

肝細胞癌診断における血中 AFP, PIVKA-II

KMO1同時測定の意義

神戸大学医学部第1外科

植田 智樹 宇佐美 真 安田 一朗 荻野 充利
笠原 宏 大柳 治正 斎藤 洋一

肝細胞癌35例, それ以外の肝疾患27例, その他の疾患8例の70例を用いて, 血中 PIVK-II, KMO1, AFP 値を測定し, その診断能に関して臨床的検討を行った. 肝細胞癌診断の sensitivity は, PIVKA-II, KMO1, AFP のそれぞれが, 40.4%, 51.4%, 65.7%で, specificity は, 97.1%, 71.4%, 91.4%であった. 各腫瘍マーカー間には, いずれも有意な相関はなく, それぞれ独立したマーカーであると考えられた. そこで, 切除可能症例のスクリーニングを目的として, combination assay を検討すると, sensitivity は, 40.0%から85.7%に, 切除例においても, 29.4%から82.4%に改善し, PIVKA-II, KMO1, AFP の combination assay はスクリーニングとして有効と考えられた. 以上, 肝細胞癌診断における血中 PIVKA-II, KMO1, AFP の測定は有用と考えられた.

Key words: alpha-fetoprotein, protein induced by vitamin K absence or antagonist-II, KMO1, screening test for hepatocellular carcinoma

緒 言

肝細胞癌の腫瘍マーカーとしては, Alpha-fetoprotein (以下, AFP) が感受性が高く, 有用とされている^{1)~3)}. しかし, AFP 陰性の肝細胞癌も27.6%存在し, 細小肝癌での陽性率も低い⁴⁾. また, 本邦の肝細胞癌では80%に AFP 軽度上昇を示しうる肝硬変を併存しており, 肝癌の high risk group の中から肝細胞癌を早期発見するためには, より有用な腫瘍マーカーの出現が望まれる. それには, さらに特異性の高い新たな腫瘍マーカーの導入と同時に, 既存のマーカーの複数の組合せにより, 診断能を高めることが肝要と考えられる.

今回, われわれは, AFP に加え, 新しい腫瘍マーカーとして注目されている異常プロトロンビン (protein induced by Vitamin K absence or antagonist-II; 以下, PIVKA-II) および, 当教室で開発したマーカーである KMO1^{5)~11)} を, 同一患者の検体を用いて測定し, 診断的意義の比較検討とともに, それらの combination assay の検討を行ったので報告する.

対象と方法

神戸大学第1外科に入院した肝疾患62例と, その他の疾患8例の70例を用いた (Table 1).

測定検体は早朝空腹時に採取した血液より遠心分離した血清と, 同様にして分離したヘパリン化血漿を-20℃に保存し, 測定に用いた. AFP は血清を用いて, RIA 固相法 (boots celltech diagnostics limited 社製 スクロセップ AFP キット) により測定し, PIVKA-II

Table 1 Cases

Hepatocellular carcinoma (HCC)	35
Cholangiocarcinoma	2
Liver cirrhosis	18
Other benign liver disease	
Cyst	2
Hemangioma	2
Abscess	2
Hepatolithiasis	3
Other malignant disease	
Esophageal cancer	2
Colon cancer	1
Other benign disease	
Cholelithiasis	1
Idiopathic portal hypertension	2

Total 70 Cases

Fig. 2 Levels of plasma PIVKA-II in various diseases
 () : Case number, ○ : Cases with hepatectomy, ● : Cases without hepatectomy

