

図1 当院での肝癌新規患者診断数の推移

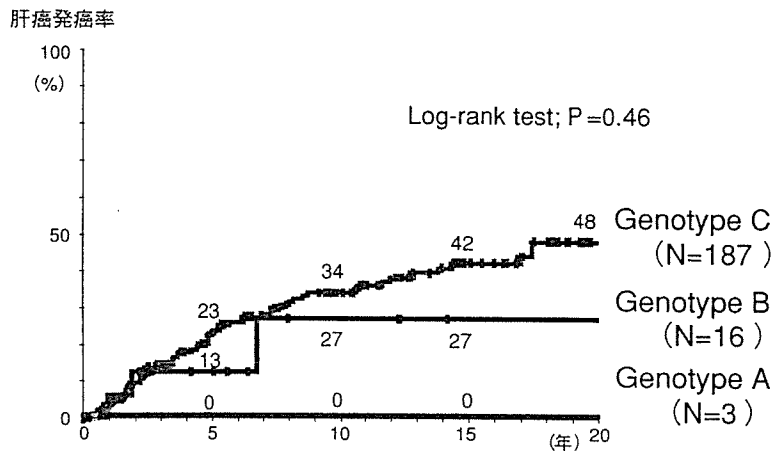


図2 HBVゲノタイプ別にみた肝硬変からの肝癌発癌率

に腹腔鏡肝生検で診断したB型肝硬変症例のうち、経過中にインターフェロン投与・ラミブジン投与を行った症例を除外し、初期血清でHBVゲノタイプを測定した226例とした。ゲノタイプの内訳は、C型187例、B型16例、A型3例で、他の20例は測定不能または判定保留であった。ゲノタイプC, B, Aからの累積発癌率は、5年がそれぞれ23.0%, 12.5%, 0%, 10年が34.2%, 27.1%, 0%, 15年が42.3%, 27.1%, 0%であり、ゲノタイプCからの発癌率が高い傾向にあったが、他の群の症例数が少なく、有意差は示されなかった(図2)。

B型肝硬変からの発癌率を同様に、HBs抗原サブタイプ別に検討した。対象は同様に、1978~2004年までにB型肝硬変と診断した症例のうち、インターフェロン・ラミブジン投与例を除外し、

初期血清でHBs抗原サブタイプを測定した216例とした。HBs抗原サブタイプの内訳は、adw 21例、adr 143例、adwr 32例で、他の10例は他のサブタイプまたは判定保留であった。サブタイプadw, adr, adwrからの累積発癌率は、5年がそれぞれ20.6%, 17.6%, 34.3%, 10年が29.4%, 27.4%, 49.4%, 15年が29.4%, 32.8%, 66.3%であり、HBs抗原サブタイプadwrからの発癌率が高かった(log-rankテスト, P=0.0047)。

C型肝硬変からの発癌率を、C型肝炎ウイルスサブタイプ別に検討した。対象は1978~1998年までの間に、腹腔鏡肝生検で診断されたC型肝硬変706例中、初期血清でHBs抗原とHCV抗体およびHCVサブタイプを測定した593例(83.9%)とした。経過中にインターフェロン治療を行った例は、その時点で打ち切りデータとして計算し、

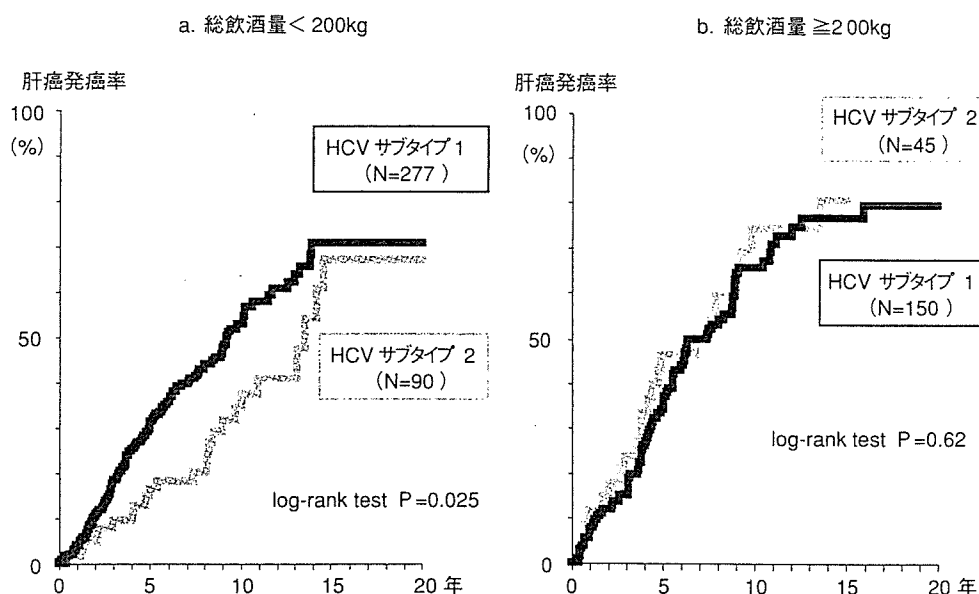


図3 C型肝炎硬変からの発癌率に及ぼすHCVサブタイプの影響

a. 総飲酒量 200 kg 未満の群, b. 総飲酒量 200 kg 以上の群

Kaplan-Meier法 (Log-rank test) にて検討した。全症例のうち30例は経過観察中に追跡不能となったが、他の症例は肝細胞癌発癌を含め最終的な予後の確認ができ、全体の観察期間の中央値は6.1年であった。

HCVサブタイプが1(血清学的分類でグループ1, 1a・1bを含む)であったのは442例, 2(血清学的分類でグループ2, 2a・2bを含む)であったのが136例であった。サブタイプ1, 2からの累積肝癌発癌率は、5年がそれぞれ32.0%, 26.6%, 10年が57.4%, 48.1%, 15年が71.8%, 71.0%で、サブタイプ1の肝硬変からの発癌率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差はなかった( $P=0.10$ )。これを肝硬変診断までの飲酒歴により2群に分けて検討した(図3)。まず、総飲酒量(total alcohol intake)が200 kg未満であった367例について検討すると、サブタイプ1, 2での累積肝癌発癌率は、5年がそれぞれ31%, 16%, 10年が53%, 34%, 15年が71%, 67%で、サブタイプ1での発癌率が有意に高率であった( $P=0.025$ )。一方、総飲酒量が200 kg以上であった195例について検討すると、サブタイプ1, 2

での累積肝癌発癌率は、5年がそれぞれ35%, 46%, 10年が66%, 74%, 15年が77%, 81%で、両群間での発癌率に有意差は認められなかった( $P=0.62$ )。以上より、C型肝炎硬変からの発癌率に及ぼすC型肝炎ウイルスサブタイプの影響は、飲酒量との間に交互作用があり、飲酒量の少ない肝硬変においては、C型肝炎ウイルスサブタイプが発癌率に有意に影響した。C型肝炎硬変からの発癌に及ぼす独立要因を多変量解析(Cox比例ハザードモデル)で検討してみると、発癌を有意に高める要因は、低アルブミン血症、男性、高齢、HCVサブタイプ2かつ200 kg以上の飲酒歴以外、高AFP血症、低血小板血症であった(表1)。

### Ⅲ. B型肝炎・C型肝炎の背景

#### 1. B型肝炎・C型肝炎の発癌に至る病態

慢性肝炎・肝硬変と確定診断された症例をretrospective cohortとして、累積発癌率を算出した。

B型慢性肝炎610例, C型慢性肝炎1,500例からの10年累積発癌率は、それぞれ5%, 14%であり、C型慢性肝炎からの発癌率はB型慢性肝炎のそれより有意に発癌率が高かった。また、B型肝炎

