

総 説

ビタミン K と肝細胞がんの古くて新しい話題

臨床検査科

春 名 能 通

Clinical impact of vitamin K on anticancer treatment for hepatocellular carcinoma :
the previous and updated.

Yoshimichi Haruna

Key words : Vitamin K, Hepatocellular carcinoma, Des- γ -carboxy prothrombin, Sorafenib,
Transarterial chemoembolization

1. 初 め に

ビタミン K は、血液凝固・止血にかかわるビタミンとして知られているが、他にいくつかの生理作用に関係しており、わが国では、骨粗鬆症に対する治療薬としても広く用いられている。2005 年ごろから肝細胞がんに対する抑制効果があるのではないかと期待され、いくつかの臨床研究が行われた。しかし、有効であったとする報告がある一方¹⁻³⁾、有効性に疑問を抱く結果も報告され⁴⁻⁶⁾、‘controversial’ な状態が続いたが、2010 年ごろからは臨床諸家の話題から遠のいていった。しかし、ビタミン K と肝細胞がんの基礎的研究は最近に至るまで脈々と続いており、ビタミン K の抗がん治療における有用性を示唆する ‘in vitro’ および ‘in vivo’ の新たな知見が報告されている^{7,8)}。

われわれは、ここ十数年、当センターにおいて、肝細胞がん治療におけるビタミン K 併用の意義につき検討を行ってきた。その結果、その有用性を明らかにすることができた。本総説では、肝細胞がん治療とビタミン K の関係を明らかにするうえで鍵となる des- γ -carboxy prothrombin (DCP) にも注目し、これまでの諸家の報告とわれわれが行った臨床研究での知見を述べていく。

2. ビタミン K とは

ビタミン K の発見は 20 世紀初頭にさかのぼる。Carl

Peter Henrik Dam (デンマーク) は、脂質を含まない食餌で飼育していたヒヨコに出血傾向、血液凝固異常を認め、原因となる未知のビタミンを同定した。これを凝固 (Koagulation) にちなんで“ビタミン K”と命名した。Dam は、ビタミン K の発見により、1943 年度のノーベル生理・医学賞を授与されている。

ビタミン K には、ビタミン K₁ (phylloquinone) とビタミン K₂ (menaquinone) があり、前者は緑色野菜に含まれ、後者は納豆などの発酵食品や腸内細菌が産生する (図 1)⁹⁾。ビタミン K₂ は側鎖のイソプレン単位の数により 1 から 14 にいたる種類があるが、生理活性がもっとも高いものは、menaquinone-4 (MK-4) であるといわれている。ビ

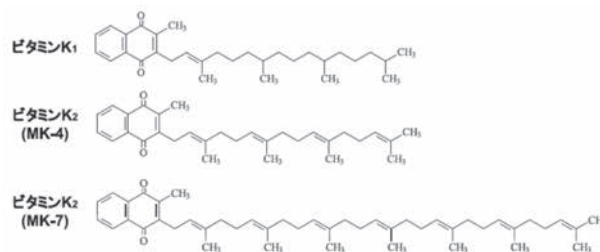


図 1. ビタミン K

オレオサイエンス 第 14 巻第 12 号 (2014) より

タミン K は、種々のタンパク分子中のグルタミン酸残基を選択的に γ -カルボキシグルタミン酸残基に変換する酵素 (γ -glutamyl carboxylase) の補因子として働く。したがって、血液凝固のみならず骨代謝や細胞増殖など多彩な生理作用に関与しており、いまだ、すべての詳細が明らかにされたわけではない。冒頭に述べた様に、2000年代に入って、このビタミン K に肝細胞がん抑制作用があるのではないかと話題となった。

