



2022 年 9 月 20 日

東京慈恵会医科大学

肝がん早期診断の新規血液バイオマーカーとして血清 PKC δ を同定

既存マーカー陰性例でも陽性例があり肝がん早期発見や予後向上に期待

東京慈恵会医科大学・内科学講座・消化器・肝臓内科の及川恒一講師と猿田雅之教授の研究グループは、同生化学講座の山田幸司講師と吉田清嗣教授および同総合医科学研究センター・基盤研究施設の坪田昭人教授との共同研究により、肝細胞がん (Hepatocellular carcinoma: HCC) 患者の血清中に存在するタンパク質「プロテインキナーゼ C デルタ (PKC δ)」が新規の早期診断バイオマーカーとして有用であることを明らかにしました。早期発見により肝がんの予後の向上が期待できます。

本成果は、2022 年 8 月 4 日 (米国時間) に国際科学誌「Gastro Hep Advances」にオンライン掲載されました。

① ポイント

- ・ 血清 PKC δ の肝細胞がん HCC 診断における新規バイオマーカーとしての有用性を確認し、既存マーカーを補完するだけでなく、新規の診断バイオマーカーとして有用性が高いことがわかりました
- ・ 血清 PKC δ の測定により、早期診断が困難であった肝がんの発見を早められる可能性が明らかになりました

② 研究の背景と概要

肝がんは全世界でがん関連死亡の第 4 位を占め、我が国でも年間約 3 万人が死亡し、5 年再発率が 70-80% に達する予後不良のがんであることが知られています。しかしながら早期発見されれば根治治療が可能となり予後が期待できることから、肝がんの早期スクリーニングや術後再発サーベイランスを向上させることは肝がん根治や治療成績向上に大きな影響を与えていると考えられています。

現在、臨床で主に使用される肝がんの腫瘍マーカーである AFP や PIVKA-II (DCP) は、いずれもがんの病期 (ステージ) が進むにつれて上昇するものの早期には陽性になら

ず、それらの感度は早期診断のためには満足のいくレベルではありません。また腫瘍マーカー陰性となる症例が約 20 %も存在します。特に近年増加傾向にある非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 肝がんではウイルス性肝がんと比べ既存の腫瘍マーカーの陰性率が高く、ウイルス性とは異なる肝がんサーベイランス法が確立していないことから巨大かつ進行がんで見られることが少なくないのが現状です。これらの腫瘍マーカー陰性患者では、定期的サーベイランス以外での肝がん精査に必須である画像検査を施行する機会が失われ、結果として早期発見されず進行がんで見られる症例が多数存在することが問題となっていました。

本研究グループはこれまでに基礎研究において、細胞内にのみ存在するとされていた PKC δ が、(1) 肝がん細胞で特異的に細胞外分泌され、この機構に autophagy が関与すること (2) IGF-1R や EGFR を介した Erk1/2 や STAT3 等の増殖シグナル活性化により細胞増殖亢進に寄与すること (3) 抗 PKC δ 抗体投与により腫瘍増殖が抑制されることを発見し、肝がんの発がんや腫瘍形成に関わる重要な分泌タンパク質であることを世界で初めて明らかにしてきました (Cancer Res, 2021 81(2):414-425., Cancer Sci, 2022 113(7):2378-2385., PNAS, 2022 119(36):e2202730119)。

そこで、本研究では実臨床での肝がんのなかでも約 90%以上を占める肝細胞がん HCC 診断において新規バイオマーカーとしての血清 PKC δ の有用性を検証しました。

③ 研究の成果と意義

健常人 9 例、慢性肝疾患 74 例、治療前 HCC108 例の血清 PKC δ をサンドイッチ ELISA 法 (注 1) で測定し、HCC 診断能を解析するとともに既存マーカーである AFP/PIVKA-II と比較検討しました。

HCC 群の血清 PKC δ (中央値、46.9 ng/mL) は健常人や慢性肝疾患患者群 (慢性肝炎や肝硬変患者) と比較して有意に高値でした [健常人群 (中央値、27.0 ng/mL, 慢性肝疾患群 (中央値、37.9 ng/mL)、 $P < 0.001$]。血清 PKC δ の HCC 診断能 (CLD 群対照) の ROC 解析 (注 2) では cutoff 値 57.7ng/mL、AUC 0.686、感度 38.0%、特異度 97.3% であり、AFP >20 (AUC 0.641、感度 29.6%、特異度 98.6%)、PIVKA-II >40 (AUC 0.716、感度 50.0%、特異度 93.2%) と有意差はなく、HCC 診断能は既存の腫瘍マーカーと同程度であることが判明しました。また PKC δ は AFP/PIVKA-II と相関はなく、AFP (-) PIVKA-II (-) HCC 群の PKC δ 陽性率は 42.5% であり、既存マーカーとは異なる特性を有すると考えられました。さらに、既存マーカーとの組み合わせにより HCC 診断能

