

論 文 内 容 要 旨

題目 Novel des- $\gamma$ -carboxy prothrombin in serum for the diagnosis of hepatocellular carcinoma  
(肝細胞癌の診断における新たな血清 des- $\gamma$ -carboxy prothrombin)

著者 Takahiro Tanaka, Tatsuya Taniguchi, Katsutaka Sannomiya, Hidetaka Takenaka, Tetsu Tomonari, Koichi Okamoto, Shinji Kitamura, Toshiya Okahisa, Katsuyoshi Tamaki, Hiroaki Mikasa, Sadao Suzuki and Tetsuji Takayama

平成 25 年 7 月 22 日発行

Journal of Gastroenterology and Hepatology 第 28 卷 第 5 号  
1348 ページから 1355 ページに発表済

内容要旨

Des- $\gamma$ -carboxy prothrombin (DCP)は肝細胞癌の診断やスクリーニング、治療のモニタリングに用いられる腫瘍マーカーである。肝細胞癌の血清学的診断における DCP の感度は 39~81%、特異度は 68~97%と報告されている。DCP は活性のない不完全なプロトロンビンである。プロトロンビンは N 末端にカルボキシル化されたグルタミン酸 (Gla) を 10 個含む Gla ドメインを有する。プロトロンビン前駆体におけるグルタミン酸残基はカルボキシル化される過程において、 $\gamma$ -glutamylcarboxylase のビタミン K 依存性の酵素反応を必要とする。従って、ビタミン K 拮抗薬であるワルファリンの服用者においては血清 DCP は異常高値となる。同様に、閉塞性黄疸患者においてもビタミン K 欠乏を来たして血清 DCP 値は異常高値を示す。このように DCP の腫瘍マーカーとしての問題点は、ビタミン K 欠乏により偽陽性となることである。一方、最近 DCP に対する新しいモノクローナル抗体である P11 抗体と P16 抗体を用いた sandwich ECLIA 法が開発された。この ECLIA を用いることにより、肝細胞癌患者とワルファリン服用者の DCP を識別しうることが示唆された。しかし、これまでに肝細胞癌患者、肝硬変・慢性肝炎患者、閉塞性黄疸症例、ワルファリン服用者などを対象にこの ECLIA を用いて NX-DCP の有用性を調べた研究は報告されていない。

そこで本研究では肝細胞癌患者ならびに肝炎・肝硬変患者、ワルファリン服用者、閉塞性黄疸患者を対象に、従来の血清 DCP 値と NX-DCP 値を測定し、NX-DCP

## 様式(8)

と DCP/NX-DCP 比の有用性について検討した。また肝細胞癌患者とビタミン K 欠乏症例における DCP の抗原性の相違について明らかにした。

対象は、肝細胞癌患者 176 例、肝炎・肝硬変患者 61 例、閉塞性黄疸患者 12 例、ワルファリン服用者 10 例である。NX-DCP は DCP に対する新たなモノクローナル抗体である P11、P16 抗体を用いた sandwich ECLIA 法にて定量化した。従来の DCP は標準的な ECLIA 法により定量化した。また、アフィニティークロマトグラフィー法により肝細胞癌患者、閉塞性黄疸患者及びワルファリン服用者の血清より DCP を抽出し、各種 DCP 抗体を用いてウエスタンブロット法により抗原性の違いを検討した。

その結果、従来の血清 DCP 値は肝細胞癌患者、閉塞性黄疸患者、ワルファリン服用者のいずれにおいても高率に陽性であり、これまでの報告と合致する結果であった。一方、血清 NX-DCP 値はワルファリン服用者や閉塞性黄疸患者では高率に陽性であったが(それぞれ 100%、66.7%)、肝細胞癌患者では低率(36.4%)であった。そこで、従来の DCP 値と NX-DCP 値の比(DCP/NX-DCP 比)を算出したところ(cut off 値 1.4)、肝細胞癌患者の陽性率(59.1%)は肝炎・肝硬変患者(6.6%)、閉塞性黄疸患者(8.8%)、ワルファリン服用者(0%)に比べて有意に高い結果が得られた。また、ワルファリン服用者と閉塞性黄疸患者の DCP は、ウエスタンブロット解析により P11 抗体と P16 抗体と強く反応したが、肝細胞癌患者の DCP はわずかに反応するのみであった。さらに、P11 抗体及び P16 抗体を用いた免疫染色では、いずれもワルファリン服用者の剖検正常肝細胞と強く反応したが、肝細胞癌組織とはほとんど反応しなかった。

