Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Clinical significance of hepatitis B virus-DNA in hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B virus surface antigen

立岩，心平

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2010-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲4987
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004987

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏　　名	立岩　心平
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学　位　記　番　号	博い第 4987 号
学位授与の　要　件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の　日　付	平成 22 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Clinical significance of hepatitis B virus-DNA in hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B virus surface antigen(HBs 抗原陰性肝細胞癌における HBV-DNA の臨床意義)

審　査　委　員

主　査　　教　授　具　英成

教　授　堀田　博

教　授　西尾　久英

（課程博士関係）

学位論文の内容要旨

Clinical significance of hepatitis B virus-DNA in hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B virus surface antigen

HBs 抗原陰性肝細胞癌における HBV-DNA の臨床意義

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻
感染病理学
（指導教員：林　祥剛　教授）

立岩　心平

内容要旨

Hepatocellular carcinoma(HCC)は最も致死的な悪性腫瘍の一つであるが、一般に多くの場合その発癌には B 型肝炎ウイルス(HBV)や C 型肝炎ウイルス(HCV)などの肝炎ウイルスの感染が関与している。B 型肝炎ウイルスは発癌ウイルスとされ、特に血中 HBV-DNA 量が HCC の発生に強い関わりを持つとされている。B 型肝炎キャリアーは HBs 抗原によって screening されるが、HBs 抗原陰性でも HBV-DNA 陽性例が存在し、HBV 感染に関与していることがある。特に HBc 抗体陽性例は肝細胞中に cccDNA が存在するため、HCC の潜在的な risk factor とされ、臨床的にも注意が必要である。これまでも HBs 抗原陰性例における HCC の報告が多く認められている。

肝炎ウイルス陰性(HBs 抗原陰性および HCV 抗体陰性)を背景とした肝細胞癌(NBNC-HCC)は比較的稀であるが、このような症例に B 型肝炎ウイルスが関与している可能性が示唆されている。そこで今回我々は肝炎ウイルス陰性として手術を受けた肝細胞癌症例において、肝組織中の HBV-DNA を解析することで、HBs 抗原陰性肝癌に対する HBV-DNA の臨床的意義について検討した。

神戸大学関連病院において手術を受けた肝細胞癌 32 例(年齢:35 歳から 81 歳までの平均 65.7±66.5 歳、男性 26 例、女性 6 例)を対象とした。血清学的に肝炎ウイルス陽性 13 例を HBs 抗原および HCV 抗体陰性の 19 例と比較した。統計に使用するソフトは SAS Institute Japan 株式会社の JMP7 Windows 版で、t 検定にて両群間の平均値等を比較した。

次いで HBs 抗原および HCV 抗体陰性の 19 例のうち、HBc 抗体を測定された 12 例について、手術組織より HBV-DNA を抽出し、HBV genome の detect を行った。detect された症例においては、ABI PRISM[R] 3100 *Avant* Genetic Analyzer を使用し、direct sequencing 法により塩基配列を決定した。塩基配列は Clustal X software により、reference sequence とともに alignment を作成し、mutation/variation について検討した。作成された alignment をもとに MEGA 4 software program によって遺伝子系統樹を作成し、genotype についても決定した。

本症例 32 例中、19 症例が NBNC-HCC であった。本邦において NBNC-HCC の占める割合は全 HCC の 10%前後とされているが、本集計では外科的切除を受けた症例に限って統計の収集を行ったため、56%と大きな隔たりがあった。NBNC-HCC の背景として 15 例(79%)と男性が多く、7 例(37%)に耐糖能異常 、7 例(37%)に脂質代謝異常を認め、両異常が認められるのは 4 例(21%)あった。そして 3 例(16%)に肥満(BMI25 以上)を認めた。組織学的に NASH と診断されたものは 3 例(16%)あった。耐糖能異常、脂質代謝異常、肥満がそろっている症例は 1 例のみ(5%)あり、組織学的に LC(A1,F4)となっており、明らかな NASH との診断はされてはいないが、その他明らか

な原因がないため、Burn out NASH が考えられた。総じて、19 例中 4 例(21%)が NASH による肝発癌が考えられ、又、NASH の線維化の程度の内訳は F0 が 2 例、F2 が 1 例、F4 が 1 例であった。これは既存の文献において、NASH の線維化が高度なほど肝発癌の危険因子であるとの報告があるが、本症例では必ずしも高度な線維化ほど発癌するものではないようであった。その他、肝癌の分化度は 17 例(89%)が中分化肝癌、2 例(11%)が低分化肝癌であった。大きさは 13 例(68%)が 5cm 以上の単発であった。