3. ビタミン K に肝細胞がん抑制作用があるのか

Habuらは、肝硬変に骨粗鬆症を合併した女性患者を2群に分け、一方はビタミン K を服用してもらい、一方はコントロールとし、骨粗鬆症の進行に差があるか否かを観察していたが、その過程で、両群間で肝細胞がん発生に差があることを認めた。ビタミン K 服用群では、有意に、肝細胞がんの発生が少なかった。かれらは、2004年のJAMAにその成果を発表した¹⁾。その後、ビタミン K に肝細胞がん抑制作用があるか否かを明らかにするため多くの臨床研究が行われた²⁻⁶⁾。多くは、肝細胞がん治療後の再発抑制を期待してのビタミン K 投与に関するものであったが、再発を抑制したとの結果と有意には抑制しなかったとの結果が発表され、論議の分かれるところであった。2011年に、肝細胞がん術後または ablation 後で厳格に 'curative' と確認された大規模集団を対象にビタミン K 投与対プラセボコントロール試験が実施された。その結果、両群間の再発率に有意差が認められないとの成績が、Hepatology に発表された⁶⁾。その後、臨床諸家の間では、ビタミン K の肝細胞がん抑制効果に対する関心は消退したように見受けられた。

しかし、基礎研究の分野では、脈々と研究が継続されており、Weiらは、肝細胞がんに対する分子標的薬であるソラフェニブの抗腫瘍効果が、ビタミン K 併用により劇的に増強されることを培養細胞における実験のみならず肝細胞がんを経門脈的に移植したラットを用いた 'in vivo' の実験でも明らかにした⁷⁾。更に、Carrらは、ソラフェニブとビタミン K の併用による抗腫瘍効果増強は、c-Met-PI3K-Akt シグナル伝達系を介した c-Raf リン酸化抑制によるものであることを明らかにしている⁸⁾。

4. ソラフェニブ治療とビタミン K の併用

これまでの臨床研究から、ビタミン K 単独での抗腫瘍効果は限定的であるとされてきた。しかし、Wei や Carr らの基礎実験で示された様なビタミン K をソラフェニブに併用することでの抗腫瘍効果の増強^{7,8)}が、実臨床においても期待できるのか検討すべきであると考えられた。そこで、われわれは、当センターにおいてソラフェニブ治療を受けた肝細胞がん症例 65 例につき、後方視的にビタミン K 投与の影響を調査した¹⁰⁾。このうち 29 例で、骨粗鬆症などの治療のためビタミン K2 (グラケール[®]) が投与されていた。これらの症例につき無増悪生存期 (PFS) と全生存 (OS) につき検討した。まず、治療成績に影響すると考えられる因子を Cox 比例ハザードモデルを用いて解析したところ、PFS で有意に抽出されたのは、ビタミン K 服用と脈管侵襲であった。特に、ビタミン K 服用は、ハザード比 0.16 と顕著に PFS を延長していた。OS については、ビタミン K 服用、performance status (PS) と脈管侵襲が有意な因子であり、ビタミン K 服用のハザード比は 0.38 であった (表 1)¹⁰⁾。Kaplan-Meier 生存曲線では、

表 1. ソラフェニブ治療効果に影響する因子の Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析
(Haruna Y, et al. J Cancer. 2017; 8: 1988-1994, modified)

	Hazard Ratio (95% CI)	P Value
A: Progression-free Survival		
Vitamin K dosing	0.16 (0.08 - 0.32)	<0.001
Child-Pugh status (A vs. B)	0.95 (0.46 - 1.95)	0.88
ECOG performance status (0 vs. 1 or 2)	0.86 (0.45 - 1.61)	0.64
Extrahepatic spread	0.96 (0.54 - 1.71)	0.89
Macroscopic vascular invasion	2.55 (1.34 - 4.82)	0.004
Age	0.97 (0.94 - 1.00)	0.06
Initial dose of sorafenib	0.65 (0.35 - 1.21)	0.18
B: Overall Survival		
Vitamin K dosing	0.38 (0.20 - 0.73)	0.003
Child-Pugh status (A vs. B)	0.77 (0.34 - 1.75)	0.53
ECOG performance status (0 vs. 1 or 2)	0.36 (0.17 - 0.73)	0.005
Extrahepatic spread	1.42 (0.75 - 2.71)	0.28
Macroscopic vascular invasion	3.81 (2.00 - 7.26)	<0.001
Age	1.01 (0.98 - 1.05)	0.60
Initial dose of sorafenib	1.01 (0.54 - 1.89)	0.98

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.

