＜短 報＞

Vitamin K₂投与後におけるヒト肝組織中 vitamin K 濃度の測定

小野 稔 関谷 千尋 大田 人可
大平 基之 美馬 聡昭 並木 正義*

Prothrombin 前駆体のグルタミン酸残基 (Glu) の γ -carboxylation が不完全な des- γ -carboxy prothrombin (PIVKA-II) が新しい肝細胞癌 (肝癌) のマーカーとして注目され¹⁾,すでに多数の施設において,その臨床的意義が検討されている。われわれは,これまで肝癌における PIVKA-II の産生機序に関して基礎的検討を行ってきた。その結果,ヒト肝癌組織では immunoreactive prothrombin および PIVKA-II の産生が亢進していること²⁾,さらに血漿中 PIVKA-II 陽性の肝癌組織では,肝 microsome に存在する prothrombin 前駆体が増加しているにもかかわらず, vitamin K-dependent carboxylase (carboxylase) 活性が誘導されていないことを明らかにした³⁾。また, carboxylase の補酵素として重要なビタミン K (Vit-K) を測定した結果, Vit-K 非投与例においては肝癌部と非癌部の Vit-K 濃度に差がみられず,通常の状態では肝癌組織中の Vit-K 欠乏は存在しないことを報告した²⁾。一方, Vit-K を経静脈的に持続的に投与すると血漿中 PIVKA-II が減少することが知られているが,実際に投与後における肝組織中の Vit-K 濃度の変化を調べた報告は少ない。本研究では, Vit-K₂ (menaquinone-4, MK-4) の経静脈的投与をうけた肝癌患者の肝組織中における MK-4 濃度を cytosol・microsome および mitochondria 分画について測定し検討した。

対象および方法: MK-4 の測定に用いた肝組織は, 19 例の肝細胞癌患者から剖検 (18 例) および外科手術 (1 例) によって得られた, 肝癌組織 18 検体および非癌部肝組織 18 検体である。19 例中 7 例は MK-4 非投与例, 4 例は MK-4 短期投与例 (30mg/day, 2~7 日) であり, 残りの 8 例は長期投与 (30mg/day, 8~106 日) を受けた症例である。なお MK-4 はすべて経静脈的に投与された。MK-4 投与前の血漿中 PIVKA-II は, 陽性 (0.1AU/ml 以上) 15 例, 陰性 4 例であった。これら 15 症例中, MK-4 投与後に PIVKA-II が陰性化した症例

Table 1 Vitamin K concentration of liver tissues of hepatoma patients without vitamin K administration.

		cytosol	microsome	mitochondria
HCC	(n=7)	0.6±0.9	2.3±2.2	3.7±6.5
non-HCC	(n=7)	0.7±1.2	1.9±2.4	2.1±3.8

The values express mean±SD (ng/mg protein). HCC, hepatocellular carcinoma tissue; non-HCC, non-cancerous portion of liver tissue; cytosol, cytosomal fraction; microsome, microsomal fraction; mitochondria, mitochondrial fraction.

Table 2 Vitamin K concentration in liver tissues of hepatoma patients after vitamin K administration.

		cytosol	microsome	mitochondria
HCC				
whole	(n=11)	2.9±4.2	12.7±12.9	16.6±19.1
short	(n=4)	4.8±6.3	8.3±8.1	11.9±8.9
long	(n=7)	1.8±1.4	15.3±14.4	19.3±22.5
non-HCC				
whole	(n=11)	5.1±5.6	26.4±17.1	29.7±23.6
short	(n=3)	5.4±4.0	31.1±4.6	22.5±16.0
long	(n=8)	5.1±6.1	25.1±19.1	32.4±25.4

The values express mean±SD (ng/mg protein). HCC, hepatocellular carcinoma tissue; short, short term administration of vitamin K; long, long term administration of vitamin K; whole, combined data of "short" and "long"; non-HCC, non-cancerous portion of liver tissue.