表1 C型肝硬変からの肝細胞癌発癌に寄与する独立要因

因子	カテゴリー	ハザード比 (95%信頼限界)	P
アルブミン	1: $\geq 4.0$ g/dl	1	0.0001
	2: $< 4.0$ g/dl	1.79 (1.33 ~ 2.41)	
性別	1: 女性	1	0.0002
	2: 男性	1.79 (1.32 ~ 2.45)	
年齢	1: $< 54$ 歳	1	0.0086
	2: $\geq 55$ 歳	1.49 (1.11 ~ 2.01)	
HCVサブタイプ + 飲酒歴	1: Gr2 & TAI $< 200$ kg	1	0.044
	2: 他の組み合わせ	1.58 (1.01 ~ 2.45)	
AFP	1: $< 20$ ng/ml	1	0.018
	2: $\geq 20$ ng/ml	1.41 (1.06 ~ 1.88)	
血小板数	1: $\geq 10$ 万/mm <sup>3</sup>	1	0.038
	2: $< 10$ 万/mm <sup>3</sup>	1.35 (1.02 ~ 1.80)	

表2 B型肝炎・C型肝炎診断時の背景

	B型 N=263	C型 N=1,096	P**
性別 (男:女)	223 : 40 (5.6 : 1)	781 : 315 (2.5 : 1)	$< 0.001$
年齢*	54歳 (29 ~ 80)	65歳 (33 ~ 89)	$< 0.001$
総飲酒量 $\geq 500$ kg	24 (9.1%)	173 (15.8%)	$< 0.001$
輸血歴	38 (14.4%)	477 (43.5%)	$< 0.001$
非代償期肝硬変 (腹水・脳症)	27 (10.3%)	127 (11.6%)	0.54
ICG R15 (%)*	22 (4 ~ 82)	30 (1 ~ 100)	$< 0.001$
AST (IU/L)	38.5 (12 ~ 440)	55 (4 ~ 369)	$< 0.001$
ビリルビン (mg/dl)	1.0 (0.4 ~ 6.5)	1.1 (0.2 ~ 17.6)	0.14
血小板数 ( $\times 10^3$ /mm <sup>3</sup> )	121 (32 ~ 530)	97 (19 ~ 489)	$< 0.001$
AFP (mg/L)	33 (1 ~ 139,000)	33 (1 ~ 137,000)	0.95
PIVKA-II (AU/L)	23 ( $< 10$ ~ 54,000)	22 ( $< 10$ ~ 153,000)	0.90

\*中央値 (範囲) \*\*  $\chi^2$ 検定, Mann-Whitney検定

硬変252例, C型肝硬変674例からの10年発癌率は, それぞれ31%, 56%であり, C型肝硬変からの発癌率はB型の約2倍で有意に高い発癌率であった。このことは, 同じ肝硬変を背景とする肝癌を比較すると, C型の方がより多発性で発見される頻度が高い可能性があることを示し, また, 初発肝癌が根治的に除去された後にはC型肝炎の方で, より新規の発癌率が高いことを示唆している。

## 2. B型肝炎・C型肝炎診断時の背景 (表2)

1978 ~ 2004年までに当院で診断されたB型肝炎263例, C型肝炎1,096例について, その診断

時の背景因子を比較した。症例はこの期間の連続症例であるが, 当院来院時にすでに肝硬変・肝細胞癌の状態が不良で, 肝癌に対して対症療法しか行えず, 十分な検査も行えなかった一部の高度進行症例は除外した。

B型肝炎・C型肝炎症例の診断時の年齢の中央値は, それぞれ54歳 (範囲: 29 ~ 80歳), 65歳 (33 ~ 89歳) で, B型肝炎では11歳若年であった。性別についてみると, B型での男女比は223 : 40 (5.6 : 1), C型では781 : 315 (2.5 : 1) で, B型では男性比率が高かった。総飲酒量が500 kgを超える大酒家はB型では24例 (9.1%) であったのに対

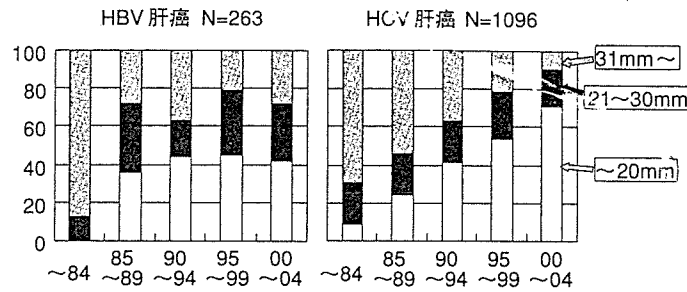


図4 肝癌診断時の腫瘍径とその経年的推移

し、C型では173例(15.8%)と高率であったが、年齢の違いによる影響も加味しているものと考えられた。輸血の既往歴はB型で38例(14.4%)、C型で477例(43.5%)で後者に有意に高率であった。腹水・脳症を伴う非代償期肝硬変を合併している症例は、B型で27例(10.3%)、C型では127例(11.6%)で、ほぼ同率であった。

血液生化学的検査所見の比較では、B型での肝障害はC型より軽度の傾向があり、ICG15分値、血小板数などは有意に良好であった。腫瘍マーカーであるAFPおよびPIVKA-IIはいずれの肝細胞癌でも全く同様であった。

### 3. 肝癌診断時の肝癌の状態

肝癌初発時の最大腫瘍の腫瘍径は、B型肝炎で中央値24 mm(範囲5~250 mm)、C型肝炎で22 mm(6~250 mm)で、統計学的有意差はない( $P=0.13$ )ものの、B型で2 mm腫瘍径が大きく診断される傾向がみられた。初発時肝癌が複数個認められる多発率については、B型では263例中109例(41.4%)、C型では1,096例中647例(41.0%)で、差はなかった。画像上認められた門脈浸潤例は、B型で11例(4.8%)、C型で44例(4.0%)で差はなかった。TNM分類では、B型はT1 71例(27.0%)、T2 116例(44.1%)、T3 66例(25.1%)、T4 10例(3.8%)、C型ではT1 362例(33.0%)、T2 437例(39.9%)、T3 273例(24.9%)、T4 24例(2.2%)で、B型ではT1ステージの肝癌の比率がやや低い傾向であった( $P=0.13$ )。

### 4. 肝癌診断時の腫瘍径とその経年的推移(図4)

B型肝炎、C型肝炎の診断時の最大腫瘍径の大きさを、経年的な推移と比較した。B型肝炎発見時腫瘍径は、1984年までの第一期に比べると1989年までの第二期では直径3 cm以下で診断される肝癌が著明に増加し、以後70~80%の症例がこの腫瘍径で診断されている。しかし、直径2 cm以下で発見される頻度は、1994年までの第三期、1999年までの第四期まで微増しているが、2004年までの第五期にはやや減少しており、結局2 cm以下で発見される肝癌の比率は50%に至っていない。

一方、C型肝炎の初発時腫瘍径を見てみると、経年的に小型肝癌発見の比率は増加している。直径2 cm以下で発見される肝癌の比率は、第一期で10%未満であったのが、第二期には24%、第三期42%、第四期54%、第五期71%にまで至り、C型肝炎慢性肝疾患に対する画像スクリーニングが効率よく行われ、これが奏功していることがわかる。

B型肝炎が直径2 cm以下で発見されにくい1つの理由は、B型肝炎慢性肝疾患にみられる、画像上のいわゆる「メッシュワーク」パターンである。これは、F3以上に進展したB型肝炎慢性肝疾患に特有にみられる、びまん性の直径5~20 mmの大きさからなる網目状の紋理で、エコー検査・X線CT・血管造影でいずれの画像診断でもみられる所見である。メッシュワーク像のサイズからは、直径2 cm以下の肝癌発見には非常に障害となる