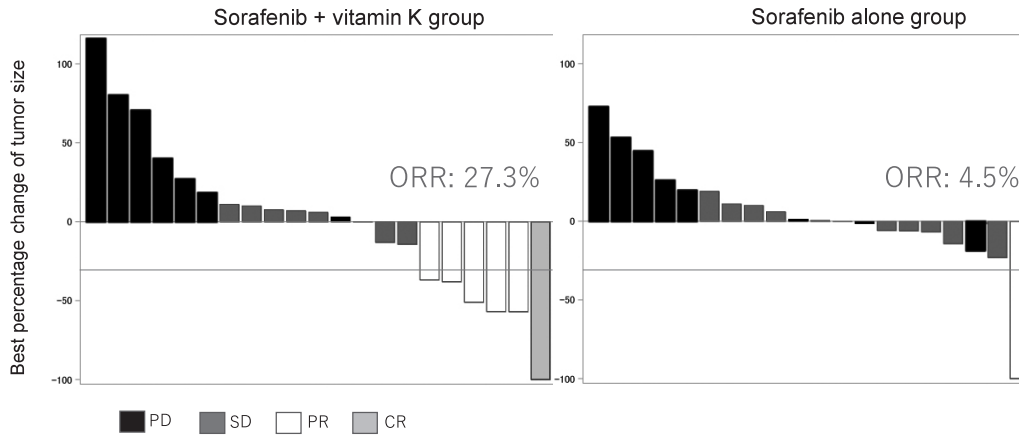


図 2. 治療による腫瘍径の変化 (modified RECIST による)
(Haruna Y, et al. Cancer Medicine. 2021 ; 10 : 914-922, modified)

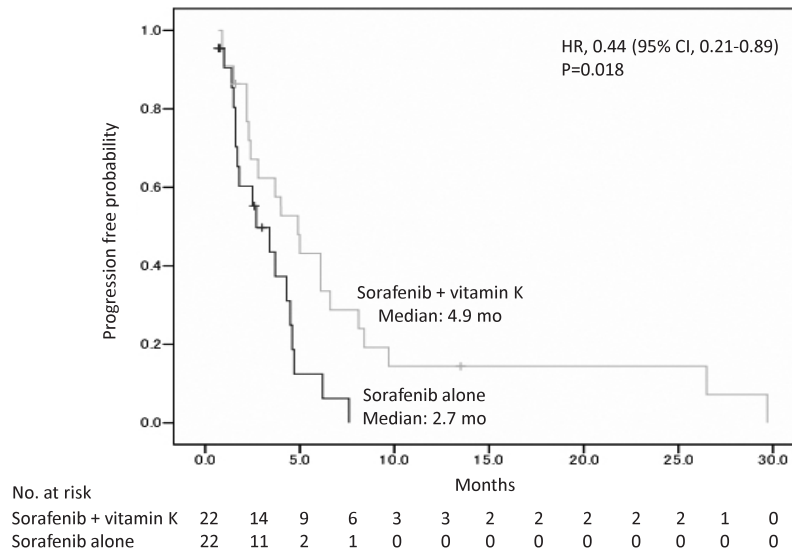


図 3. 無増悪生存期間の Kaplan-Meier 曲線
(Haruna Y, et al. Cancer Medicine. 2021 ; 10 : 914-922, modified)

PFS 中央値が、ビタミン K 服用により 2.0 か月から 6.0 か月に延長されていた (ハザード比 0.25, $P < 0.001$)。また、OS は、10.0 か月から 12.5 か月に延長されていた (ハザード比 0.47, $P = 0.009$)。これらの結果を得て、次に、われわれはソラフェニブ、ビタミン K 併用の無作為割り付け前向き試験を行った¹¹⁾。

2012 年 5 月から 2016 年 5 月の間にソラフェニブ投与を開始する 44 症例をビタミン K 併用群とソラフェニブ単独群に 1:1 に割り付け、治療を実施した。その結果、ソラフェニブ単独群では、部分奏功 (PR) が 1 例認められたのみで、奏効率は 4.5% であるに対し、ビタミン K 併用群では、完全奏功

