

肝細胞癌における腫瘍径とPIVKA-IIの解析学的検討

片山 俊郎 馬場 茂明¹⁾

Analytical Study on the Expression of Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist II and the Growth Size in Hepatocellular Carcinoma

Toshiro KATAYAMA, Shigeaki BABA¹⁾

Summary

Protein induced by vitamin K absence or antagonist II (PIVKA-II) is well known as tumor marker of hepatocellular carcinoma (HCC), and its diagnostic usefulness has been confirmed. Serum levels of tumor markers generally increase along with the increase of tumor size, and most HCCs at some stages are associated with the increase of PIVKA-II in the serum. A document is time series data of measured value of tumor size and serum PIVKA-II level of the patient that HCC was found.

The various attempted to model tumor growth and tumor marker increase during the treatment time interval as well as during its unperturbed state have been variations of density-limited kinetic equations. The exponential and logistic equations were popular models currently being employed to describe growth kinetics giving the time behavior of intrinsic tumor growth and its dose-response curve. All that had to be done was the plotting of the fitted exponential or logistic on the plot containing the time and serum PIVKA-II level data or tumor size data. The results emphasized the remarkable predictive ability of the model during an extended period of time in which the modest assumptions of the models were at least approximately true.

要 約

Protein induced by vitamin K absence or antagonist II (PIVKA-II) は肝細胞癌 (HCC) の腫瘍マーカーとして有名であり、この診断有用

性は確認されている。腫瘍マーカーの血清濃度は腫瘍サイズの増加とともに一般に増加し、病態に応じてHCCのほとんどは血清PIVKA-IIの増加と関係している。資料は、HCCと診断された患者の腫瘍サイズと血清PIVKA-IIの測定値の時系列データである。

治療時間間隔すなわち病態安定期における腫瘍

1) 特定非営利活動法人 国際糖尿病教育学習研究所

の発育と腫瘍マーカーの増加に対し、飽和状態を持つ運動方程式の変動としてのモデルの解析を試みた。指数方程式とロジスティック方程式は、内因性腫瘍の発育とその反応曲線の時間的変動を記述する最も一般的な生長カインेटイクスモデルであり、血清PIVKA-IIのデータ或いは腫瘍サイズのデータの時系列的プロットに指数方程式の時系列変動とロジスティック方程式の時系列変動をプロットし、その適合度を判定した。結果は、肝細胞癌の増殖システムの仮定のもとで記述されたモデルが定性的に成り立つ時間範囲において、モデルの有用性が示唆された。

はじめに

PIVKA-IIは、血液凝固因子の第II因子のPIVKA (protein induced by Vitamin K absence or antagonist) あるいはdes- γ -carboxy prothrombin (DCP) であり、ビタミンKの吸収障害、肝実質障害のみでなく、肝細胞癌における α -フェトプロテイン (AFP) に並ぶ代表的な腫瘍マーカーである。PIVKA-IIは、AFP値とのあいだにまったく相関がなく、AFP低値ないし陰性例の30%前後でPIVKA-IIの上昇が認められる。加えてPIVKA-IIは肝細胞癌で特異的に出現し、肝細胞癌での上昇は、肝癌細胞でのプロトロンビン前駆体の過剰産生が主因であるとされている。また、血中PIVKA-IIが高値を示す例では治療効果をよく反映し、AFPよりも速やかに正常域まで下降する。さらに、他の検査に先がけて再上昇することもあるため、再発の指標となる。^{1) 2)}

本研究では、肝細胞癌の増殖過程の時系列的变化とそれに伴うPIVKA-IIの血清レベルの時系列的变化がシステムモデルに適合するかどうかを検討するとともに、モデル解析より得られたロジスティック曲線の特徴を調べることを目的とした。³⁾