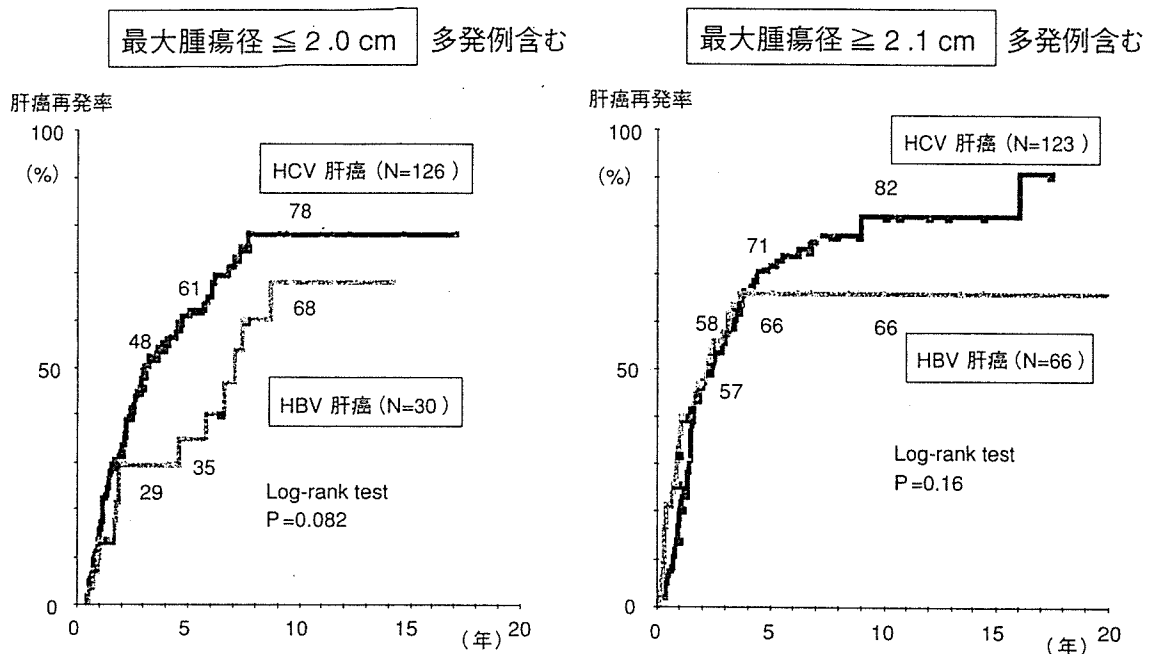


図5 腫瘍径別にみた肝癌切除後の再発率

背景肝疾患となっている。B型肝炎では、肝硬変に至らない軽い慢性肝炎や正常肝から突然肝癌が発見されることがあり、肝癌高危険群を十分に絞りきれない特殊性も、B型肝炎が大型である1つの要因になっていると考えられる。

#### IV. B型肝炎・C型肝炎の予後

肝癌に対しては、内科的・外科的な種々の治療法が臨床の場で適用可能となってきており、治療法間の優劣も議論されている。ここでは、「根治的」肝切除を施行した症例のみに限り、再発率・生存率を比較した。

##### 1. 肝切除後の肝癌再発率

B型肝炎・C型肝炎のウイルス別に、外科的肝切除後の再発率を比較した。検討したのは、1980～2004年までの間に初発肝癌に対して肝切除を行ったB型肝炎98例とC型肝炎251例で、いずれの群も多発例を含んだ集計である。B型肝炎・C型肝炎切除後の累積再発率は、1年がそれぞれ28.2%、16.9%、3年が49.2%、52.7%、5年が56.5%、66.1%、7年60.6%、73.6%、10年

69.0%、79.8%であった。外科切除1年後には、B型肝炎からの再発率が高率であるが、3年後には両ウイルス肝癌の間には差がなくなり、4年以後では逆にC型肝炎からの発癌率が高くなった。B型・C型の肝癌再発率は、再発率曲線の交差がみられ、両群間での差は認められなかった(P=0.46)。

B型肝炎では2 cmを超えて発見される頻度がC型より明らかに高いため、2 cm以下の肝癌とこれ以上の肝癌とに分けて、肝癌再発率を算出した(図5)。直径2 cm以下の肝癌では、B型肝炎(N=30)・C型肝炎(N=126)切除後の再発率は、3年がそれぞれ29.4%、48.4%、5年が34.7%、60.8%、7年46.9%、71.2%、10年68.1%、78.2%であった。直径2 cm以下の肝癌では、切除後全期間にわたってB型肝炎からの再発率が低かった(P=0.082)。次に、直径2.1 cm以上の肝癌切除後の再発率を比較した。B型肝炎(N=66)・C型肝炎(N=123)切除後の再発率は、3年がそれぞれ57.8%、57.3%、5年が65.9%、71.6%、7年65.9%、76.5%、10年65.9%、82.0%であった。

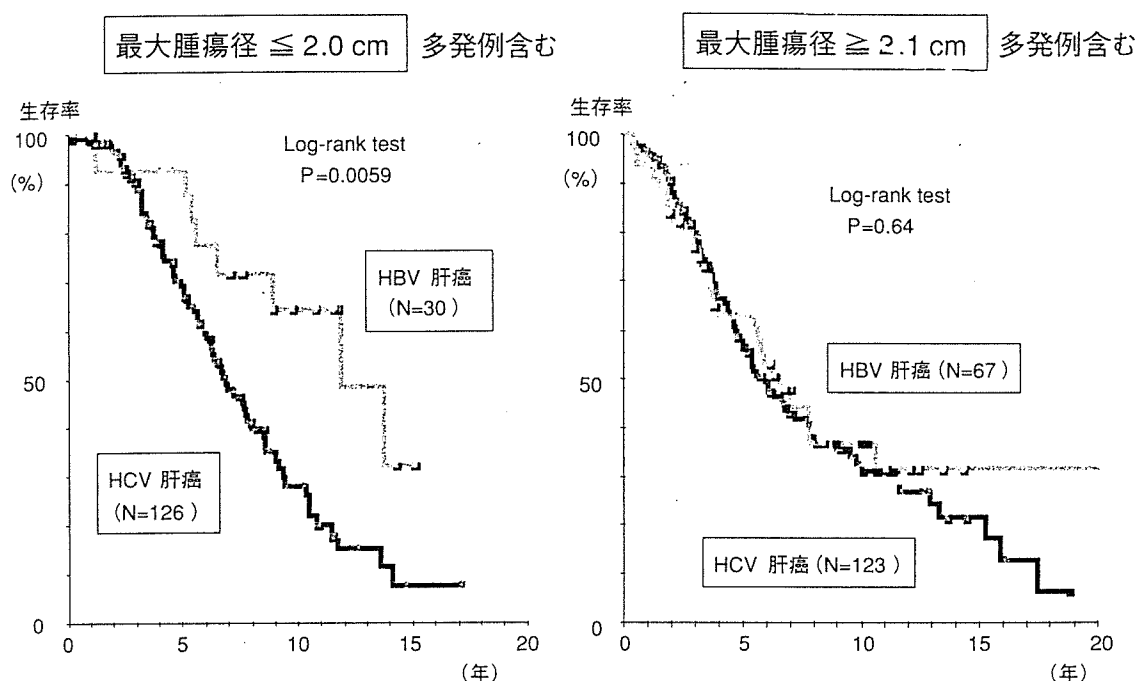


図6 腫瘍径別に見た肝癌切除後の生存率

この群では、B型肝炎での2年以内の再発率が高く、4年以後にC型肝炎からの再発率曲線と交差し、両群での明らかな差は示されなかった ( $P=0.16$ )。

## 2. 肝癌切除後の生存率 (図6)

切除肝癌の腫瘍径別に、治療開始後の累積生存率を比較した。

直径2.0 cm以下で切除したB型肝炎 (N=30) とC型肝炎 (N=126) での生存率は、3年それぞれ92.6%、90.5%、5年が87.7%、69.4%、7年が71.5%、47.8%、10年が32.2%、7.7%で、B型肝炎の生存率が一貫して高かった ( $P=0.0059$ )。一方、直径2.1 cm以下で切除したB型肝炎 (N=67) とC型肝炎 (N=123) での生存率は、3年がそれぞれ76.9%、80.0%、5年が62.9%、57.8%、7年が48.0%、43.0%、10年が31.6%、21.6%で、両群間に差は認められなかった ( $P=0.64$ )。

## V. B型肝炎とC型肝炎の背景と今後の課題

両ウイルスに由来する肝癌はわが国の肝癌の90%を占めており、C型肝炎は現在も増加の途上にある。このうち、C型肝炎は、高齢化傾向、女性比率の増加が明らかにみられている。肝癌発見時年齢が70歳に近づきつつある現在、この予防、定期的な検診の適正化、治療法の選択など、高齢化社会に適した効率的なものにしていく必要性が増している。