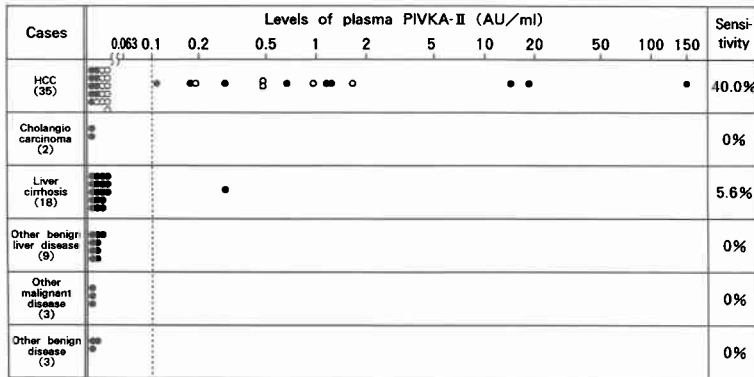


Fig. 3 Levels of plasma KMO1 in various diseases
 () : Case number, ○ : Cases with hepatectomy, ● : Cases without hepatectomy

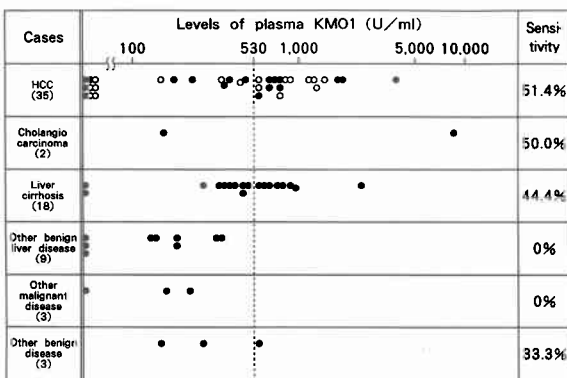
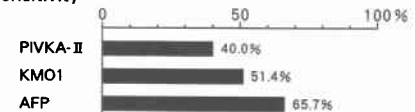
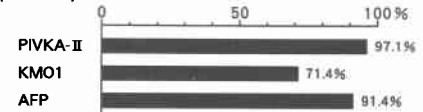


Fig. 4 Diagnostic accuracy of each tumor marker in HCC patients

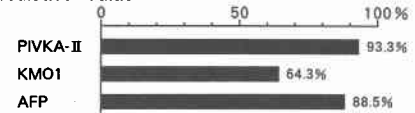
1. Sensitivity



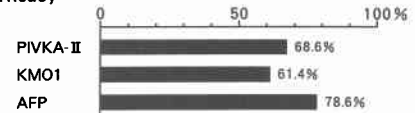
2. Specificity



3. Predictive Value



4. Efficacy



specificity には変化はなく, predictive value の著明な低下も認めなかった. efficacy においては, いずれのマーカーも軽度上昇していた (Fig. 5).

3) AFP 値と腫瘍径, Edmondson 分類およびその他の背景因子との関係

腫瘍径との関係では, 腫瘍径を4cm 以上の症例と4cm 未満の症例に分けて関係をみてみると, 4cm 以上の21例で AFP 陽性例は14例であり, その陽性率は66.7%, 4cm 未満の症例での AFP 陽性率は58.3%で, 4cm 以上の症例で AFP 陽性率が高い傾向にあったが, 有意な差はなかった (Fig. 6).

切除例において Edmondson 分類との関係では, Edmondson II の9例中 AFP 陽性例は4例であるのに対し, Edmondson III は4例すべて AFP 陽性を示していた (Fig. 9). その他の背景因子との間に明らかな

関係は認めなかった.

4) PIVKA-II 値と腫瘍径, Edmondson 分類およびその他の背景因子との関係

腫瘍径4cm 以上の症例では21例中11例が陽性で, 4cm 未満の症例では12例中1例のみが陽性であり, 4cm 以上の症例で有意に PIVKA-II 陽性例が多かった (Fig. 7, Table 3).

また, PIVKA-II 値と Edmondson 分類との関係を見たが, 明らかな関係は認められなかった (Fig. 10).