症 例

症例は、77歳、男性で、2001年3月胆石、胆嚢

炎発症により、CTスキャナを施行し、肝左葉に直径3.4cmの腫瘍を指摘され、精査加療目的にて通院した。発症時所見ではALP, γ -GTPの上昇を認め、腫瘍マーカーはAFP, PIVKA-IIともに異常値を示していた。2001年8月9日肝左葉切除術が施行され腫瘍が摘出された。摘出後、定期的に検査が実施され、CTスキャナとMRIを施行するとともに腫瘍マーカーである血清PIVKA-IIが測定された。摘出後血清PIVKA-IIは著しく減少したが基準値以下には下がらず、カットオフ値(40mAU/mL) 近辺を推移した。2002年1月より血清PIVKA-IIの軽度上昇を認め、3月に漸近的な増加傾向を示した。この時期の検査所見では、ALP, γ -GTPおよび腫瘍マーカーであるAFPの血清レベルは基準値レベルであり、CTスキャナとMRIにも腫瘍を指摘するだけの異常所見は認められなかった。2002年4月に血清PIVKA-IIの測定値の増加とともに、ダイナミックMRIを施行したところ、肝右葉の肝動脈近傍に数箇所の腫瘍巣の疑いが認められた。2002年7月16日に経皮的肝灌流術が施行された。施行後、PIVKA-IIの血清レベルは漸近的に減少し、健常者の基準値以下の17mAU/mLとなり、定常状態を推移している。

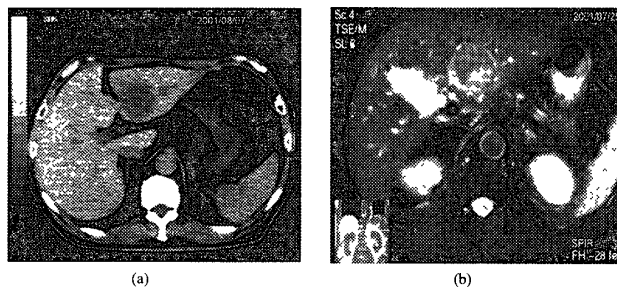


Fig.1 The image data for Hepatocellular Carcinoma before Surgical resection (a) CT image, (b) MR image

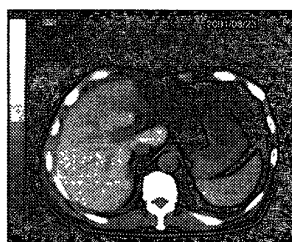


Fig 2 The image data for Hepatocellular Carcinoma after Surgical resection

本研究の資料は、腫瘍が指摘された以降のCTスキャナとMRIの画像 (Fig. 1、Fig. 2) より計測された肝左葉の肝細胞癌の直径の時系列的变化 (Table 1) と腫瘍マーカーである血清PIVKA-IIの測定値の時系列的变化 (Table 2) である。

Table 1. Size of Hepatocellular Carcinoma

Date	Weeks	Diameter(cm)
March 19,2001	0	3.38
April 23,2001	3	3.42
July 18,2001	12	3.91
July 25,2001	13	4.04
August 7,2001	15	4.56

Table 2. Serum Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist II (PIVKA-II) levels

Date	PIVKA-II(mAU/mL)	Date	PIVKA-II(mAU/mL)
April 9,2001	4350	January 30,2002	61
April 23,2001	5730	February 20,2002	66
July 11,2001	8610	March 27,2002	164
August 9,2001	12200	May 23,2002	325
August 30,2001	164	June 17,2002	519
September 19,2001	95	July 4,2002	640
October 17,2001	45	July 16,2002	585
November 14,2001	47	July 23,2002	234
December 19,2001	45	July 30,2002	67
January 16,2002	62	August 6,2002	23
		August 13,2002	17

成長モデル

肝細胞癌の発生・進展状況は、慢性障害肝に生じた前癌細胞集団がクローナルな増殖傾向とともに結節形成をきたし、肝構築を大きく破壊することなく浸潤性に発育する小さな高分化型肝細胞癌を内包した結節内結節を経てより悪性度の増した早期肝細胞癌へと脱分化し、さらに、膨張性に発育しながら周囲の肝構築を破壊する進行性肝細胞癌へと進展していくといった多段階発癌様式をとる。この発生・進展状況に応じて、肝細胞癌の腫瘍マーカーであるAFP、PIVKA-IIの血清レベルも経時的に増加し、特にPIVKA-IIにおいては肝細胞癌のサイズと正の相関があるといわれている。^{4,5)}

