

肝硬変の病因と WFA+M2BP 値の異同（C 型肝硬変と NASH 肝硬変）

髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長

研究要旨：新規の肝線維化マーカーとして開発された WFA+M2BP を、C 型肝硬変と NASH 肝硬変の計 54 例で測定し、肝硬変と診断された症例の WFA+M2BP 測定値を比較した。その結果、体重、BMI、 γ GTP に差のある 2 群であったが、その他の背景要因に差を認めない症例群において、C 型肝硬変症例の WFA+M2BP 値が NASH 肝硬変症例に比べ有意に高値の傾向を示した。病因により肝組織内の線維の進展や量的な差を生ずる可能性があり、線維化マーカーの評価の際には病因別に検討する必要があることが示された。

A. 研究目的

本研究班にて開発された新規の肝線維化マーカーである WFA+M2BP の有用性に関して、平成 24 年度（C 型肝硬変症例における M2BP の経時的変動と肝発癌）、平成 25 年度（NAFLD における肝線維化評価と WFA+M2BP の有用性）に研究結果を報告した。それぞれ単一の病因における肝の線維化と WFA+M2BP 測定値には有意な相関関係を認めたが、両群間に WFA+M2BP レベルの差がある可能性が考えられた。

そこで、両群で肝硬変と診断されて登録・検討された症例を抽出し、WFA+M2BP に差がみられるか検討した。

B. 研究方法

(1) 対象症例

本研究班の平成 24 年度研究時の C 型肝炎・肝硬変症例と平成 25 年度研究時の非アルコール性脂肪性肝障害（NAFLD）症例の中から、肝硬変と診断された 54 症例（C 型 38 例、NASH16 例）を検討対象とした。

C 型肝硬変の診断は主に画像により判定され、NASH 肝硬変は全例、肝生検による組織学的

判定を行った。

WFA+M2BP 測定の時期は、C 型肝硬変症例は、2003 年を起点として観察を開始した時期の保存血清を使用し、NASH 肝硬変では肝生検施行と同時期の保存血清を用いた。

(2) 検討項目

両群症例の、年齢、性別、身長、体重、BMI を背景要因として検討した。

血液検査項目は、血小板、PT 活性値、アルブミン、ビリルビン、AST、ALT、コリンエステラーゼ、 γ GTP、総コレステロール、AFP、PIVKA-II、とした。

また、線維化マーカーとして、WFA+M2BP を測定し、さらに FIB-4 index を以下の式により算出し、検討項目に含めた。

$$\text{FIB-4} = \text{年齢 (歳)} \times \text{AST (U/L)} / \text{血小板} \\ (10^9/\text{L}) \times \text{ALT (U/L)}^{1/2}$$

C. 研究結果

(1) C 型肝硬変と NASH 肝硬変の背景

C 型肝硬変症例（HCV 群）は、 64.1 ± 9.3 （歳）、男/女は 14/24 例、NASH 肝硬変症例（NASH 群）は、 65.8 ± 7.2 （歳）、男/女は 5/11

例で、両群に差を認めなかったが、体重、BMIは、HCV群では 58.5 ± 9.4 、 23.5 ± 2.8 、NASH群では 71.3 ± 13.5 、 28.9 ± 5.6 と、病態を反映して2群に有意差を認めた。(P<0.01)

(2) 血液検査の2群間比較

両群において、検討項目に示した測定値を比較検討した。 γ GTP値が、HCV群の 50.9 ± 36.7 に対して、NASH群では 90.9 ± 59.0 と有意に高値を示した。(p=0.02)

(3) 線維化マーカーの2群比較

線維化マーカーとして、WFA+M2BPとFIB-4 indexを測定した。WFA+M2BPは、HCV群で 7.30 ± 5.72 、NASH群では 3.96 ± 2.71 と両群間に有意差を認めた。(p<0.01)一方、FIB-4 indexは、HCV群 7.13 ± 4.19 、NASH群 6.43 ± 3.48 で差を認めなかった。(p=0.53)

(4) WFA+M2BP と他の要因の相関

WFA+M2BP値との相関を示す項目を両群合わせて検討すると、FIB-4 index (r=-0.444)、アルブミン (r=-0.628)、コリンエステラーゼ (r=-0.601)、血小板 (r=-0.431)、総コレステロール (r=-0.363)、ビリルビン (r=0.336)、PT活性 (r=-0.318)が有意 (p<0.05) な相関を示した。

D. 考察

今回の検討では症例数が限られ、また、両者の診断方法も異なるため、正確な比較を行うためには、多数例での検討が必要であるものの、C型肝硬変とNASH肝硬変では、同じ肝硬変症例の比較でもWFA+M2BP測定値に差がある可能性が示された。

両者の肝障害や線維化進展様式は、病因の違いを反映して異なっている。特にNAFLD症例

ではpericellular fibrosisが組織学的特徴のひとつであるが、肝組織内の線維量としてはさほど多くならない可能性もある。一方で、C型慢性肝障害症例において、WFA+M2BP値は肝内の線維化以外に、活動性 (grade) にも比較的良好な相関を示す可能性があり、C型肝硬変症例のWFA+M2BPは線維化と炎症の総和を反映する可能性も考慮する必要がある。

