている。そこで、NAFLD 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<sup>+</sup>-M2BP を測定し、肝予備能、他の線維化マーカーとの関連を検討する。

### B. 研究方法

#### (1) 検討対象

2003 年から 2013 年の間に当科にて肝生検を実施し、同時期に採取された血清が保存されている NAFLD 症例 66 例を対象とした。肝生検組織は、組織学的評価に十分な大きさを採取されたものに限定した。

対象は、男性/女性が 25/41 例、年齢は中央値 60.5 歳(29 歳～92 歳)、BMI は 27.6(17.1～42.4) であった。肝癌合併例は 7 例認めた。糖尿病合併は 32 例(薬物治療例 14 例)、高血圧合併 31 例、脂質異常症合併 30 例であった。

#### (2) 測定方法

肝生検を施行した時期と同一の凍結保存血清を用いて WFA<sup>+</sup>-M2BP を測定した。さらに、血清ヒアルロン酸、IV 型コラーゲン 7S、フェリチン、サイトケラチン 18(CK18) についても同様に測定した。また、血液凝固系検査、生化学検査として、白血球、ヘモグロビン、血小板、PT 活性、アルブミン、コリンエステラーゼ、ICG 負荷試験 15 分値の測定結果を検討に用いた。

#### (3) 検討項目

- 1) WFA<sup>+</sup>-M2BP 測定値と肝生検組織線維化(staging) の関連
- 2) 他のマーカーと肝組織線維化の関連
- 3) WFA<sup>+</sup>-M2BP 測定値と他のマーカーとの関連
- 4) 線維化判別のための各マーカーの ROC 解

析

#### 5) WFA<sup>+</sup>-M2BP と血液生化学検査結果との関連

なお、FIB-4 index は以下の式を用いて算出した。FIB-4 = age (years) ×AST (U/L) / platelets (10<sup>9</sup>/L)×ALT (U/L)<sup>1/2</sup>

### C. 研究結果

#### (1) 肝の組織学的所見と WFA<sup>+</sup>-M2BP 測定値

肝生検組織による stage 0/1/2/3/4 それぞれの症例の WFA<sup>+</sup>-M2BP 測定値(平均 ± 標準偏差) は、0.54 ± 0.16/0.95 ± 0.40/1.31 ± 0.36/1.73 ± 0.80/4.16 ± 2.68 との結果で、stage の進展と WFA<sup>+</sup>-M2BP 値に相関傾向を認めた。

#### (2) 他のマーカーとして、ヒアルロン酸、IV 型

コラーゲン 7S、フェリチン、CK18 の肝線維化(staging) との関連を示す。stage 0/1/2/3/4 別の測定値(平均 ± 標準偏差) は、ヒアルロン酸では 34.0 ± 16.6/58.1 ± 45.4/115.5 ± 93.2/137.3 ± 118.8/383.7 ± 263.4、IV 型コラーゲン 7S では 3.34 ± 0.93/4.73 ± 1.62/6.44 ± 1.89/6.34 ± 1.00/9.13 ± 1.92 で線維化の程度と相関する傾向を示したが、フェリチンでは 181.4 ± 180.7/351.1 ± 292.5/422.0 ± 370.4/456.2 ± 348.2/187.4 ± 171.5、CK18 では 229.5 ± 130.9/625.0 ± 354.5/816.0 ± 314.6/644.4 ± 377.8/432.5 ± 263.3 との結果で、良好な相関を示さなかった。

#### (3) WFA<sup>+</sup>-M2BP 測定値と他のマーカーとの相

関につき検討した。WFA<sup>+</sup>-M2BP と有意な相関関係を認めたのは、ヒアルロン酸(r=0.75、p<0.001)、IV 型コラーゲン 7S(r=0.67、p<0.001)、FIB-4 index(r=0.63、p<0.001)であった。一方、フェリチンや CK18 とは相関を認めなかった。