その他, 年齢・併存肝病変・黄疸の有無との間に,

Fig. 5 Diagnostic accuracy of each tumor marker in resectable HCC cases

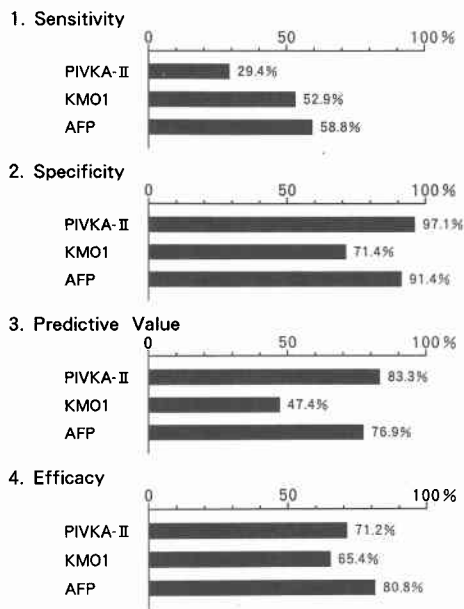


Fig. 6 Levels of serum AFP in tumor size (n=33)

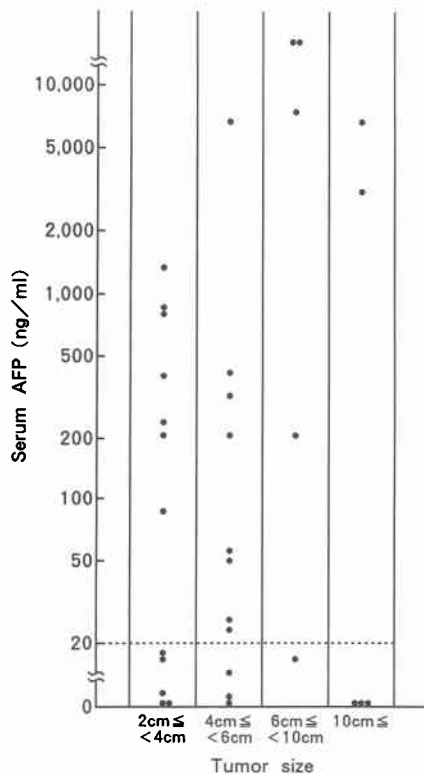


Fig. 7 Levels of plasma PIVKA-II in tumor size (n=33)

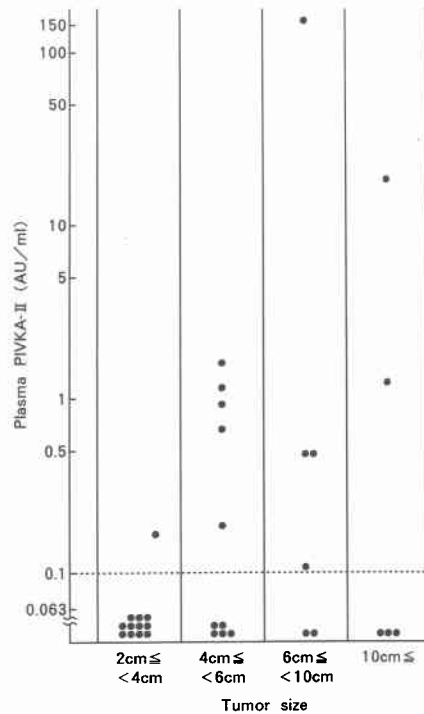


Table 2 Diagnostic accuracy in combination assay

Combination of tumor markers	Sensitivity		Specificity
	All HCC	Resected HCC	
PIVKA-II	40.0% (14/35)	29.4% (5/17)	97.1% (34/35)
PIVKA-II and/or AFP	77.1% (27/35)	70.6% (12/17)	88.6% (31/35)
PIVKA-II and/or AFP and/or KMO1	85.7% (30/35)	82.4% (14/17)	65.7% (23/35)

Table 3 Relationship between plasma PIVKA-II level and tumor size

		Tumor size (cm)	
		< 4	4 ≤
PIVKA-II level	positive	1	11
	negative	11	10

(P<0.05, χ^2 test)

一定した関連は認められなかった。

5) KMO1値と腫瘍径, Edmondson 分類およびその他の背景因子との関係

Fig. 8 Levels of plasma KMO1 in tumor size (n=33)

