日消外会誌　23（4）：1016～1021，1990年

特集　15

肝胆膵疾患におけるPIVKA-II測定の臨床的意義

大阪大学医学部第2外科
左近　賢人　門田　守人　後藤　満一　金井　俊雄
梅下　浩司　遠藤和喜雄　森　武貞

肝細胞癌でのPIVKA-II（protein induced by vitamin K absence or antagonist-II）生成機序を検討する為PIVKA-IIとビタミンK1，K2（MK4，MK7）を測定した．肝細胞癌患者の血中ビタミンK濃度は正常人に比べ低下しておらず，むしろ肝硬変合併例では有意に増加していた（K1，MK4，K1＋MK4＋MK7）．しかし，ビタミンKの投与でPIVKA-II値が減少しその陽性率も低下したことから肝細胞癌ではビタミンKの代謝異常や細胞内への移行障害の可能性が考えられた．膵胆道疾患ではPIVKA-II陽性例は全例PTBD（percutaneous transhepatic biliary drainage）施行例で，PIVKA-IIの増加にはビタミンK欠乏の他，閉塞性黄疸による肝障害（ビタミンK代謝異常）も関与していると考えられた．閉塞性黄疸と異なり肝細胞癌のビタミンK代謝異常は癌が持つ特異性の一つと考えられ，PIVKA-IIによる肝細胞癌の診断にはビタミンKの非投与を確認し，また投与されている場合はそれを考慮して評価することが大切である．

Key words：hepatocellular carcinoma, PIVKA-II, vitamin K

はじめに

肝細胞癌の腫瘍マーカーとしてPIVKA-II（protein induced by vitamin K absence or antagonist-II）が注目されている[1)3)]が本来PIVKA-IIはビタミンK欠乏やワーファリンの投与下プロトロンビン前駆体の10個のグルタミン酸残基がγ-carboxylationされずに生成された異常プロトロンビンである[4)]．したがって，肝細胞癌患者でのPIVKA-IIの増加にはビタミンKの欠乏が関与している可能性がある．しかし，この点に関しては肝細胞癌患者でのPIVKA-II値はビタミンKの投与により低下するという報告[2)3)]と低下しないとする報告[1)]があり一定の見解が得られていない．肝細胞癌におけるPIVKA-IIの臨床的意義を明らかにするためにはPIVKA-IIの生成メカニズムの解明が不可欠であると考えられ，肝細胞癌や膵胆道系疾患患者で血中ビタミンKとPIVKA-IIを同時に測定し肝細胞癌におけるPIVKA-II生成の機序を検討した．

＊第34回日消外会総会シンポ2・消化器外科の新しい診断法とその治療への応用
＜1989年12月13日受理＞別刷請求先：門田　守人
〒553　大阪市福島区福島1－1－50　大阪大学医学部第2外科

対象と方法

対象は正常人95例，肝疾患163例（肝細胞癌124例，転移性肝癌15例，肝血管腫11例，肝硬変13例），膵胆道疾患55例（胆管癌19例，胆嚢癌11例，胆石症9例，膵癌10例，その他6例）の計313例であった．肝細胞癌の診断は手術を施行した症例では組織学的診断により，また手術非施行例では超音波検査やCT（computed tomography）検査の他，リピオドールを用いた肝動脈塞栓療法（TAE）を施行し，その後のfollow-up CTなども参考にした総合的画像診断によった．

症例をビタミンK投与（K1またはK2，2～30mg/日）の有無によりビタミンK投与群（PIVKA-II測定前1週間以内およびそれ以前からビタミンKが投与されていた症例）とビタミンK非投与群（PIVKA-II測定前にビタミンKが少なくとも1週間以上投与されていない症例）に分類した．

血漿PIVKA-IIはモノクロナール抗体を用いたEIA法（E-1023，エーザイ，東京），α-フェトプロテインはラテックス免疫法（LPIA100，三菱化成，東京）で測定し，正常域をPIVKA-IIでは0.13AU/ml未満[2)5)]，α-フェトプロテインでは20ng/ml未満[3)5)]とした．

血漿ビタミンKは高速液体クロマト（HPLC）を用

いた阿部らの方法[6]によってビタミンK1とK2（MK4，MK7）を測定した．ビタミンKは正常人19例，肝細胞癌患者62例，膵胆道疾患患者33例で測定した．

結　果

1．各種肝疾患における血中PIVKA-II値

正常人95例では全例が測定下限（0.063AU/ml）以下であった．肝細胞癌124例のうち55例（44.4%）がPIVKA-IIが高値となった．しかしこれらの症例のうち肝切除やTAEが奏効した19症例ではPIVKA-IIは全例正常域にあった．転移性肝癌（15例）では陽性例が無く，また肝血管腫（11例），肝硬変（13例）でおのおの1例が異常となっただけであった．