線維化の指標として用いられるFIB-4 indexは、WFA+M2BP値と良好な相関を示すが、病因別の検討において、WFA+M2BP値の場合には、HCV群とNASH群に差を認め、FIB-4は両群で同レベルであった。FIB-4が、年齢、血小板数、AST、ALTから計算で算出される指数であるのに対して、WFA+M2BPは血液中の糖タンパクを直接測定し線維化と相関するマーカーである点に大きな違いがあるが、前述のように、WFA+M2BPが線維化以外の要因に影響を受けるかについては、さらなる検討が必要と考えられる。

E. 結論

肝硬変症例におけるWFA+M2BP測定値は病因によりレベルが異なる可能性が示され、測定の判定には病因を勘案して行う必要が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, Hige S, Nakanishi M, Natsuzaka 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 κ 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.
- 3) 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; 3:1065 (Article number).
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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).
- 8) 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).
- 9) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsunami H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patient with chronic hepatitis B. *Hepatology Res.* 2012 Feb; 42 (2):139-149.
- 10) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsunami H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 11) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsunami H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011 May; 49 (5):1853-1860.
- 12) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatology Res.* 2011 Jun; 41 (6):505-511.
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) 髭 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) 髭 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. SY1-10. (肝臓. 54 (Suppl 1):A20). 2013.06.06. 東京.

4) 髭 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. 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.
一般演題・B 型肝炎 1 (O-4). 2012.12.06. 東
京.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

- (1) NAFLD における WFA⁺-M2BP の線維化予測に対する有用性
- (2) NAFLD における耐糖能異常と肝線維化

日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授

研究要旨：

(1) 3施設で肝生検を行い組織学的に診断した症例に対し非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）における WFA⁺-M2BP の線維化予測に対する有用性を解析した。

(2) 耐糖能異常の是正は NASH 肝病変の進展を抑制するための重要な治療介入であるが、どの糖代謝マーカーを以て治療介入の指標とすべきかは明らかにされていない。そこで NASH の肝線維化進展を予測しうる糖代謝マーカーを同定する目的で、NAFLD 患者を対象に経口糖負荷試験を行い、種々の糖代謝マーカーと肝線維化進展との関係を検討した。

A. 研究目的

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が増加し、最も高頻度な肝疾患として注目されている。そのなかには進行する非アルコール性脂肪肝炎（NASH）が含まれ、肝硬変への進行や肝癌の合併を視野に入れた診療が必要となる。現在肝生検が診断のために必須である。このため侵襲の少ない NASH の血液診断マーカーは世界中で研究されているが、いまだ信頼されるマーカーはなく、新たな診断マーカーが求められている。

今回、C 型慢性肝炎の線維化診断マーカーとして報告された Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP) の NAFLD の線維化予測に対する有用性について解析した。

さらに、課題 2 において NASH の肝線維化進展を予測しうる糖代謝マーカーを同定する目的で、NAFLD 患者を対象に経口糖負荷試験を行い、種々の糖代謝マーカーと肝線維化進展との関係を検討した。

B. 研究方法

(1) 愛媛大学、市立池田病院、川崎医科大学、札幌厚生病院で肝生検を施行し、NAFLD と診断した症例を対象とした。肝生検組織については 3 人の NASH の診断に精通した病理組織診断医を交えて検討会を行い、確定診断を行った。

(2) 2009 年 1 月から 2014 年 2 月までに当科において糖尿病と診断されていない NAFLD 患者 47 例に対して 75g OGTT と肝生検を行い、線維化進展群（Brunt stage 2-4）と非線維化進展群（線維化なし又は Brunt stage 1）の 2 群において、種々の糖代謝マーカー、線維化マーカーおよび生化学所見を比較検討した。

なお、上述の検証に用いた全ての血清サンプルと組織サンプルは、インフォームドコンセントにより研究対象者から同意の得られたものである。またすべてサンプル収集機関および研究実施機関の各倫理審査委員会で承認されたものを用いている。

C. 研究結果

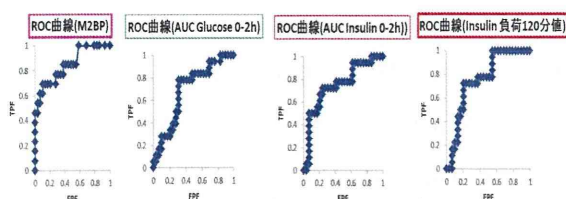
(1) M2BP は線維化進展に伴い増加し、線維化進展例の拾い上げには有用であった（詳細については阿部 雅則 愛媛大学大学院 地域医療学講座・准教授の項参照）。

