

## B 型, C 型肝炎ウイルスマーカーよりみた肝細胞癌 切除症例の臨床病理学的検討

神戸大学医学部第1外科

金丸 太一 森田 康 伊藤 卓資 山本 正博

肝細胞癌 (HCC) 切除140例を対象として, 血清中の C型肝炎抗体 (HCVAb), B型肝炎 (HBV) マーカーを測定し, その発現率について検討した. HCVAb 陽性例は103例 (73.6%) であった. HBV surface 抗原 (HBsAg) 陽性例は23例 (16.4%) であった. HCVAb 陽性例のうち, HBV surface 抗体 (HBsAb) 44.7%, HBV envelope 抗体 (HBeAb) 陽性46.8%, HBV core 抗体 (HBcAb) 陽性75.0%で HBV マーカーの発現は高率であった. HBsAg 陽性例では HCVAb 陽性例と比べ若年者に多く, 肝機能は良好で, 発見時の腫瘍径は大きく, 区域切除以上の術式が多く選択されており, 従来の報告と一致した. HCVAb 陽性例のうち HBV マーカーの有無で HCC 診断時の肝機能や腫瘍の臨床病理像には明らかな差は認めなかったが, HCVAb 陽性例のうち HBcAb 陽性例は HBcAb 陰性例に比べ有意に再発率は高かった. HCV と HBV の重複感染はまれでなく, 重複感染例では HCV 単独感染例と比較して予後が異なる可能性が示唆された.

**Key words:** hepatocellular carcinoma, hepatitis B virus, hepatitis C virus, co-infection, hepatectomy

### 目 的

日本における肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma: 以下, HCC と略記) の90%以上は C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: 以下, HCV と略記) あるいは B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus: 以下, HBV と略記) により発生すると考えられており<sup>1)</sup>, ウイルスの型分類よりみた疫学<sup>2)3)</sup>や臨床病理像<sup>4)</sup>, 肝切除後の遠隔成績の比較<sup>5)6)</sup>など種々報告されている. 臨床の現場において HCC 発癌の責任ウイルスは, 血清中の HCV 抗体 (HCV antibody: 以下, HCVAb と略記), HBV surface 抗原 (HBV surface antigen: 以下, HBsAg と略記) を測定し, その有無により決定されるのが一般的である. しかし, 近年のウイルス学の進歩により, 血清中の HBsAg 陰性でも HBV 感染が否定できないことや<sup>7)</sup>, HCV 抗体陽性で HBsAg 陰性 HCC 患者に HBVDNA が組み込まれている症例もみられることが明らかとなっている<sup>8)</sup>. そこで今回, 切除症例を対象に血清中の HBV, HCV ウイルスマーカーを測定し, ウイルスの重複感染についてその頻度分析を行い, あわせてその臨床病理学的特徴について検討

を行った.

### 対象および方法

HCVAb が測定された HCC 切除症例140例を対象とした. HCVAb は第2世代抗体 (Immcheck, F-HCVAb, Kokusai, Tokyo, Japan) を用い, HBV マーカーは HBV Axsym kit (Dinabott, Tokyo, Japan) を用いた. 140切除症例中 HCVAb 陽性症例は103例 (73.6%) であった. 全例が60倍以上の HCVAb 抗体価を示した. 一方, HBsAg 陽性例は, 23例 (16.4%) で, HCVAb 陽性かつ HBsAg 陽性例は1例 (0.7%), 逆に HCVAb 陰性かつ HBsAg 陰性例は15例 (10.7%) であった (Table 1). HCVAb 陽性例, HBsAg 陽性例, 両者ともに陰性例での HBV surface 抗体 (以下, HBsAb と略記), HBV envelope 抗原 (以下, HBeAg と略記), HBV envelope 抗体 (以下, HBeAb と略記), HBV core 抗体 (以下, HBcAb と略記) の出現率を検討した (Table 2). HCVAb 陽性例では, HBsAb 陽性44.7%, HBeAb 陽性46.8%, HBcAb 陽性75.0%で高率に HBV マーカー陽性であった. また, HCVAb 陽性 HBcAb 抗体陽性症例33例中5例 (15.2%) が200倍希釈で70%を超える HBcAb 抗体価を示した. そこで, HCVAb 陽性でかつ HBV マーカーすべて陰性症例を C 群 (n=9), HCVAb 陽性でかつ HBV マーカーのい