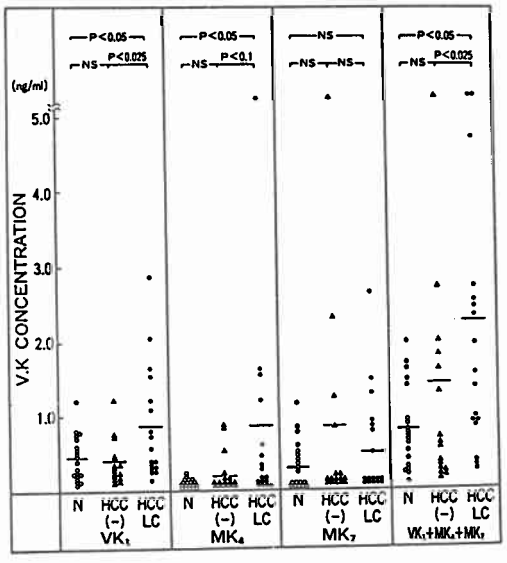
2．ビタミンKの投与，非投与からみた肝細胞癌でのPIVKA-II陽性率

ビタミンK非投与群87例のうち50例（57.5%）がPIVKA-II陽性であった．一方ビタミンK投与群では18例のうち5例（27.8%）のみ陽性となり非投与群に比較してその陽性率は有意（$p<0.05$，χ^2検定）に低く約半数（27.8%）であった．しかし，α-フェトプロテインの陽性率はビタミンKの投与(63例，72.4%)，非投与（12例，66.7%）にかかわらず著明な差を認めなかった．

3．正常人と肝細胞癌患者における血中ビタミンK濃度

ビタミンK非投与群の肝細胞癌患者（45例）で血中ビタミンK濃度を正常人（19例）のそれと比較したところビタミンK1では正常人で0.45±0.31ng/ml，肝細胞癌患者では0.63±0.64ng/mlとなり有意差は認められないものの肝細胞癌患者で高値であった．同様にMK4でも正常人が0.07±0.08ng/mlであったのに対して肝細胞癌患者では0.47±1.32ng/mlと高値であり，また三者のビタミンKの総和（VK1+MK4+MK7）は有意に肝細胞癌患者で高値となった（正常人0.83±0.57ng/ml，肝細胞癌患者1.96±2.47ng/ml，$p<0.05$，Wilcoxon test）．このような血中ビタミンK濃度の差は肝細胞癌そのものより背景因子によって生じたものと考え肝細胞癌患者をさらに組織学的診断により肝硬変合併群（16例）と非合併群（17例）とに分別し正常人と比較した(**Fig. 1**)．肝硬変非合併群では正常人と比べ有意の差を認めなかったが肝硬変合併例では有意にビタミンK1，MK4，ビタミンKの総和で高値であった（$p<0.05$）．さらに同じ肝細胞癌患者でも肝硬変合併群の方が非合併群よりビタミンK1（$p<0.025$），MK4（$p<0.1$），ビタミンKの総和（$p<0.025$）で高値となった．

Fig. 1 The plasma level of vitamin K in normal subjects and cases of HCC with and without liver cirrhosis. Wilcoxon test was used for stastical significance. N: normal subjects. HCC: hepatocellular carcinoma. LC: liver cirrhosis. VK_1: vitamin K_1. MK_4: menaquinone-4. Mk_7: menaquinone-7. NS: not significant.