B型肝炎では、高危険群の囲い込みがやや不十分なことに加え、背景のメッシュワークパターンの画像が直径2 cm以下の肝癌発見の障害に寄与しているものと考えられる。B型肝炎における「2 cm問題」は大きな課題であり、いかに早期発見の症例を増やすかについて、画像診断スクリーニングアルゴリズムの再検討が必要な時期にきている。一方、B型肝炎の「2 cm問題」は予後の評価にも大きく影響してきている。実際に2 cm以下のJIS 0ステージの肝癌について比較してみる

22 セッション1 ●発癌とその背景

と、B型とC型ではJISスコアの1段階に相当する予後の違いがみられており、今後はB型肝炎とC型肝炎で、これら予後スコア・統合スコアの扱いを変える必要があるかという問題に解決を与える

必要がある一方、実際に治療法選択に有用なアルゴリズムをB型・C型で構築していく必要があると考えられた。

\* \* \*

### 3. HBV遺伝子型別にみた肝癌例の臨床像

鈴木 一幸\* 阿部 弘一\* 葛西 幸穂\* 黒田 英克\*  
 葛西 和博\* 三浦 義明\* 小山 富子\*\*

#### はじめに

B型肝炎ウイルス (HBV) の genotype と肝病態との関連が注目されている<sup>1-7)</sup>。わが国の肝細胞癌 (以下、肝癌) の大部分は genotype B と genotype C であるが、genotype の違いにより発癌年齢、肝病態 (肝機能、HBe 抗原陽性率など) に差を認めることが明らかにされ<sup>5-7)</sup>、さらに genotype B の肝癌ではその subtype (Ba, Bj) による差<sup>8)</sup> が発癌年齢に関連していることが報告されている。しかしながら、HBV の genotype の分布には地域差がみられること<sup>6,9)</sup>、医療機関を受診する HBV キャリアの多くは肝機能異常が持続し肝病態の進行した例が多いことなどのバイアスがかかっていることから、genotype 別の肝癌発生率やその臨床像の違いを明らかにするためにはさらに検討が必要と考えられる。そこで、当科で経験した肝癌例と検診受診者の追跡調査で死亡が確認された肝癌例について genotype を測定し、genotype 別の臨床像を比較検討した。

#### I. 対象

1. 検診受診者から肝癌死亡が確認された例についての検討  
 1977～2004年までに岩手県予防医学協会

診を受け HBV キャリアと診断された 6,711 例を岩手県がん登録「個人同定資料」と照合し肝癌で死亡が確認された 60 例を抽出し、この中から岩手県予防医学協会において血清保存が良好で HBV 遺伝子の測定が可能であった 30 例 (男 21, 女 9) を対象とした。なお、対象者のデータ入手については岩手医科大学医学部倫理委員会および岩手県医師会がん登録運営委員会の承認を得て行った。

#### 2. 当科受診の肝癌例の検討

1991～2004年までに当科で入院加療を受けた HBV 肝癌 (HCV との重感染例、アルコール因子が加重した例は除外) のうち、HBV genotype の測定が可能であった 55 例 (男 44, 女 11) を対象とした。

#### II. 方法

検診受診者から肝癌死亡が確認された 30 名については、死亡確認から初回検診までの期間 (観察期間) 中に複数回測定されていた検診時の血清 ALT 値を確認し、その最高値より L 群 (血清 ALT 値が 30 IU/L 以下)、M 群 (血清 ALT 値が 30～60 IU/L)、H 群 (血清 ALT 値が 60 IU/L 以上) に分類した。HBV の genotype (Usuda らの方法<sup>10)</sup>)、HBe 抗原 (EIA 法) を測定し、genotype 別の臨床像を比較検討した。また、genotype B の subtype は Sugauchi らの方法<sup>11)</sup> にて決定した。一方、当科で入院加療を受けた肝癌例については、初回入院時の肝機能、HBe 抗原陽性率、HBV-DNA 量、

\*岩手医科大学第1内科

\*\*岩手県予防医学協会



表1 肝癌と診断された検診受診者の genotype 別検討

	Genotype B*	P<0.05	Genotype C
発症年齢 (歳)	64 ± 13		52.7 ± 9
ALT 値群			
L群	1例 (12.5%)		2例 (9.1%)
M群	1例 (12.5%)		9例 (40.9%)
H群	6例 (75.0%)		11例 (50.0%)
初診時			
陽性	0 (0%)		6 (27.3%)
陰性	8 (100%)		16 (72.7%)

\*9例がBj, 1例がBa

背景肝病変, 臨床病期, 腫瘍マーカー (AFP, PIVKA-II) などについて genotype 別に比較検討した。

### Ⅲ. 結果

#### 1. 検診受診者からの肝癌死亡例

肝癌例の初診時の平均年齢は男性46.9歳, 女性48.6歳であり, 平均観察期間はそれぞれ7.1年, 8.3年であった。GenotypeはBが9例(男6, 女3), Cが21例(男, 女)であり, genotype Bのsubtypeは1例がBa, 8例がBjであった。Genotype別の臨床像を表1に示す。Genotype Bの肝癌例は genotype Cの肝癌例に比較して肝癌発症年齢が有意に高齢であった。また, genotype Bでは全例HBe抗原は陰性を示したが, genotype Cでは27.3%がHBe抗原陽性を示し, これらは40~50歳代の例であった。経過観察中の血清ALT値は genotype B, CともM群, H群を示す例が多く認められた。

#### 2. 当科受診者の肝癌例

肝癌例の平均年齢は52.9 ± 10.1歳, 背景肝病変は慢性肝炎16例, 肝硬変39例であった。GenotypeはA3例(5.4%), B9例(16.4%), C43例(78.2%)であり, genotype Bのsubtypeは全例Bjであった。Genotype別の臨床像を表2, 3, 4に示す。発症年齢は genotype Bで最も高齢であり, genotype Aが最も低年齢であった。HBe抗原陽性率も genotype Bで低かったが, HBV-DNA量には差異はみられなかった。また, 性差, 背景肝病変, 肝機能にも3群間に明らかな差異はみられなかった。一方, 肝癌の臨床病期はいずれの genotype

においても stage III~IVの進行例が多く, 腫瘍マーカーも高値例が多かった。

### Ⅳ. 考案

今回, 当科で経験した肝癌例と検診受診者から見出された肝癌例についてHBVの genotypeを測定し, それぞれの臨床像を比較検討した。その結果, 従来の報告<sup>6-8)</sup>にみられるように, 肝癌例は genotype Cの割合が多く, 発症年齢は genotype Bが genotype Cに比べて有意に高齢であった。また, genotype Aは検診受診者からの発癌例ではみられなかったが, 当科受診の肝癌例からは3例認められ, いずれも低年齢であった。その他, 発症年齢を除いた項目については genotype間に明らかな差異はみられなかったが, 検診受診者の肝癌例の検討より発癌例の多くはHBe抗原が陰性化しているのも関わらず血清ALT値が観察期間中に異常を示している頻度が高い傾向を示した。また, HBVによる肝癌例は genotypeに関わらず進行した状態で発見されている例が多いことが認められた。

肝癌例を除く検診受診者のHBVキャリアの genotypeを検討した岩手県の成績<sup>9)</sup>では, genotype Aは20~30歳代のみのみみられ, 40~60歳代では genotype BとCが同程度, 70歳以降が genotype Bが優位となり, 全体での割合は genotype A 2.9%, B 44.9%, C 52.2%である。また, HBe抗原陽性率は genotype Bでは20歳代を除いてほとんどの年代で低率であり, genotype Cでは20~30歳代で約20%が陽性, 40~60歳代になると

表2 肝癌における Genotype 別臨床像 (1)

Genotype	A	B	C
Number	3	9*	43
Age	38.1 ± 12.1	59.7 ± 8.5	53.3 ± 10.1
Male : Female	2 : 1	8 : 1	35 : 8
CH : LC	1 : 2	5 : 4	10 : 33
HBeAg 陽性率	66.7 %	11.1 %	41.9 %
HBV-DNA (kopy/ml)	8.05 × 10 <sup>6</sup> (5.6 × 10 <sup>6</sup> ~ 1.1 × 10 <sup>7</sup> )	2.52 × 10 <sup>7</sup> (8.9 × 10 <sup>2</sup> ~ 2.3 × 10 <sup>8</sup> )	2.23 × 10 <sup>7</sup> (2.1 × 10 <sup>2</sup> ~ 2.5 × 10 <sup>8</sup> )