<1997年11月5日受理>別刷請求先: 金丸 太一  
〒650-0017 神戸市中央区楠町7-5-2 神戸大学  
医学部第1外科

ずれかが陽性のものをBC群 (n=49), HCVAb陰性でHBsAg陽性患者をB群 (n=22), HCVAb陰性, HBsAg陰性症例をN群 (n=15)として背景因子, 臨床病理像, 無再発生存率の差異について検討を行った. 術前肝機能として, 血清アルブミン値, 総ビリルビン値, GOT値, GPT値, インドシアニングリーン15分停滞率(以下, ICGRと略記), 血小板数を測定した. 切除標本は原発性肝癌取扱い規約<sup>9)</sup>に準じて行った. あわせて, 非癌部肝組織はKnodellら<sup>10)</sup>のhistological activity index(以下, HAIと略記)により,

**Table 1** Prevalence of HCVAb and HBsAg in HCC patients

|       |          | HCVAb     |          |           |
|-------|----------|-----------|----------|-----------|
|       |          | Positive  | Negative | Total     |
| HBsAg | Positive | 1(0.7)    | 22(15.7) | 23(16.4)  |
|       | Negative | 102(72.9) | 15(10.7) | 117(83.6) |
| Total |          | 103(73.6) | 37(26.4) | 140(100)  |

( ) : %

**Table 2** HBV marker positivity rate

|             | HCVAb-positive | HBsAg-positive           | HCVAb and HBsAg-negative |
|-------------|----------------|--------------------------|--------------------------|
| HBsAb       | 44.7(34/76)    | 5.9(1/17) <sup>a</sup>   | 35.7(5/14)               |
| HBeAg       | 0(0/52)        | 20.0(3/15) <sup>a</sup>  | 0(0/8)                   |
| HBeAb       | 46.8(22/47)    | 92.3(12/13) <sup>a</sup> | 0(0/8)                   |
| HBcAb       | 71.7(33/46)    | 100.0(11/11)             | 42.9(3/7)                |
| HBcAb(×200) | 15.2(5/33)     | 63.6(7/11)               | 33.3(1/3)                |

a : vs HCVAb-vpositive cases ; p<0.01

grading, stagingを行った. 連続変量はすべて平均値±標準偏差で表した. 生存曲線はKaplan-Meier法<sup>11)</sup>にて算出した. なお, 統計は連続変量はAnova検定, カテゴリ変量はFisherの直接法, 生存曲線はlog-rankテストにて行い, それぞれp<0.05で有意差ありと判定した.

**成 績**

各群における性差, 平均年齢, 輸血歴, アルコール歴, 術式, 絶対非治癒切除例数, 在院死例数の有無を**Table 3**に示した. B群の年齢はC群, BC群, N群に比較して有意に平均年齢が低かった. 術式別にはB群で, C群と比較してHr1以上の肝切除が多く選択されていた. 術前の血液生化学検査では血清アルブミン値はC群がB群, N群に比較して低く, GPT値はBC群でN群に比較して高く, ICGRはB群でC群, BC群と比較して良好で, 血小板数はB群でC群, BC群と比較して良好で, N群はC群と比較して良好であった(**Table 4**).

臨床病理学的検討においては, 腫瘍個数, 分化度, 病理学的門脈侵襲または肝内転移, 腫瘍断端には差を認めなかった. 腫瘍径はB群で, C群, BC群, N群と比較して有意に大きく, HAIによる非癌部肝組織はgrading, stagingともにB群とBC群, N群とBC群の間で有意差を認めた(**Table 5**).