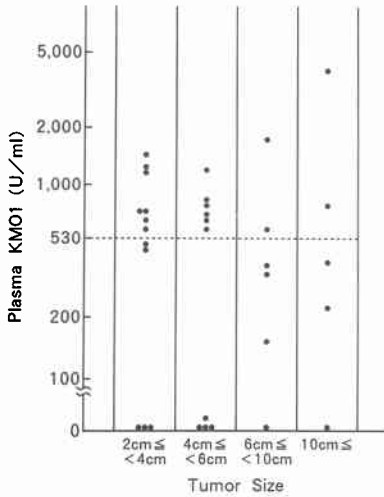


Fig. 9 Levels of serum AFP in grade of Edmondson classification (n=14)

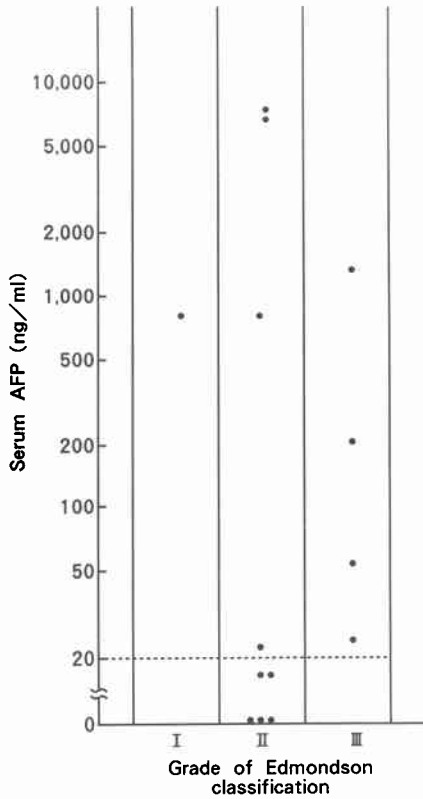
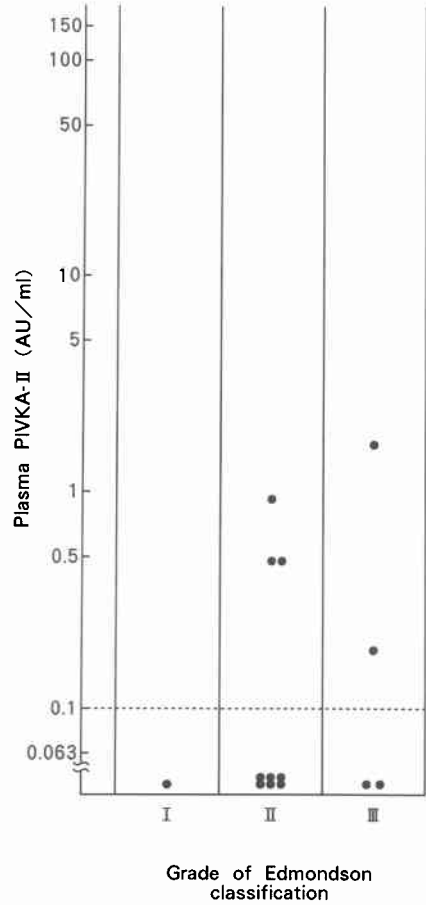


Fig. 10 Levels of plasma PIVKA-II in grade of Edmondson classification (n=14)



差はみられなかった (Fig. 8). Edmondson 分類との関係においても有意な関係は認めなかった (Fig. 11). また、その他の背景因子との間にも明らかな関係は認めなかった。