肝炎ウイルス陽性例(HV-HCC)、肝炎ウイルス陰性例(NBNC-HCC)間の比較では、臨床的には最大腫瘍径が NBNC-HCC 例で有意に大きく、肝組織の Activity、Fibrosis については HV-HCC 例で有意に大きかった。前者は、HV-HCC 例は定期的にフォローされているのに対し、NBNC-HCC 例では定期なフォローがされていないことで、HCC 発見時には HBNC-HCC 例では進行した状態で見つかることが多いことが原因であると考えられた。

また NBNC-HCC の 19 例中 6 例は HBc 抗体陽性であり、既感染と考えられた。これら HBc 抗体陽性例とそれら以外の NBNC-HCC 例では臨床的に ICG のみが陽性例で有意に小さかった。これら 6 例中 3 例(19 例中 4 例)に Pre-S/S 領域の HBV-DNA が確認された。うち 1 例に S 領域内に 4AA insertion を認めた。

X 領域の HBV-DNA は 6 例中 2 例(19 例中 4 例)検出され、C1653T、T1753V 変異において前者が 6 例中 1 例(19 例中 3 例)、後者が 6 例中 1 例(19 例中 1 例)認められ、BCP 領域の HBV-DNA は 6 例中 1 例(19 例中 3 例)検出され、A1762T/G1764A 変異において 6 例中 1 例(19 例中 3 例)に認められた。Codon38 変異は 1 例認められた。以前の研究によると X 領域の T1753V 変異が肝発癌に関与することが多いとする論文が多いが、本研究の解析結果は T1753V 変異は比較的少なく、X 領域の C1653T 変異が比較的多かった。
遺伝子系統樹解析では、すべて HBV genotype C に分類された。

HBs 抗原陰性肝細胞癌においても HBc 抗体陽性例では、肝組織中に HBV-DNA は比較的高頻度に認められ、発癌に対しても関与していることが示唆された。

今回我々は、HBs 抗原陰性肝細胞癌における HBV-DNA の臨床意義を、背景肝組織を用いて研究したものであるが、肝炎ウイルス陰性肝細胞癌の多くが、アルコール性肝硬変や NASH によるものだとされている。免疫血清学的検査において HBs抗原が陰性であっても、HBc抗体陽性であれば肝組織中には未だ HBV-DNA が残存していることが多く、X 領域、BCP 領域の変異や S 領域の insertion などを認め、それらが肝発癌の原因になり得ることが示唆された。

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2103 号	氏 名	立岩 心平
論文題目 Title of Dissertation	Clinical significance of hepatitis B virus-DNA in hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B virus surface antigen HBs 抗原陰性肝細胞癌における HBV-DNA の臨床意義		
審査委員 Examiner	主 査 Chief Examiner 具 英成 副 査 Vice-examiner 堀田 博 副 査 Vice-examiner 西尾久英		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

内容要旨

Hepatocellular carcinoma(HCC)は最も致死的な悪性腫瘍の一つであるが、一般に多くの場合その発癌にはＢ型肝炎ウイルス（HBV）やＣ型肝炎ウイルス（HCV）などの肝炎ウイルスの感染が関与している。Ｂ型肝炎ウイルスは発癌ウイルスとされ、特に血中HBV-DNA量がHCCの発生に強い関わりを持つとされている。B型肝炎キャリアーはHBs抗原によって screening されるが、HBs 抗原陰性でも HBV-DNA 陽性例が存在し、HBV感染に関与していることがある。特に HBc 抗体陽性例は肝細胞中に cccDNA が存在するため、HCC の潜在的な risk factor とされ、臨床的にも注意が必要である。これまでも HBs抗原陰性例における HCC の報告が多く認められている。

肝炎ウイルス陰性（HBs 抗原陰性および HCV 抗体陰性）を背景とした肝細胞癌（NBNC-HCC）は比較的稀であるが、このような症例にＢ型肝炎ウイルスが関与している可能性が示唆されている。そこで今回我々は肝炎ウイルス陰性として手術を受けた肝細胞癌症例において、肝組織中の HBV-DNA を解析することで、HBs 抗原陰性肝癌に対するHBV-DNA の臨床的意義について検討した。

神戸大学関連病院において手術を受けた肝細胞癌 32 例（年齢：35 歳から 81 歳までの平均 65.7±66.5 歳、男性 26 例、女性 6 例）を対象とした。血清学的に肝炎ウイルス陽性 13 例を HBs 抗原および HCV 抗体陰性の 19 例と比較した。統計に使用するソフトは SAS Institute Japan 株式会社の JMP7 Windows 版で、t 検定にて両群間の平均値等を比較した。