(2) 非線維化進展群 (Brunt stage 0-1) と線維化進展群 (stage 2-4) の 2 群で比較すると、性別 ($p < 0.01$)、AST ($p < 0.01$)、PLT ($p < 0.05$)、ALB ($p < 0.05$)、4 型コラーゲン 7S ($p < 0.01$)、ヒアルロン酸 ($p < 0.01$)、M2BP ($p < 0.01$)、IRI ($p < 0.05$)、HOMA-IR ($p < 0.01$)、0-2 時間の血糖曲線下面積 (血糖 AUC 0-2h) ($p < 0.05$)、およびインスリン AUC 0-2h ($p < 0.01$) で有意差を認めた。また有意差を認めた項目で多変量解析を行ったところ、NAFLD における肝線維化に寄与する因子は、血糖 AUC 0-2h 値のみであった (Odds ratio 10.241 $P=0.034$)

M2BP も肝線維化に寄与する因子として $p=0.057$ と強い傾向があった。

肝線維化検出に対する因子の ROC 曲線下面積 (AUROC) の解析を行ったところ、M2BP が 0.846 と最も強い肝線維化検出率であった。Insulin の負荷 120 分値 および AUC 0-2h 値 は、0.7529 と M2BP に準ずる高い肝線維化の診断的中率を示した (図 1)

図 1



D. 考察、結論

(1) NAFLD 症例において、WFA⁺-M2BP は線維化進展例の拾いあげに有用なマーカーであった。

(2) 75g OGTT における血糖およびインスリンの AUC 0-2h 値やインスリン 120 分値の上昇は肝線維化進展関連因子であった。WFA⁺-M2BP は NASH 線維化進展を予測する有用なマーカーであった。したがって、NAFLD における WFA⁺-M2BP 高値例 (≥ 1.2) は経口糖負荷試験を行う良い指標と考えられ、血糖およびインスリンの AUC 0-2h 値やインスリン 120 分値の上昇は早期治療介入の指標になりうる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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) Hino K, Hara Y, Nishina S. Mitochondrial reactive oxygen species as a mystery voice in hepatitis C. Hepatol Res. 2014 Feb; 44 (2):123-132.
- 3) Korenaga K, Korenaga M, Teramoto F, Suzuki T, Nishina S, Sasaki K, Nakashima Y, Tomiyama Y, Yoshioka N,

- Hara Y, Moriya T, Hino K. Clinical usefulness of non-protein respiratory quotient measurement in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res.* 2013 Dec; 43 (12):1284-1294.
- 4) Hino K, Nishina S, Hara Y. Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: mechanisms and relevance to hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Nov; 28 (Suppl 4):93-98.
- 5) Tomiyama Y, Nishina S, Hara Y, Kawase T, Hino K. Hepatic oxidative stress in ovariectomized transgenic mice expressing the hepatitis C virus polyprotein is augmented through suppression of AMPK/PGC-1alpha signaling. *Hepatol Res.* 2013 Oct; In press.
- 6) Nakamura M, Nakashima H, Tsutsumi K, Matsumoto H, Muta Y, Ueno D, Yoshida K, Hino K, Urakami A, Tanaka M. First jejunal vein oriented mesenteric excision for pancreatoduodenectomy. *J Gastroenterol.* 2013 Aug; 48 (8):989-995.
- 7) Tomiyama Y, Takenaka K, Kodama T, Kawanaka M, Sasaki K, Nishina S, Yoshioka N, Hara Y, Hino K. Risk factors for survival and the development of hepatocellular carcinoma in patients with primary biliary cirrhosis. *Intern Med.* 2013 Jul; 52 (14):1553-1559.
- 8) Kawanaka M, Nishino K, Nakamura J, Suehiro M, Goto D, Urata N, Oka T, Kawamoto H, Nakamura H, Yodoi J, Hino K, Yamada G. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with vitamins E and C: a pilot study. *Hepatic Med Evi Res.* 2013 Mar; 5:11-16.
- 9) Matsui T, Motoki Y, Inomoto T, Miura D, Kato Y, Suenaga H, Hino K, Nojima J. Temperature-Related Effects of Adenosine Triphosphate-Activated Microglia on Pro-Inflammatory Factors. *Neurocrit Care.* 2012 Oct; 17 (2):293-300.
- 10) Hino K, Nishina S, Hara Y. Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: insights from recent evidence. *Clin J Gastroenterol.* 2012 Aug; 5 (4):251-256.
- 11) 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).
- 12) 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).
- 13) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 14) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsushashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011 May; 49 (5):1853-1860.
- 15) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatol Res.* 2011 Jun; 41 (6):505-511.
2. 学会発表
なし
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
特許第 5070552 号. C型慢性肝炎治療効果予測のための検査方法及び検査用キット. 加藤 宣之、池田 正徳、是永 匡紹、日野 啓輔.
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし

NAFLD における血清 WFA+M2BP の線維化予測に対する有用性
阿部雅則 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・准教授

研究要旨：非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）における血清 WFA+M2BP 値の線維化予測に対する有用性を解析した。対象は国内の 4 施設で肝生検を行い診断した NAFLD 289 症例。肝組織での線維化（stage）と血清 WFA+M2BP 値との関係を解析した。血清 WFA+M2BP 値は NAFLD の肝線維化診断マーカーとして有用であった。

研究分担者（共同研究者）

今井康陽 市立池田病院・病院長
日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授
髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長
坂元亨宇 坂元亨宇 慶應義塾大学・医学部・病理学・教授