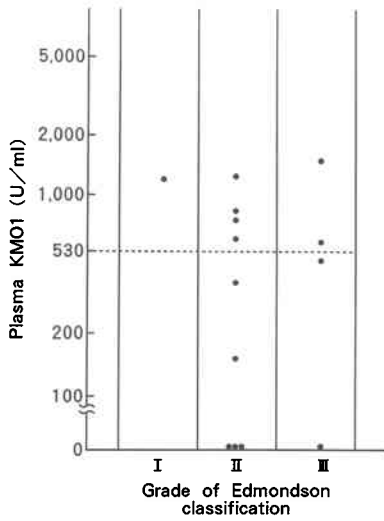
6) 各種瘍マーカーの相関

次に、それぞれの腫瘍マーカーについて肝細胞癌での相関を調べたが、AFP と PIVKA-II との相関係数は $r=0.22778$ 、PIVKA-II と KMO1 との相関係数は $r=-0.00872$ 、AFP と KMO1 との相関係数は $r=-0.16032$ であり、いずれも有意な相関は認めず、互いに独立であることが示された。また、AFP 低値で、PIVKA-II、KMO1 が陽性である症例、PIVKA-II 低値で、KMO1 が陽性である症例が存在することが明らかとなった (Fig. 12).

7) 腫瘍マーカーの combination assay

腫瘍径について、4cm 以上の症例の KMO1 陽性例は 47.6%、4cm 未満の症例の陽性率は 58.3% で、有意な

Fig. 11 Levels of plasma KMO1 in grade of Edmondson classification (n=14)



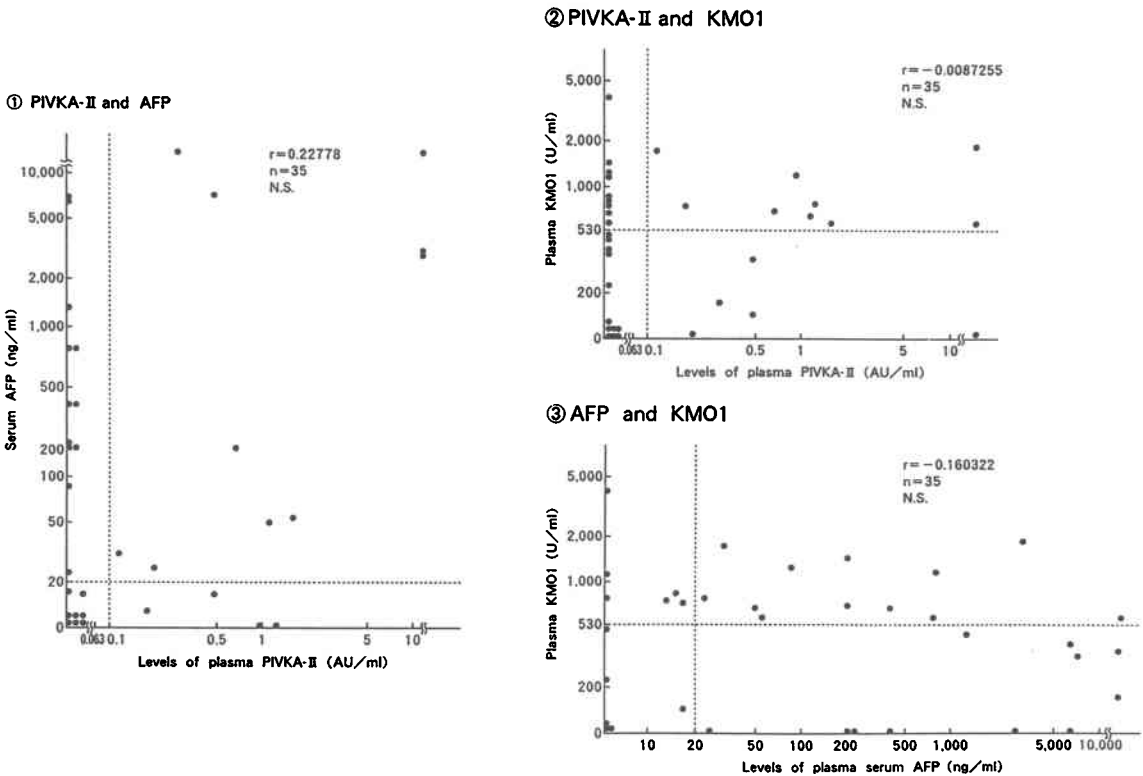
PIVKA-II を中心とした combination assay の sensitivity は、全肝細胞癌に対して、PIVKA-II と AFP の