(CR) 1 例、PR 5 例であり、奏効率は 27.3% と有意 ($P = 0.039$) に良好な治療成績を示した。Water fall plot 解析 (図 2) で見ると、ビタミン K 併用群もソラフェニブ単独群も半数弱の症例で、少なくとも一時的には腫瘍の縮小を見るが、ソラフェニブ単独では、縮小効果が限定的である。これに対し、ビタミン K 併用群では、腫瘍縮小を示したほとんどの症例が奏功の基準である 30% 以上の縮小を呈した。このことからソラフェニブ感受性の症例において、ビタミン K 併用の相乗効果が期待できることが示唆された。PFS の Kaplan-Meier 生存曲線を示す (図 3)。PFS の中央値は、ソラフェニブ単独群では 2.7 か月であったが、ビタミン K 併用群では 4.9 か

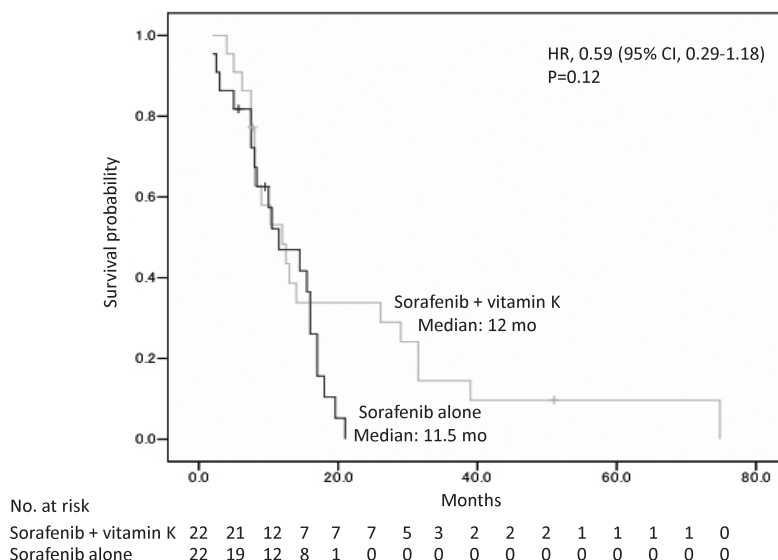


図4. 全生存期間のKaplan-Meier曲線
(Haruna Y, et al. Cancer Medicine. 2021; 10: 914-922, modified)

月に延長された (ハザード比 0.44, $P=0.018$). OSでは, 両群間に有意差は見られなかったが, 一部の症例では年単位でのOSの延長が認められた (図4). ビタミンKは安全性の確立した薬剤であり, 併用による有害事象の増加はほぼ見られなかったが, 唯一, ソラフェニブの副反応である低リン血症の頻度がグレード1, 2で有意 ($P=0.02$) に増加した. しかし, 治療の中断や中止に至った症例はなかった.

ビタミンK併用による抗腫瘍効果増強の作用機序を明らかにする探索的検討で, われわれは, 治療中の血中 des- γ -carboxy prothrombin (DCP) 値に注目した¹¹⁾. ソラフェニブを投与すると腫瘍が縮小しても多くの症例で血中 DCP 値が上昇する. ソラフェニブによる腫瘍血管新生阻害により腫瘍細胞が虚血に陥るが, その低酸素状態の腫瘍細胞で DCP 産生が進むためこのような現象が起ると考えられている. 一方, ビタミンK併用群では, 腫瘍の縮小, 増大にかかわらず, DCP は劇的に低下した. ビタミンKが腫瘍の DCP 産生を強力に抑制していることが見て取れる.

