

肝線維化糖鎖抗原マーカー（WFA⁺-M2BP）の非侵襲的肝線維化診断法との乖離例の検討

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

研究要旨：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肝線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）と、非侵襲的線維化診断法である ARFI（VTQ:m/s）・FibroScan（kPa）と同等の診断能力がある一方で、乖離例も存在する。WFA⁺-M2BPの今後の臨床応用を考え、乖離する症例を検索したところ C 型慢性肝疾患の女性、特に高齢者で高値になることが明らかになった。また、IFN 投与中は一過性に上昇し、徐々に低下することも確認された。一方、非ウイルス肝疾患の伴う肝硬変例では、その値は HCV 関連肝硬変よりも低く、cut off 値を新規に作成する必要性が確認されたため、非アルコール性脂肪肝疾患の線維化診断のため、各施設より組織を集め 3 人の病理医と共に組織検討会を開催した。また非ウイルス肝炎発癌に伴う新規糖鎖抗原腫瘍マーカーの開発のため、線維化を伴わない肝細胞癌組織 35 症例を集め、組織学的・血清学的に解析中である。

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 万人が肝癌で死亡している。肝線維化の進行につれ肝硬変を経て肝癌に増加するため、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。

われわれは、産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターと共同研究することで、C 型慢性肝疾患における肝線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）を報告してきた（Kuno A, et al Science Reports 2013）。更なる検討にて、FibroScan、ARFI といった非侵襲的な肝線維化測定法と同等な識別能があることも確認され、高価な超音波装置を用いることなく、肝線維化進展例を抽出できることが明らかになる一方で、乖離例が存在する。

臨床応用を勧めるうえで、どのような症例に注

意すべきかを明らかにする目的で以下の検討を行った。

B. 研究方法

2013 年 2 月～2013 年 10 月までに当院で腹部超音波検査時に FibroScan、VTQ を同時測定された 236 例の WFA⁺-M2BP の測定を行いその値別に 1 未満、3 以上に分類し FibroScan、VTQ、一部は Fib4index との乖離例を解析した。

C. 研究結果

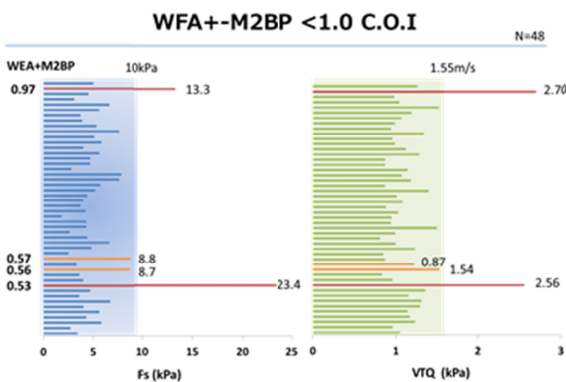
(1) Fib4 index との検討

FIB-4 index = (年齢 X AST) / (血小板数 X ALT の平方根) (3.25 以上が severe fibrosis とされる) は欧米を中心に有効であると報告される一方で、年齢と血小板が利用されており、高齢者や門脈圧亢進を伴わない血小板低下例では線維化進展と診断されやすいと考えられ

る。WFA+-M2BP<2C.O.I未滿、Fib-43.25以上と診断された8例では、VTQ, Fibroscan いずれも、高度線維化進展とは診断されず、Fib4 index は75歳以上・血小板15万未滿では、overestimateしやすく、HCV陽性者が高齢者に多い本邦では充分な注意が必要である。(下表)

Pt	Sex	Age	AST	ALT	PLT	Fib-4	M2BP	Vs	Fibroscan
1	F	75	22	16	11.2	3.683036	0.77	1.07	7.8
2	F	84	26	15	13.6	4.14637	0.94	1.21	6.6
3	M	74	27	25	10.9	3.666055	1.10	0.89	5.1
4	F	69	48	26	16.1	4.034389	1.13	1.08	2.8
5	M	82	38	22	14.9	4.458614	1.37	1.47	6.8
6	M	87	36	33	14.2	3.839516	1.78	1.24	4.6
7	F	60	50	59	11.2	3.487203	1.80	1.26	8.8
8	F	76	37	35	14.6	3.255558	1.46	1.14	6.1

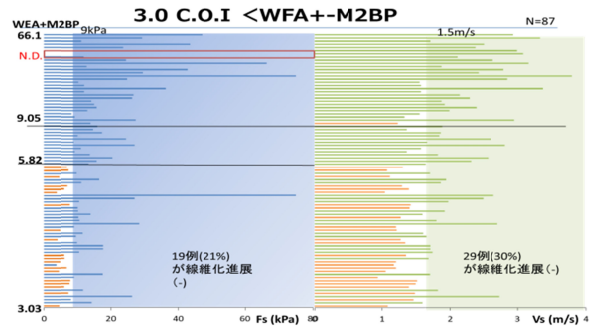
(2) WFA+-M2BP<1 C.O.Iでの検討(下図)



上記の様に2例(4%)でWFA+-M2BP低値に関わらず、FibroScan・VTQで高値を示した。(下表)

Gender	Age	M2BP	Fib4	Kpa	VTQ平均	CAP	HCC	DM
F	65	0.53	7.889723	23.4	2.56	214	有	無
M	69	0.97	1.564566	13.3	2.70	281	無	有