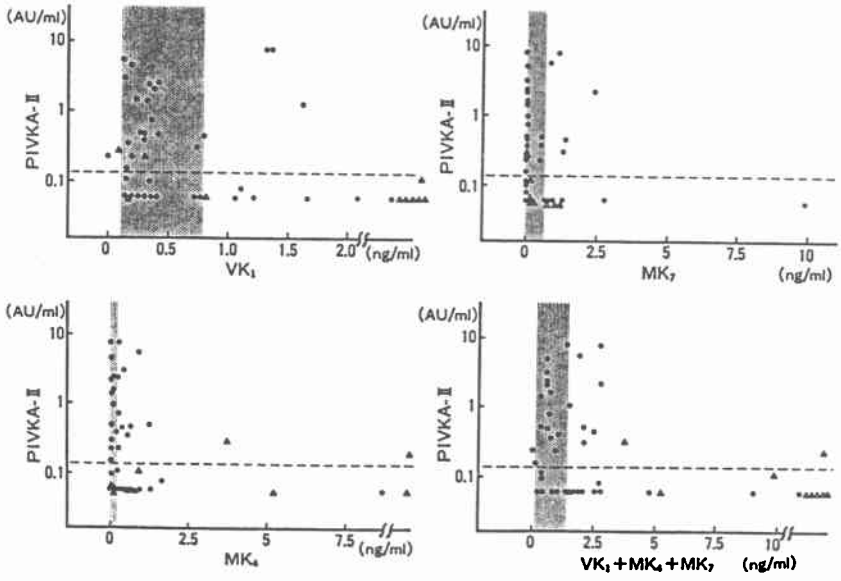
4．肝細胞癌患者における血中ビタミンK濃度とPIVKA-II値の関係

ほとんどの肝細胞癌患者ではビタミンK濃度は正常範囲内かそれ以上であり，またPIVKA-II値との間に有意の相関を認めなかった(**Fig. 2**)．しかし，ビタミンK投与例やビタミンK非投与例でも血中ビタミンK濃度の高い症例（VK1+MK4+MK7が5ng/ml以上の症例）ではPIVKA-IIが正常であるかまたは低値であった．

5．症例

症例は61歳，男性で右葉S8に主腫瘍（長径6cm）を認めた肝細胞癌患者である．入院時PIVKA-II（4.3AU/ml）とα-フェトプロテイン（1186ng/ml）は共に高値であった．また血中ビタミンK濃度（VK1+MK4+MK7)は0.64ng/mlと正常範囲内であった．ビタミンK2（30mg/日）を連日5日間静脈内投与したところPIVKA-IIは3.4AU/mlと低下したがα-フェトプロテインはむしろ1,294ng/mlと増加していた．手術（S8亜区域切除）により両者はともに低下し正常と

Fig. 2 The correlation between plasma PIVKA-II and vitamin K levels in patients with hepatocellular carcinoma. Patients with (●) and without (△) vitamin K administration. The shaded area represents the plasma vitamin K level of normal subjects (mean±SD).

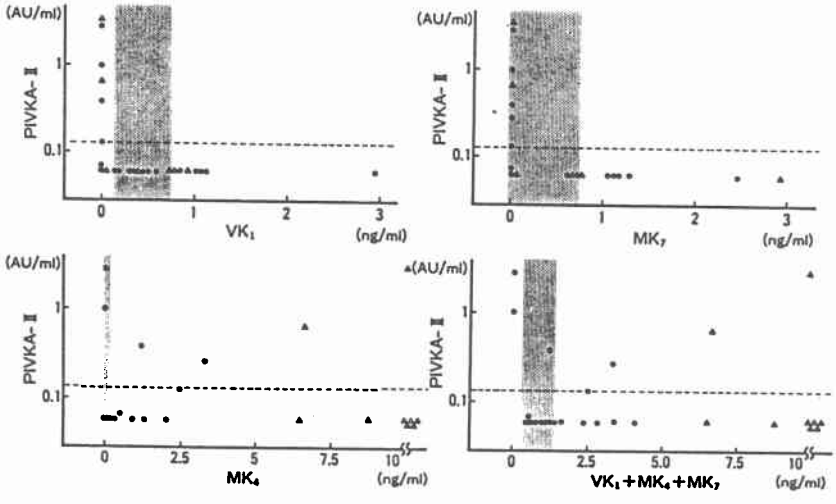


なった．術後約5週間目には血中ビタミンK濃度は観察開始時のレベルとほぼ同じであったが PIVKA-II は正常であった．また α-フェトプロテインも正常で再発の兆候も認めなかった．

6．膵胆道疾患での血中 PIVKA-II 値

膵胆道疾患患者55例のうち11例に血中 PIVKA-II の異常を認めた．これらの PIVKA-II 異常例はすべて PTBD (percutaneous transhepatic biliary drainage)

Fig. 3 The correlation between plasma PIVKA-II and vitamin K levels in cases of pancreatic and biliary diseases. Patients with (●) and without (△) vitamin K administration. The shaded area represents the plasma level of normal subjects (mean±SD).