5. ビタミンKとDCPの関係

肝動脈化学塞栓術 (transarterial chemoembolization: TACE) やソラフェニブ, レンパチニブなどの分子標的薬は, がん組織への血流を低下させることでがん細胞の虚血壊死を誘導し, 抗がん作用を発揮する. 虚血低酸素状態に置かれた肝がん細胞は, 細胞外から細胞内へのビタミンKの能動輸送ができなくなり, 細胞内のビタミンKが欠乏する. 肝がん細胞内では, プレプロトロンビンからプロトロンビンが産生されるが, この反応にビタミンKが必須である. し

かし, ビタミンK欠乏によりプロトロンビンは産生されず, 不完全なプロトロンビンが蓄積する^{12,13)}. これがDCPである. 過剰に産生されたDCPは, がん細胞外に分泌されるが, autocrineの形でがん細胞のc-Metを介してがん細胞増殖に働く^{14,15)}. また, 上皮間葉変性 (EMT) を惹起し, 転移や周囲組織への浸潤に関与するとされている¹²⁾. 一方でDCPは, 血管内皮細胞に paracrineの形で働き, 腫瘍血管新生を促すことが知られている¹⁶⁻¹⁸⁾. このDCP産生により, がん細胞が抗がん治療に抵抗し, 再発や増悪が惹起されると考えられる (図5)¹⁵⁾. しかし, 薬理的量の大量のビタミンKが投与されると (ビタミンKの内服薬であるグラケーの一般の使用量である45mgで食品からのビタミンK摂取量の約200倍に相当) 濃度依存的にビタミンKが, がん細胞内に入り, プレプロトロンビンからプロトロンビンの産生が滞りなく行われるようになり, DCPは産生されなくなる^{12,19)}. このため, がん細胞は, 虚血下での残存・増殖に必要な微小環境が得られなくなり死滅する. ビタミンKのDCP産生抑制を介した抗腫瘍効果増強はこのような機序で発現すると考えられる (図6)¹⁵⁾.

6. TACEとビタミンKの併用

ソラフェニブにビタミンKを併用することにより治療効果が向上することから, 腫瘍の栄養動脈塞栓で物理的に腫瘍の虚血壊死を誘導するTACEでも, ビタミンK併用が有用ではないかと考えられた. そこでわれわれは, 2017年3月から2020年7月に当センターでTACE治療を受けた肝細胞がん患者101例をビタミンK投与群 (50例) とTACE単独

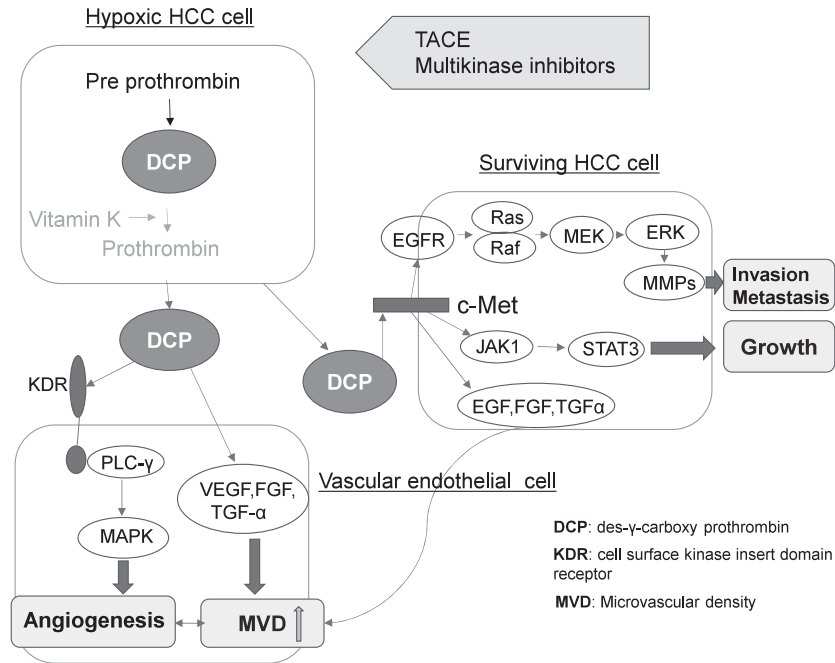


図 5. がん治療と DCP

(Zhang YS et al., Review article, Cell Physiol Biochem 2014; 34 : 903-915, modified)