ここで、肝細胞癌の多段階的発癌様式における数学モデルを考える。⁶⁾

1. 指数関数的変動モデル

時間 t における肝細胞癌のサイズ或いは血清PIVKA-IIの測定値を $y(t)$ とするとき、最も簡単なモデル式は

$$\frac{dy}{dt} = ry$$

となる。ここで、 r は $y(t)$ の増加或いは減少を規定するパラメータである。これより、

$$y(t) = y_0 e^{rt}$$

という指数的変動曲線が得られる。ここで、 y_0 は $t = 0$ における $y(t)$ の初期量 $y(0)$ である。

2. 飽和モデル

肝細胞癌の初期病変期においては癌細胞の分裂増殖速度はゆっくりとしているがやがて急増し、本格的な癌となる。肝細胞癌では、増殖過程において空間的な制限や栄養等の観点からの抑制、すなわち負のフィードバックがかかり細胞増殖が抑えられると考えられる。よって、指数関数的なシステムに抑制が加わった飽和モデルを考える。モデル式は

$$\frac{dy}{dt} = ry - \frac{r}{K} y^2$$

となる。ここで r は $y(t)$ の増加或いは減少を規定するパラメータであり、 K は肝細胞癌のサイズ或いは血清PIVKA-IIの測定値の最大値である。これより、

$$y = \frac{K}{1 + C \exp(-rt)}$$

というロジスティック曲線が得られる。ここで、 C は初期値に依存するパラメータである。

結 果

1. 肝細胞癌のサイズの時系列的变化

2001年3月19日から2001年8月7日までにMRI等で測定された肝細胞癌の平均直径の推移について、ロジスティック曲線へのあてはめを行った。

ロジスティック曲線の特定には、最大増殖値K、Kまでの相対増殖速度を決定するパラメータr、増殖時期を決定するパラメータCの3つを求めなければならない。そのため、収束計算による残差自乗和の最小化すなわち非線形最小二乗法により、パラメータK、r、Cを求めた。結果は

$$y = \frac{3.8}{1 + 567.8 \exp(-0.3765t)} + 3.38$$

となった。ロジスティック曲線へのあてはめは重回帰分析の相関係数が0.9959となり、危険率は1%以下であり、肝細胞癌の平均直径の時系列的变化はロジスティック曲線を用いて表すことが可能であることが示された (Fig. 3)。

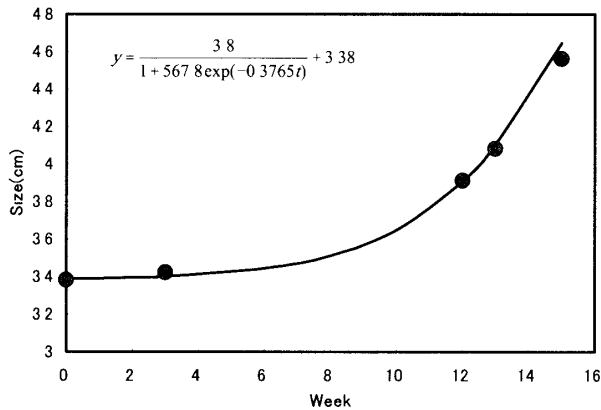


Fig 3 Continuous-time Growth of Hepatocellular Carcinoma
This figure shows a plot of the diameter of hepatocellular carcinoma from MRI or CT (black points) together with a possible logistic curve fit (black line)

2. 血清PIVKA-IIの測定値の時系列的变化

2001年4月9日から2002年8月13日までに測定された血清PIVKA-IIの推移について、システムモデルのあてはめを行うにあたり、進行性肝細胞癌が指摘され肝左葉切除術が施行されるまでの期間と切除術施行後に血清PIVKA-IIの測定値が定常状態に達するまでの期間と定常状態から血清PIVKA-IIの測定値が増加し、経皮的肝灌流術が施行されるまでの期間と経皮的肝灌流術施行後に血清PIVKA-IIの測定値が定常状態に達するまでの期間の4ステージにおける時系列的变化を検討した。

(1) 肝左葉切除術が施行されるまでの期間

この期間における血清PIVKA-IIの測定値の

推移は初期定常状態及び飽和状態が未知であるので、指数関数的変動モデルにおける指数関数曲線のあてはめを行った。増加率rを求めるために線形最小二乗法を用い、結果は

$$y = 4665.7 \exp(0.0075t)$$

となった。指数関数曲線へのあてはめは単回帰分析の相関係数が0.9801となり、危険率は2%以下であり、この時期の血清PIVKA-IIの時系列的变化は指数関数曲線を用いて表すことができるということが示された。

