

**厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書**

肝細胞癌組織におけるPIVKA-IIおよびNX-PVKAの発現の意義

研究分担者 矢野 博久 久留米大学医学部病理学 教授

**研究要旨** PIVKA-IIは、prothrombin前駆体のNH<sub>2</sub>末端にあるグルタミン酸残基（Glu基）のカルボキシル化（Gla基化）不全により生じる異常prothrombinであり、肝細胞癌（以下肝癌）の腫瘍マーカーとして知られている。しかし、血清PIVKA-IIの上昇は肝細胞癌特異的ではなく、ビタミンK不足時あるいはワーファリン内服時にも見られる。肝癌ではGla基数が比較的少ない異常プロトロンビン（従来型のPIVKA-II）が出現するが、ビタミンK不足時あるいはワーファリン内服時にはGla基数の多い異常プロトロンビン（NX-PVKA）が出現すると言われている。今回PIVKA-IIを認識するMU-3抗体とNX-PVKAを認識するp-16抗体を使用して、157例の肝癌症例の癌部の免疫染色を施行し、結節の5%以上発現している場合を陽性と判断した。また、発現強度（0, 1, 2, 3）と発現陽性領域を評価し、2つの積（発現スコア）を算出し、発現スコアと臨床病理学的所見との比較検討を行った。PIVKA-II陽性肝癌は、全体の約44%に見られ、NX-PVKA陽性肝癌は、約22%の頻度で見られた。PIVKA-IIの発現スコアは、非単純結節型、中～低分化型、被膜形成(-)、im (+)、vp (+)症例で有意に高く、NX-PVKA発現スコアは、高分化型、im (-)、vp (-)症例で有意に高かった。血清PIVKA-II値と癌結節のPIVKA-II発現スコアとの間に相関を認めしたが、血清NX-PVKA値と癌結節のNX-PVKA発現スコアの間には相関は認めなかった。結論として、PIVKA-II陽性肝癌とNX-PVKA陽性肝癌は、生物学的に異なる性状を呈しており、PIVKA-II陽性肝癌は、予後不良因子と関連していた。

## A . 研究目的

PIVKA-IIは、1984年にLiebmanらにより肝細胞癌（以下肝癌）において発現することが初めて報告された腫瘍マーカーである。PIVKA-IIは、prothrombin前駆体のNH<sub>2</sub>末端にあるグルタミン酸残基（Glu基）のカルボキシル化（Gla基化）不全により生じる異常prothrombinであり、血清PIVKA-IIの上昇は肝細胞癌特異的ではなく、ビタミンK不足時あるいはワーファリン内服時にも見られる。しかし、肝癌ではGla基数が比較的少

ない異常プロトロンビン（従来型のPIVKA-II）が出現するが、ビタミンK不足時あるいはワーファリン内服時にはGla基数の多い異常プロトロンビン（NX-PVKA）が出現すると言われている。今回、肝癌におけるPIVKA-IIとNX-PVKAの発現を検討した。PIVKA-IIを認識する抗体MU-3抗体とNX-PVKAを認識する抗体p16を使用して、肝癌症例の癌部と非癌部の発現を免疫組織化学的に検討し、臨床病理学的因子との関連性を検討した。

## B . 研究方法

単発及び初回治療の肝癌患者157例を対象とし、PIVKA-IIとNX-PVKAの発現を免疫組織化学的に検討した。PIVKA-IIとNX-PVKAの発現の検討は、それぞれMU-3抗体とp-16抗体 (EIDIA, Tokyo, Japan) を使用し、BenchMarkXT (Ventana Automated Systems, Inc, Tucson, AZ) を用いて染色を行った。癌部組織におけるPIVKA-IIあるいはNX-PVKA発現が5%以上を陽性とし、陽性頻度を検討した。また、発現強度を4段階にスコア化 ( 0, Negative; 1, Weakly positive; 2, Moderately positive; 3, Strongly positive ) し、その値と発現陽性領域の割合の積 ( 発現スコア ) を算出し、発現スコアと臨床所見や病理学的所見との比較検討を行った。さらに、そのうちの89例については、血清値との比較検討も行った。

## C . 研究結果

( 1 ) PIVKA-II陽性肝癌は、69例( 約44% ) に見られ、NX-PVKA陽性肝癌は、35例( 約22% ) とその約半分の頻度で見られた。PIVKA-IIとNX-PVKAが両者とも陽性の症例は20例 ( 約13% ) で、両者とも陰性の症例は73例( 約47% ) であった。( 2 ) PIVKA-IIの発現スコアは、NX-PVKAのそれよりも高かったが、有意差は認めなかった。PIVKA-IIの発現スコアは、非単純結節型、中～低分化型、被膜形成(-)、im (+)、vp (+)症例で有意に高く、NX-PVKA発現スコアは、高分化型、im (-)、vp (-)症例で有意に高かった。( 3 ) 血清PIVKA-II値と癌結節のPIVKA-II発現スコアとの間に相関を認めたが、血清NX-PVKA値と癌結節のNX-PVKA発現スコアの間には相関は認めなかった。