研究協力者

山田剛太郎 川崎医科大学附属川崎病院・総合内科学 2・特任教授
鹿毛政義 久留米大学・病理学・教授
是永匡昭 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
三宅映己 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・特任講師
日浅陽一 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・教授

A. 研究目的

近年、肥満人口の急増により非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が増加し、最も高頻度な肝疾患として注目されている。そのなかには

進行する非アルコール性脂肪肝炎（NASH）が含まれ、肝硬変への進行や肝癌の合併を視野に入れた診療が必要となる。NAFLD の線維化進展については血液マーカーや画像診断を用いた診断法が開発されてきているが、いまだ信頼されるマーカーはなく、肝組織診断がゴールドスタンダードであり、新たな非侵襲的診断マーカーが求められている。

今回、C 型慢性肝炎の線維化診断マーカーとして報告された WFA+Mac-2 binding protein（M2BP）の NAFLD の線維化予測に対する有用性について解析した。

B. 研究方法

愛媛大学、市立池田病院、川崎医科大学、札幌厚生病院において肝生検を施行し、NAFLD と診断した 289 例を対象とした。男性 159 例、女性 130 例。平均年齢は 54.8±14.6 歳。肝組織診断については Brunt 分類を用いて 3 人の病理医（慶應義塾大学 坂元亨宇先生、川崎医科大学附属川崎病院総合内科学 2 山田剛太郎先生、久留米大学病院病理部 鹿毛政義先生）がブラインドで診断し、全体で討議を行って統一した見解を得た。生検時に採取した血清を用いて WFA+M2BP 値を測定し、肝組織での線維化（stage）との関係を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は各施設の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

(1) 肝組織診断は stage 0 35 例、stage 1 113 例、stage 2 49 例、stage 3 41 例、stage 4 51 例であった。

(2) 血清 WFA⁺-M2BP 値は、stage 0: 0.57±0.49、stage 1: 0.70±0.33、stage 2: 1.02±0.53、stage 3: 1.57±0.98、stage 4: 2.96±2.53 であり、線維化の進展に伴って上昇した。

(3) 単変量解析で、血清 WFA⁺-M2BP 値は stage 0-2 と stage 3-4、stage 0-3 と stage 4 との鑑別に有用であった (ともに p<0.001)。

(4) 多変量解析では、血清 WFA⁺-M2BP 値は stage 0-2 と stage 3-4 (Odds 比 6.650 [2.476-21.975], p<0.001)、stage 0-3 と stage 4 (Odds 比 5.072 [2.006-16.979], p=0.003) との鑑別に有用な独立した因子であった。

(5) ROC 解析で線維化進展の予測に有用なカットオフ値を解析すると、stage 3 以上 0.94、stage 4 1.46 であり、正診率はそれぞれ 78.2%、84.4%であった。

(6) 他の線維化マーカーやスコアとの有用性を ROC 曲線下面積 (AUCROC) で比較した。血清 WFA⁺-M2BP 値は血小板数、ヒアルロン酸、AST/ALT 比、APRI、Fib-4 に比べて stage 3 以上 (AURROC 0.876)、stage 4 (AURROC 0.878) の判別に有用であった。

D. 考察

今回の検討で、血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の線維化診断マーカーとして有用であることが示された。今回の血清 WFA⁺-M2BP 値が既報の C 型慢性肝炎と比べて全体的に低くなっているが、NAFLD とウイルス性肝炎との進展様式の違いを示唆しているものと思われる。脂肪化、肝細胞壊死・変性などの関連についても検討していく必要がある。

E. 結論

血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の線維化診断マーカーとして有用であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyake T, Abe M, Tokumoto Y, Hirooka M, Furukawa S, Kumagi T, Hamada M, Kawasaki K, Tada F, Ueda T, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. B cell-activating factor is associated with the histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Int.* 2013 Jun; 7 (2):539-547.
- 2) Takeji S, Hirooka M, Koizumi Y, Tokumoto Y, Abe M, Ikeda Y, Nadano S, Hiasa Y, Onji M. Des-gamma-carboxy prothrombin identified by P-11 and P-16 antibodies reflects prognosis for patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Apr; 28 (4):671-677.
- 3) Tada F, Abe M, Kawasaki K, Miyake T, Chen S, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. B cell activating factor in obesity is regulated by oxidative stress in adipocytes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition.* 2013 Mar; 52 (2):120-127.