施行例でありPTBD非施行例（27例）ではPIVKA-IIの陽性例は認められなかった．またPIVKA-II異常例のうち9例（81.8%）がビタミンK非投与の症例であった．

7．膵胆道疾患患者における血中ビタミンK濃度とPIVKA-II値の関係

血中ビタミンKを測定した膵胆道疾患患者（33例）のうち血中PIVKA-IIが高値であった7例ではビタミンK1はすべて正常値以下であった（**Fig. 3**）．しかしMK4に関しては低値の症例も見られたが高値でもPIVKA-IIが陽性であった症例が5例も認められた．MK7もビタミンK1と同様PIVKA-II陽性例で低値であった．ビタミンKの総和では確かに血中ビタミンKが正常値以下の症例も認められたがビタミンKが高値の症例でもPIVKA-IIの異常例を認め，膵胆道疾患患者でのPIVKA-IIの増加にはビタミンK欠乏以外の要因も考えられた．

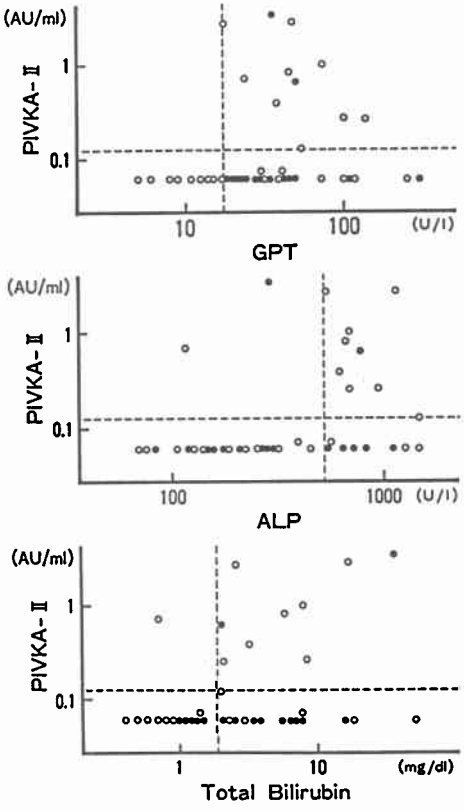
8．膵胆道疾患患者における血中PIVKA-IIと肝障害の関連性

膵胆道疾患患者でPIVKA-IIとGPT（glutamic-pyrubic transaminase），ALP（alkaline phosphatase），総ビリルビンとの関係を検討した（**Fig. 4**）．これらの値とPIVKA-II値との間に相関関係は認めなかったがほとんどのPIVKA-II異常例はGPTでは18U/*l*，ALPでは540U/*l*，総ビリルビンでは2.0mg/dl以上の症例でありPIVKA-IIの上昇には肝障害も関係することが示唆された．しかしビタミンK投与症例ではたとえこれらの検査値が増加していてもPIVKA-IIが正常である症例が多く認められた．

考　察

肝細胞癌患者での血中PIVKA-IIとビタミンKの検討により，1）肝細胞癌患者の血中ビタミンK濃度は正常人に比較して低下していないこと，2）肝硬変合併肝細胞癌症例では血中ビタミンKは正常人に比べ有意に増加していたこと，3）ビタミンKの投与でPIVKA-II値が減少しその陽性率も低下した，などの点が明かになった．今回の検討症例が当科外来で経過観察中の患者と術前の患者であることを考えると，経口摂取が不十分な末期癌患者などの一部の症例は別として一般の肝細胞癌患者では血中ビタミンKは低下していないと考えられる．一方，ビタミンKの投与によりPIVKA-IIの低下や正常化が認められることから肝細胞癌ではビタミンKの細胞内への移行障害が存在する可能性が考えられる．事実，PIVKA-II産生培養癌細胞でも培養液中のビタミンK濃度を増加するとPIVKA-IIの生成が減少することが認められている[7]．しかしビタミンKの細胞内移行に関するメカニズムについては現在までのところ詳細な検討はなされていない．その他の可能性として肝癌細胞内でのビタミンK代謝（ビタミンKサイクル）の障害が考えられる．つまり癌細胞では正常に近いビタミンK濃度ではビタミンKサイクルの異常のためにプロトロンビン前駆体のグルタミン酸残基がγ-carboxylationされずPIVKA-IIが生成されるが，ビタミンKを負荷することによりビタミンKサイクルが回転するようになりγ-carboxylationが行われ，その結果PIVKA-IIが生成されなくなるという機序である．この証明には今回測定したビタミンKの他，還元型ビタミンKやビタミンKエポキサイドの測定が不可欠であると考えられる．第3の可能性として癌細胞でのcarboxylase活性の低下が考えられる．組織carboxylase活性は測定

Fig. 4 The correlation between PIVKA-II and liver function tests. Patients with (●) and without (○) vitamin K administration.



