
 シンポジウム

腫瘍マーカーの臨床的意義

Clinical Usefulness of Tumor Markers

第 485 回新潟医学会

日 時 平成 5 年 1 月 23 日 (土) 午後 2 時

会 場 新潟大学医学部 第 II 講義室

司 会 岡田正彦教授 (検査診断学)

演 者 青柳 豊 (内科学第三), 藍澤喜久雄 (外科学第一), 吉谷徳夫 (産科婦人科), 谷川俊貴 (泌尿器科), 大澤義弘 (小児外科), 木村 明 (新潟市民病院)

1) 消化器癌の腫瘍マーカー
アルファフェトプロテインを中心に

新潟大学医学部第三内科 青 柳 豊

The Usefulness of the Glycosylation Indices of Human alpha-fetoprotein
in the Differential Diagnosis of Neoplastic Diseases of the Liver

Yutaka AOYAGI

*The Third Department of Internal Medicine
Niigata University School of Medicine*

The degrees of fucosylation (fucosylation index) and glucosaminylation (glucosaminylation index) of alpha-fetoprotein (AFP) were determined in serum samples of 437 patients with hepatocellular carcinoma (HCC), 55 with carcinoma metastatic to the liver from digestive organs and 241 with benign liver diseases. The fucosylation index of AFP in all patients with HCC ($39 \pm 31\%$, mean \pm SD) was significantly higher ($p < 0.001$) than that in patients with benign liver diseases ($4 \pm 7\%$). When graded according to a combination of tumor size and serum AFP concentration, 29 patients with HCC had tumor diameters less than

 Reprint requests to: Yutaka AOYAGI,
The Third Department of Internal Medicine
Niigata University School of Medicine,
Niigata City, 951, JAPAN.

 別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通 1 番町 757
新潟大学医学部第三内科 青 柳 豊

3 cm and serum concentrations below 400 ng/ml (group B). Twenty-five patients had tumor diameters less than 2 cm and AFP below 1,000 ng/ml (group C) and 15 had tumor diameters less than 2 cm and AFP below 400 ng/ml (group D). The mean fucosylation indices of groups B, C and D were $32\pm 32\%$, $32\pm 30\%$ and $28\pm 30\%$, respectively (Fig. 1-B, C and D). These values were higher than those in patients with benign liver diseases with statistical significance. On the other hand, the glucosamylation index of AFP in patients with carcinoma metastatic to the liver ($39\pm 23\%$) was significantly higher than those in benign liver disease ($4\pm 4\%$) and HCC ($2\pm 6\%$). Thus, the combined information in these two glycosylation indices was useful for the differential diagnosis of neoplastic diseases of the liver.

Key words: alpha-fetoprotein, hepatocellular carcinoma, fucosylation index, glucosamylation index

肝細胞癌, アルファフェトプロテイン, フコシル化率, グルコサミニル化率

はじめに

我国における肝細胞癌(HCC)は、欧米に比し、肝炎ウイルスに起因する肝硬変がその発生母地として重要であり、特にC型肝炎ウイルスによるHCCの増加が問題となっている。この事実は、HCCの早期診断として、慢性肝疾患特に、肝硬変の経過観察が重要である事を示している。

本稿においては、HCCの血清学的診断法として広く臨床応用されているアルファフェトプロテイン(AFP)ならびに最近著者らが行っているフコシル化率測定 of 臨床的意義を中心に述べる^{1)~8)}。

A. 一般事項

1. カットオフ値の測定

肝硬変をはじめとする慢性肝疾患においても、しばしば軽度のAFP上昇は認められ、カットオフ値を20 ng/mlに設定した場合、特異性(specificity)の点で問題になる事が多い。自験例において、肝硬変の25%、慢性肝炎の17%に21 ng/ml以上の上昇を認めるが、カットオフ値を200 ng/mlとした場合は両疾患とも、その陽性率は5%以下に低下する。しかしながら、AFP値を、200ないし400 ng/ml以上を陽性とした場合、第10回原発性肝癌追跡調査によると、その陽性率は74%より45%と38%に低下し、結果的にそれぞれ29%、36%のHCC症例を見落とすこととなる。この事実は、単なるAFPの量的計測のみでは感度と特異性の両立がむずかしい事を示している。