次いで HBs 抗原および HCV 抗体陰性の 19 例のうち、HBc 抗体を測定された 12 例について、手術組織より HBV-DNA を抽出し、HBV genome の detect を行った。detect された症例においては、ABI PRISMR 3100 Avant Genetic Analyzer を使用し、direct sequencing 法により塩基配列を決定した。塩基配列は Clustal X software により、reference sequence とともに alignment を作成し、mutation/variation について検討した。作成された alignment をもとに MEGA 4 software program によって遺伝子系統樹を作成し、genotype についても決定した。

本症例 32 例中、19 症例が NBNC-HCC であった。本邦において NBNC-HCC の占める割合は全 HCC の 10%前後とされているが、本集計では外科的切除を受けた症例に限って統計の収集を行ったため、56%と大きな隔たりがあった。NBNC-HCC の背景として 15 例（79%）と男性が多く、7 例（37%）に耐糖能異常 、7 例（37%）に脂質代謝異常を認め、両異常が認められるのは 4 例（21%）あった。そして 3 例（16%）に肥満（BMI25 以上）を認めた。組織学的に NASH と診断されたものは 3 例（16%）あった。耐糖能異常、脂質代謝異常、肥満がそろっている症例は 1 例のみ (5%) あり、組織学的に LC (A1,F4) となっており、明らかな NASH との診断はされてはいないが、その他明らかな原因がないため、Burn out NASH が考えられた。総じて、19 例中 4 例（21%）が NASH による肝

発癌が考えられ、又、NASH の線維化の程度の内訳は F0 が 2 例、F2 が 1 例、F4 が 1 例であった。これは既存の文献において、NASH の線維化が高度なほど肝発癌の危険因子であるとの報告があるが、本症例では必ずしも高度な線維化ほど発癌するものではないようであった。その他、肝癌の分化度は 17 例（89%）が中分化肝癌、2 例（11%）が低分化肝癌であった。大きさは 13 例（68%）が 5cm 以上の単発であった。

肝炎ウイルス陽性例（HV-HCC）、肝炎ウイルス陰性例（NBNC-HCC）間の比較では、臨床的には最大腫瘍径が NBNC-HCC 例で有意に大きく、肝組織の Activity、Fibrosis については HV-HCC 例で有意に大きかった。前者は、HV-HCC 例は定期的にフォローされているのに対し、NBNC-HCC 例では定期なフォローがされていないことで、HCC 発見時には HBNC-HCC 例では進行した状態で見つかることが多いことが原因であると考えられた。

また NBNC-HCC の 19 例中 6 例は HBc 抗体陽性であり、既感染と考えられた。これら HBc 抗体陽性例とそれら以外の NBNC-HCC 例では臨床的に ICG のみが陽性例で有意に小さかった。これら 6 例中 3 例（19 例中 4 例）に Pre-S/S 領域の HBV-DNA が確認された。うち 1 例に S 領域内に 4AA insertion を認めた。

X 領域の HBV-DNA は 6 例中 2 例（19 例中 4 例）検出され、C1653T、T1753V 変異において前者が 6 例中 1 例（19 例中 3 例）、後者が 6 例中 1 例（19 例中 1 例）認められ、BCP 領域の HBV-DNA は 6 例中 1 例（19 例中 3 例）検出され、A1762T/G1764A 変異において 6 例中 1 例（19 例中 3 例）に認められた。Codon38 変異は 1 例認められた。以前の研究によると X 領域の T1753V 変異が肝発癌に関与することが多いとする論文が多いが、本研究の解析結果は T1753V 変異は比較的少なく、X 領域の C1653T 変異が比較的多かった。

遺伝子系統樹解析では、すべて HBV genotype C に分類された。

HBs 抗原陰性肝細胞癌においても HBc 抗体陽性例では、肝組織中に HBV-DNA は比較的高頻度に認められ、発癌に対しても関与していることが示唆された。

今回我々は、HBs 抗原陰性肝細胞癌における HBV-DNA の臨床意義を、背景肝組織を用いて研究したものであるが、肝炎ウイルス陰性肝細胞癌の多くが、アルコール性肝硬変や NASH によるものだとされている。免疫血清学的検査において HB s 抗原が陰性であっても、HB c 抗体陽性であれば肝組織中には未だ HBV-DNA が残存していることが多く、X 領域、BCP 領域の変異や S 領域の insertion などを認め、それらが肝発癌の原因になり得ることが示唆された。

以上、本研究は、未だ未解明の点の多い非 B 非 C 型肝細胞癌の発癌機構を探る研究として価値ある集積であると認める。よって本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。