- 4) Miyake T, Kumagi T, Hirooka M, Furukawa S, Koizumi M, Tokumoto Y, Ueda T, Yamamoto S, Abe M, Kitai K, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Body mass index is the most useful predictive factor for the onset of nonalcoholic fatty liver disease: a community-based retrospective longitudinal cohort study. *J Gastroenterol.* 2013 Mar; 48 (3):413-422.
 - 5) Kasawaki K, Abe M, Tada F, Tokumoto Y, Chen S, Miyake T, Furukawa S, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Blockade of B-cell-activating factor signaling enhances hepatic steatosis induced by a high-fat diet and improves insulin sensitivity. *Laboratory Investigation.* 2013 Mar; 93:311-321.
 - 6) Yoshizawa K, Matsumoto A, Ichijo T, Umemura T, Joshita S, Komatsu M, Tanaka N, Tanaka E, Ota M, Katsuyama Y, Kiyosawa K, Abe M, Onji M. Long-term outcome of Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology.* 2012 Aug; 56 (2):668-676.
2. 学会発表
- 1) 徳本 良雄、阿部 雅則、日浅 陽一. 非アルコール性脂肪性肝疾患診断における腹腔鏡検査の有用性. 第 17 回日本肝臓学会大会 2013.10.09-12. 東京.
 - 2) 川崎 敬太郎、阿部 雅則、徳本 良雄、ほか. 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の肝脂肪化における B 細胞活性化因子 (BAFF) の役割. 第 49 回日本肝臓学会総会. O-67. 2013.06.06. 東京.
 - 3) 阿部 雅則、陳 式儀、姚 立穎、ほか. 非アルコール性脂肪性肝疾患の病態における骨髄由来抑制細胞の役割. 第 50 回日本消化器免疫学会. O-379. 2013.05.30. 東京.
 - 4) 阿部 雅則、三宅 映己、藤堂 裕彦、ほか. 高齢者における糖尿病を合併した脂肪肝の特徴. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2013.05.16-18. 熊本.
 - 5) 多田 藤政、川崎 敬太郎、阿部 雅則、ほか. NAFLD における内臓脂肪組織の酸化ストレスと B 細胞活性化因子 (BAFF) との関連. 第 99 回日本消化器病学会. PL-047. 2013.03.22. 鹿児島.
 - 6) 三宅 映己、徳本 良雄、阿部 雅則. 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 発症において BMI は最も有用な予測因子である. 第 99 回日本消化器病学会. PD2-1-1. 2013.03.21. 鹿児島.
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

原発性胆汁性肝硬変における疾患特異的遺伝子発現の基礎検討

上野義之 山形大学・内科学第二講座・教授

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変（PBC）は、肝内胆管の進行性破壊と消失が特徴的な原因不明の疾患である。しかしその病因の詳細は不明であり、一定の見解を得るに至っていない。本研究では、より感度が高く定量性にもすぐれている次世代シーケンサーを用いて、PBCに特徴的に発現される血清内の短鎖遺伝子断片についてその特徴的な発現プロファイルを検討した。その結果、血清内の遊離 miRNA の内数種類で PBC と他のウイルス性肝疾患で異なる発現プロファイルを持つものを同定した。さらにこの解析法が、PBC の病態解析及び亜病型の診断にも有用である可能性が示唆され、今後はこの miRNA が他の肝線維化マーカーといかなる相関を持つか検討することが必要と思われた。

原発性胆汁性肝硬変（PBC）は原因不明の疾患で、その病因は未だ不明である。一方、近年次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現の超大量解析が進んでおり、肝疾患領域でも次世代シーケンサーを用いた解析、とりわけマイクロ RNA の報告が散見されている。マイクロ RNA（以下 miRNA）は短鎖 RNA であり、標的となる分子の発現を調整する多彩な役割を有している。肝疾患では主にウイルス性肝炎でそれぞれ発現が特徴的な miRNA の報告がなされてきた。今回、PBC の患者の血清より得られた検体を用いて、血清内の遊離 miRNA を網羅的に検討した。本年度は、特に技術的な検討を行うために、PBC と他の肝疾患と比較することにより miRNA プロファイリングによる階層的クラスター分類が技術的に可能かということについて、少数例での端索的検討を行った。

A. 研究方法

PBC 患者の血清内遊離 miRNA のプロファイリングを検討。血清より Trizol LS を用いて Total RNA を抽出、TruSeq small RNA sample

prep kit を用いて、ライブラリーを作成し、シーケンシングを行った。疾患コントロールとして同数の慢性 B 型肝炎、同数の慢性 C 型肝炎、そして健常者からの検体を用いて検討した。ミスマッチの許容は 1% で行い、ANOVA による有意差検討で統計学的さを認めたものについてはさらに定量的 PCR 法にて発現の多少を検討した。

B. 研究結果

(1) PBC 患者血清 5 検体の血清内遊離 miRNA のプロファイリングを行い、B 型肝炎、C 型肝炎、健常者と多群比較シクラスタリング ANOVA（分散分析）で $P < 0.05$ を抽出した。P-value が計算できたものは 670 個あり、解析の結果得られたものは、110 個の miRNA。110 個の miRNA について発現パターンによるクラスタリングを行い、ヒートマップを作成したところ、PBC は一つの群を形成した。さらに定量的 PCR 法で発現を定量したところ、次世代シーケンサーで特徴的に低値であった miRNA はこの方法でも低値であることが確認

された。

- (2) 亜病型ごとの検討では、門亢症型と、肝不全型で特異的に低下する miRNA が拾い上げられ、定量的 RT-PCR でも低下が確認された。

C. 考察

血清内遊離 miRNA を解析することにより、疾患の新たな特徴を見い出せる可能性があり、発症原因の解明に迫ることができる。今後、さらに症例数を増やして PBC に特徴的な miRNA や新規 miRNA の同定を行い、さらに肝線維化マーカーとの比較を行う予定である。