2. 診断能

a. HCCにおける陽性率(sensitivity)

第10回全国原発性肝癌追跡調査報告による9,458例の解析では、診断時の血清AFP濃度が21 ng/ml以上を呈するHCCは74%であり、第8回ならびに第6回全国原発性肝癌追跡調査報告の陽性率77%、81%に比較して漸次低下傾向を示している。これは、腹部超音波検査などの画像診断の進歩により、早期のHCCの診断が可能になった事を示している。また、1,000 ng/ml以上の高値を示す症例の割合も、46%(6回)より28%(9回)に激減している。すなわち、現在では21~1,000 ng/mlの間に全HCC症例の44%が含まれ、良性肝疾患で認められる上昇との鑑別が問題となってくる。

3. AFP濃度によるHCCと良性肝疾患の鑑別

現在までに筆者らが経験した各種画像診断により腫瘍の存在が否定されたAFP陽性慢性肝疾患242例において、その90%が1,000 ng/ml以下の上昇にとどまっている。他方、AFP陽性HCC 437例中診断時のAFP濃度が1,000 ng/ml以下の症例は211であったが、両者を単なるAFPの絶対値より識別するラインを設定する事は困難であった。

b. 細小肝癌での陽性率

細小肝癌(最大径2 cm以下単発)におけるAFP陽性率は(21 ng/ml以上)第2回PIVKA-II全国研究会の集計によれば196例中122例(62%)が陽性を示しており、筆者らの成績でも約50%が陽性を示している。しかし、最近エコー下生検にて診断が可能になった高分化型微小肝癌では陽性率が低い報告が多い。

4. 経時的变化

一般に HCC 症例においては腫瘍の増大に伴って AFP 値が上昇する事が多く、同一例においては進展度の評価や治療効果判定の目安とする事が出来る。また、その経時的变化は良性肝疾患での上昇との鑑別の有力な手がかりとなる。しかしながら、早期の HCC においてはその経過中の腫瘍壊死に伴う自然低下を認める事があり⁵⁾、血清 AFP 値の低下がそく HCC の存在の否定には結びつかない点に注意を要する。

B. 糖鎖亜種による肝細胞癌ならびに良性肝疾患由来 AFP の分子識別

1. AFP の糖鎖構造

AFP にはN-グリコンド型二分岐複合型が基本糖鎖として結合しているが、著者らの研究では、糖鎖に親和

性を有するレクチン存在下の親和性電気泳動法により、HCC 由来 AFP において、レンズマメレクチン結合性亜種の有意な増加が認められた¹⁾。この亜種には基本糖鎖構造の還元末端側N-アセチルグルコサミンに α 1-6型のフコースが結合する事を見だし²⁾⁸⁾、総 AFP に対するフコース結合性 AFP の割合をフコシル化率として良性肝疾患ならびに HCC 由来 AFP の分子識別に役立てている³⁾⁻⁷⁾。他方、転移性肝癌などで上昇を示す AFP の糖鎖には、二分岐型に bisecting-N-アセチルグルコサミンが存在する事が知られている。また、最近の著者らの研究では三分岐型糖鎖の存在も確認しており⁸⁾、これらの糖鎖を有する AFP はコンカナバリン A に対して結合性を欠く事で識別され、いずれも trimannosyl core にグルコサミンが結合することによる修飾と考えられるのでグルコサミニル化率⁶⁾として

