<短 報>

肝細胞癌組織中 PIVKA-II および Vitamin K 濃度

—PIVKA-II 産生に対する Vitamin K の関与—

奥野 正隆 福富 尉 島崎 信 山田 鉄也
村上 啓雄 河合 潔 武藤 泰敏* 大森 正英**

肝細胞内で合成されたプロトロンビン前駆体は Vitamin K (VK) の存在下で10個のグルタミン酸残基が γ -カルボキシル化を受けプロトロンビンとなるが、VK 欠乏などの原因によりカルボキシル化が障害されると異常プロトロンビン、すなわち PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence or antagonist-II: P-II) が出現することが知られている。Liebman の報告¹⁾以来 P-II は肝細胞癌 (HCC) の血中に高頻度に出現することが明かとなり、新しい腫瘍マーカーとして注目されている。一方、HCC 患者血中の P-II 濃度は VK 投与により低下するものの、血中 VK 濃度と P-II は関連しないことから、HCC における P-II 上昇は単に VK 欠乏によるものではないと考えられている。そこで我々は、HCC の P-II 産生に対する VK の関与を解明する目的で以下の検討を行なった。

対象及び方法：1) ヒト HCC 組織及び血中における測定：HCC 16例 (手術例 5 例、剖検例 11 例) の癌部及び非癌部 (慢性肝炎 1 例、肝硬変 15 例) 組織中、及び同一患者の治療前の血中 P-II、VK 濃度を測定した。組織標本約 300mg を Triton X-100, gabexate mesilate を含有する 50mM imidazole buffer, pH 7.4 3ml で homogenize, 500 $\times$ g 10 分の遠心で得られた上清を測定に用いた。2) ヒト肝癌由来細胞株を用いた検討：PLC/PRF/5 を 4×10^4 cells/ml に播き 10% FCS 加 MEM にて 6 日間培養し培養上清中 P-II 濃度の経日的変化をみた。また培養液中に adriamycin (ADR) を 0, 1, 10, 30ng/ml 添加あるいは VK₂ (Eisai) を 0, 1, 5, 10ng/ml 添加し、7 日間培養後の上清を測定した。3) P-II 及び VK の測定：P-II 測定は本原らの方法²⁾に準じ開発された EIA 法 (E-1023, Eisai) により行ない、VK の測定は阿部らの方法³⁾に準じ HPLC 法により行なった。

結果：1) HCC 組織中 P-II は癌部 16 例中 9 例

(56.3%) に検出され、1 例を除き癌部は非癌部より高値を示した (Table 1)。組織内 P-II 濃度と Edmondson 分類による組織学的悪性度との間に相関はみられなかった。非癌部は 14 例中 5 例 (37.5%) に検出されたがいずれも癌部に検出された例であった。VK との関係では癌部において P-II が検出された 7 例中 4 例で VK₂ が検出されず、検出された 3 例においても低値であったのに対し、P-II が検出されなかった癌部 6 例全例に VK が検出され VK 濃度は有意に高値を示した ($p < 0.05$)。一方 P-II が検出された非癌部 5 例中 4 例では VK は検出されなかった。血中 P-II は 11 例中 6 例 (54.5%) が 0.1 AU/ml 以上を示し HCC 組織中 P-II が検出された 5 例中 4 例で陽性を示した。血中 P-II と VK 濃度に相関はみられなかった。2) *in vitro* における検討では、経日的に細胞数の増加に並行して P-II 濃度は増加した。ADR 添加群では添加濃度の増加により細胞数は減少、これに並行して P-II 濃度も減少した (図表なし)。一方、同一の細胞数で VK を添加すると添加濃度の増加により上清 P-II 濃度は減少したが、細胞数、AFP、HBsAg 産生に変化はみられなかった (Fig. 1)。

考案：P-II 産生は *in vivo*¹⁾、*in vitro*⁴⁾ において、HCC 自体によるものと考えられている。今回、HCC 組

Fig. 1 Inhibitory effect of vitamin K on the secretion of PIVKA-II from PLC/PRF/5 cells.

* 岐阜大学医学部第1内科

** 同 衛生

Table 1 Tissue and plasma levels of PIVKA-II and Vitamin K in patients with HCC.