(2) 切除術施行後から定常状態に達するまでの期間

肝左葉切除術施行後、血清PIVKA-IIの測定値は急激に減少し、カットオフ値より少々高めで定常的に推移しているため、指数関数的変動モデルにおける指数関数曲線のあてはめを行った。増加率rを求めるために線形最小二乗法を用い、結果は

$$y = 163.5 \exp(-0.0269t)$$

となった。指数関数曲線へのあてはめは単回帰分析の相関係数が0.9999となり、危険率は0%であり、この時期の血清PIVKA-IIの時系列的变化は指数関数曲線を用いて表すことができるということが示された。

(3) 定常状態から経皮的肝灌流術が施行されるまでの期間

血清PIVKA-IIの測定値の推移について、ロジスティック曲線へのあてはめを行った。ロジスティック曲線の特定には、肝細胞癌のサイズの時系列的变化と同様に、非線形最小二乗法により、パラメータK、r、Cを求めた。結果は

$$y = \frac{897.75}{1 + 738.24 \exp(-0.1954t)} + 45$$

となった。ロジスティック曲線へのあてはめは重回帰分析の相関係数が0.9890となり、危険率は2%以下であり、この時期の血清PIVKA-IIの測定値の時系列的变化はロジスティック曲線を用いて表すことが可能であることが示された。

(4) 経皮的肝灌流術施行後から定常状態に達するまでの期間

経皮的肝灌流術施行後、血清PIVKA-IIの測定値は急激に減少しカットオフ値以下となり、健常人の平均値17.5mAU/mL以下で定常的に推移した。よって、指数関数的変動モデルにおける指数関数曲線のあてはめを行った。増加率 r を求めるために線形最小二乗法を用い、結果は

$$y = 623.7 \exp(-0.1566t)$$

となった。指数関数曲線へのあてはめは単回帰分析の相関係数が0.9984となり、危険率は1%以下であり、この時期の血清PIVKA-IIの時系列的变化を指数関数曲線を用いて表すことが可能であることが示された。

2001年4月9日から2002年8月13日までに測定された血清PIVKA-IIのプロットとシステムモデルによる曲線のフィッティングをFig. 4に示し、肝左葉切除術施行後の2001年8月30日以降の血清PIVKA-IIのプロットと成長モデルによる曲線のフィッティングをFig. 5に示す。

成長モデル曲線のフィッティング結果より、肝左葉切除術施行前後及び経皮的肝灌流術施行前後における血清PIVKA-IIの測定値の増減変動を比較する。ここで、時系列的増加を初期値の2倍増となるまでの時間である増倍期で表し、時系列的減少を初期値の半分になるまでの時間である半減期で表す。肝左葉切除術施行前の血清PIVKA-IIの測定値の増倍期は92.4日であり、経皮的肝灌流術施行前の血清PIVKA-IIの測定値の増倍期は48.8日であった。これより、早期肝細胞癌での癌細胞の増殖活動は、進行性肝細胞癌より倍程度活発であると思われる。また、肝左葉切除術施行後の血清PIVKA-IIの測定値の半減期は25.8日であり、経皮的肝灌流術施行後の血清PIVKA-IIの測定値の半減期は4.4日であった。これより、外科的治療においては、微小肝内転移病巣の未切除及び異なる部位の癌結節の未治療の可能性が示されると

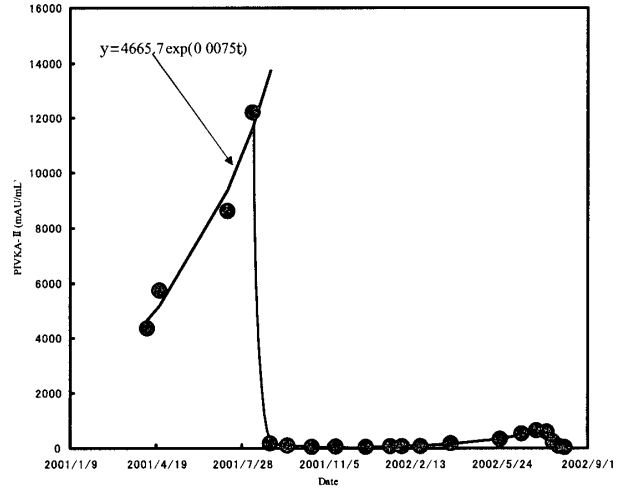


Fig 4 Serum PIVKA- II levels

This figure shows a plot of the serum levels of PIVKA-II(black points) together with a possible logistic curve fit(black line)