\*全例 Bj

表3 肝癌における Genotype 別臨床像 (2)

Genotype	A	B	C
AFP (ng/ml)	7891.3 (1000 ~ 17358)	8751.4 (4.6 ~ 59100)	8573.2 (4.1 ~ 88880)
PIVKA-II (mAU/ml)	41669 (10 ~ 124497)	8416 (30 ~ 75300)	4002 (10 ~ 55800)
Stage I	0	1	2
Stage II	0	2	5
Stage III	1	2	12
Stage IV a	1	0	10
Stage IV b	1	1	1
不明	0	3	13

表4 肝癌における Genotype 別血液生化学検査値

Genotype	A	B	C
T-Bil (mg/dl)	0.95 ± 0.07	0.95 ± 0.47	1.74 ± 3.38
AST (IU/l)	52 ± 27	50 ± 27	79 ± 78
ALT (IU/l)	51 ± 19	59 ± 43	58 ± 32
PLT (× 10 <sup>4</sup> /μl)	16.7 ± 9.05	20.11 ± 10.20	12.16 ± 5.35

10%弱に低下する。さらに、血清ALT値をみると、genotype Bに比べてgenotype Cで異常を示す頻度が高く、これにはgenotype Cでは40歳以降にHBe抗原からHBe抗体へのseroconversionが起きにくいことが原因と考えられている<sup>12)</sup>。したがって、発見される肝癌例は当然のことながらgenotype Cが多いことが予想されるが、検診受診者からの肝癌例におけるgenotype Bの頻度は当科受診者からの肝癌例のgenotype Bの頻度よりも若干高い傾向を示した。さらに今回の検討より、

肝癌例ではHBe抗原陰性にも関わらず観察期間中の血清ALT値が軽度異常を持続していた例が多く認められた。通常、HBVキャリアの自然歴を考えると、大部分の例では10~30歳代にseroconversionが起こり血清トランスアミナーゼ値は正常化し、いわゆる無症候性HBVキャリアとなることが多い。そして、一部の例が慢性肝炎、肝硬変および肝癌へ進展するが、これらの進展例はHBe抗原が陽性を示す例が多い<sup>13)</sup>。一方、HBe抗原が陰性にも関わらず血清トランスアミナーゼ

値が異常を持続する例も稀にみられるが、このような例ではウイルス因子のみならずアルコール、肥満、脂肪肝、薬剤などの影響も考慮しなければならない。今回検討した検診受診者からの発癌例については病歴(既往歴、薬剤歴、アルコール歴、肥満の有無など)の詳細が不明でありHBV-DNA量の測定も行われていないため、なぜ検診受診者からの肝癌例においてHBe抗原陰性にも関わらず観察期間中の血清ALT値が軽度異常を持続していた例が多いかの理由については明らかにすることができなかった。しかし、このことは今後のHBVキャリアのフォローアップ体制を見直すうえで重要な知見と考えられる。

肝癌例におけるgenotypeの頻度はその地域におけるgenotypeの頻度に影響を受け、さらに病院受診者というバイアスも受ける。実際、東北地域においては本州の他地域よりもgenotype BのHVBキャリアの頻度が高いことから、肝癌例でもgenotype Bの頻度が高いことが予想されるが、この点についても他施設との共同研究で明らかにする必要があると考えられる。次に、genotype Bの亜型(Bj, Ba)については台湾と日本におけるgenotype Bの肝癌例の発癌年齢が異なる(日本平均70歳、台湾平均50歳)ことから注目され検討された<sup>5,7,8)</sup>。今回の検討では1例を除いてBjであったため、BjとBaの違いを明らかにすることはできなかったが、日本におけるGenotype B肝癌例の亜型別にみた臨床像を検討するためには多くの施設からBaの肝癌例を集積して検討する必要がある。

一方、genotype Aの肝癌例も少数例ながら存在し、われわれの経験した例はいずれも他のgenotypeに比較して発癌年齢は低かった。Genotype Aについては最近、大都市を中心に急性肝炎例が増加しており、一部の例は慢性に移行することより注目されている<sup>14,15)</sup>。また、その亜型についても検討されほとんどがヨーロッパ型である。Genotype Aの肝癌例の発癌年齢あるいは臨床像が他のgenotypeと異なるか否かについては興味を持たれるが、1施設での症例数が少ないため検

討が難しく全国的な症例の集積が必要と考えられる。

## 結 語

検診受診者からの肝癌例と病院受診者の肝癌例についてHBV genotypeを測定し、genotype別の臨床像を検討した。HBVキャリアの自然歴とHBVのgenotypeとの関連、genotypeと肝癌との関連などについてはさらに検討が必要である。また今回の検討より、HBVによる肝癌例の多くは進行した状態で発見されていることから、HBVキャリアについてもHCVキャリアと同様に定期的なフォローアップ体制の構築と治療方針の再検討が早急に必要と考えられる。

## 文 献

- 1) Mayerat C, Mantegani A, Frei PC : Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Virol Hepatol* 6 : 299-304, 1999
- 2) Mizokami M, Nakano T, Orito E et al : Hepatitis B virus genotype assignment using restriction fragment length polymorphism patterns. *FEBS Lett* 450 : 66-71, 1999
- 3) Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C et al : A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 81 : 67-74, 2000
- 4) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H et al : A case control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotype B and C. *Hepatology* 33 : 218-223, 2001
- 5) Kao JH, Chen PJ, Lai MY et al : Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 118 : 554-559, 2000
- 6) Orito E, Ichida T, Sakugawa H et al : Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34 : 590-594, 2001
- 7) Orito E, Mizokami M : Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. *Intervirol* 46 : 408-412, 2003
- 8) Sugauchi F, Orito E, Ichida T et al : Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with geno-

- type C. *Gastroenterology* 124 : 925-932, 2003
- 9) Kasai Y, Suzuki K, Abe K et al : Genotype of hepatitis B virus (HBV) and those clinical characteristics in HBV carrier residents in Iwate, Japan: results from health-screening program. *J Iwate Med Assoc* 2005 (in press)
  - 10) Usuda S, Okamoto H, Iwanari H et al : Serological detection of hepatitis B virus genotypes by ELISA with monoclonal antibodies to type-specific epitopes in the preS2-region product. *J Viol Methods* 80 : 97-112, 1999
  - 11) Sugauchi F, Orito E, Ichida T et al : Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the precore region plus the core region. *J Viol* 76 : 5985-5992, 2002
  - 12) Ishikawa K, Koyama T, Masuda T : Prevalence of HBV genotypes in asymptomatic carrier residents and their clinical characteristics during long-term follow-up: the relevance to changes in the HNeAg/anti-HBe system. *Hepatol Res* 24 : 1-7, 2002
  - 13) 鈴木一幸, 阿部弘一, 熊谷一郎 : HBV無症候性キャリアの自然経過, 予後, 死因. 日本臨床増刊号 ウイルス性肝炎(下), 日本臨床社, 2004, pp227-232
  - 14) Kobayashi M, Suzuki F, Arase Y et al : Infection with hepatitis B virus genotype A in Tokyo, Japan during 1976 through 2001. *J Gastroenterol* 39 : 844-850, 2004
  - 15) Joh R, Hasegawa K, Ogawa M et al : Genotypic analysis of hepatitis B virus from patients with fulminant hepatitis: comparison with acute self-limited hepatitis. *Hepatol Res* 26 : 119-124, 2003