が可能である[8]が基質特異性の問題や得られた活性が生理的な細胞内の活性をどの程度反映しているのかなどその測定値の解釈に疑問な点が多い．さらに血友病Bに見られるようなpreproleaderの分子異常[9]によりプロトロンビン前駆体のγ-carboxylationが障害される可能性もあるがPIVKA-II陽性の肝細胞癌でこのようなことが起こっているかどうかは不明である．

膵胆道疾患でもPIVKA-IIの増加例が認められ，すべて外胆汁瘻（PTBD）を施行した症例であった．ビタミンK非投与の症例で多く，ビタミンK欠乏がPIVKA-II増加の原因と考えられた．しかし，血中ビタミンKが高値でも必ずしもPIVKA-IIが正常とは限らず他の原因も考えられた(**Fig. 3**)．そこでPIVKA-IIとALP，GPT，総ビリルビンとの関係を検討した．肝細胞癌ではPIVKA-IIとこれらの検査値の間には相関関係は無いとされているが[10]，膵胆道疾患ではこれらが高値の症例でPIVKA-IIの陽性例が認められた(**Fig. 4**)．しかしビタミンK投与例ではこれらの検査が異常であってもPIVKA-II正常例がほとんどであった．以上のことから膵胆道疾患患者ではPIVKA-IIの増加にビタミンK欠乏の他，閉塞性黄疸による肝障害（ビタミンK代謝異常）も関与していると考えられた．

PIVKA-II陽性の肝細胞癌や膵胆道疾患ではビタミンKの代謝障害が関与していることが示唆されたがその詳細なメカニズムは血液のみならず肝組織のビタミンK代謝産物の定量によりさらに明かになると思われる．また肝細胞癌ではこの様なビタミンK代謝異常に基ずくPIVKA-IIの生成は癌の特異性の一つと考えられ，肝細胞癌の診断のためにPIVKA-IIを測定する場合にはビタミンKが投与されていないことを確認して(また投与されている場合はそれを考慮して)評価することが肝要と考えられる．

文　献

1) Liebman H, 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
2) Fujiyama S, Morishita T, Sagara K et al: Clinical evaluation of plasma abnormal prothrombin (PIVKA-II) in patients with hepatocellular carcinoma. Hepato-gastroenterol 33：201—205, 1986
3) Fujiyama S, Morishita T, Hashiguchi O et al: Plasma abnormal prothrombin (des-γ-carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. Cancer 61：1621—1628, 1988
4) Olson RE: Vitamin K, Edited by Colman RW, Hirsh J, Marder VJ. Hemostasis and thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Second Edition. Lippincott, Philadelphia, 1987, p846—860
5) 左近賢人，門田守人，後藤満一ほか：原発性肝癌におけるPIVKA-II測定の臨床的意義．日臨外医会誌 50：278—283, 1989
6) 阿部皓一，広島　修，石橋恭子ほか：高速液体クロマトグラフィーによる生体内のフィロキノンおよびメナキノン-4の蛍光定量．薬学雑誌 99：192—200, 1979
7) Okuda H, Obata H, Nakanishi T et al: Production of abnormal prothrombin (des-γ-carboxy prothrombin) by hepatocellular carcinoma: A clinical and experimental study. J Hepatology 4：357—363, 1987
8) Olson RE: The function and metabolism of vitamin K. Ann Rev Nutr 4：281—337, 1984
9) 吉武新次：血液凝固の分子生物学的研究の動向．日臨 45：174—181, 1987
10) 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

The Clinical Significance of PIVKA-II Determination in Patients with Hepatic, Biliary and Pancreatic Diseases

Masato Sakon, Morito Monden, Mitsukazu Gotoh, Toshio Kanai, Kouji Umeshita, Wakio Endoh and Takesada Mori

The Second Department of Surgery, Osaka University Medical School

To investigate the mechanisms involved in the generation of PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence or antagonist-II) in HCC (hepatocellular carcinoma), the amount of vitamin K (K1, MK4, MK7) or PIVKA-II in plasma was measured. The plasma level of vitamin K was not decreased in patients with HCC compared with that in normal subjects; it was increased in patients with liver cirrhosis (VK1, MK4, VK1 + MK4 + MK7). The plasma

level or positivity rate of PIVKA-II was decreased by the administration of vitamin K. This indicates that the metabolism or availability of vitamin K might be impaired in HCC. In patients with biliary or pancreatic disease, all cases with positive PIVKA-II underwent PTBD (percutaneous transhepatic biliary drainage), indicating that not only vitamin K deficiency but also its impaired metabolism due to obstructive jaundice might account for the synthesis of PIVKA-II. Since the impairment of vitamin K metabolism is considered to be one of the characteristics of HCC, PIVKA-II must be measured without vitamin K administration and if administrated, it should be carefully evaluated considering the effects of vitamin K on PIVKA-II.

Reprint requests: Morito Manden The Second Department of Surgery, Osaka University Medical School
1-1-50 Fukushma, Fukushima-ku, Osaka, 553 JAPAN