

(第7号様式)

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	竹治 智
審査委員	主査 薬師神 芳洋 副査 高田 泰次 副査 大沼 裕 副査 茂木 正樹 副査 石前 峰斉

論文名 P-11 と P-16 抗体による血清 PIVKA-II 測定 of 肝細胞癌に対する臨床的意義

審査結果の要旨 (2,000 字以内)

**[研究の背景と目的]** PIVKA-II (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist-II) は、肝で産生されるプロトロンビン (血液凝固第 II 因子) の N 末端 Gla 領域の 10 個の Gla 残基の全部または一部が Glu 残基である異常プロトロンビンである。担癌 (肝細胞癌; HCC) 状態で上昇する事から、MU-3 抗体 (グルタミン酸 (Glu) 残基数が主に 9 から 10 個の N 末端を認識) を用い、HCC に関する腫瘍マーカーとして日常診療で頻用されている。一方、2 種類のモノクローナル抗体 (P-11 と P-16) を同時に用いることで、ビタミン K 欠乏状態で優位に出現する Glu 残基数の少ない PIVKA-II (NX-PVKA) の測定が可能である。申請者は、血清 NX-PVKA の HCC における臨床的意義を明らかにすることを目的に本研究を行った。

**[材料と方法]** 2001 年から 2010 年の 10 年間に HCC に対する初回治療目的で愛媛大学医学部附属病院第 3 内科に入院した、ワーファリン内服歴のない 197 名の肝癌患者を対象とした。治療開始前に採血し -80°C で凍結保存された血清を用い、従来の AFP や PIVKA-II、NX-PVKA 等の腫瘍マーカーを測定し、患者側の臨床因子として生化学検査との関連を評価した。従来の PIVKA-II は、MU-3 抗 PIVKA-II モノクローナル抗体を用い、全自動電気化学発光免疫測定装置 Picolumi III を用いて測定した。NX-PVKA は、血清 50 $\mu$ L に 1mg/mL の P-16 抗体固相磁気ビーズ 25 $\mu$ L と 1 $\mu$ g/mL のルテニウム標識 P-11 抗体液 150 $\mu$ L を加え、30°C で 9 分間反応させ Picolumi III を用いて測定した。HCC の腫瘍因子として、造影 CT あるいは MRI 検査による画像診断を基に、HCC の最大腫瘍径、腫瘍個数、門脈浸潤の有無を測定した。生存分析には Kaplan-Meier 法および log-rank 検定を、生存期間に関する多変量解析には Cox 比例 hazard モデルを用いた。また、各種

瘍マーカーと臨床因子との関連について、Stepwise 法を用いた重回帰分析を行った。なお、本研究は愛媛大学病院臨床研究倫理審査委員会にて実施が承認された（愛大医病倫 1005004 号，UMI N 登録番号 000007196）。

**[結果と考察]** 腫瘍マーカーでは、NX-PVKA が最も有意に予後（全生存期間）と相関した（hazard 比=81.32;  $p<0.0001$ ）。また NX-PVKA 高値群（ $\geq 100\text{mAU/mL}$ ）は低値群（ $<100\text{mAU/mL}$ ）と比べ有意に全生存期間を短縮した（ $p<0.0001$ ）。NX-PVKA 高値群が予後不良である現象は、肝予備能（Child-Pugh 分類）別、あるいは HCC の臨床病期別の解析でも統計的に有意であった。NX-PVKA（log NX-PVKA）と臨床因子の関連について検討したところ、血小板数（ $p=0.0013$ ）、プロトロンビン時間（ $p=0.0065$ ）、CRP（ $p=0.0105$ ）、性差（ $p=0.0256$ ）、HCC 腫瘍因子（最大腫瘍径（ $p<0.0001$ ）、腫瘍個数（ $p=0.0002$ ）、門脈浸潤（ $p=0.0284$ ））と有意に相関した。全生存期間と有意に相関する臨床因子、および NX-PVKA を独立変数とし risk of mortality from hepatocellular carcinoma（ROM）スコアを導出した。

$$\text{ROM スコア} = 0.654 \times (1:\text{male}, 0:\text{female}) - 0.804 \times \text{Albumin (g/dL)} + 0.0043 \times \gamma\text{-GTP (U/L)} \\ - 0.0102 \times \text{LAP (U/L)} + 0.317 \times \text{CRP (mg/dL)} + 0.00135 \times \text{hyaluronic acid} \\ (\text{ng/mL}) + 0.868 \times \log \text{NX-PVKA (mAU/mL)}.$$

更に、ROM スコアと実際の生存との関連を示す指標である c-index は 0.816 であることから、HCC 患者の予後が、「 $\log(\text{全生存期間 [日]}) = 6.311 - 0.529 \times \text{ROM スコア}$ 」として推定しえる（ $r=0.644$ ,  $p<0.0001$ ）と考えられた（「ROM スコア及び肝細胞癌患者の客観的な予後予測方法」として特許出願中；特願 2012-273601）。以上より、NX-PVKA は HCC 患者の予後を最も強く反映する腫瘍マーカーとして同定された。また、NX-PVKA は HCC 腫瘍因子とともに背景肝の慢性肝障害における肝予備能も反映していた。更に、臨床検査のみで求められる ROM スコアは、正確に予後を予測する臨床指標と考えられた。

**[結論]** NX-PVKA は、肝細胞癌の予後を反映する腫瘍マーカーである。また NX-PVKA を用いて導出した予後予測式 ROM スコアは有用な治療指標と成り得る。

2013 年 7 月 24 日に公開審査を開催した。申請者は明快に本研究内容を報告した。その後、審査員との活発な討論を行った。主に質疑された点は、本研究を遂行し総括するに当たり、申請者が PIVKA-II や NX-PVKA、それらの意義に対して十分な知識を有しているかという点、更に申請者が行った本研究の妥当性と意義についてである。本研究について質疑された点は、1) ビタミン K 欠乏状態や NX-PIVKA の産生と肝がんとの関連、2) NX-PVKA の非がん患者での陽性率と上昇の意義、3) 本研究の肝がん患者では様々な治療が施行されていることから、治療法の選択が結論にバイアスを生じた可能性が無かったか、4) この研究内容を如何に評価して、今後の本研究の進展につなげていくのか、等の内容である。申請者は質疑に適切に回答し、本研究の意義と成果を総括した。

以上より、本審査委員会は全員一致で本論文を学位授与に値するものと判断した。