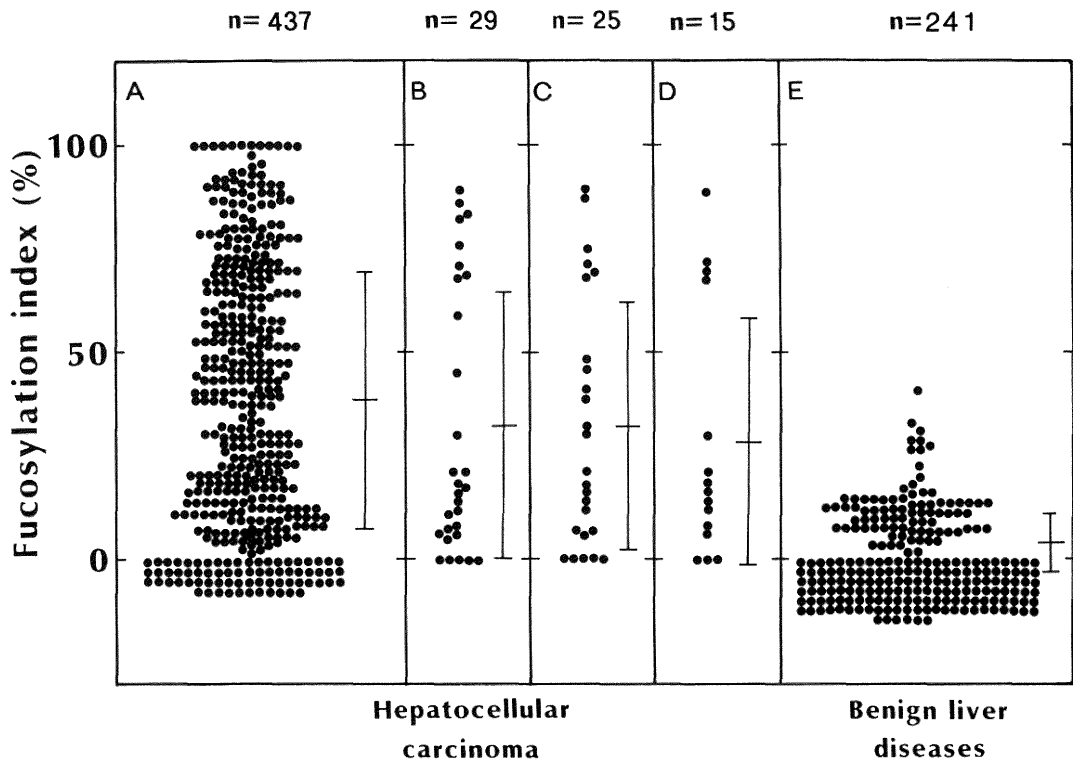


図 1 HCC 437 例 (A) と良性肝疾患 241 例 (E) におけるフコシル化率. 良性肝疾患群 ($4 \pm 7\%$, mean \pm SD) に比較して HCC 群 ($39 \pm 31\%$) の統計学的に有意な上昇を認める ($p < 0.001$). 早期の HCC である最大径 3 cm 以下で AFP 値 400 ng/ml 以下の 29 例 (B), 2 cm 以下で 1,000 ng/ml 以下の 25 例 (C) および 2 cm 以下で 400 ng/ml 以下の 15 例 (D) においても、フコシル化率は $32 \pm 32\%$, $32 \pm 30\%$, $28 \pm 30\%$ と有意な上昇を示した。

表1 AFP糖鎖構造とその疾患特異性

フコシル化率	グルコサミニル化率	糖鎖構造	対応疾患
低値	低値	biantennary complex type	良性肝疾患
高値	低値	biantennary complex type with fucosylation*	HCC
高値	高値	biantennary complex type with fucosylation and bisecting-glucosaminylation	消化器癌の肝転移