が向上することが示されました (図 1)。

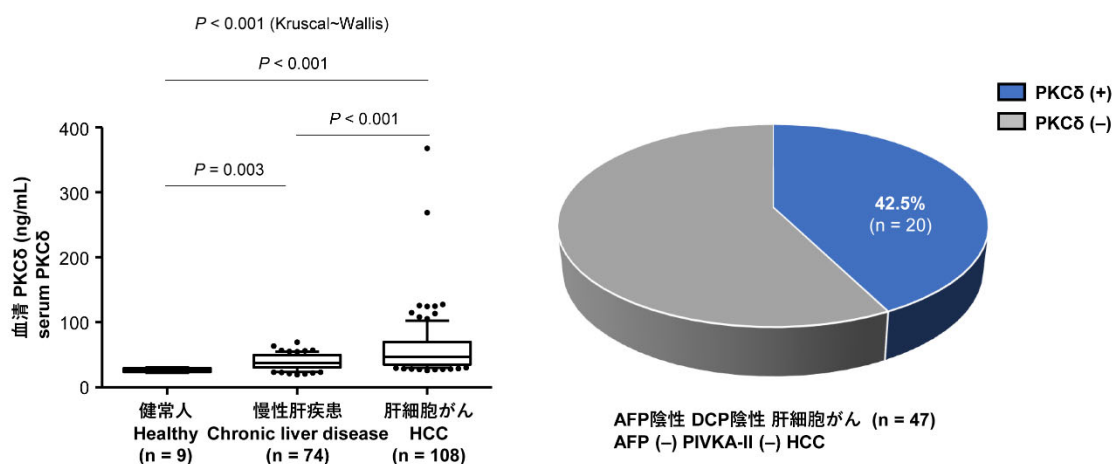


図 1 健常人、慢性肝疾患患者、肝細胞がん患者における血清 PKC δ 値分布 (左)
および既存マーカー陰性肝細胞がんにおける PKC δ 陽性率 (右)

肝細胞がんでは健常人や慢性肝疾患と比較して統計学的有意に PKC δ 値である。

既存マーカー陰性肝細胞がんにおける PKC δ 陽性率は 42.5%で、これらの組み合わせにより診断能が高くなる。

さらに特筆すべきは、単発かつ最大腫瘍径 20mm 以下 HCC 群 (BCLC stage 0; very early stage に相当 n = 20)では、PKC δ の陽性率は 45.0%と最も感度が高いことです。一方で既存マーカーである AFP、PIVKA-II の陽性率はそれぞれ 15%にとどまり、AFP と PIVKA-II を組み合わせて用いても PKC δ の診断能を超えることはありませんでした (図 2)。さらに PKC δ は 3つのマーカーの中で AUC 0.762 と最も高値を示しました。従って、血清 PKC δ の測定により、これまで早期診断が困難であった症例に対して肝がん罹患の発見を早めることが出来る可能性があると考えます。