以上の結果より、DCP/NX-DCP 比は肝細胞癌の診断に有用であることが明らかとなった。また、肝細胞癌患者の DCP はビタミン K 欠乏症例の DCP とは抗原性が異なることが示された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1207 号	氏名	田中 貴大
審査委員	主査 泉 啓介 副査 島田 光生 副査 赤池 雅史		

題目 Novel des- $\gamma$ -carboxy prothrombin in serum for the diagnosis of hepatocellular carcinoma

(肝細胞癌の診断における新たな血清 des- $\gamma$ -carboxy prothrombin)

著者 Takahiro Tanaka, Tatsuya Taniguchi, Katsutaka Sannomiya, Hidetaka Takenaka, Tetsu Tomonari, Koichi Okamoto, Shinji Kitamura, Toshiya Okahisa, Katsuyoshi Tamaki, Hiroaki Mikasa, Sadao Suzuki and Tetsuji Takayama

平成 25 年 7 月 22 日発行

Journal of Gastroenterology and Hepatology 第 28 巻 第 5 号  
1348 ページから 1355 ページに発表済

(主任教授 高山哲治)

要旨 Des- $\gamma$ -carboxy prothrombin (DCP) は肝細胞癌の診断や治療のモニタリングに用いられる有用な腫瘍マーカーである。DCP は、凝固活性を持たない不完全型のプロトロンビンであり、肝細胞癌が無くてもビタミン K の欠乏により高値となる。従って、ビタミン K 拮抗薬であるワルファリンの服用や、閉塞性黄疸等のビタミン K 欠乏状態においても血清 DCP 値は上昇することが問題点として挙げられている。一方、最近 DCP に対する新しいモノクローナル抗体 (P11, P16) を用いた sandwich ECLIA 法が開発され

(NX-DCP)、これにより肝細胞癌患者とワルファリン服用者の DCP を識別しうることが示唆された。そこで申請者らは、肝細胞癌患者ならびに肝炎・肝硬変患者、ワルファリン服用者、閉塞性黄疸患者を対象に、従来の血清 DCP 値と NX-DCP 値を測定し、NX-DCP と DCP/NX-DCP 比の有用性について検討した。また、肝細胞癌患者とビタミン K 欠乏症例における DCP の抗原性の相違について検討した。得られた結果は以下の如くである。

- 1) 従来の血清 DCP 値は肝細胞癌患者、閉塞性黄疸患者、ワルファリン服用者のいずれにおいても高率に陽性であった。
- 2) 血清 NX-DCP 値はワルファリン服用者や閉塞性黄疸患者では高率に陽性であったが、肝細胞癌患者では有意に低かった。
- 3) 肝細胞癌患者における DCP/NX-DCP 比の陽性率は肝炎・肝硬変患者、閉塞性黄疸患者、ワルファリン服用者に比べて有意に高かった。
- 4) P11 及び P16 抗体を用いたウエスタンブロット解析では、ワルファリン服用者や閉塞性黄疸患者から得られた DCP は強く反応したが、肝細胞癌患者の DCP はわずかに反応するのみであった。
- 5) P11 抗体及び P16 抗体を用いた免疫染色では、ワルファリン服用者の剖検正常肝細胞は強く染色されたが、肝細胞癌組織はほとんど染色されなかった。

以上の結果より、従来の DCP に比べ DCP/NX-DCP 比は肝細胞癌の診断により有用であることが明らかとなった。また、肝細胞癌患者の DCP とビタミン K 欠乏症例の DCP は抗原性が異なることが示された。本研究は、今後の肝細胞癌の診断と治療の進歩に大きく寄与するものと考えられ、学位授与に値すると判定した。