

## 5. C型肝炎ウイルスの複製と粒子形成

鈴木 哲朗\*, 原 弘道, 相崎 英樹, 鈴木 亮介, 政木 隆博

国立感染症研究所ウイルス第二部

\*現住所: 浜松医科大学医学部感染症学講座

輸血による新たな感染は激減したものの, C型肝炎ウイルス (HCV) キャリアは我が国だけで約200万人とされ, キャリアからの発症予防, 慢性肝炎からの肝硬変化, 発がん阻止は, 高齢化社会を迎え非常に重要な課題である. HCV生活環の各過程の調節機構を分子レベルで明らかにすることにより, 治療薬開発のための新たな分子標的が見出される. HCVゲノム複製機構については, 近年, 複製複合体の性状解析が進み, 複製調節に関与する様々な宿主因子が同定されている. 筆者らは, ATP産生に重要な creatine kinase B (CKB) がHCV複製に関与することを見出した. CKBはNS4Aと相互作用して複製の場へリクルートされエネルギー供給に寄与する可能性を示した. この他, 粒子形成過程と宿主脂質代謝系との関連など最近のトピックスを紹介する.

### はじめに

肝炎, 肝硬変, 肝がんの主要な原因因子であるC型肝炎ウイルス (HCV) は, 約9.6 kbの一本鎖のプラス鎖RNAをゲノムとし, フラビウイルス科 (*Flaviviridae*) のヘパシウイルス属 (*Hepacivirus*) に分類されている. 約3010アミノ酸からなる前駆体蛋白質が, 小胞体に存在するシグナルペプチダーゼとシグナルペプチドペプチダーゼ, 及びウイルス自身がコードする2種類のプロテアーゼによってプロセッシングをうけ, ウイルス粒子を形成する構造蛋白質 (Core, E1, E2) とウイルス粒子に含まれない非構造蛋白質 (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) が作られる. E2のC末端側にはp7と呼ばれる小分子が存在するが, ウイルス粒子に含まれるかは不明である<sup>35)</sup>.

1999年, 培養細胞でHCVサブゲノムRNAが自律複製するレプリコンシステムが開発され, ゲノム複製機構の研究は進展を見せ, さらに, 2005年, 劇症肝炎患者から単離

されたJFH-1株のゲノムRNAから感染性粒子が効率よく産生されることが見出され, HCVの生活環全般に関する分子生物学的研究が可能となった.

### HCVゲノム複製

この10年の間にレプリコンシステムを使った解析からHCVのゲノム複製機構について多くの知見が得られた. HCVレプリコンRNAが複製する細胞の電顕観察から, Membranous webと呼ばれる小胞様構造がHCVゲノム複製の場と推定されている<sup>11)</sup>. 一方, 生化学的解析から, NP-40やTriton X-100などの非イオン性界面活性剤処理で不溶性となる膜分画 (DRM分画) にHCV複製活性が保持されることが示され<sup>1, 33)</sup>, コレステロール合成阻害剤やスフィンゴ脂質合成阻害剤を用いた解析などから, HCVのゲノム複製には脂質ラフト様膜構造が関与することを示唆する知見が蓄積されている<sup>1, 32, 39)</sup>. 一般には, Membranous webは小胞体由来と考えられ, 脂質ラフトは小胞体に存在しないとされることから, HCV複製の足場となる膜構造の性状を明らかにするためには, 更に詳細な解析が必要である. いずれにしても, DRM分画にはウイルスゲノムRNAが鋳型となってマイナス鎖が作られ, さらにそれからプラス鎖RNAが合成される活性が存在する. そしてこの膜分画には, NS3~NS5Bの5種類のHCV非構造蛋白及び宿主細胞由来因子からなる複製複合体が存在することが示されている<sup>3, 22, 28)</sup> (図1).