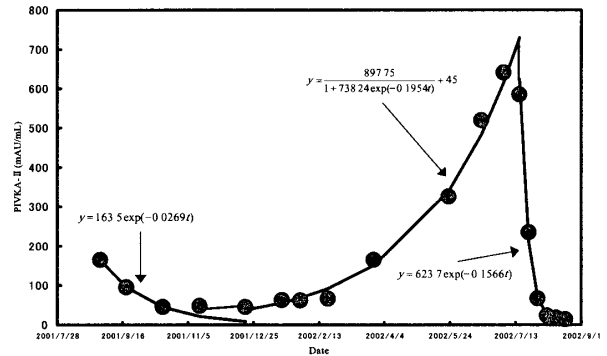


Fig. 5 Serum PIVKA- II levels after Surgical resection of HCC

This figure shows a plot of the serum levels of PIVKA-II(black points) together with a possible logistic curve fit(black line)

ともに、経皮的肝灌流術における早期癌細胞の活動抑制或いは活動停止が期待できると思われる。

考 察

肝細胞癌のサイズの時系列的变化において、データは進行性肝細胞癌のStage IVにおける肝細胞癌の時系列変化であり、定常状態から増殖状態への移行が測定されている。これより、肝細胞癌は癌細胞の発育において安定期と増殖期を繰返すことにより、前癌細胞から進行性肝細胞癌まで多段階的に発育していくと思われる。したがって、HCC患者の超音波画像検査やCT検査及びMRI検査のデータをもとに、肝細胞癌の発生、伸展形式や結節形成形式及び早期肝細胞癌から進行性肝細

胞癌への脱分化過程をサイズ変動とともに解析する必要がある、この点を今後の課題としたい。

血清PIVKA-IIの測定値の時系列的変化において、データは進行性肝細胞癌の指摘から肝左葉切除術の施行、肝細胞癌の再発及び経皮的肝灌流術の施行を経て、血清PIVKA-IIの測定値の基準値以下までの推移が測定されている。このデータでは、腫瘍マーカーの中でPIVKA-IIに特異性を示しており、再発過程においての診断に大きく寄与している。しかし、肝細胞癌の発育過程において、サイズの測定値と血清PIVKA-IIの測定値の間には、数理的な関連は認められなかった。したがって、肝細胞癌の発生、成長過程における肝機能検査の結果を検討し、肝細胞の状態解析を進める必要がある、この点も今後の課題としたい。

バネティクス, 490-506, 朝倉書店, 東京, 1989

文 献

1. Motohara K, Kuroki Y, Kan H, Endo F, Matuda I, *Detection of vitamin K deficiency by use of an enzyme-linked Immunosorbent assay for circulating abnormal prothrombin.* *Pediatr Res* 1985 ; 83 : 2076-2082.
2. Kuromatsu R, Tanaka M, Shimauchi Y, Shimada M, Tanikawa K, Watanabe K, Yokoo T. *Usefulness of ED036 kit for measuring serum PIVKA-II levels in small hepatocellular carcinoma.* *J Gastroenterol* 1997 ; 32 : 507-512.
3. Fabio Cavallini, *Fitting a Logistic Curve to Data, College Mathematics Journal*, 1993 ; 24, Number 3 : 247-253.
4. 白橋齊, 黒川典枝, 沖田極: 進行性肝細胞癌 - 内科. 臨床肝臓病, 165-171, 日本メディカルセンター, 東京, 2001
5. 高崎健, 山本雅一: 進行性肝細胞癌 - 外科. 臨床肝臓病, 172-176, 日本メディカルセンター, 東京, 2001
6. 畠山一平: 医学サイバネティクス. 生物サイ