絶対非治癒切除ならびに在院死を除いた症例で1, 3年無再発生存率を検討した. B群17例の無再発生存率は79.3%, 73.6%, C群8例は71.4%, 23.8%, BC群44例は63.9%, 21.5%, N群13例は92.3%, 75.5%で, N群はB群, BC群に比較して無再発生存曲線は

**Table 3** Clinical characteristics

|  | C Group (n=9)     | BC Group (n=49)   | B Group (n=22) | N Group (n=15)    |
|--|-------------------|-------------------|----------------|-------------------|
| Male/Female                                    | 6/3               | 44/5              | 16/6           | 14/1              |
| Age  | 61±8 <sup>b</sup> | 63±7 <sup>a</sup> | 53±11          | 61±9 <sup>a</sup> |
| Transfusion (Yes/No)                           | 2/6               | 11/35             | 1/15           | 4/11              |
| Alcohol abuse (Yes/No)                         | 3/4               | 26/20             | 9/7            | 8/7               |
| Surgical procedures (Hr0 or S/Hr1 or 2)        | 8/1 <sup>b</sup>  | 33/16             | 9/13           | 8/7               |
| Number of absolute noncurative operation cases | 1                 | 3                 | 4              | 2                 |
| Number of operative death cases                | 0                 | 2                 | 1              | 0                 |

a : vs B Group, p<0.01

b : vs B Group, p<0.05

Table 4 Preoperative serological data

|                                | C Group<br>(n=9) | BC Group<br>(n=49) | B Group<br>(n=22)       | N Group<br>(n=15)     |
|--------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------|-----------------------|
| Albumin(g/dl)                  | 3.5±0.3          | 3.7±0.4            | 3.8±0.3 <sup>a</sup>    | 3.9±0.4 <sup>a</sup>  |
| Bilirubin(mg/dl)               | 0.9±0.3          | 0.7±0.4            | 0.8±0.5                 | 0.7±0.2               |
| GOT (IU/l)                     | 65±30            | 73±43              | 69±80                   | 46±15                 |
| GPT (IU/l)                     | 81±33            | 79±45              | 60±52                   | 49±20 <sup>b</sup>    |
| ICGR(%)                        | 17.6±7.4         | 15.6±8.4           | 10.4±5.5 <sup>a,b</sup> | 14.7±8.4              |
| Platelet(×10 <sup>3</sup> /ml) | 10.3±5.4         | 13.3±7.2           | 18.0±7.5 <sup>a,b</sup> | 17.0±7.9 <sup>a</sup> |

a : vs C Group, p&lt;0.05

b : vs BC Group, p&lt;0.05

Table 5 Histopathological features

|  | C Group<br>(n=9)     | BC Group<br>(n=49)   | B Group<br>(n=22) | N Group<br>(n=15)    |
|--|----------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| Number of tumors<br>(Solitary/Multiple)      | 8/1                  | 37/12                | 17/5              | 11/4                 |
| Tumor size(cm)                               | 3.7±2.4 <sup>b</sup> | 4.0±3.1 <sup>a</sup> | 6.8±4.7           | 4.4±3.2 <sup>b</sup> |
| Histological grade                           |                      |                      |                   |                      |
| Well   | 2                    | 13                   | 4                 | 3                    |
| Moderate                                     | 5                    | 30                   | 12                | 12                   |
| Poorly                                       | 1                    | 4                    | 1                 | 0                    |
| Necrosis*                                    | 1                    | 2                    | 5                 | 0                    |
| Histological vp or im<br>(Positive/Negative) | 6/3                  | 29/20                | 9/13              | 6/9                  |
| Histological tw<br>(Positive/Negative)       | 2/7                  | 24/25                | 12/10             | 7/8                  |
| Noncancerous<br>liver tissue                 |                      |                      |                   |                      |
| grading score                                | 8.5±3.4              | 9.2±2.4 <sup>a</sup> | 7.0±2.5           | 6.5±2.8 <sup>c</sup> |
| staging score                                | 3.4±1.4              | 3.5±0.9 <sup>a</sup> | 2.6±1.3           | 2.4±1.5 <sup>c</sup> |

a : B Group, p&lt;0.01

b : B Group, p&lt;0.05

c : B Group, p&lt;0.01

\* : due to preoperative transcatheter arterial embolization

良好であり, B 群, C 群, BC 群の間に差はなかった (Fig. 1). 術前肝動脈塞栓療法施行例を除いた比較 (B 群12例, C 群7例, BC 群42例, N 群13例) においても同様の結果であった. BC 群のうち HBcAb 陽性例と陰性例で同様に 1, 3 年無再発生存率を検討した. HBcAb 陽性例 (29例) では63.7%, 17.2%, HBcAb 陰性例 (13例) では81.8%, 54.5%であり, HBcAb 陽性例で有意に不良であった (Fig. 2). なお, 両者間に背景因子, 臨床病理像に差はなかった.