\* \* \*

## 4. HBc抗体は、HCV関連肝癌の発症に関与する： HCV高感染地区で得られた知見

佐田 通夫\*\*\* 長尾由実子\*\*\* 田中 一雄\*

### はじめに

血清中にHBs抗原が検出されないにもかかわらず、B型肝炎ウイルス(HBV)に感染している状態、いわゆる「不顕性B型肝炎ウイルス感染」の臨床的意義が問題視されている<sup>1,2)</sup>。不顕性HBV感染は肝臓移植あるいはその他の臓器移植によって現実の問題としてさらに注目されるようになった。また以前からHBc抗体は、C型肝炎ウイルス(HCV)関連の肝癌にも関連があることを示唆する報告があった。しかし、これらの関連をprospective studyにより検討した報告はほとんどない。そこで、HCV高感染地区住民を対象に血中HBc抗体が肝発癌の有意な要因であるか否かをprospective studyによって解析した。

### I. 対象と方法

われわれは1990年よりHCV高感染地区で肝疾患ならびに肝外病変の疫学調査を行っている。1990年に疫学調査を行った509名のうち<sup>3)</sup>、12年後の2002年に追跡調査を行うことのできた222名についてHBVの不顕性感染が肝癌発症に影響しているか否かの検討を行った。

対象は、HCV高感染地区住民222名のうちHCV抗体陽性の74名について、肝癌が発生した

13名と肝癌が発生しなかった61名を対象にして、肝癌発症のrisk因子を解析した。Risk因子としては、性別、年齢、AST、ALT、 $\gamma$ -GTP、総蛋白、Alb、総コレステロール値、T.B.、ZTT、HBcAb、HBsAg、HCV抗体、HCV RNA、喫煙、飲酒、輸血、黄疸の18項目とした。

### II. 結果

222名のうち、HBc抗体陽性者は123名、HCV抗体陽性者は74名であった。HBc抗体陽性/HCV抗体陽性者は53名、HBc抗体陰性/HCV抗体陽性者は21名、HBc抗体陽性/HCV抗体陰性者は40名、HBc抗体陰性/HCV抗体陰性者は78名であった(図1)。HBc抗体陽性/HCV抗体陽性者群からの肝癌発症は13名(24.5%、13/53)、HBc抗体陰性/HCV抗体陽性者群からの肝癌発症は0名(0%、0/21)であった(表1)。HCV抗体陽性者74名のうち、肝癌発生13名と肝癌非発生61名について18項目のrisk背景因子のうち粗オッズ比として統計

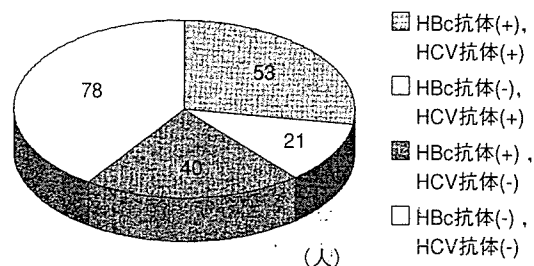


図1 住民222人の血中HBc抗体およびHCV抗体

\*久留米大学医学部第2内科学講座

\*\*同 消化器疾患情報講座

表1 HBc抗体陽性あるいは陰性のHCV抗体陽性者の解析

解析	HBc抗体陽性 (N=53)	HBc抗体陰性 (N=21)	P値
年齢 (歳)	62.3 ± 10.9	58.0 ± 16.4	NS
性別 (男:女)	23 : 30	5 : 16	NS
喫煙 (%)	16 (30.2)	4 (19.0)	NS
黄疸歴 (%)	8 (15.1)	3 (14.3)	NS
飲酒歴 (%)	3 (5.7)	2 (9.5)	NS
輸血歴 (%)	8 (15.1)	4 (19.0)	NS
ALT (IU/L)	40.6 ± 30.8	27.5 ± 17.9	NS
HBsAg (%)	1 (1.9)	0 (0)	NS
HCV RNA (%)	39 (73.6)	14 (66.7)	NS
HCC (%)	13 (24.5)	0 (0)	0.012

年齢と血中ALT値はmean ± SDで示す。

HCC：肝細胞癌，NS；有意差なし

表2 HCCの発生に影響を及ぼす危険因子の単変量解析

因子	HCC発生群 (n=13)	HCC非発生群 (n=61)	Odds ratio	95% CI	P value
年齢 (歳)	65.3 ± 8.1 (53-82)	60.1 ± 13.4	1.035	0.984-1.088	0.1866
男性 (%)	6 (46.2)	22 (36.1)	0.658	0.196-2.205	0.4976
喫煙 (%)	4 (30.8)	13 (21.3)	1.641	0.435-6.190	0.4646
飲酒歴 (%)	5 (38.5)	22 (36.1)	1.108	0.323-3.804	0.8706
輸血歴 (%)	3 (23.1)	8 (13.1)	1.988	0.448-8.810	0.3659
黄疸歴 (%)	5 (38.5)	5 (8.2)	7.000	1.652-29.667	0.0083*
AST (IU/l)	65.5 ± 31.1 (28-131)	33.0 ± 21.9 (13-132)	1.041	1.015-1.068	0.0016*
ALT (IU/l)	57.5 ± 24.8 (20-108)	32.6 ± 27.1 (9-160)	1.028	1.006-1.050	0.0119*
γ-GTP (IU/l)	127.1 ± 195.3 (17-720)	32.4 ± 34.2 (7-196)	1.015	1.003-1.027	0.0158*
総蛋白量 (IU/l)	7.97 ± 0.88 (6.6-10.0)	8.05 ± 0.58 (6.6-9.8)	0.808	0.309-2.107	0.6622
アルブミン (g/dl)	3.98 ± 0.49 (3.0-4.9)	4.33 ± 0.31 (3.2-4.8)	0.094	0.017-0.507	0.0060*
総コレステロール (mg/dl)	160.5 ± 33.1 (111-224)	173.8 ± 32.5 (111-257)	0.987	0.967-1.007	0.1851
総ビリルビン (mg/dl)	1.01 ± 0.50 (0.5-2.3)	0.77 ± 0.27 (0.4-1.3)	7.537	1.170-48.533	0.0335*
ZTT (KU)	15.35 ± 5.76 (1.1-21.7)	11.40 ± 4.86 (2.5-27.4)	1.161	1.026-1.314	0.0183*
HBc抗体 (%)	13 (100)	40 (65.6)	9.150	1.407-	0.0161*
HCV RNA (%)	13 (100)	40 (65.6)	9.150	1.407-	0.0161*

HCC：肝細胞癌，CI：信頼区間

年齢，AST，ALT，γ-GTP，総蛋白，アルブミン，総ビリルビン，ZTTはmean ± SD (範囲)で示す。

\*P<0.05

的に有意であった項目は，9項目 (AST，ALT，γ-GTP，Alb.，T.B.，ZTT，HBc抗体，HCV RNA，黄疸)であった (表2)。Logistic回帰分析では，性別 (女性)，HBc抗体陽性，HCV RNA陽性，黄疸が肝癌の発生riskが高まる因子であった (表3)。

### Ⅲ. 結論および考察

HCV高感染地区住民に対する長期にわたる前向き疫学調査によって，HCVと不顕性HBVの重複感染者は，HCV単独感染者に比べて肝癌発生のリスクが高い結果が得られた。HCV抗体陽性

表3 HCCの亢進に影響を及ぼす危険因子の多変量解析

因子	Odds ratio	95 % CI	P value
年齢 (歳)	0.987	0.852-1.132	0.8428
女性	190.517	2.177- >999.999	0.0188*
喫煙 (%)	40.580	0.656- >999.999	0.0824
飲酒歴 (%)	5.001	0.163-3.804	0.3644
輸血歴 (%)	0.964	<0.001- >999.999	0.9918
黄疸歴 (%)	311.186	5.066- >999.999	0.0042*
AST (IU/l)	1.013	0.855-1.244	0.8776
ALT (IU/l)	0.974	0.791-1.101	0.7013
γ-GTP (IU/l)	1.006	0.990-1.080	0.6950
総蛋白 (IU/l)	15.131	0.227- >999.999	0.2035
アルブミン (g/dl)	<0.001	<0.001-11.319	0.1236
総コレステロール (mg/dl)	1.018	0.952-1.106	0.6028
総ビリルビン (mg/dl)	7.911	0.060- >999.999	0.4127
ZTT (KU)	0.695	0.370-1.196	0.1853
HBc抗体陽性	>999.999	1.556-	0.0292*
HCV RNA陰性	>999.999	3.767-	0.0063*