*: fucosylation at the innermost N-acetylglucosamine residue

表現する事を提唱している。

2. フコシル化率による HCC の診断能

図1に現在までに測定した HCC 437例(A)と良性肝疾患242例(B)のフコシル化率をプロットしたものを示すが、良性肝疾患群(4±7%, mean±SD)に比較して HCC 群(39±31%)の統計学的に有意な上昇を認める(p<0.001)。腫瘍径より分類した結果では、最大径5, 3, 2cm以下のフコシル化率はそれぞれ33±30%, 33±31%, 32±29%でいずれも良性肝疾患に比較して有意な上昇を示した。さらに、早期の HCC である最大径3cm以下で AFP 値400ng/ml以下の29例(C)、2cm以下で1,000ng/ml以下の25例(D)および2cm以下で400ng/ml以下の15例(E)においても、フコシル化率は32±32%, 32±30%, 28±30%と有意な上昇を示している³⁾⁵⁾。本検査での陽性率はフコシル化率の上限を良性肝疾患群の mean+2SD である18%とすると70%でその特異性、正診率はそれぞれ96%, 77%であった。

3. 前癌病変の検出法としての意義

筆者らは、肝硬変経過観察中に、AFPのフコシル化率が上昇を示しているにもかかわらず画像診断上、腫瘍の指摘が困難であり、その上昇の指摘より1~4年後初めて腫瘍の指摘が可能であった3例を経験している⁷⁾。4年を経過した後初めて指摘が可能であった症例では、肝左葉の最大径2cm以下の単発例で、いわゆる細小肝癌の範疇に入るものであった。これに対し、フコシル化率の上昇を認めない肝硬変5例においては、最長9年の prospective な経過観察を行っているが、肝細胞癌の発症は認められていない⁷⁾。

4. グルコサミニル化の臨床的意義⁶⁾

AFPのグルコサミニル化率は、HCC群(4±4%)、良性肝疾患群(2±6%)に比較して消化器癌の肝転移群(39±23%)群で有意な上昇を認め、HCCとAFP陽性転移性肝癌の鑑別に有用である。

5. AFP糖鎖の分類と対応疾患

フコシル化率ならびにグルコサミニル化率とレクチン結合性、およびその対応する主な糖鎖構造と疾患を表1に示す⁶⁾⁸⁾⁹⁾。癌化にともなう糖鎖のフコシル化と多分岐化が認められるが、最近の筆者らの研究では上記した主要な糖鎖変異以外にも量的には多くはないが、多様な変異の存在する結果を得ている。

おわりに

肝細胞癌早期診断における AFP の臨床的意義について概説したわけであるが、Abelev の発見以来広くその量的変化が臨床応用されてきた AFP も、その糖鎖構造の差による質的变化¹⁰⁾をとらえる段階に入ったと考えられる。また、著者らは同様の糖鎖変異が α₁ アンチトリプシンなどにも認められることを確認しており^{11)~13)}、これらの糖鎖の変化を認識する簡易測定系¹⁴⁾¹⁵⁾による一般化が期待される。

参考文献

- 1) Aoyagi, Y., Suzuki, Y., Isemura, M., Soga, K., Ozaki, T. and Ichida, F.: Differential reactivity of alpha-fetoprotein with lectins and evaluation of its usefulness in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Gann*, 75: 809~815, 1984.
- 2) Aoyagi, Y., Isemura, M., Yosizawa, Z., Suzuki, Y., Sekine, C., Ono, T. and Ichida, F.: Fucosylation of serum alpha-fetoprotein in patient with primary hepatocellular carcinoma. *Biochim. Biophys. Acta*, 830: 217~223, 1985.
- 3) Aoyagi, Y., Isemura, M., Suzuki, Y., Sekine, C., Soga, K., Ozaki, K. and Ichida, F.: Fucosylated alpha-fetoprotein as marker of early hepatocellular carcinoma. *Lancet*, ii: 1353~1354,

