

論文全文の要約

Value of autotaxin for hepatocellular carcinoma
risk assessment in chronic hepatitis B patients
treated with nucleos(t)ide analogs

(核酸アナログ治療中の B 型慢性肝炎患者の肝細胞
癌リスク評価におけるオートタキシンの意義)

Hepatology Research, 2024, in press.

檜山 雄一

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】 世界中で推定 2 億 4,800 万人が B 型肝炎ウイルス (HBV) に慢性的に感染している。2015 年には、HBV 感染患者のうち 265,300 人が肝細胞癌 (HCC) で、371,100 人が肝硬変等の慢性肝疾患で、それぞれ死亡したと推計されている。HBV 感染患者の適切な治療方針の決定には、肝線維化の状態を正確に評価することが重要である。B 型慢性肝炎患者に対する核酸アナログ (NA) による抗ウイルス療法は、線維化を改善し肝硬変への進展を防ぎ、HCC のリスクを低下させる。しかしそれは HCC の発生を完全に抑制させるには至っておらず、肝線維化のモニタリングや発癌高リスク群の同定は依然として重要な課題である。

肝線維化を評価するための最適な方法は、正確で、再現性があり、線維化の程度に応じて変動するものであるべきである。肝生検は、肝線維化を直接評価することができる重要なモダリティであるが、患者や医師の受け入れやすさ、検者間のばらつき、コスト、侵襲性を考慮する必要がある。肝線維化の進行を推定できる血液バイオマーカーや画像診断技術等といった信頼性が高く侵襲性の低い検査のニーズは高い。

血清オートタキシン (ATX) は新規の肝線維化バイオマーカーである。ATX はヒトメラノーマ細胞培養の条件培地から最初に発見された分泌酵素であり、リゾホスファチジルコリンをリゾホスファチジン酸に変換する。循環中の ATX は肝類洞内皮細胞に速やかに取り込まれるものの肝線維化症例においてはそのクリアランスが低下し血中濃度が上昇する。血清 ATX 濃度は、C 型慢性肝炎、B 型慢性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、原発性胆汁性胆管炎等の様々な疾患において、肝線維化の進行に伴い上昇することが確認されている。しかしながら、B 型慢性肝炎患者における血清 ATX 濃度が NA による治療でどのように変化するかは未だ明らかとなっていない。そこで我々は、B 型慢性肝炎患者に NA を投与した際の血清 ATX の変化を解析し、その臨床的有用性について検討した。また、治療開始時点における血清 ATX の値が HCC 発生リスクの層別化に有用かどうかを検討するため、治療開始時点における HCC 発生の予測因子について解析を行った。

【方法】 後ろ向き研究として実施し、NA による治療を 2 年以上受けた B 型慢性肝炎患者を対象に、既存の診療情報の収集と保存血清を用いた ATX の測定を行い、解析を行った。除外基準として、1) C 型肝炎ウイルス又はヒト免疫不全ウイルスとの重複感染、2) 自己免疫性肝炎又は原発性胆汁性肝硬変、3) NA 開始時の急性肝不全、4) HBV 再活性化予防のための NA 投与開始、5) NA 開始時までの悪性腫瘍の既往 (HCC も含まれる)、6) NA 開始時までの肝移植の既往、7) NA 開始時のコルチコステロイド投与、8) 観察期間が 12 か月未満、を設定した。NA 開始前及び開始後の血清は測定まで -80°C で保存した。本研究は広島大学の倫理審査委員会により承認 (E-1336) され、ヘルシンキ宣言に従い実施された。

可能な症例では、NA 開始前に超音波ガイド下で経皮的肝生検を実施し、線維化の程度を既報に基づき決定した。肝生検を実施できない場合は、NA 開始前に FibroScan (Echosens 社、パリ、フランス) を用いて肝硬度を評価し、線維化の程度を貴法に基づき決定した。

血清 ATX 濃度は、ATX 抗原量を AIA-system (東ソー株式会社、東京、日本) を用いサンド

イッチ法により定量化することで測定した。ATX の正常上限値 (ULN) は、試薬の添付文書の記載に従った (すなわち、男性 0.910mg/L, 女性 1.270mg/L)。

【結果】 登録された 179 例の年齢中央値は 48 歳で、観察期間の中央値は 9.1 年であった。ATX の中央値は男性 1.159mg/L, 女性 1.498mg/L であり、既報のとおり女性で有意に高い結果であった。そこで、本研究においては ATX/ULN の比を算出し、以降の検討で主に用いた。

治療開始時の肝線維化ステージの情報を入手できた 118 例において、ATX/ULN は F2 以下で F3 以上よりも有意に低く、F1 で F2 以上よりも有意に低い結果であった。

ベースライン時における ATX/ULN は、他の非侵襲的線維化マーカー (APRI, FIB-4 index, 血小板数) や肝合成能の指標 (プロトロンビン時間, アルブミン) と相関を示した。