は 2 例であり, 他の 13 例では PIVKA-II 値の減少はみられたが陰性化には至らなかった。手術で得られた肝組織は摘出後ただちに, また剖検で得られた組織は死後 10 時間以内に癌部と非癌部に分け, -80℃ に凍結保存した。MK-4 の測定に際しては, 肝組織を 20mM Tris-HCl pH 8.0 中でホモジナイズした後, 700g 10 分遠心して得られた上清を 10,000g 30 分遠心, その沈殿画分を採取し mitochondria 分画を得た。さらに 10,000g の上清画分を 105,000g 60 分超遠心し, cytosol

* 旭川医科大学第 3 内科

＜受付日 1990 年 11 月 28 日＞

および microsome 分画を得た。それぞれの分画に含まれる MK-4 の測定は、既報²⁾のように HPLC 法で行った。

結果：MK-4 非投与例では cytosol・microsome および mitochondria のいずれの分画においても、肝癌部と非癌部肝組織中の MK-4 濃度に差は認められなかった (Table 1)。MK-4 投与例では、短期投与および長期投与例を含めた成績でみると、いずれの分画においても、MK-4 濃度は癌部・非癌部ともに非投与例に比べ有意な増加がみられたが、非癌部は肝癌部に比べ MK-4 濃度がより増加している傾向が認められた。また細胞内の MK-4 は、おもに microsome と mitochondria 分画に存在し、両者の濃度はほぼ等しい値を示した (Table 1)。これらの成績は、MK-4 の短期投与あるいは長期投与例で分けた場合でも同様であった (Table 2)。

考案：MK-4 非投与例では、いずれの細胞分画中においても癌部と非癌部の間に MK-4 濃度の差は見られず、通常の状態では肝癌部、特に microsome における局所的な Vit-K の欠乏は存在しないことが確認された。また、経静脈的な投与により癌部の MK-4 濃度は非投与例の数倍に増加しているにもかかわらず、依然として血漿中に PIVKA-II が検出される症例が少なからず認められたが、その理由としては、これらの肝癌細胞における prothrombin 前駆体の γ -carboxylation に際し、carboxylase の補酵素として働く Vit-K の要求性が非常に増加していることが考

えられる。

以前より、ラット肝などでは、肝細胞に取り込まれた Vit-K は主に microsome と mitochondria に分布することが知られているが⁴⁾、今回のわれわれの成績でも同様であった。すなわち、肝癌細胞においても Vit-K の細胞内輸送に関しては明らかな障害はなく、細胞内に取り込まれた Vit-K は非癌細胞と同様、prothrombin 前駆体の γ -carboxylation が進行する microsome へ輸送されるものとみられる。また、MK-4 投与例の肝組織において、非癌部は癌部に比べ各細胞分画中に MK-4 がより増加している傾向が認められた。それぞれの肝組織により差異もみられるが、多量の Vit-K を投与した場合、組織への移行が癌部では非癌部に比べ低下している可能性も考えられる。ただし Vit-K 非投与例では癌部と非癌部で Vit-K 濃度に差はみられないことより、肝癌における PIVKA-II の産生に関連する現象か否かについては、さらに詳細な検討を要するものと思われる。

索引用語：PIVKA-II, 肝細胞癌, γ -カルボキシレーション

文 献：1) Fujiyama S, Morishita T, Hashiguchi O, et al: Cancer 61: 1621—1628, 1988 2) Ono M, Ohta H, Ohira M, et al: Am J Gastroenterol 85: 1149—1154, 1990 3) Ono M, Ohta H, Ohira M, et al: Tumor Biol 11: 319—326, 1990 4) Olson RE: Annu Rev Nutr 4: 284—302, 1984

Vitamin K concentration in human liver tissues of the patients with hepatocellular carcinoma: An effect of vitamin K administration

Minoru ONO, Chihiro SEKIYA, Hitoyoshi OHTA, Motoyuki OHHIRA,
Satoaki MIMA and Masayoshi NAMIKI*

* The Department of Internal Medicine (III), Asahikawa Medical College (Asahikawa)