HCC：肝細胞癌，CI：信頼区間

\*P<0.05

者(肝癌発生13名と肝癌非発生61名)のLogistic回帰分析では、性別(女性)、HBc抗体、HCV RNA、黄疸の既往が肝癌の発生リスクを高める因子であった。以上のわれわれの結果からは、HBVとHCVの重複感染者は肝発癌のリスクがHCV単独感染の場合よりも高いことを示唆している。重複感染の病態や発癌のメカニズムについては不明であるが、今後の肝癌患者の増加や高齢肝癌患者の増加を考えた場合、HCVキャリアの中でHBc抗体陽性者はより高い肝発癌のリスクを持つ者として厳重なフォローが必要であるかもしれない。

文 献

- 1) Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G et al : Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. Gastroenterology 126 : 102-110, 2004
- 2) Sata M, Nakano H, Suzuki H et al : Sero-epidemiologic study of hepatitis C virus infection in Fukuoka, Japan. J Gastroenterol 33 : 218-222, 1998
- 3) Yotuyanagi H, Shintani Y, Moriya K et al : Virologic analysis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan: frequent involvement of hepatitis B virus. J Infect Dis 181 : 1920-1928, 2000

\* \* \*

## 討論

【林】 どうもありがとうございました。ご質問がございましたらどうぞ。

【清澤】 年齢やBMIで違いはありましたか。

【佐田】 BMIはみておりませんが最初の方におだしましたように年齢には差はありません。

【林】 検診の最初のときなのですが、HCV陽性率の高い地域だということだったのですが、肝癌に

占める非B非Cの割合が非常に高いような気がしたのですけれども、両者のHBs抗原とHCV抗体陰性は最初から割合が高かったのですか。

【佐田】 はい。まず肝癌になったヒトはHCV抗体陽性者の人からしかでていません。

【林】 陽性者からしかでていない。

【佐田】 それとこの地域ではHBVキャリアの1例が肝癌になっています。

【林】 どうもありがとうございました。

\* \* \*



# 1. B型肝炎からの発癌機序

岡上 武\* 南 祐仁\*

## はじめに

多くの疫学的データにより、B型肝炎ウイルス(HBV)感染と肝発癌に強い相関のあることは明らかになっているが<sup>1)</sup>、その詳細な機序はいまだに不明である。1980年に肝細胞癌においてHBVの宿主DNAへの組み込みが起こっていることが報告され<sup>2-4)</sup>、retrovirusと同様の組み込みによる癌遺伝子のcis-activationが発癌機序ではないかと想定されたが(図1)、多くのヒトの肝癌にはあてはまらないことが、その後の研究により報告された<sup>5)</sup>。HBVが肝発癌に関わる機序として、炎症の持続、ウイルス組み込みによるシス活性化、ウイルス蛋白によるトランス活性化、宿主遺伝子の不安定性の惹起など、多くの経路が想定されている(図2)。ヒトの発癌は多段階であり、発癌までに少なくとも6系統の遺伝子異常が重複して蓄積されないと発癌には至らないと推測されている<sup>6)</sup>。HBVで想定されている多様な発癌機序のいくつか、あるいは、すべてが、個々の発癌過程の進行に関与していると考えられる。

## I. HBV組み込みによる肝発癌

### 1. 1990年ごろまでの解析

HBVの近縁ウイルスであるwoodchuck hepatitis virus (WHV)は感染した宿主の9割以上にHCCを

惹起する。このウッドチャックの肝癌では約40%にN-myc, c-myc近傍へのウイルス組み込みがみられ、この組み込みにより正常肝ではみられないmycの活性化が起きることが証明されている<sup>7)</sup>。

HBVはDNAウイルスでありながら、プレゲノムRNAを介して逆転写酵素を用いてDNAを合成し、増殖する<sup>7)</sup>。この時に、中間的に生成される直鎖上二本鎖DNAが、宿主ゲノムに組み込まれると考えられている<sup>8)</sup>。こうした性質が代表的なRNA腫瘍ウイルスであるretrovirus属と共通であることから、HBVでもretrovirusと同様の発癌機序が存在すると考えられ、多くの研究が行われた。

1980年にヒト肝癌ゲノムへのHBVの組み込みが報告され<sup>2-4)</sup>、さらに多くの施設の報告からHBV陽性の肝癌では85%以上の症例でクローナルな組み込みがみられることが判明した<sup>7)</sup>。しかし、HBVゲノム中には宿主由来のoncogeneは見つからず、transducing retrovirusのような発癌機序は否定された。

そこでcis-activating retrovirusにみられるような宿主のoncogene近傍への組み込みとそのシス活性化の有無が調べられた。1986年、肝癌組織でのHBVの組み込み部位のクローニングにより新たな細胞増殖に関連した遺伝子retinoic acid receptor  $\beta$  geneが同定された<sup>9)</sup>。また1990年には同様の方法で細胞周期に関係したcyclin A2 gene

\*京都府立医科大学大学院消化器病態制御学

- 1965 オーストラリア (Au) 抗原の発見 (Blumberg)
- 1968 Au 抗原が B 型肝炎の原因と同一 (Prince・Okochi)
- 1976 Blumberg ノーベル賞受賞
- ～1980 ころ HBV と肝癌の疫学的関連の指摘
- 1980 肝癌での HBV 組み込みの発見 (Bréchet・Koshy・Shafritz)
- 1986 HBV 組み込み解析による RAR  $\beta$  遺伝子の発見 (Dejean)
- 1989 HBs トランスジェニックマウスに肝癌 (Chisari)
- 1990 HBV 組み込みによる cyclin A 遺伝子の発見 (Wang)
- 1991 HBx トランスジェニックマウスに肝癌 (Kim, Koike)
- 1990 ころ～ HBx と宿主蛋白との interaction の研究
- 2001 肝癌細胞株での hTERT 遺伝子への HBV 組み込み (Horikawa)
- 2003 複数の肝癌での hTERT への HBV 組み込み  
(Paterlini-Bréchet・Ferber)

図1 HBV と肝癌に関するマイルストーン

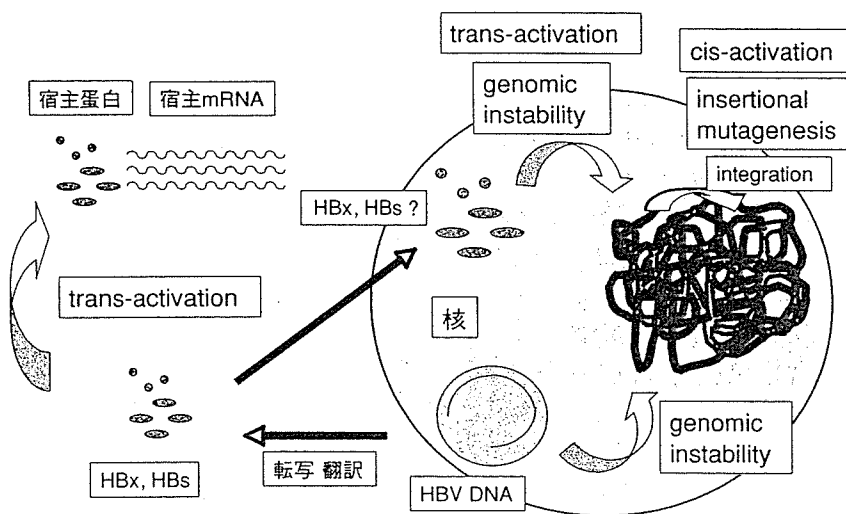


図2 HBV の発癌機序

HBx, HBs などのウイルス蛋白が宿主蛋白との相互作用を介して、細胞増殖の活性化や増殖抑制因子の阻害などを行いうる。HBV DNA は宿主の DNA に組み込まれ、宿主遺伝子のシス活性化や機能抑制を起こしうる。また、ウイルス蛋白や組み込み HBV が染色体の不安定性を惹起させる機序も想定されている。