### 考 察

今回の検討において, 切除例の HCVAb 陽性率は 73.6%, HBsAg 陽性率は15.7%であり, 第12回原発性肝癌追跡調査報告<sup>1)</sup>の, HCVAb 陽性率76.4%, HBsAg 陽性率16.8%とほぼ同様の結果で, HCVAb

陽性 HCC が多くを占めていた. 同時に, HBV マーカーの測定されていた HCVAb 陽性症例76例中 HBsAb 陽性を34例 (44.7%) に, HBeAb 陽性は47例中22例 (46.8%) に, HBcAb 陽性は46例中33例 (71.7%) に認めた. また, HCVAb 陰性でかつ HBsAg 陰性症例でも HBsAb 陽性を35.7%, HBcAb 陽性を57.1%に認め, それぞれ HBV マーカーの発現頻度は高率であった. HBsAb は HBV 感染後最後に現れる抗体で, 回復程度のモニターであり, HBeAb は HBV 感染後のウイルス量の多寡のモニターとしてそれぞれ用いられている<sup>12)</sup>. HBcAb は HBV の既往感染, あるいは持続感染のマーカーとしてとくに重要で, HBV 感染により長期あるいは一生生涯陽性であることが報告されている<sup>13)</sup>. 従来より血清学的診断により HCV,

Fig. 1 Disease-free survival rate

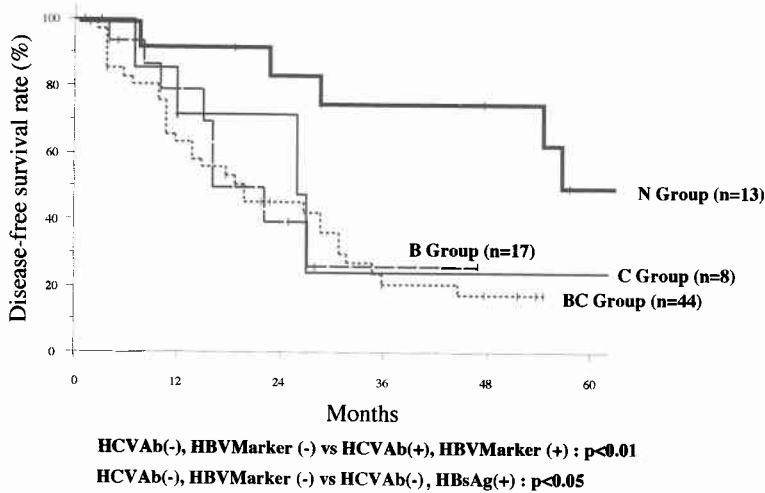
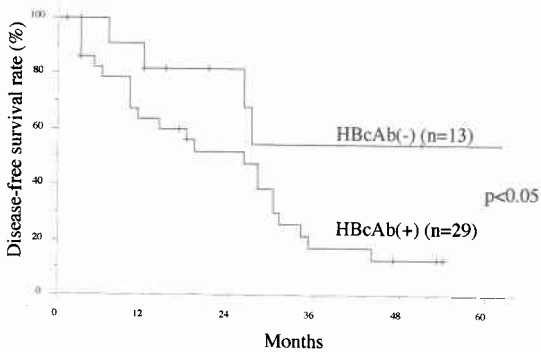


Fig. 2 Comparison of disease-free survival rate between HBcAb positive—and HBcAb negative—HCVAb positive HCC cases



HBV マーカーが同時に出現することは報告されている<sup>14)15)</sup>。最近, Liang ら<sup>16)</sup>は分子生物学的手法を用いて血清, 肝組織内から HBVDNA, HCV RNA を抽出し, HBsAg 陰性症例でも HBVDNA は 24.2% に認め, HBsAg 陰性症例で HBVDNA 陽性例のうち 53.8% に HCV RNA が存在したと報告している。今回の検討で, HBVAb 陽性 HBcAb 抗体陽性症例 33 例中 5 例 (15.2%) が 200 倍希釈で 70% を超える抗体価を示したが, Adachi ら<sup>17)</sup>は, HBsAg 陰性かつ HBcAb が 200 倍希釈で 70% 以下であっても血清中に HBV が高率に存在することを見出している。さらに, 今回 HCVAb 測定に用いられた第 2 世代 HCV 抗体アッセイは, 特異性にすぐれており疑陽性および偽陰性はほとんどなく<sup>18)</sup>, HCV は 1 度の感染により, 未治療症例において