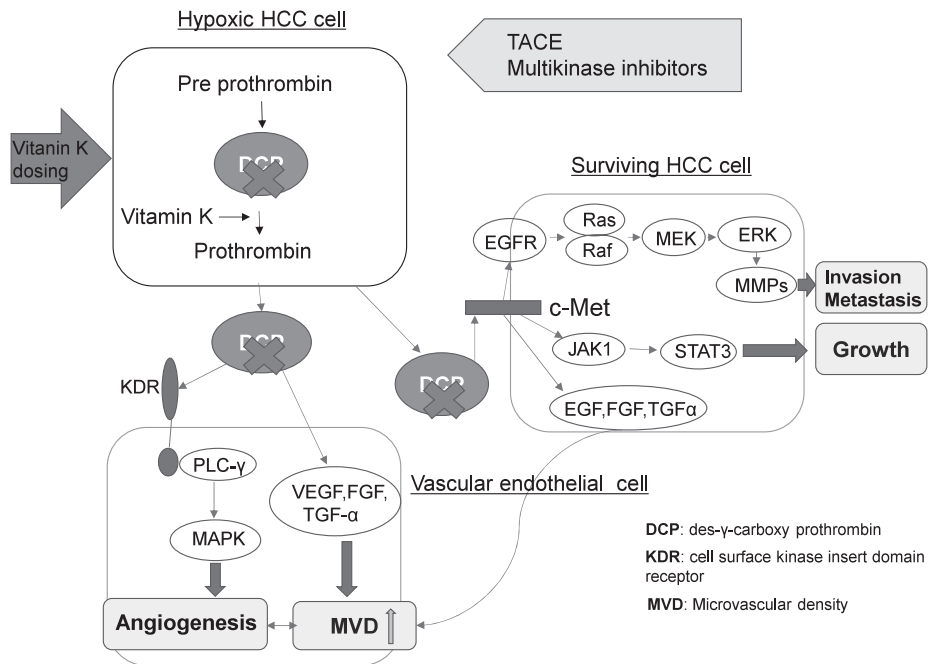


図 6. がん治療とビタミン K

(Zhang YS et al., Review article, Cell Physiol Biochem 2014; 34 : 903-915, modified)

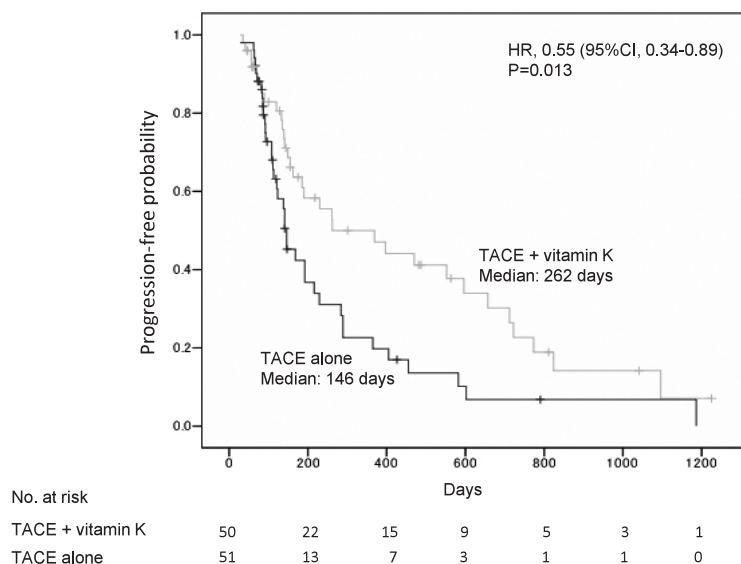


図7. 無増悪生存期間のKaplan-Meier 曲線

表2. TACE 後 120 日以内の急速重篤増悪件数

Event of recurrence	TACE + vitamin K group	TACE alone group
Macroscopic vascular invasion ^a	0	3
Multicentric intrahepatic recurrence	3	4
Massive infiltrating recurrence	0	4
Extrahepatic spread	0	3
Death due to rapid tumor progression	1	0
Total events ^b	4	14

TACE, transarterial chemoembolization.