## D . 考察

血清PIVKA-IIは、肝癌の有用な腫瘍マーカーであるが、その後、肝癌の腫瘍径、脈管

侵襲、肝内転移などと密接に関係することも報告されている。ビタミンK不足時あるいはワーファリン内服時に出現するGla基数の多い異常プロトロンビンであるNX-PVKAの血清値の測定は、肝癌の診断に有用であると言う報告もあるが、肝癌組織における発現や肝癌患者血清中の上昇機序などに関する検討はこれまでない。今回 PIVKA-II と NX-PVKAの肝癌における発現を検討し、その臨床病理学的意義を検討した。その結果、PIVKA-IIもNX-PVKAも肝癌結節で発現しているが、PIVKA-IIの頻度が2倍程度高いことが判明した。また、PIVKA-IIの肝癌結節における発現は、予後不良因子と密に関連しているが、NX-PVKAの発現は、どちらかという予後良好な因子と関連していることが明らかとなった。PIVKA-IIの肝癌組織における発現と血清値が共に予後不良因子と関連していると言う結果は、血清PIVKA-II値と癌結節におけるPIVKA-IIの発現との間に相関性があるという事からも理解可能である。これら2つのマーカーを利用した肝癌の診断や生物学的性状の予測などに関して今後更に検討していく必要性があると思われる。

## E . 研究発表

### 1 . 論文発表

- 1) Xu K, Lee F, Gao SJ, Chung JE, Yano H, Kurisawa M. Injectable hyaluronic acid-tyramine hydrogels incorporating interferon-alpha2a for liver cancer therapy. *J Control Release*. 2013 Jan 14;166(3):203-10.
- 2) Nakayama M, Ogasawara S, Akiba J, Ueda K, Koura K, Todoroki K, Kinoshita H, Yano H. SP cell fractions from HCC cell lines increased with tumor dedifferentiation, but lack characteristic features of CSCs. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Dec 10.

3) Kusano H, Ogasawara S, Akiba J, Nakayama M, Ueda K, Yano H. Antiproliferative effects of sorafenib and pegylated IFNalpha2b on human liver cancer cells in vitro and in vivo. *Int J Oncol.* 2013 Jun;42(6):1897-903.

4) Kusano H, Akiba J, Ogasawara S, Sanada S, Yasumoto M, Nakayama M, Ueda K, Kurita T, Todoroki K, Umeno Y, Nakashima O, Yano H. Pegylated Interferon-alpha2a Inhibits Proliferation of Human Liver Cancer Cells In Vitro and In Vivo. *PLoS One.* 2013;8(12):e83195.

5) Kondo R, Nakashima O, Sata M, Imazeki F, Yokosuka O, Tanikawa K, Kage M, Yano H. Pathological characteristics of patients who develop hepatocellular carcinoma with negative results of both serous hepatitis B surface antigen and hepatitis C virus antibody. *Hepatol Res.* 2013 Aug 13.

6) Akiba J, Nakashima O, Hattori S, Tanikawa K, Takenaka M, Nakayama M, Kondo R, Nomura Y, Koura K, Ueda K, Sanada S, Naito Y, Yamaguchi R, Yano H. Clinicopathologic analysis of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma according to the latest WHO classification. *Am J Surg Pathol.* 2013 Apr;37(4):496-505.

## 2. 学会発表

1) 角 明子, 秋葉 純, 小笠原幸子, 中山正道, 野村頼子, 安元真希子, 眞田咲子, 中島 収, 矢野博久. 肝細胞癌及び非癌部肝組織における従来型PIVKA-IIとNX-PVKAの発現の検討 .第102回日本病理学会総会.札幌 2013年6月8日 .

2) 角 明子, 秋葉 純, 小笠原幸子, 中山正道, 野村頼子, 安元真希子, 眞田咲子, 中島 収, 矢野博久. 肝細胞癌組織における

MU-3抗体及びNX抗体を用いたPIVKA-II発現の検討 .第49回日本肝癌研究会 .東京2013年7月11日 .

3) 矢野博久. 分子標的薬の投与に伴うバイオマーカーの変化 .肝がん分子標的治療研究会 (特別講演) 東京2014年1月25日 .

## F. 知的財産権の出願・登録状況

なし。