

肝発癌例と非発癌例での血中 WFA⁺-CSF1R 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・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。この発癌例の 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 *Wisteria floribunda* agglutinin-reactive colony-stimulating factor 1 receptor (WFA⁺-CSF1R)、
-fetoprotein (AFP)、lens culinaris agglutinin A-reactive -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 / / 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 WFA⁺-CSF1R (0.7250) で最も高く、次いで AFP (0.6599)、FIB4 index (0.6192)、APRI (0.5905)、AFP-L3% (0.5685)、DCP (0.4903) の順であった。WFA⁺-CSF1R の ROC 曲線の AUC は発癌 3 年前が 2 年前、1 年前に比し有意に高値であった。以上から WFA⁺-CSF1R は高発癌状態の良いマーカーとなりうる可能性が示された。

共同研究者

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、
-fetoprotein (AFP)、lens culinaris agglutinin A-reactive -fetoprotein (AFP-L3%) および
DCP (des-gamma-carboxy prothrombin) あるいは protein induced vitamin K absence- :

PIVKA) 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 macrophage colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R)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 *Wisteria floribunda* agglutinin-reactive(WFA⁺)-CSF1R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、(1)HBs抗原もしくはHCV抗体が6カ月以上陽性、(2)HCC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していない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。

この発癌83例と非発癌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⁺-CSF1R、AFP、高感度AFP-L3%(μ 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。WFA⁺-CSF1Rは発癌群では非発癌群に比し有意に高値であった。

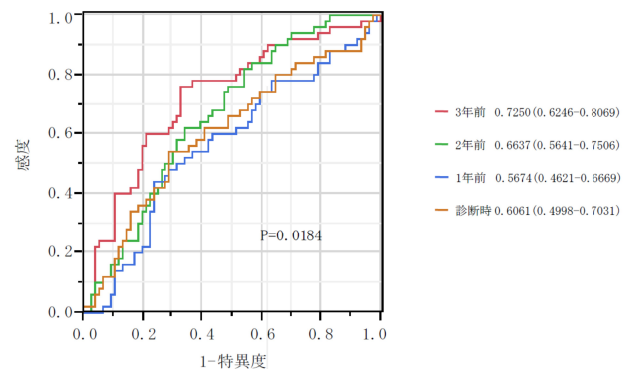
表1、背景因子(経過観察開始時)

Characteristics	HCC (n=79)	Non-HCC (n=79)	P
Age	Median (Range) 67 (34-84)	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	0.966
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)	0.960
Platelet (x10 ⁹ /L)	Median (Range) 99(32-340)	122(21-414)	0.124
Presence of cirrhosis	Present/Absent 63/16	64/15	0.842
WFA ⁺ -CSF1R (ng/mL)	Median (Range) 224.6(33.1-785.8)	135.2(52.7-638.0)	<0.001
AFP (ng/mL)	Median (Range) 11(0.8-627.1)	5.7(0.8-1131.4)	<0.001
AFP-L3 (%)	Median (Range) 5.0(0.00-11.6)	4.2(0.5-10.3)	0.146
DCP (mAU/mL)	Median (Range) 15(5-304)	14(5-324)	0.6735
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⁺-CSF1RのROC曲線のAUCの変化

AUCは3年前0.7250(95%信頼区間0.6246-0.8069)、2年前0.6637(0.5641-0.7506)、1年前0.5674(0.4621-0.6669)、診断時0.6061(0.4998-0.7031)であり、3年前のAUCは1年前、診断時より優位に高値であった(P=0.0016と0.0196)。

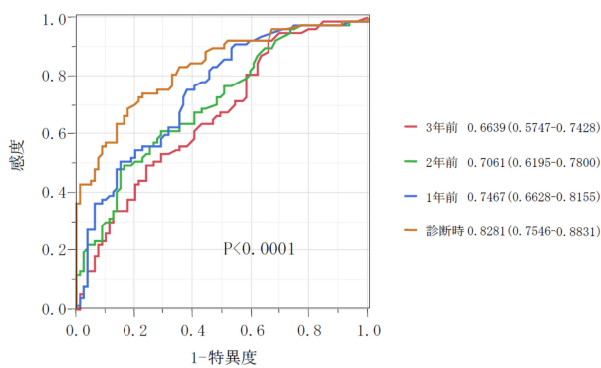
図1、CSF1Rの発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



(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)。

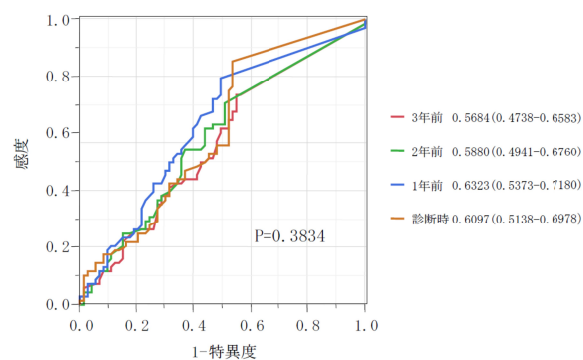
図2、AFPの発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