エンテカビル (ETV) 長期投与中の ATX と肝線維化指標の推移を調べた。B 型慢性肝炎患者の臨床経過は複雑であり、経過中に NA を変更した患者もいたため、初回治療として ETV を投与され、少なくとも 2 年間 ETV を服用していた 88 例 (男性 59 例, 女性 29 例) を解析した。年齢の中央値は 55 歳で、平均観察期間は 5.0 年であった。ETV 治療開始前、開始後 2 年, 3 年, 5 年, 10 年の時点の ATX, ATX/ULN, APRI, FIB-4 index を測定したところ、いずれの値も、治療開始後のすべてのポイントでベースラインよりも有意に低下していた (すべて $P < 0.05$)。投与開始後 2 年以降の各時点では、APRI と FIB-4 index は有意な低下を示さなかったが、ATX は各時点間でも有意差をもって低下を続けた (2 年 vs.3 年, 3 年 vs.5 年, 5 年 vs.10 年のすべて $P < 0.05$)。ATX/ULN も、投与開始後 5 年から 10 年の間では有意差を検出できなかったものの ($P = 0.068$)、投与開始後 5 年までの各時点間で有意差をもって低下を続けた (2 年 vs.3 年, 3 年 vs.5 年で $P < 0.05$)。治療期間中に 15 例 (男性 11 例, 女性 4 例) に HCC の発症が認められたが、HCC 発症時点での ATX の値はベースライン時よりも有意に低下していた。

本研究に登録された 179 例のうち 28 例 (男性 21 例, 女性 7 例) に HCC の発症が認められた。ベースライン時の臨床的特徴から、HCC 発症に関連する因子を解析した。単変量解析の結果、年齢 ($P < 0.001$)、血小板数 ($P = 0.006$)、アルカリホスファターゼ (ALP) ($P = 0.022$)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ ($P = 0.008$)、 α -フェトプロテイン ($P = 0.013$)、ATX/ULN ($P = 0.021$)、FIB-4 index ($P = 0.001$)、APRI ($P = 0.019$) が HCC 発症と有意に関連していた。これらの因子のうち、FIB-4 index と APRI は他の因子と重複する指標であるためそれらを除いたもので多変量解析を行ったところ、年齢 ≥ 47 歳 (HR 7.564, $P = 0.008$)、ALP > 474 (HR 3.403, $P = 0.021$)、ATX/ULN > 1.214 (HR 4.015, $P = 0.008$) が HCC の発症に関連する独立した因子であることが示された。発症の高リスク群をより容易に層別化するために、年齢と ATX/ULN を組み合わせて解析したところ、年齢 ≥ 47 歳以上かつ ATX/ULN > 1.214 の集団において 3 年後, 5 年後, 10 年後の累積 HCC 発生率はそれぞれ 10.4%, 17.7%, 32.7%であった。

【考察】 新たに同定された肝線維化のバイオマーカーである ATX の臨床的有用性は依然として明らかになっていない部分が多く、本研究により B 型慢性肝炎患者の治療開始時及び治療経過中の ATX を評価することでその意義を明らかにしようとした。その結果、ETV による治療で B 型慢性肝炎患者の血清 ATX 値は経時的に漸減し続けることが明らかとなり、また、NA によ

る治療開始時の ATX/ULN はその後の肝細胞癌発生リスクの層別化に有用であることが見出された。

ETV 長期投与中の B 型慢性肝炎患者の血清 ATX 値は経時的に低下を続け、他の肝線維化マーカーである FIB-4 index や APRI とは異なる挙動を示した。ATX は他の指標よりも直接的に肝線維化の程度の影響を受けるマーカーであることから、ETV による長期治療経過における肝線維化の持続的な改善をより鋭敏に検出できた可能性があるかと推察された。ただし、ATX は肝線維化だけでなく肝炎や肝再生とも関連している可能性があること等から、今後 NA 治療初期における変化等をより詳細に検討する必要がある。

発癌リスク因子の検討において、治療開始時点の年齢と ATX/ULN によりその後の HCC 発生リスクの層別化を行うことができた。他に多変量解析で抽出された ALP については、肝発癌との関連を報告した論文もいくつか認められるものの、臨床現場や臨床研究において必ずしも HCC 発生と直接結びつけた検討はまだあまりなされておらず、さらなる調査が必要である。また、ATX と癌の進行との関連はしばしば議論になるが、今回の研究において ETV 長期投与中に HCC が発生した症例の HCC 診断時の血清 ATX 値はベースラインよりも有意に低下していたことから、血清 ATX 濃度の高い患者にその後の HCC 発生を多く認めたことについては、ATX の直接作用により発癌をきたしたと考えるよりも、背景肝の肝線維化の程度がそのまま HCC リスクを反映したものと解釈するほうが自然であると考えた。

この研究の限界として、いくつかの要素が挙げられる。男女間の ATX の差を埋めるために ATX/ULN を用いたが、より多くの症例数を集積し男女別の解析を行うほうが頑健である可能性がある。単一施設での研究であり、サンプル数が少ないことは限界のひとつである。HBe 抗原の有無別での解析も、サンプル数が少なく実施が困難であった。後ろ向き研究であり、Wisteria floribunda agglutinin 陽性 Mac-2 結合タンパク質、IV 型コラーゲン、ヒアルロン酸のような他の新規非侵襲的線維化マーカーについては、データが不足しており調査できなかった。同様に、脂肪肝合併の有無、BMI、耐糖能などのデータも入手できていない。

【結語】 ATX/ULN は ETV 治療中に徐々に有意な減少を示した。さらに、治療前の ATX/ULN と年齢を組み合わせることで、HCC 発生リスクが高い集団を層別化することができた。これらの結果は、NA 治療開始時点で HCC リスクが高い集団を特定すること及び長期治療経過中に綿密なフォローアップを行っていくことにおいて、ATX が有用なマーカーとなる可能性を示している。