^a Portal vein tumor thrombosis: Vp4 or Vp3

^b Rapid and crucial recurrence was observed more frequently in the TACE alone group than that in the TACE + vitamin K group ($p=0.049$).

群 (51 例) に無作為に割り付け、PFS を比較する第 2 相試験を行った。ビタミン K は、グラケー 45 mg/ 日を TACE 当日から 28 日間経口投与した。その結果、TACE 単独例では PFS 中央値が 146 日であったが、ビタミン K 併用群では 262 日であり、約 4 か月の延長が得られた ($P=0.013$, HR:0.55) (図 7)。層別解析を行ったところ、興味深いことに、女性であること (ハザード比 0.25)、治療前の血中 DCP が高値 (≥ 100 mAU/mL) であること (ハザード比 0.38) で、ビタミン K 併用の効果が大きいことが明らかになり、このような症例は特にビタミン K 併用の恩恵にあずかれるものと推測された。

TACE は、切除不能でラジオ波焼灼術の適応外の多くの肝細胞がん患者に行われる治療であるが、時に、治療後急速

に病勢が進展する現象が見られる。TACE 後 120 日以内の脈管侵襲の出現、肉腫様変性、肝外転移を呈した症例に注目すると、ビタミン K 併用群で有意に少数であった (表 2)。DCP は、がん細胞の EMT を誘発し、浸潤や遠隔転移の頻度を上昇させると考えられているが¹⁵⁾、ビタミン K により TACE 後の DCP 産生が抑制されることにより、これが回避された可能性がある。

7. 終わりに

ビタミン K は単独では、さほど抗腫瘍効果を期待できないが、ソラフェニブや TACE のように腫瘍虚血で抗がん作用を発揮する治療に併用すると、腫瘍成長因子かつ腫瘍新生血管増殖因子である DCP を強力に抑制することにより、治

療成績を改善することが示された。更に、ビタミン K 併用は、いわゆる抗がん剤併用に見られるような有害事象の上乗せがない。そして、極めて廉価な薬剤であり、医療経済的なメリットもある。現在、肝細胞がんに対する全身化学療法にはいくつかのレジメンがあるが²⁰⁾、これらに対するビタミン K 併用の有用性を検証すべく、新たな臨床研究が期待される。

TACE とビタミン K 併用の検討に関しては、第 59 回日本肝臓学会総会シンポジウム (2023 年 6 月 16 日, 東京), The 3rd JSH International Liver Conference (2023 年 9 月 8 日, 東京) および米国肝臓病学会 2023 plenary session (2023 年 11 月 12 日, ボストン) で発表した。