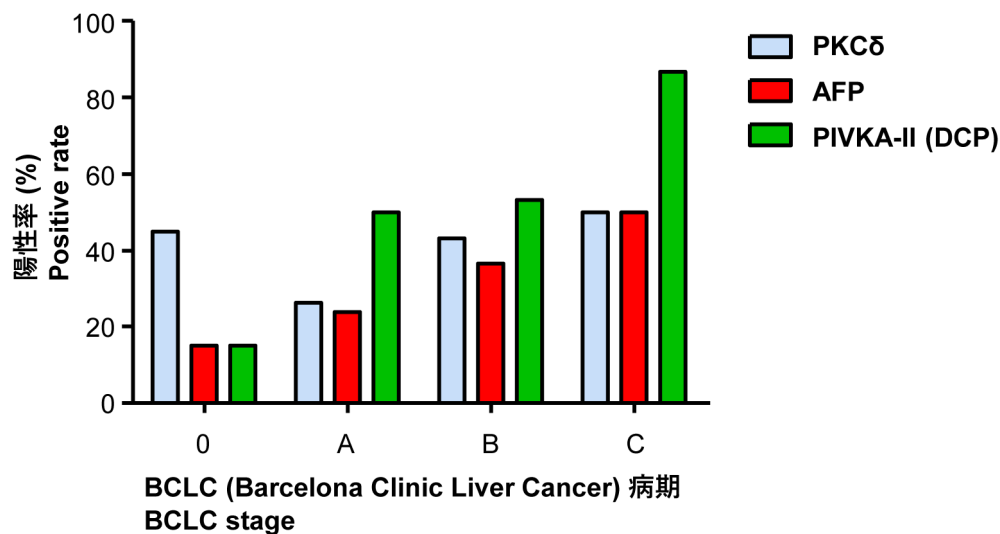


図2 病期における血清 PKC δ および既存マーカーの陽性率

既存マーカーである AFP/PIVKA-II 陽性率は病期が進行するにつれて陽性率が上昇するが、PKC δ は各病期である一定の陽性率を占め、特に超早期に相当する BCLC ステージ 0 (注 3) での陽性率が既存マーカーと比較して高い。

血清 PKC δ は HCC で特異的に高値であることから、既存マーカーを相補的に補完するだけでなく、早期発見が困難な AFP/PIVKA-II 陰性 HCC や早期 HCC 患者を特定できる新規診断バイオマーカーとして有用性が高いことが示され、肝がんの予後の向上が期待されます。

④ 今後の展開

本研究で血清 PKC δ 測定に用いたサンドイッチ ELISA キットは研究用試薬ですが、今後実臨床での測定を実現するため、診断キットの開発を目指しています。また、本研究グループが同定した肝がんの新規早期診断マーカー PKC δ と肝がん患者の臨床的特徴との関連性を解析することにより、血清 PKC δ 測定が将来、肝がん抑止や予後向上のための早期診断のみならず、予後予測や治療反応性バイオマーカーとなる可能性を多施設共同研究で検証していきます。

論文

タイトル

PKC δ Is a Novel Biomarker for Hepatocellular Carcinoma

著者 (注；責任者)

Tsunekazu Oikawa (注) , Kohji Yamada, Akihito Tsubota, Chisato Saeki, Naoko Tago, Chika Nakagawa, Kaoru Ueda, Hiroshi Kamioka, Tomohiko Taniai, Koichiro Haruki, Masanori Nakano, Yuichi Torisu, Toru Ikegami, Kiyotsugu Yoshida, and Masayuki Saruta

URL : [https://www.ghadvances.org/article/S2772-5723\(22\)00134-0/fulltext](https://www.ghadvances.org/article/S2772-5723(22)00134-0/fulltext) (外部サイトにリンクします)

⑤ 特記事項

本研究は日本学術振興会 科学研究費補助金 (JP18K15253、JP18K19484、JP20H03519、JP20K07621、JP22K08063) や、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 革新的がん医療実用化研究事業「早期肝がんに対する PKC δ を用いた新規高感度診断法の開発」(研究開発代表者：山田幸司)、AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム慶應拠点シーズ A「核移行タンパク質の細胞外分泌を標的とした新規診断法の開発」(研究開発代表者：山田幸司) などの支援を受けて行われたものであり、現在も橋渡し研究シーズ B として、慶應拠点の支援を受けています。

【本研究内容についてのお問い合わせ先】

東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器・肝臓内科

講師 及川恒一 電話 03-3433-1111 (代)

メール oitsune@jikei.ac.jp

【報道機関からのお問い合わせ窓口】

学校法人慈恵大学 経営企画部 広報課 電話 03-5400-1280 メール koho@jikei.ac.jp

⑥ 用語解説

(注 1) ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) 法

末端に酵素（アルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼなど）を結合した抗体を用いて抗原抗体反応を行い、抗体結合量と酵素反応量との相関を用いて酵素反応量を指標として測定する免疫学的測定法の一つである。

(注 2) ROC (receiver operating characteristic) 解析

ROC 曲線は、診断法がそのくらい有用なのかを解析する統計学的方法。特定の cutoff 値を設定した際の感度・特異度をそれぞれ縦軸・横軸（1-特異度）にプロットして折れ線で結んだ曲線のこと。曲線下面積（AUC: area under the curve）によって定量化され、鑑別能がたかい診断法であれば AUC の値は 1 に近づく。

(注 3) BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) 病期分類

がんの進行の程度は病期（ステージ）で分類され、病期と肝予備能に応じて治療法が決定される。肝がんの病期分類で国際的に影響力の強いバルセロナ臨床肝がん病期分類のステージ 0 は超早期（very early stage）に相当し、A, B, C と移行するに伴い進行がんとなる。