はウイルス量は年々増加し治癒することはほとんどないことが知られている<sup>19)</sup>。これらの結果は HCVAb 陽性症例やいわゆる nonB-nonC の HCC といわれる症例にもかなりの頻度で HBV に罹患している可能性を示唆するものと考えられた。

外科切除例における HBsAg 陽性 HCC と HCVAb 陽性 HCC の臨床病理像, 遠隔成績の差異についてはいくつか報告されている<sup>4)5)</sup>。今回の検討でも, B 群では C 群, BC 群と比べて若年者に多く, ICGR に代表される肝機能は良好で, 発見時の腫瘍径は大きく, 術式は区域切除以上が多く選択されていた。また, HAI における非癌部肝組織も炎症程度を表す grading score, 線維化程度の指標である staging score ともに B 群は BC 群と比べて良好であり, 従来の報告とほぼ同様であった。一方, C 群と BC 群の比較では HCC 診断時の患者の背景因子や肝機能, HAI score に明らかな差を認めず, BC 群が C 群単独感染例より HCC に併存する肝病変の進行が促進されているという結果は得られなかった。Fong ら<sup>20)</sup>は, HBsAg 陽性肝炎症例において, HCVAb 陽性例では陰性例に比べて有意に HBV-DNA polymerase が低下していることを報告しており, HBV, HCV 重複感染においても, ウイルス学でいわれている一方のウイルスが他方のウイルス増殖を抑制するウイルス干渉作用が起こっているのかもしれない<sup>21)</sup>。

無再発生存期間の検討では, N 群は B 群, BC 群に比べて良好であったが, 他の 3 群には差を認めなかった。しかし, BC 群の中で, HBcAb の有無で再発率を

検討すると HBcAb 陰性症例は陽性症例に比べて、良好であった。近年, HBsAg 陰性かつ HBcAb 陽性で HCVAb 陽性 HCC 症例において, 癌組織あるいは非癌部肝組織 DNA 内に, 90%と高率に HBV-X 遺伝子の組み込みがあることが報告されている<sup>22)</sup>。HBV-X 遺伝子と肝発癌との関与を示唆する報告もみられる<sup>23)</sup>。今回の検討で, 現在多数を占めるとされる HCV 関連 HCC においても HBV の感染既往もしくは現在 HBV に罹患している症例が少なからず存在することが明らかとなった。HBV-X 遺伝子の組み込まれた HCV 関連 HCC 症例では, 残存肝組織に新たな癌を発生し, 予後も不良である可能性が示唆された。

肝炎ウイルスの発癌のメカニズムは今なお不明であるが<sup>24)</sup>、今後ウイルスに関連した HCC の診断治療にあたっては各種ウイルスマーカーをはじめとして, ウイルス量, genotype など組み入れたきめ細かい分析が必要であると思われる。