文 献

- 1) Habu D, Shiomi S, Tamori A, Takeda T, Tanaka T, Kubo S, Nishiguchi S. Role of vitamin K2 in the development of hepatocellular carcinoma in women with viral cirrhosis of the liver. *JAMA* 292: 358-361, 2004.
- 2) Kakizaki S, Sohara N, Sato K, Suzuki H, Yanagisawa M, Nakajima H, Takagi H, Naganuma A, Otsuka T, Takahashi H, et al. Preventive effects of vitamin K on recurrent disease in patients with hepatocellular carcinoma arising from hepatitis C viral infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 22: 518-522, 2007.
- 3) Yoshiji H, Noguchi R, Toyohara M, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, Yamazaki M, Yamao J, Mitoro A, Sawai M, et al. Combination of vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 51: 315-321, 2009.
- 4) Ishizuka M, Kubota K, Shimoda M, Kita J, Kato M, Park KH, Shiraki T. Effect of menatetrenone, a vitamin K2 analog, on recurrence of hepatocellular carcinoma after surgical resection: a prospective randomized controlled trial. *Anticancer Res.* 32: 5415-5420, 2012.
- 5) Hotta N, Ayada M, Sato K, Ishikawa T, Okumura A, Matsumoto E, Ohashi T, Kakumu S. Effect of vitamin K2 on the recurrence in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 54: 2073-2077, 2007.
- 6) Yoshida H, Shiratori Y, Kudo M, Shiina S, Mizuta T, Kojiro M, Yamamoto K, Koike Y, Saito K, Koyanagi N, et al. Effect of vitamin K2 on the recurrence of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 54: 532-540, 2011.
- 7) Wei G, Wang M, Hyslop T, Wang Z, Carr BI. Vitamin K enhancement of sorafenib-mediated HCC cell growth inhibition in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 127: 2949-2958, 2010.
- 8) Carr BI, Wang Z, Wang M, Cavallini A, D'Alessandro R, Refolo MG. c-Met-Akt pathway-mediated enhancement of inhibitory c-Raf phosphorylation is involved in vitamin K1 and sorafenib synergy on HCC growth inhibition. *Cancer Biol Ther* 12: 531-538, 2011.
- 9) 鈴木啓章. ビタミン K の健康栄養機能に関する最近の知見. *オレオサイエンス* 14: 35-41, 2014.
- 10) Haruna Y, Hasegawa N, Imanaka K, Kawamoto S, Inoue A. Clinical Impact of Vitamin K Dosing on Sorafenib Treatment for Hepatocellular Carcinoma. *J Cancer* 8: 1988-1994, 2017.
- 11) Haruna Y, Yakushijin T, Kawamoto S. Efficacy and safety of sorafenib plus vitamin K treatment for hepatocellular carcinoma: A phase II, randomized study. *Cancer Med* 10: 914-922, 2021.
- 12) Murata K, Sakamoto A. Impairment of clathrin-mediated endocytosis via cytoskeletal change by epithelial to fibroblastoid conversion in HepG2 cells: a possible mechanism of des-gamma-carboxy prothrombin production in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol.* 33: 1149-1155, 2008.
- 13) Murata K, Suzuki H, Okano H, Oyamada T, Yasuda Y, Sakamoto A. Hypoxia-induced des-gamma-carboxy prothrombin production in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol.* 36: 161-170, 2010.
- 14) Suzuki M, Shiraha H, Fujikawa T, Takaoka N, Ueda N, Nakanishi Y, Koike K, Takaki A, Shiratori Y. Des- γ -carboxy prothrombin is a potential autologous growth factor for hepatocellular carcinoma. *J Biol Chem.* 280: 6409-6415, 2005.
- 15) Zhang YS, Chu JH, Cui SX, Song ZY, Qu XJ. Des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) as a potential autologous growth factor for the development of hepatocellular carcinoma. *Cell Physiol Biochem.* 34: 903-915, 2014.
- 16) Fujikawa T, Shiraha H, Ueda N, Takaoka N, Nakanishi Y, Matsuo N, Tanaka S, Nishina S, Suzuki M, Takaki A, et al. Des-gamma-carboxyl prothrombin-promoted vascular endothelial cell proliferation and migration. *J Biol Chem.* 282: 8741-8748, 2007.
- 17) Gao FJ, Cui SX, Chen MH, Cheng YN, Sun LR, Ward SG, Kokudo N, Tang W, Qu XJ. Des-gamma-carboxy prothrombin increases the expression of angiogenic factors in human hepatocellular carcinoma cells. *Life*

Sci. 83 : 815-820, 2008.

- 18) Wang SB, Cheng YN, Cui SX, Zhong JL, Ward SG, Sun LR, Chen MH, Kokudo N, Tang W, Qu XJ. Des-gamma-carboxy prothrombin stimulates human vascular endothelial cell growth and migration. Clin Exp Metastasis. 26 : 469-477, 2009.
- 19) Ma M, Qu XJ, Mu GY, Chen MH, Cheng YN, Kokudo N, Tang W, Cui SX. Vitamin K2 inhibits the growth of hepatocellular carcinoma via decrease of des-gamma-carboxy prothrombin. Chemotherapy 55 : 28-35, 2009.
- 20) 日本肝臓学会肝臓診療ガイドライン, 薬物療法アルゴリズム : 208, 2023