- 1985.
- 4) **Aoyagi, Y., Isemura, M., Suzuki, Y., Sekine, C., Soga, K., Ozaki, K. and Ichida, F.:** Change in fucosylation of alpha-fetoprotein on malignant transformation of liver cells. *Lancet*, **i**: 210, 1986.
 - 5) **Aoyagi, Y., Suzuki, Y., Isemura, M., Nomoto, M., Sekine, C., Igarashi, K. and Ichida, F.:** The fucosylation index of alpha-fetoprotein and its usefulness in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, **61**: 769~774, 1988.
 - 6) **Aoyagi, Y., Suzuki, Y., Igarashi, K., Saitoh, A., Isemura, M., Oguro, M., Yokota, T., Nomoto, M. and Asakura, H.:** The usefulness of the simultaneous determination of glucosaminylation and fucosylation indices of alpha-fetoprotein in the differential diagnosis of neoplastic diseases of the liver. *Cancer*, **67**: 2390~2394, 1991.
 - 7) **Aoyagi, Y., Saitoh, A., Suzuki, Y., Igarashi, K., Oguro, M., Yokota, T., Mori, S., Suda, T., Isemura, M. and Asakura, H.:** Fucosylation index of alpha-fetoprotein, a possible aid in early recognition of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology*, **17**: 50~52, 1993.
 - 8) **Aoyagi, Y., Suzuki, Y., Igarashi, K., Saitoh, A., Oguro, M., Yokota, T., Mori, S., Suda, T., Isemura, M. and Asakura, H.:** Carbohydrate structures of human alpha-fetoprotein of patients with hepatocellular carcinoma: Presence of fucosylated and non-fucosylated triantennary glycans. *Brit. J. Cancer* **67**: 486~492, 1993.
 - 9) **Aoyagi, Y., Suzuki, Y., Igarashi, K., Yokota, T., Mori, S., Suda, T., Isemura, M. and Asakura, H.:** Highly enhanced fucosylation of alpha-fetoprotein in patients with germ cell tumor. *Cancer*, **72**: 615~618, 1993.
 - 10) **Aoyagi, Y.:** Molecular discrimination between alpha-fetoprotein from patients with hepatocellular carcinoma and nonneoplastic liver diseases by their carbohydrate structures. Invited Review Article. *Int. J. Oncology*, **4**: 369~383, 1994.
 - 11) **Sekine, C., Aoyagi, Y., Suzuki, Y. and Ichida, F.:** The reactivity of alpha-1-antitrypsin with *Lens culinaris* agglutinin and its usefulness in the diagnosis of neoplastic diseases of the liver. *Brit. J. Cancer*, **56**: 371~375, 1987.
 - 12) **Saitoh, A., Aoyagi, Y., Oguro, M., Igarashi, K., Yokota, T., Mori, S., Susa, T., Suzuki, Y., Sekine, C., Kamimura, T. and Asakura, H.:** Structural analysis on the sugar chains of alpha-1-antitrypsin from the patients with hepatocellular carcinoma. *Int. Hepatol. Commun.* **1**: 5~10, 1993.
 - 13) **Saitoh, A., Aoyagi, Y. and Asakura, H.:** Structural analysis on the sugar chains of alpha-1-antitrypsin: Presence of fucosylated biantennary glycan in hepatocellular carcinoma. *Arch. Biochem Biophys.* **303**: 281~287, 1993.
 - 14) **Suzuki, Y., Aoyagi, Y., Muramatsu, M., Isemura, M. and Ichida, F.:** Close topographical relationship in alpha-fetoprotein (AFP) between a *lens culinaris* binding glycan and the epitope recognized by AFP-reactive monoclonal antibody, 18H4. *Brit. J. Cancer*, **55**: 147~152, 1987.
 - 15) **Suzuki, Y., Aoyagi, Y., Muramatsu, M., Igarashi, K., Saitoh, A., Oguro, M., Isemura, M. and Asakura, H.:** A lectin-based monoclonal enzyme immunoassay to distinguish fucosylated and non-fucosylated alpha-fetoprotein molecular variants. *Ann. Clin. Biochem.* **27**: 121~128, 1990.