組合せおよび PIVKA-II と AFP と KMO1 の組合せで、PIVKA-II 単独の 40.0% からそれぞれ 77.1%, 85.7% に改善された。他方、specificity は、PIVKA-II 単独での 97.1% から 65.7% に低下を認めた。切除例に関しても同様に、combination assay により、sensitivity は、29.4% からそれぞれ 70.6%, 82.4% と著明に改善された (Table 2)。

考 察

肝細胞癌の腫瘍マーカーとしては、従来 AFP が sensitivity が高く有用とされてきた。しかしながら、AFP は胎児性蛋白であり、肝細胞癌以外の胎児性腫瘍および肝細胞以外の組織でも産出されるため、その特異性についてはまだ問題を残している¹²⁾。また、肝硬変併存肝癌での sensitivity は、特に切除例では 40% との報告もあり、AFP の測定のみではスクリーニングとしては不十分と考えられる¹²⁾。そこで、今回われわれは、肝細胞癌のマーカーとして AFP 以外に、Liebman ら¹³⁾ が肝細胞癌に特異的に出現したとする異常プロトロンビン (PIVKA-II)、およびわれわれ^{5)~11)} が開発した糖鎖抗原の KMO1 につき同時に測定し、その診断的

Fig. 12 Correlation of each tumor marker



② PIVKA-II and KMO1

③ AFP and KMO1

意義を明らかにした。

プロトロンビンは、肝においてその前駆体のグルタミン酸残基がビタミン K 存在下にカルボキシル化を受け、Gla (γ -Carboxyglutamic Acid Residue) に転換されることによって産生されるが、ビタミン K 欠乏状態などで、このカルボキシル化反応が障害されると、プロトロンビン前駆体が血中に出現してくる。この異常プロトロンビンが PIVKA-II と呼ばれている^{14)~21)}。1984年、Liebman らが、肝細胞癌76例中69例(91%)に PIVKA-II の出現を確認し、さらに、51例(67%)で300ng/ml 以上の有意の高値を示したことより、PIVKA-II が肝細胞癌の新しいマーカーとして有用であると報告した¹³⁾。その後、藤山ら¹⁴⁾²⁰⁾は、肝細胞癌症例で PIVKA-II 値が有意に上昇し、AFP 低産生肝細胞癌の診断に有用であると述べ、以来、特異度の高い腫瘍マーカーとして注目されてきている。

今回の検討では、カットオフ値を0.1AU/ml とすると、肝細胞癌症例に対する PIVKA-II の sensitivity は40.0%で、AFP の65.7%より劣っており、服部の報告¹⁵⁾による全国集計の52.9% (558例中295例が、0.1AU/ml 以上)より低い結果であった。これは症例数の違いと切除例の占める割合の相違によるものと考えられる。しかし、その specificity は97.1%と3種の腫瘍マーカーの中で最も高く、predictive value も全肝細胞癌で93.3%、切除例で83.3%と高く、臨床的に診断確定の上で信頼性の高い腫瘍マーカーであることが示された。

腫瘍マーカーと腫瘍径との関係では、AFP および KMO1は有意な差を認めなかったのに対し、PIVKA-II は、4cm 以上の症例に有意に陽性例が多かった。なお、当教室の測定症例には2cm 以下の症例はなく、今回は検討できなかったが、藤山ら¹⁴⁾²⁰⁾は、2cm 以下のいわゆる small liver cancer 7例では、全例正常範囲にとどまったと報告している。PIVKA-II の末梢血中での検出には、ある程度の腫瘍の大きさが必要であると考えられ、small liver cancer の診断には限界があると思われた。しかし、手術可能症例19例中、腫瘍径6cm 以下の PIVKA-II 陽性例が4例認められ、切除可能な肝癌の診断にも PIVKA-II は有用と思われた。

切除例において、PIVKA-II 値と腫瘍分化度 (Edmondson 分類) との明らかな関係は認められなかった。肝細胞癌の中でも一般的にみられる Edmondson II および III の症例が今回の検討でも多く、今後も検討を加えてゆく必要がある。