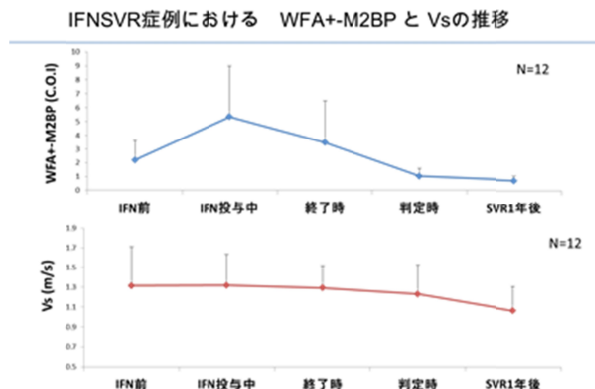
(3) WFA+-M2BP>3 C.O.Iでの検討(下図)



Fibroscanで20%、VTQで30%高度線維化進展と診断されない症例が存在した。特に肝硬変と診断されるCOI>4であって非線維化進展とされた9例は全員女性であった。(下表)

Gender	Age	M2BP	Fib4	Kpa	VTQ平均	CAP	HCC	DM
F	75	3.03	2.3134	4.6	1.08	195	無	無
F	86	3.06	5.57858	8.1	1.46	252	無	無
F	76	3.16	4.20473	7.3	1.48	227	無	無
F	42	3.26	2.84088	6	1.39	119	無	無
F	55	3.32	3.13703	7.6	1.49	185	無	無
M	51	3.48	3.09295	7.8	1.51	205	無	無
F	60	3.49	1.77428	9	0.93	257	無	無
F	77	3.6	2.80055	4.4	1.05	228	無	無
F	64	3.6	3.32839	6.8	1.2	212	無	無
M	75	3.66	2.51185	3.7	1.17	168	無	無
F	92	3.72	6.97087	4.9	1.2	180	無	無
M	64	3.78	2.82517	6	1.35	200	無	無
F	85	4.03	6.10303	4	1.27	193	無	無
F	69	4.3	5.5983	4.9	1.21	139	無	無
F	78	4.38	2.35612	9	1.2	172	無	無
F	68	4.87	4.17216	7.7	1.42	186	無	無
F	70	5.04	1.849	3.8	1.04	168	無	無
F	63	5.3	4.7121	7	1.29	230	無	無
F	85	5.72	6.57388	4.5	1.11	203	無	無
F	46	5.78	2.0612	6.9	1.3	199	無	無
		55	4.029	3.74022	6.2	1.2575	195.9	

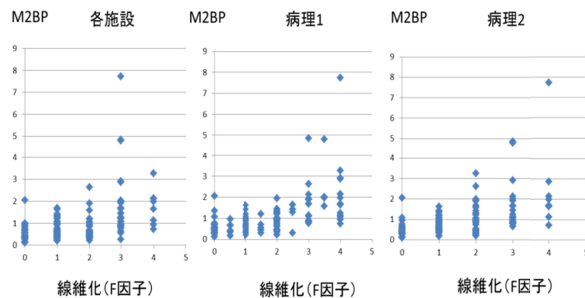
(4) IFN投与中のWFA+-M2BP



IFN投与はVTQに影響を受けないも、WFA+-M2BPは、IFN導入により一過性に上昇する。

(5) 多施設で集めた NASH 組織の再検討

多施設で NASH と診断された組織を 230 検体集め、3 人の病理に判定して頂いたところ、約 20% が NAFLD/NASH と診断できず、3 人の病理に一致率も 30% であった。



病理医の診断により、その線維化診断異なり、予後解析にも影響を与えかねないと考え、再度病理医と臨床医により解析を行い、NASH 線維化進展と WFA⁺-M2BP の解析を進めた。

D. 考察

本研究で見つけられた新規糖鎖抗原線維化マーカーである WFA⁺-M2BP は採血検査であり、「非侵襲的」とは言えないが、20ul の血清で測定可能であり、高価な腹部超音波装置を購入しなくても肝発癌予測ができること、FibroScan の測定に影響を与える肥満・肝萎縮症例にも測定できることも利点である。

本邦の C 型慢性肝疾患症例の多くは高齢者であり、今回の検討では、Fib4 index を用いての高齢者での解析には十分な注意が必要であり、WFA⁺-M2BP が 1 (COI) 未満であれば、非線維化進展と診断して良いと考えられる。一方で、同じ高齢者でも WFA⁺-M2BP が 4 (COI) 以上であっても女性では非線維化進展例が含まれ、特に 3~5COI の高齢・女性の線維化診断には、十分な検討が必要である。

一方で、HCV 以外での WFA⁺-M2BP 値についても検討が必要なため、NAFLD/NASH の検体を厳格に診断し、HCV での cut off 値より低

値であることが確認された。非ウイルス肝炎例での線維化診断・肝発癌予測には更なる新規糖鎖抗原マーカー、特に AFP/PIVKII よりも鋭敏な腫瘍マーカー開発が必要である。

E. 結論

WFA⁺-M2BP 低値であれば、高度線維化進展例は殆ど含まれないが、高齢女性の 3~5COI は overestimate する可能性があり、その診断には注意を要する。

WFA⁺-M2BP は IFN 投与中高値となり、また非 HCV 症例では低値なり、疾患別の cut off が必要である。

F. 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) 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) 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.
- 4) Murata K, Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, **Korenaga M**, Imamura M, Masaki N, Mizokami M. Ex vivo induction of IFN-lambda3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/Ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol*. 2014 Jan; 49 (1):126-137.
- 5) 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.
- 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).

2. 学会発表

- 1) 是永 匡紹、西田 奈央、溝上 雅史. 高齢・非線維化進展 C 型慢性肝疾患の遺伝子多型

測定の有用性. 第 17 回日本肝臓学会大会.
パネルディスカッション 8. 2013.10.09-12.
東京.

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

なし