が発見された<sup>10)</sup>。HBV 遺伝子はこれらの遺伝子の open reading frame 内に組み込まれ、癌組織では本来のヒト遺伝子と HBV 遺伝子とが結合した chimeric mRNA が検出された。さらに、これらの chimeric transcript を用いた *in vitro* の実験で trans-

forming 活性が証明され<sup>11,12)</sup>、HBV の組み込みによる insertional mutagenesis が存在することを示した報告として注目された。しかし、ゲノム情報が少なかったこともあり、大部分の肝癌症例では組み込み遺伝子や染色体に一定の特徴や傾向は見

つからなかった<sup>5)</sup>。

## 2. ヒトゲノムプロジェクト後のHBV組み込みの解析

初期のHBV組み込みの解析には、ヒトゲノムの情報が乏しく、得られたflanking sequenceの解析が不十分であるという制限が存在した。一例をあげると、1992年にQuadeらが日本人肝癌組織からクローニングしたHBV組み込みのflanking sequenceをGenBank (S76119)に登録しているが、彼らはこれをβグロビン遺伝子の3'側にあるsemi-repetitive sequenceにあったと報告している<sup>13)</sup>。この配列を現在のデータベースで検索すると、このHBV組み込みは、human telomerase reverse transcriptase (hTERT)のプロモーター領域の上流に位置することがわかる。

また、ヒトゲノムからフェージライブラリーを作り、HBV組み込みクローンを検索していたため、比較的多量の癌組織と膨大なスクリーニングが必要であった。Bréchetらのグループは、こうした技術的な問題を解決するため、ヒト遺伝子中に多数散在する繰り返し配列Aluを用いた新しいPCR法を開発し、HBV組み込み部位の迅速な同定を可能にした<sup>14)</sup>。この方法を用いて、実際に肝癌組織より新たにsarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase 1 (SERCA1) geneへのHBV組み込みを同定し、このSERCA1とHBVの融合蛋白がアポトーシスの調節を介して細胞増殖に関与していることを報告した<sup>15)</sup>。

## 3. hTERT遺伝子へのウイルス組み込み

BréchetらはさらにHBV-Alu PCRによる多数の症例のスクリーニングを行い<sup>16)</sup>、18例の肝癌から21個のflanking sequenceを得て、データベースとの比較により6例でヒト遺伝子近傍へのHBV組み込みを確認し、HBVによるinsertional mutagenesisが決して稀な事象でないと報告した。さらにPaterlini-Bréchetらは症例を追加し、22例の肝癌からHBV組み込みのみられる15の遺伝子を同定し、こうしたHBVによるinsertional mutagenesisを受ける遺伝子には、Rasシグナリング、細胞周期の調節、カルシウムシグナリング、テロメ

ア関連遺伝子、といった好発遺伝子がある可能性を示唆し<sup>17,18)</sup>、なかでもhTERTには2例の肝癌で共通して組み込みがみられた。

2001年Horikawaらは肝癌細胞株においてHBV組み込みがhTERTのプロモーター領域に起こり、これによりテロメラーゼ活性が上昇していることを報告した<sup>19)</sup>。hTERT遺伝子へのHBV組み込みは上述のBréchetらの一連の報告においても2例でみられ、また、上述のQuadeらの1例も存在する。これらの独立した研究グループからの報告により、HBV組み込みがランダムではなく、組み込みHBVによるhTERTのcis-activationが肝発癌における1つの重要なステップであることが明らかにされた。

さらに、2003年にFerberらは肝癌8例、肝癌細胞株5例におけるHBVの組み込みと子宮頸癌109例におけるhuman papilloma virus (HPV)の組み込みを検索し、肝癌の1例、肝癌細胞株の1例、子宮頸癌の3例からhTERT近傍へのウイルス組み込みを見つけた<sup>20)</sup>。HPVは、DNA腫瘍ウイルスであるが、HBVやWHVの属するhepadnaウイルスとは異なった属に分類されており、ウイルスの種を超えてDNA組み込みによるinsertional mutagenesisが発癌に関与すること、hTERTがウイルス発癌における重要な標的分子であることが確認された。

## 4. 慢性肝炎組織でのHBV組み込み

筆者らは、これまでにHBV組み込みが急性肝炎や慢性肝炎の時期からすでにみられることをHBV-Alu PCRを用いて明らかにしてきた<sup>21)</sup>。肝癌にみられるinsertional mutagenesisは、すでに慢性肝炎の時期にも起こりうると考えられ、また、慢性肝炎組織での検討により肝癌細胞でしばしば観察される染色体の組み換え、欠失などの影響を受けていない初期のHBV組み込みが検討できる可能性がある。

そこで、われわれは慢性B型肝炎組織より42個のviral-host junctionをクローニングし、その塩基配列を解析した。20クローンにおいてヒトゲノム配列をデータベース上で確認し、染色体上の

表1 HBxと宿主因子の相互作用

HBxによって活性化される転写領域	
NF- $\kappa$ B, AP-1, AP-2, c-EBP, ATF/CREB, NF-AT, RNA pol I, RNA pol III (HBxは直接DNAには結合せずprotein-protein interactionを介す)	
HBxによって活性化される転写因子	
CREB, TFIIB, TFIIF, RPB5, c-EBP $\alpha$ , NF- $\kappa$ B	
HBxによって活性化される細胞内情報伝達系	
Ras-Raf-MAP kinase, JAK-STAT	
HBxのその他の標的分子	
p53	否定的な報告もあり
UVVDB	DNA修復に関連
HVDAC3	ミトコンドリア陽イオンチャンネルに関与
proteasome	転写因子の分解阻害に関与

位置を同定しえた。これらのHBV flanking regionの中には、肝癌において発現低下が報告されている癌抑制遺伝子AXIN1, ショウジョウバエの発生に重要な遺伝子のhuman homologueが3つあるなど、oncogeneやtumor suppressorとしての性質をもつ可能性があるものが存在し、肝癌細胞株や肝癌の癌部、非癌部で発現量の不均衡を認められた<sup>22)</sup>。また、これまでの他のグループから報告されたHBV組み込み染色体とあわせて解析すると、3番染色体への組み込みが有意に多いことがわかった。

この結果よりHBV組み込みによるinsertional mutagenesisは、慢性肝炎の時期から起こりうる大きな遺伝子変化であり、多段階肝発癌の初期の1ステップとして重要であると考えられる。

## II. HBx 蛋白による肝発癌

### 1. X蛋白の概論

HBxはHBVの作る蛋白の中で最も小さく、機能が未知であり、既知の蛋白との相同性も乏しかったためX proteinと名づけられた。HBVの複製、増殖にはなくてもよいとされるが、存在により複製効率が上昇することが示唆されている。主に、細胞質に局在するが、核に局在したり、細胞質と核内を移動するという報告もある。X蛋白はHBV, WHV, grand squirrel hepatitis virusなどの

哺乳類のhepadnaウイルスでは、よく保存されているが、鳥類のduck hepatitis B virusなどでは存在しない。哺乳類のhepadnaウイルスは肝癌を起こすが、鳥類では肝癌の発生は知られていないため、X蛋白の肝発癌への関与が疑われた<sup>23)</sup>。また、ヒト遺伝子に組み込まれたHBVの半数以上はX蛋白をコードしており、その機能の解析が精力的になされた。1991年にKimら<sup>24)</sup>はHBxを導入したトランスジェニックマウスでの肝癌発生を報告し、HBxの肝発癌への関与が強く示唆されている。

### 2. HBxのトランス活性化作用

HBxは、DNAに直接結合することはないが、蛋白間の相互作用によってさまざまな転写領域を活性化させる。また、CREB, TFIIB, TFIIF, RPB5, c-EBP  $\alpha$ , NF- $\kappa$ Bなど多くの転写因子に直接結合し、活性化させることが報告されている(表1)。しかし、これらの報告は*in vitro*でHBxを多量に発現した解析の結果であり、*in vivo*で実際にこれらの経路がどのように影響を受けているかは明らかでない<sup>1,7,23)</sup>。

### 3. HBxによる細胞内シグナル伝達の活性化

HBxは、Ras-Raf-MAP kinase, JAK-STATといった細胞内シグナル伝達系を活性化することが*in vitro*での実験で明らかになっている。この活性化は、Src kinase, FAK/Pyk2 kinase, mitochondria