PIVKA-II 値と年齢との間に一定した関連は認めず、また、肝硬変併存の有無による差は認めなかった。

また、黄疸の有無との関連については、黄疸著明例でビタミン K 欠乏を引き起こして PIVKA-II が陽性を示してくるといわれているが²¹⁾、今回の検討では黄疸著明例はなく検討できなかった。

次に、KMO1はわれわれの教室で、株化ヒト結腸癌細胞 COLO201 のマウスモノクローナル抗体を作製し開発した腫瘍マーカーであり、Carbohydrate Antigen 19-9 (以下、CA19-9) とは免疫学的に交叉性を示すことより、抗原決定基はきわめて類似していると思われる^{5)~7)}。しかし、CA19-9 のエピトープが lacto-N-fucopentaose II であるのに対し、KMO1のそれは lacto-N-fucopentaose II を main にし、それよりやや分子量の大きい他の2つの糖鎖を有する^{5)~7)}。また、CA19-9 の測定系は RIA 法しかないが、KMO1は reversed passive hemagglutination 法あるいは EIA 法で測定され、測定が容易である⁷⁾⁹⁾ことから、臨床的に陽性となる疾患の spectrum が異なり、肝細胞癌に対しても高い陽性率を示すとされている⁹⁾。今回も KMO1は全肝細胞癌に対し51.4%、切除例では52.9%と高い sensitivity を示し、PIVKA-II・AFP が陰性例中 KMO1が陽性を示す症例が3例認められ、肝細胞癌のスクリーニングとして、有用な腫瘍マーカーであると思われた。ただし、specificity および predictive value は PIVKA-II、AFP に比べ劣っており、肝細胞癌のマーカーとしては、KMO1は補助的な臨床的意義を有しているものと考えられた。

KMO1と腫瘍径との関係では、4cm 未満の症例で7例(58.3%)が陽性で、一方10cm 以上の5症例中、3例が陰性で特に腫瘍の大きさと有意な関係は認められなかった。また Edmondson 分類およびその他の背景因子との一定した関係はみられなかった。

各腫瘍マーカーについて相関をみても、有意な相関は認められず、それぞれ固有の腫瘍マーカーであると考えられた。そこで、スクリーニングの観点より、互いに独立の腫瘍マーカーである PIVKA-II、KMO1、AFP の combination assay を試み、その診断率を算出した。これによると、specificity は低下するものの、その sensitivity は著明に改善する。したがって、これら3種の腫瘍マーカーの combination assay は、術前の早期診断率の上昇につながるものと考えられた。肝癌 high risk group の画像によるスクリーニングの前に、採血によりこの combination assay を行うと、さらに