D. 結論

次世代シーケンサーによる miRNA 解析は、PBC の発症に関係する miRNA の探索に有用であり、さらに、亜病型ごとに異なる発現プロファイルを有している可能性が示された。PBC での線維化マーカーの探索にも有用なツールになる可能性が示された。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mancinelli R, Franchitto A, Glaser S, Meng F, Onori P, Demorrow S, Francis H, Venter J, Carpino G, Baker K, Han Y, Ueno Y, Gaudio E, Alpini G. GABA induces the differentiation of small into large cholangiocytes by activation of Ca²⁺/CaMK I-dependent adenylyl cyclase 8. *Hepatology*. 2013 Jul; 58 (1):251-263.
- 2) Ninomiya M, Kondo Y, Funayama R, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Ueno Y, Nakayama K,

Shimosegawa T. Distinct microRNAs expression profile in primary biliary cirrhosis and evaluation of miR 505-3p and miR197-3p as novel biomarkers. *PloS one*. 2013 Jun; 8 (6):e66086.

- 3) Harada K, Hirohara J, Ueno Y, Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, Ichida T, Nakanuma Y. Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan. *Hepatology*. 2013 May; 57 (5):1942-1949.
- 4) Renzi A, DeMorrow S, Onori P, Carpino G, Mancinelli R, Meng F, Venter J, White M, Franchitto A, Francis H, Han Y, Ueno Y, Dusio G, Jensen KJ, Greene JJ, Jr., Glaser S, Gaudio E, Alpini G. Modulation of the biliary expression of arylalkylamine N-acetyltransferase alters the autocrine proliferative responses of cholangiocytes in rats. *Hepatology*. 2013 Mar; 57 (3):1130-1141.
- 5) Ueno Y. The Current Endeavors to Understand the Pathogenesis of Intractable Liver Diseases. *Tohoku J Exp Med*. 2012 Mar; 226 (3):171-175.
- 6) Ninomiya M, Ueno Y, Funayama R, Nagashima T, Nishida Y, Kondo Y, Inoue J, Kakazu E, Kimura O, Nakayama K, Shimosegawa T. Use of Illumina Deep Sequencing Technology To Differentiate Hepatitis C Virus Variants. *J Clin Microbiol*. 2012 Mar; 50 (3):857-866.
- 7) Francis HL, DeMorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, MA White, Meng F, Ueno Y, Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P. Histamine

- stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP₃/Ca²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms. *Lab Invest.* 2012 Mar; 92:282-294.
- 8) Meng F, Francis H, Glaser S, Han Y, Morrow SD, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, Ueno Y, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. *Hepatology.* 2012 Jan; 55 (1):209-221.
 - 9) Quinn M, Ueno Y, Pae HY, Huang L, Frampton G, Galindo C, Francis H, Horvat D, Millin MM, Morrow SD. Suppression of the HPA axis during extrahepatic biliary obstruction induces cholangiocyte proliferation in the rat. *Ame J Physiol GI Liver.* 2012 Jan; 302 (1):182-193.
 - 10) Francis HL, DeMorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, MA White, Meng F, Ueno Y, Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P. Hepatic and Pancreatic Systems Histamine stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP₃/Ca²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms. *Lab Invest.* 2011 Nov; 92:282-294.
 - 11) Ninomiya M, Ueno Y, Shimosegawa T. PBC: Animal Models of Cholangiopathies and Possible Endogenous Viral Infections. *Int J Hepatol.* 2011 Jun; 2012:Article ID:649290, 6 pages.
- ## 2. 学会発表
- 1) Katsumi T, Ninomiya M, Shimosegawa T, Mizuno K, Tomita K, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y. Ability of miRNA Profiling to Distinguish the Clinical Course of Patients with Primary Biliary Cirrhosis: Comprehensive Analysis with Deep Sequencing. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington DC.
 - 2) Graf A.B, Francis H.L, Hargrove L, Kennedy L, Hodges K.M, Greene J.F, Ueno Y. Knockout of the histidine decarboxylase (HDC) gene reduces biliary hyperplasia in cholestatic bile duct ligated (BDL) mice. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington D.C. USA.
 - 3) Meng FY, Francis H, Glaser S, Han YY, DeMorrow S, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, Ueno Y, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Boston.
 - 4) Graf A.B, Francis H.L, Hargrove L, Kennedy L, Hodges K.M, Greene J.F, Ueno Y. The mast cell stabilizer, cromolyn sodium, reduces bile duct ligated-induced biliary hyperplasia: a novel role for the in vivo paracrine influence of mast cells on biliary proliferation. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington D.C. USA.
 - 5) Kakazu E, Kondo Y, Kogure T, Ninomiya M, Kimura O, Morosawa T, Iwata T, Ueno Y, Shimosegawa T. An imbalance in plasma amino acids of advanced cirrhotic

patients suppresses the maturation of dendritic cells by reducing the intracellular ATP due to interference with the mitochondrial TCA cycle.