Patients No. age/sex	Histology ^{a)}		PIVKA-II ^{c)}		Vit. K ^{d)}		Plasma level ^{e)}	
	Tumor (Ed) ^{b)}	Adjacent	T	A	T	A	PIVKA-II	K ₁ (K ₂)
1 68/M	HCC (III)	PHC	142.8 (3.32)	28.1 (0.03)	5.50 (0.13)	ND	0.12	0.66 (ND)
2 58/M	HCC (III)	PHC	80.2 (1.66)	32.8 (0.48)	ND	ND	0.16	0.41 (0.43)
3 63/M	HCC (II)	PHC	43.1 (0.66)	ND ^{f)}	ND	ND	2.15	0.80 (ND)
4 24/F	HCC (II)	CH	19.8 (0.20)	18.3 (0.30)	6.32 (0.06)	ND	—	—
5 55/M	HCC (III)	PHC	8.6 (0.25)	3.1 (0.11)	—	ND	1.38	ND (ND)
6 60/M	HCC (III)	PHC	7.4 (0.26)	ND	ND	ND	—	—
7 61/M	HCC (II)	PHC	6.6 (0.11)	— ^{g)}	9.17 (0.15)	—	ND	48.6 (ND)
8 50/M	HCC (II)	PHC	4.5 (0.15)	7.6 (0.11)	—	7.72 (0.15)	—	—
9 48/M	HCC (II)	PHC	3.5 (0.13)	—	ND	—	—	—
10 65/M	HCC (II)	PNC	ND	ND	4.69 (0.11)	ND	ND	3.58 (181)
11 62/M	HCC (II)	PHC	ND	ND	15.4 (0.47)	ND	0.66	32.1 (58.1)
12 75/M	HCC (II)	PHC	ND	ND	13.5 (0.36)	6.96 (0.13)	1.55	ND (ND)
13 52/M	HCC (II)	PHC	ND	ND	48.9 (1.89)	ND	ND	2.09 (48.5)
14 72/M	HCC (IV)	PNC	ND	ND	—	ND	ND	—
15 55/M	HCC (I)	PHC	ND	ND	25.2 (0.26)	25.8 (0.41)	—	—
16 65/M	HCC (II)	PHC	ND	ND	33.3 (0.91)	—	ND	4.19 (1.90)

a; HCC: hepatocellular carcinoma PHC: posthepatic cirrhosis
PNC: postnecrotic cirrhosis CH: chronic hepatitis

b; classification of Edmondson and Steiner

c; AU/g wet weight tissue (AU/mg protein)

d; ng/g wet weight tissue (ng/mg protein)

e; AU/ml (PIVKA-II), ng/ml (Vit K_{1,2})

f; not detectable

g; not determined due to limited amount of specimen available

織中 P-II が非癌部に比し高値であることから癌部における産生が示唆される。一方、P-II 産生に及ぼす VK の影響については、HCC 例において血中 VK と P-II 値に相関がみられないことから、HCC の P-II 産生は単に VK 欠乏によるものではなく VK 依存性の carboxylation の異常も想定されている⁷⁾。今回の検討では、しかし、血中 VK と P-II の相関はないものの、HCC 組織中では P-II 陽性例で VK が欠乏ないし減少していることが示された。VK の存在により P-II が低下すること^{5,6)}は carboxylation が行なわれ得ることを示し、むしろ HCC 組織における VK の局所的減少が P-II 産生に関与している可能性が示唆される。更に、非癌部では VK が欠乏していても P-II が検出されない例がみられることから、癌部における P-II 産生に

はプロトンビン前駆体自体の産生亢進も想定される。以上、HCC の P-II 産生に関し *in vivo*, *in vitro* での検討を加え、癌部での VK の局所的減少が P-II 産生に関与している可能性を示した。

索引用語: PIVKA-II, Vitamin K, 肝細胞癌

謝辞: VitK の測定に御協力頂いたセキスイクリニカルラボラトリー、田中信雄氏に深謝致します。

文 献: 1) Liebman HA, et al: N Engl J Med 310: 1427—1431, 1984 2) 本原邦彦, 他: 日児誌 88: 1508—1514, 1984 3) 阿部皓一, 他: 薬学雑誌 99: 192—200, 1979 4) 奥田博明, 他: 肝臓 27: 1697—1702, 1986 5) 藤山重俊, 他: 日消誌 82: 135, 1985 6) 奥田博明, 他: 肝臓 33: 1697—1702, 1986 7) 藤山重俊, 他: 日消誌 83: 1229, 1986

Tissue levels of PIVKA-II and vitamin K in patients with hepatocellular carcinoma —Studies on the mechanism of the production of PIVKA-II—

Masataka OKUNO, Yasushi FUKUTOMI, Makoto SHIMAZAKI, Tetsuya YAMADA,
Nobuo MURAKAMI, Kiyoshi KAWAI, Yasutoshi MUTO**
and Masahide OMORI**

* First Department of Internal Medicine School of Medicine, Gifu University (Gifu)

** Department of Hygiene, School of Medicine Gifu University (Gifu)