(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)。

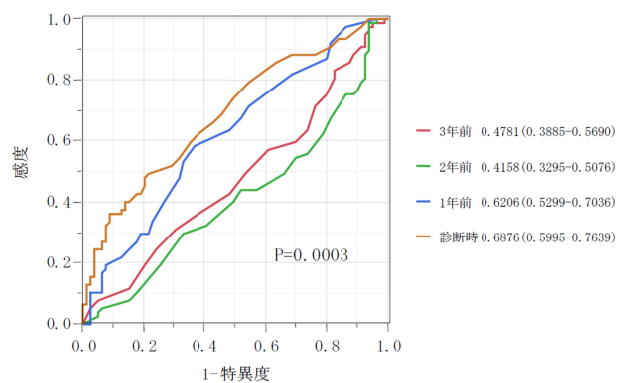
図3、AFP-L3%の発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



(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)。

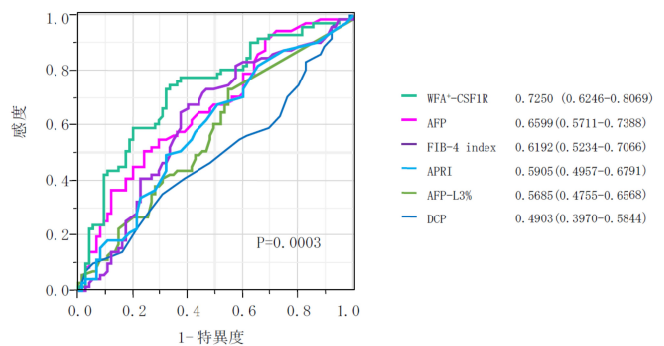
図4、DCPの発癌3年前、2年前、1年前、診断時のROC曲線



(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 WFA+-CSF1R が 0.7250(0.6246-0.8069)で最も高く、次いで AFP 0.6599 (0.5711-0.7388)、FIB-4 index 0.6192 (0.5234-0.7066)、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、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⁺-CSF1R、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) WFA⁺-CSF1R は発癌群で 3 年前から高値を示した。
- (2) WFA⁺-CSF1R は発癌前 3 年前の ROC 曲線の AUC で 0.7250(0.6246-0.8069)と最も高値を示し次いで AFP、FIB-4 index で、高発癌状態の一つの指標となる可能性が示された。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tada T, **Kumada T**, Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Kitabatake S, Niinomi T, Ito T, Hasegawa R, Ando Y, Yamamoto K, Tanaka T. Oral supplementation with branched-chain amino acid granules prevents hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C-related cirrhosis: A propensity score analysis. *Hepatol Res.* 2014 Mar; 44(3):288-295.
- 2) **Kumada T**, Toyoda H, Tada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tanaka J, Kagebayashi C, Satomura S. High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* 2014 Mar; 49(3):555-563.
- 3) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Murakami Y. Impact of hepatitis B virus integration into liver tissue on the efficacy of peginterferon and ribavirin therapy in hepatitis b virus-negative chronic hepatitis C patients. *J Clin Gastroenterol.* 2014 Jan; 48(1):73-79.
- 4) Shimada N, Toyoda H, Tsubota A, Ide T, Takaguchi K, Kato K, Kondoh M, Matsuyama K, **Kumada T**, Sata M. Baseline factors and very early viral response (week 1) for predicting sustained virological response in telaprevir-based triple combination therapy for Japanese genotype 1b chronic hepatitis C patients: a multicenter study. *J Gastroenterol.* 2013 Nov; In press.
- 5) Matsushima-Nishiwaki R, **Kumada T**, Nagasawa T, Suzuki M, Yasuda E, Okuda S, Maeda A, Kaneoka Y, Toyoda H, Kozawa O. Direct Association of Heat Shock Protein 20 (HSPB6) with Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in Human Hepatocellular Carcinoma: Regulation of the PI3K Activity. *PLoS One.* 2013 Nov; 8(11):e78440.
- 6) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Kitabatake S, Murakami Y. Association between hepatic steatosis and hepatic expression of genes involved in innate immunity in patients with chronic hepatitis C. *Cytokine.* 2013 Aug; 63(2):145-150.
- 7) Toyoda H, **Kumada T**. Extended treatment duration overcomes the requirement for profound week-4 interferon responsiveness in order for hepatitis C genotype 1 patients with unfavorable IL-28B genotype to achieve

sustained virologic response. J Clin Virol. 2013 Aug; 57(4):381.

- 8) Sato A, Sata M, Ikeda K, **Kumada T**, Izumi N, Asahina Y, Osaki Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hiasa Y, Omura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shiina S, Itsubo M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisaka S, Yamasaki T, Hidaka I, Tanaka M, Kim SR, Ichida T. Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. Intern Med. 2013 Jul; 52(24):2701-2706.
- 9) 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.
- 10) 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, Arie 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.

- 11) 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.

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