AASLD annual meeting, November 2012. Boston. 2012.11.09-13.

- 6) Ninomiya M, Kondo Y, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Funayama R, Nagashima T, Morosawa T, Iwata T, Nakayama K, Ueno Y, Shimosegawa T.

Characterization of circulating microRNAs in patients with primary biliary cirrhosis by Illumina deep sequencing. AASLD annual meeting, November 2012. 2012.11.09-13. Boston.

- 7) Glaser SS, Meng FY, Venter J, White M, Francis H, Ueno Y, Franchitto A, Onori P,

Gaudio E, Alpini G. Increased synthesis of secretin from S cells and cholangiocytes during cholestasis increases large cholangiocyte proliferation by both paracrine/autocrine mechanisms. AASLD annual meeting, November 2012. 2012.11.09-13. Boston.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

肝硬変における新規糖鎖マーカーWFA⁺-CSF1R の臨床的有用性

田中靖人 名古屋市立大学大学院・医学研究科・教授

研究要旨：新たに開発された糖鎖マーカーWisteria floribunda agglutinin (WFA) -reactive colony-stimulating factor 1 receptor (WFA⁺-CSF1R) は肝線維化の進展とともに上昇し、代償期肝硬変患者において予後予測因子として有効であった。また WFA⁺-CSF1R 値により生存率に有意差を認めた。さらに WFA⁺/Total-CSF1R 比は、発癌予測因子として有効であった。WFA⁺-CSF1R は従来の非侵襲的な肝線維化診断法では評価できなかった、肝硬変患者の予後予測や発癌 potential の評価が可能であった。また WFA⁺-CSF1R は、先行して開発された WFA⁺-Mac-2 binding protein (M2BP) と異なったメカニズムを有していると考えられており、今後の肝疾患治療に有効と思われる。

研究協力者

飯尾悦子 名古屋市立大学大学院・医学研究科・大学院生・医師

A. 研究目的

我が国において慢性肝疾患を背景とした発癌や、肝硬変の合併症など、慢性肝疾患への対策は重要な課題である。肝線維化は発癌の重要なリスク因子であり、近年の抗ウイルス療法の進歩により C 型慢性肝疾患患者におけるウイルス排除後の発癌が将来的に問題になることが予想される。このため簡便かつ非侵襲的に線維化を評価するマーカーが必要である。C 型慢性肝疾患患者において新規血清マーカー WFA⁺-CSF1R の線維化評価及び生命予後あるいは肝発癌との関連性を検討した。また WFA⁺-M2BP との比較を行った。

B. 研究方法

1998 年 1 月～2013 年 1 月まで、名古屋市立大学病院及び関連病院通院中の C 型肝炎ウイル

ス (HCV) 感染者 207 名において、WFA⁺-CSF1R の有用性を検討した。症例内訳は chronic hepatitis (CH) : liver cirrhosis (LC) = 99:108、年齢中央値 64 (21-87) 歳、男性 52.8%、血小板 11.9 (2.9-32.7) ($\times 10^4/\text{mm}^3$)、PT 88.0 (43-136) (%)、アルブミン 4.0 (1.9-5.1) (g/dL)、AST 49 (14-534) (IU/L)、ALT 45 (6-820) (IU/L)、AFP 8.9 (1.5-9993) (ng/ml)、PIVKA-II 17 (6-23400) (mAU/ml) であった。平均観察期間は 51 (0-195) カ月であった。

(倫理面への配慮)

血清の保存、研究面での各種ウイルスマーカーの測定は、患者に説明し書面上で同意書を取得した上で行った。

C. 研究結果

WFA⁺-CSF1R と WFA⁺-M2BP は fibrosis stage の上昇に伴い有意に上昇し、それぞれ CH 群 82.3 (5.0-241.0) ng/ml、1.34 (0.26-13.96) (C.O.I.)、LC 群 216.9 (34.3-574.8) ng/ml、7.93 (0.52-39.26) (C.O.I.) と LC 群で有意に高値であ

った ($p < 0.001$)。また 3 例の Child - Pugh C を除いた LC 群における検討では、HCC の有無による有意差は認めなかった{WFA+・CSF1R [HCC 208.9 (85.4-500.9) ng/ml vs Non-HCC 214.8 (34.3-442.2) ng/ml]、WFA+・M2BP [HCC 6.5 (0.8-39.3) (C.O.I.) vs Non-HCC 8.9 (0.87-37.7) (C.O.I.)] }。また LC 群で、HCC なし群 ($n=45$) と初発 hepatocellular carcinoma (HCC) が外科的切除、または経皮的ラジオ波焼灼療法によりコントロールされた群 ($n=32$) とを含めた 77 名において、Time-dependent ROC 解析を用いて、生命予後と累積肝発癌に関わる因子を検討した。