#### (4) 肝生検の各線維化スコア間の鑑別能に関し

て、ROC 解析の AUC 値を用いて比較を行った。F0/F1 以上、F1 以下/F2 以上、F2 以下/F3 以上、F3 以下/F4 のそれぞれの判別について、WFA<sup>+</sup>-M2BP による AUC は、それぞれ、0.942、0.907、0.901、0.908 であり、いずれの stage 間でも 0.90 以上の AUC 値を示した。IV 型コラーゲン 7S では、0.928、0.894、0.865、0.955、ヒアルロン酸では、0.842、0.865、0.864、0.944、FIB-4 index では、0.867、0.890、0.837、0.901 の結果で、比較 stage によっては AUC が低下するところもみられた。

(5) WFA<sup>+</sup>-M2BP と、血液生化学検査結果との相関性につき検討した。WFA<sup>+</sup>-M2BP と良好な相関関係を認めた検査項目は、白血球(r=-0.37、p=0.002)、ヘモグロビン(r=-0.48、p<0.001)、血小板(r=-0.62、p<0.001)、PT 活性(r=-0.52、p<0.001)、アルブミン(r=-0.69、p<0.001)、コリンエステラーゼ(r=-0.50、p<0.001)、ICG 負荷試験 15 分値(r=0.77、p<0.001)であった。

### D. 考察

今回、肝生検組織で stage を評価可能な NAFLD 症例を対象として、WFA<sup>+</sup>-M2BP を含めて血液検査にて測定可能なマーカーによる検討を行った。肝線維化の程度と相関を示すものには、WFA<sup>+</sup>-M2BP、ヒアルロン酸、IV 型コラーゲン 7S、FIB-4 index が挙げられた。その中で、WFA<sup>+</sup>-M2BP は、線維化の進行と一致して段階的に測定値の上昇を示し、また、ROC 解析結果から示された stage 間の判別能もそれぞれにバランスのよい結果を示した。

今回の結果から、WFA<sup>+</sup>-M2BP を用いた NAFLD 症例の線維化評価は有用であることが明らかとなった。今後、NASH 症例や NASH への進行が懸念される症例の絞り込み、対象症例の経時的変化の評価などに、WFA<sup>+</sup>-M2BP の測定は臨床的に有用な情報を提供するものと期待

される。

一方で、これまでの肝線維化マーカーの評価は、肝生検組織所見を基準として行われてきたが、今回の検討においても、組織検体の大きさ、不均一性など、肝生検の限界も明らかである。今後は、WFA<sup>+</sup>-M2BP など有効な定量的検査結果による評価が重要であると思われる。

今回の解析対象は NAFLD 症例であったが、ウイルス性など他の慢性肝疾患における肝内線維化の状態とは異なる所見を示す。この差異は、線維化マーカー測定値にも少なからず影響を及ぼす可能性があり、今後、病態別の判定基準を検討する必要もあるものと考えられる。

## E. 結論

NAFLD 症例の肝生検組織所見と血液による線維化マーカーとの関連を検討した。その結果、WFA<sup>+</sup>-M2BP は他のマーカーと同等以上の線維化判別能があることが示された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, **Hige S**, Nakanishi M, Natsuizaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, Taketomi A, Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S. Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor  $\kappa$ B/mitogen-activated protein kinase. *Carcinogenesis*. 2014 Feb; 35(2):272-281.
- 2) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH,

Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, **Hige S**, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9(2):e86449.

### 2. 学会発表

- 1) **Hige S**, Karino Y, Kimura M, Arakawa T, Nakajima T, Kuwata Y, Ozeki I, Sato T, Ohmura T, Toyota J. Paradoxical progression of anemia at delayed phase of triple therapy with telaprevir for ITPA non-CC patients with chronic hepatitis C. AASLD The Liver Meeting 2013. 2013.11.05. Washington D.C. USA..
- 2) **髙 修平**、狩野 吉康、小関 至、木村 睦海、荒川 智宏、中島 知明、桑田 靖昭、赤池 淳、佐藤 隆啓、大村 卓味、豊田 成司. C型慢性肝炎に対する simeprevir 併用治療の有効性 –telaprevir 併用との比較. 第 17 回日本肝臓学会大会(肝臓. 54(Suppl 2):A621). 2013.10.10. 東京.
- 3) **髙 修平**、狩野 吉康、豊田 成司. C型肝炎に対する 3 剤併用療法における治療成績と至適投与量の検討. 第 49 回日本肝臓学会総会(肝臓. 54(Suppl 1):A20). 2013.06.06. 東京. SY1-10.

**H. 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