疑診として、近年発達した各種の画像診断装置を用いてより入念な精査が可能であり、診断に貢献すると考えられる。

術後の follow up に関しては、再発とその病態に合わせて変化する腫瘍マーカーのパターンが異なることも考えられ、現在、症例を重ね検討中である。

文 献

- 1) Foli AK, Sherlock S, Adinolfi M: α^1 -fetoprotein in patients with liver disease. *Lancet* ii: 1267-1269, 1969
- 2) Okuda K, Kotoda K, Obata H et al: Clinical observations during a relatively early stage of hepatocellular carcinoma, with special reference to serum α -fetoprotein levels. *Gastroenterology* 69: 226-234, 1975
- 3) Endo Y, Kanai K, Iino S et al: Clinical significance of α -fetoprotein with special reference to primary cancer of the liver. *Cancer Res* 14: 67-78, 1973
- 4) Okuda K, Nakashima T, Obata H et al: Clinicopathological studies of minute hepatocellular carcinoma. Analysis of 20 cases, including 4 with hepatic resection. *Gastroenterology* 73: 109-115, 1977
- 5) 大柳治正, 石田常之, 上坂邦夫ほか: 新しいモノクローナル抗体で検出される腫瘍診断用の KM01 の特異性について. *日消病会誌* 82: 1572-1579, 1985
- 6) 大柳治正, 石田常之, 上坂邦夫ほか: 消化器癌診断用の新しいモノクローナル抗体 (KM01-antibody, KM02-antibody) とその応用. *日消病会誌* 82: 1748-1755, 1985
- 7) 大柳治正, 斎藤洋一, 奥村修一ほか: 新しい消化器癌腫瘍マーカー KM01 の EIA 測定法の開発と応用. *腫瘍* 1: 59-68, 1986
- 8) Ohyanagi H, Saitoh Y, Okumura S et al: A new monoclonal-antibody-defined tumor marker (KM01) for pancreatic carcinoma. *Mt Sinai J Med* 54: 393-400, 1987
- 9) 斎藤洋一, 大柳治正, 岡本英三ほか: RPHA 法による新しい腫瘍マーカー KM01 の臨床応用. *診断と治療* 74: 2079-2084, 1986
- 10) Kano Y, Taniguchi T, Uemura Y et al: Characterization of an antigen defined by monoclonal antibody KM01. *Hybridoma* 9: 363-375, 1990
- 11) 奥村修一, 大柳治正, 斎藤洋一: 腫瘍マーカー KM01 の腫瘍診断への応用. *日臨* 44: 1834-1842, 1986
- 12) 若林時夫: 肝細胞癌における各種腫瘍マーカーの診断能に関する研究—特に AFP 陰性例と各進行度における検討を中心に—. *肝臓* 24: 766-775, 1983
- 13) Liebman HA, Furie BC, Tong MJ et al: Des- γ -carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 310: 1427-1431, 1984
- 14) 藤山重俊: 肝細胞癌と異常プロトロンビン. *消化器科* 5: 55-64, 1986
- 15) 服部 信: 肝細胞癌における異常プロトロンビンの臨床的評価. *臨と研* 65: 941-950, 1988
- 16) 堀江 裕, 応儀長子, 平山千里: 肝細胞癌の診断のすすめ方. *臨と研* 65: 1728-1731, 1988
- 17) 松木康彦, 三田村圭二, 山口高史ほか: 肝細胞癌における異常プロトロンビン (PIVKA-II) とその変動. *肝臓* 28: 1073-1079, 1987
- 18) 奥田博明, 中西敏己, 古川隆二ほか: 肝細胞癌と異常プロトロンビン PIVKA-II. *肝・胆・膵* 14: 759-766, 1987
- 19) 多々 尚, 香川恵造, 疋田 宇ほか: 血漿 PIVKA-II の臨床的意義に関する研究. *癌の臨* 35: 564-570, 1989
- 20) Fujiyama S, Morishita T, Hasiguchi O et al: Plasma abnormal prothrombin (des- γ -carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 61: 1621-1628, 1988
- 21) Ganrot PO, Nilehn JE: Synthesis of an abnormal prothrombin in malnutrition and biliary obstruction and during dicumarol treatment. *Scand J Clin Lab Invest* 28: 245-249, 1971

Combination Assay of Alpha-fetoprotein, Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist-II and KMO1 for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma

Tomoki Ueda, Makoto Usami, Ichiro Yasuda, Mitsutoshi Ogino, Hiroshi Kasahara,
Harumasa Ohyanagi and Yoichi Saito
First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine

Blood levels of PIVKA-II, KMO1 and AFP were measured and evaluated in 70 patients including 35 with hepatocellular carcinoma (HCC), 18 with liver cirrhosis and 6 with extrahepatic disease. The sensitivity and

specificity were 40.4% and 97.1% for PIVKA-II, 51.4% and 71.4% for KMO1 and 65.7% and 91.4% for AFP respectively. There were no statistical significant correlations among the tumor markers, showing that each marker is independent. The combination assay of PIVKA-II, KMO1 and AFP was evaluated for screening HCC cases. The sensitivity was improved to 85.7% for HCC cases and to 82.4% for cases of resectable HCC. It was concluded that measurement of PIVKA-II, KMO1, AFP and of the combination of these markers is useful for the diagnosis of HCC.

Reprint requests: Tomoki Ueda First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine
7-5-2 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe, 650 JAPAN