(1) 生命予後の検討

アルブミン、fib4、年齢、血小板、AFP、APRI などの線維化や予後に関わる因子を加えて生存率を検討すると、WFA+・CSF1R は全観察期間における AUC は 0.868、HR 2.20 であり、WFA+・CSF1R の予後予測能力は FIB4 と同程度で、AFP や APRI より優れていた。一方でアルブミンが全観察期間における AUC が 0.883、HR 3.45 と最も良好であった。

WFA+・CSF1R 230ng/ml をカットオフとして Kaplan-Meier 生存曲線を検討すると WFA+・CSF1R < 230 ng/ml 群 [$n = 43$, 観察期間中央値 36M (0 - 195)] では 5 年生存率 82%であったが、WFA+・CSF1R \geq 230 ng/ml 群 [$n=34$, 観察期間中央値 33M (0 - 108)] では 42%であった ($p = 0.0001$)。またアルブミン > 3.5 g/dl の 52 症例の検討で、WFA+・CSF1R \geq 230 ng/ml 群 ($n = 15$) は、WFA+・CSF1R < 230 ng/ml 群 ($n = 37$) に比べ、有意に生存率が低かった ($p = 0.017$)。

(2) 肝発癌の検討

発癌予測因子を AFP、PIVKA-II などの腫瘍マーカーや Fib4、APRI などの線維化 index

などと合わせて検討すると (血清中の Total CSF1R を測定し、WFA+・Total 比で発癌予測を検討)、WFA+・Total CSF1R の AUC は 0.898、HR 1.36 であり、発癌予測因子として WFA+・Total CSF1R が最も良好であった。つづいて WFA+・Total CSF1R 0.35 をカットオフとして累積発癌率を検討すると、WFA+・Total - CSF1R \geq 0.35 群 ($n = 8$) の累積発癌率は 4 年で 70%であるのに対し、WFA+・Total - CSF1R < 0.35 群 ($n = 69$) は 4 年で 36%と、累積発癌率が有意に高かった ($p = 0.0019$)。

(3) WFA+・CSF1R と WFA+・M2BP の関連性検討

WFA+・M2BP と WFA+・CSF1R は相関係数 0.48 と良好な相関を示したが、2 例で乖離症例を認めた。1 例は WFA+・M2BP に比べ WFA+・CSF1R が極めて高値であり、もう一例は、反対に WFA+・M2BP に比べ WFA+・CSF1R が高値であったが、いずれも 29M、0M で肝不全にて死亡した。

D. 考察

WFA+・CSF1R は線維化の指標のみならず、発癌予測マーカーとしての可能性が示唆される。WFA+・CSF1R の最適なカットオフ値の決定や、発癌との関連についてはさらなる検討が必要である。WFA+・CSF1R と WFA+・M2BP との関連性、差別化のために現在、病理組織学的検討を行っている。

E. 結論

WFA+・CSF1R は肝硬変の診断だけでなく、予後予測が可能な線維化マーカーとして期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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) Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, **Tanaka Y**, Ikehara Y, Mizokami M, Narimatsu H. Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glyco-biomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis. *J Proteome Res*. 2014 Jan; 13 (3):1428-1437.
- 3) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsuhashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, **Tanaka Y**, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan; 59 (1):89-97.
- 4) Akkarathamrongsin S, Hacharoen P, Tangkijvanich P, Theamboonlers A, **Tanaka Y**, Mizokami M, Poovorawan Y. Molecular epidemiology and genetic history of hepatitis C virus subtype 3a infection in Thailand. *Intervirology*. 2013 Sep; 56 (5):284-294.
- 5) Kaji H, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Sogabe M, Ohkura T, Nozaki H, Angata T, Chiba Y, Ozaki H, Hirabayashi J, **Tanaka Y**, Mizokami M, Ikehara Y, Narimatsu H. Glycoproteomic Discovery of Serological Biomarker Candidates for HCV/HBV Infection-Associated Liver Fibrosis and Hepatocellular Carcinoma. *J Proteome Res*. 2013 Jun; 12 (6):2630-2640.
- 6) 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.
- 7) 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; 3:1065 (Article number).

- 8) Du D, Zhu X, Kuno A, Matsuda A, Tsuruno C, Yu D, Zhang Y, Ikehara Y, **Tanaka Y**, Zhang X, Narimatsu H. Comparison of LecT-Hepa and FibroScan for assessment of liver fibrosis in hepatitis B virus infected patients with different ALT levels. *Clin Chim Acta.* 2012 Nov; 413 (21-22):1796-1799.
- 9) Watanabe T, Sugauchi F, **Tanaka Y**, Matsuura K, Yatsushashi H, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, Mizokami M. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon-alpha in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut.* 2012 Nov; 62 (9):1340-1646.
- 10) 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.
- 11) 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).
- 12) 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).
- 13) Wang J, Singh US, Rawal RK, Sugiyama M, Yoo J, Jha AK, Scroggin M, Huang Z, Murray MG, Govindarajan R, **Tanaka Y**, Korba B, Chu CK. Antiviral activity of novel 2'-fluoro-6'-methylene-carbocyclic adenosine against wild-type and drug-resistant hepatitis B virus mutants. *Bioorg MedChem Lett.* 2012 Apr; 22 (7):2641.
- 14) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, **Tanaka Y**, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after