#### 文 献

- 1) 岡本英三, 有井滋樹, 内野純一ほか: 原発性肝臓に関する追跡調査—第12回報告—. 肝臓 38 : 317—329, 1997
- 2) Okuda K: Hepatocellular carcinoma: recent progress. Hepatology 15 : 948—963, 1992
- 3) Tanaka K, Hirohata T, Koga S et al: Hepatitis C and hepatitis B in the etiology of hepatocellular carcinoma in the Japanese population. Cancer Res 51 : 2842—2847, 1991
- 4) Shiratori Y, Shina S, Imamura M et al: Characteristic difference of hepatocellular carcinoma between hepatitis B- and C-viral infection in Japan. Hepatology 22 : 1027—1033, 1995
- 5) Takenaka K, Yamamoto K, Taketomi A et al: A comparison of the surgical results in patients with hepatitis B versus hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. Hepatology 22 : 20—24, 1995
- 6) Yamanaka N, Tanaka T, Tanaka W et al: Correlation of hepatitis virus serologic status with clinicopathologic features in patients undergoing hepatectomy for hepatocellular carcinoma. Cancer 79 : 1509—1515, 1997
- 7) Yamamoto K, Horikita M, Tsuda F et al: Naturally occurring escape mutant of hepatitis B virus with various mutations in the S gene in carriers seropositive for antibody to hepatitis B surface antigen. J Virol 68 : 2671—2676, 1994
- 8) Urashima T, Saigo K, Kobayashi S et al: Identification of hepatitis B virus integration in hepatitis C virus-infected hepatocellular carcinoma tissues. J Hepatol 25 : 771—778, 1996
- 9) 日本肝臓研究会編: 原発性肝臓取扱い規約. 金原出版, 東京, 1992
- 10) Knodell R, Ishak K, Black W et al: Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. Hepatology 1 : 431—435, 1981
- 11) Kaplan E, Meier P: Non parametric estimation from incomplete observations. J Am Stat Assoc 53 : 457—481, 1959
- 12) 飯野四郎: B型慢性ウイルス肝炎. 鎌田武信, 武藤泰敏編. ウイルス肝炎—感染症. 中山書店, 東京, 1994, p251—261
- 13) 茶山一彰: HBc抗原・HBc抗体. 日臨(増刊) 695 : 253—257, 1995
- 14) Colombo M, Kuo G, Choo Q et al: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet 2 : 1006—1008, 1989
- 15) Ruiz J, Sangro B, Cuende J et al: Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology 16 : 637—641, 1992
- 16) Liang T, Jeffers L, Reddy K et al: Viral pathogenesis of hepatocellular carcinoma in the united states. Hepatology 18 : 1326—1333, 1993
- 17) Adachi H, Kaneko S, Matsushita E et al: Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis B. Hepatology 16 : 1334—1337, 1992
- 18) 松島 喬, 永坂 敦: 肝炎ウイルス抗体測定法の成果. 総合臨 45 : 2482—2487, 1996
- 19) Kato N, Yokosuka O, Hosoda K et al: Quantification of hepatitis C virus by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction: increase of the virus in advanced liver disease. Hepatology 18 : 16—20, 1993
- 20) Fong T, Bisceglie A, Waggoner J et al: The significance of antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. Hepatology 14 : 64—67, 1991
- 21) Staeheli P: Interferon-induced proteins and the antiviral state. Adv Virus Res 38 : 147—200, 1990
- 22) Koike K, Nakamura Y, Kobayashi M et al: Hepatitis B virus DNA integration frequently observed in the hepatocellular carcinoma DNA of hepatitis C virus-infected patients. Int J Oncol 8 : 781—784, 1996
- 23) Kim C: HBx gene of hepatitis B virus induces

liver cancer in transgenic mice. *Nature* 351 :  
317-320, 1990

24) Sherlock S: Viruses and hepatocellular carcinoma. *Gut* 35 : 828-832, 1994

**Clinicopathological Analysis in Resected Hepatocellular Carcinoma  
Cases Based on Serum Hepatitis B and C Markers**

Taichi Kanamaru, Yasushi Morita, Takashi Itoh and Masahiro Yamamoto  
First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine

In this study, we investigated the clinicopathological and prognostic features of hepatocellular carcinoma (HCC) based on serum hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) markers in patients who had undergone hepatic resection. Of 140 HCC patients 103 (73.6%) were HCVAb (HCV antibody) positive and 23 (16.4%) were HBsAg (HBV surface antigen) positive. In HCVAb-positive patients, the positive rate of HBsAg (HBV surface antibody), HBeAb (HBV envelope antibody), and HBcAb (HBV core antibody) were 44.7%, 46.8%, and 75.0%, respectively. In the HBsAg-positive patients, the mean age was younger, the liver function was better, the mean tumor size was larger, and the resected volume of liver was greater, than those in HCVAb-positive patients, as previously reported. There was no clinicopathological difference between HBV marker-positive and -negative HCC patients with HCVAb. But the disease-free survival rate in HBcAb-positive HCC patients with HCVAb was significantly lower than that in HBcAb-negative HCC patients with HCVAb. These results suggest that co-infection with HCV and HBV is often seen in patients with HCC and that the prognosis of HBV marker-positive HCC patients with HCVAb differs from that of HCC patients with HCVAb alone.

**Reprint requests:** Taichi Kanamaru First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine  
7-5-2 Kusunoki-cho, Chuou-ku, Kobe, 650-0017 JAPAN

---