

氏名(本籍)	まつ き やす ひこ 松 木 康 彦 (神奈川県)			
学位の種類	医 学 博 士			
学位記番号	博 甲 第 768 号			
学位授与年月日	平成 2 年 3 月 23 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	肝細胞癌における異常プロトロンビン (PIVKA-II) に関する臨床的および 基礎的検討 (dissertation 形式)			
主査	筑波大学教授	医学博士	小 磯 謙 吉	
副査	筑波大学教授	医学博士	阿 部 帥	
副査	筑波大学教授	医学博士	杉 田 良 樹	
副査	筑波大学教授	医学博士	滝 田 齋	
副査	筑波大学助教授	医学博士	藤 井 敬 二	

論 文 の 要 旨

肝で産出されるビタミンK（以下VK）依存性血液凝固物質であるプロトロンビンは、VK欠乏時においては、その前駆体のまま、血中に出現することが以前から知られていた。この前駆体は、異常プロトロンビンあるいは、PIVKA-II（Protein induced by Vitamin K absence or antagonist-II）などと呼ばれる。

ところが、Liebmanにより、肝細胞癌症例の血中より高率かつ高濃度の異常プロトロンビンが見出されて以来、肝細胞癌の腫瘍マーカーとしての意義が注目されるようになった。そこで、下記の目的で肝細胞癌と異常プロトロンビンに関し基礎的および臨床的検討を行なった。

〈本研究の目的〉

- 1) 肝細胞癌細胞が、異常プロトロンビンを生産するか否かを明らかにすることを目的とした。
- 2) 肝細胞癌における異常プロトロンビンの生産に関し、ビタミンKが与える影響を明らかにすることを目的とした。
- 3) 異常プロトロンビンが、肝細胞癌の腫瘍マーカーとしての臨床的意義を有するか否かを明らかにすることを目的とした。

〈対象および方法〉

異常プロトロンビンの測定は、抗異常プロトロンビンモノクローナル抗体を用いた enzyme-linked immunosorbent assay 法によった。

- 1) ヒト肝細胞癌由来培養細胞株による異常プロトロンビン産生に関する検討：ヒト肝細胞癌由来培養細胞株である PLC/PRF/5 細胞および HuH-1 細胞を含む各種培養細胞の培養液中の異常プロトロンビン濃度を測定した。さらに VK, 還元型 VK (活性型 VK) を培養液内に添加し, 培養液中の異常プロトロンビン濃度に与える影響につき検討した。
- 2) 免疫組織学的検討：ヒト肝細胞癌由来培養細胞 (PLC/PRF/5, HuH-1 細胞) およびヒト肝細胞癌組織, 肝硬変組織を対象に抗異常プロトロンビンモノクローナル抗体を一次抗体とする酵素抗体 avidin-biotin peroxidase complex 法を用い異常プロトロンビンの局在を検討した。
- 3) 異常プロトロンビンの臨床的意義に関する検討：肝細胞癌を含む各種疾患で血中異常プロトロンビン濃度を測定した。

〈結 果〉

細胞培養法における検討ではヒト肝細胞癌由来の培養細胞 (PLC/PRF/5 細胞, HuH-1 細胞) の培養液中より異常プロトロンビンが検出が示され, これらの細胞による異常プロトロンビンの産生が示された。培養液中に VK を添加すると異常プロトロンビンの産生は抑制されたが, 高濃度の VK を添加しても異常プロトロンビンの産生は完全には抑制されなかった。還元型 VK を添加すると, 同量の VK を添加したときに比し, 有意 ($p < 0.05$) に異常プロトロンビンの産生は抑制された。免疫組織学的検討ではヒト肝細胞癌由来の培養細胞および肝細胞癌組織において染色が認められ, 肝細胞癌細胞による異常プロトロンビンの産生が免疫組織学的に示された。臨床的検討では肝細胞癌 83 例中 43 例 (51.8%) で, 0.1 AU/ml 以上の異常プロトロンビンが検出され, 他疾患に比し陽性率は高く, 高値例が多かった。血中 α -fetoprotein (AFP) 値と異常プロトロンビン値を組み合わせると, 肝細胞癌の診断率は, AFP 単独の場合の 38.6% から 66.3% への向上が認められた。肝硬変における, 擬陽性率は AFP の 38.6% に比し, 異常プロトロンビンは 4% にすぎなかった。また, 肝細胞癌の発症および治療の臨床経過と平行して異常プロトロンビン値が変動する例が観察された。肝細胞癌の経過中に VK を投与すると, 血中異常プロトロンビンは減少ないし陰性化する傾向が認められたが, 減少の割合は症例により異なる傾向があった。

〈考 察〉

異常プロトロンビンが, ヒト肝細胞癌細胞から産生されることが細胞培養実験および免疫組織学的検討により明らかにされた。基礎的および臨床的検討において VK 投与により肝細胞癌における異常プロトロンビンの産生が抑制されることが示された。臨床的に, ビタミン K 投与時の影響に注意すれば, 異常プロトロンビンは肝細胞癌患者の血中に高い特異性をもって検出され, 肝細胞癌の新しい腫瘍マーカーとして, その診断および経過観察上, 極めて有用性が高いものと考えられた。

審 査 の 要 旨

本論文は肝細胞癌における新しい腫瘍マーカーとして異常プロトロンビン (PIVKA II) に注目し, その基礎的検討より, 臨床上の有用性について取り組んだものである。その研究成果として異常プ

ロトロンピンは肝細胞癌の診断のみならずその予後を判定する上でも優れた腫瘍マーカーであることを明らかにしている。

この研究は肝細胞癌の診断，治療という臨床の場で利用でき，今後の診療の上で大きな貢献をなすものと期待できよう。

本研究はその着眼点の優れていることは無論，研究方法などにおいても論文提出者の独創性と高度な知識が生かされており，今後この方面における研究者としての大成が十分期待できる。

よって，著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格があるものとみとめる。