HCVゲノム複製に関与する宿主因子としては, これまで

### 連絡先

〒431-3192

浜松市東区半田山1-20-1

浜松医科大学医学部感染症学講座

TEL: 053-435-2336

FAX: 053-435-2337

E-mail: tesuzuki@hama-med.ac.jp

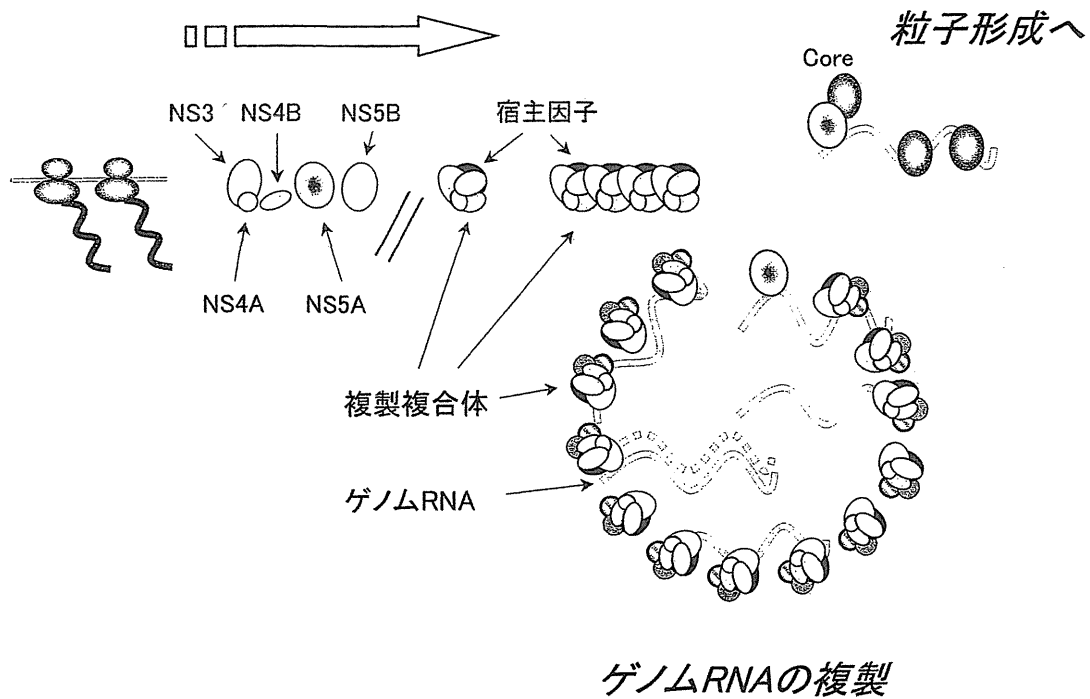


図1 HCV ゲノム複製複合体の形成

翻訳された前駆体蛋白は宿主細胞のシグナルペプチダーゼ、シグナルペプチドペプチダーゼ及び2種類のHCVプロテアーゼによって切断される。NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B蛋白は相互に会合、また宿主蛋白を取り込んだ形で複製複合体を形成する。複製複合体が膜上で高密度化すると、ウイルス蛋白間の相互作用等により膜構造の変化が起こり、小胞構造体が形成される。その際、取り込まれたプラス鎖ゲノムRNAからマイナス鎖(点線で記載)が作られさらにプラス鎖RNAが合成される。新生されたゲノムRNAとNS5A蛋白との複合体がCore蛋白と会合しヌクレオキャプシド形成が進む。

にVAP、FKBP3、Hsp90、hBind-1、FBL2、Cyclophilin Bなど10数種類の蛋白が同定されている。VAP-A/B及びSNARE様蛋白はNS5A、NS5Bと結合し、複製複合体形成に働くと考えられる<sup>9, 12)</sup>。最近、VAP-BのスプライシングバリエーションであるVAP-Cが、VAP-A/BとNS5Bとの結合を競合的に阻害することによってHCV複製を抑制しうることも報告された<sup>21)</sup>。また、NS5Aと相互作用するFKBP8やhBind-1などのコシャペロンがHsp90を複製複合体へ運ぶことがHCV複製に重要であることが示された<sup>30, 31, 36, 37)</sup>。Cyclophilin Bの関与については、免疫抑制剤シクロスポリンの持つ抗HCV活性の作用機序解析を端緒として明らかとなった<sup>41)</sup>。FBL2はゲラニルゲラニル化されてNS5Aと結合し複製複合体に取り込まれる<sup>40)</sup>。しかしながら、HCV複製複合体の形成過程、機能などについて未だ十分に解明されているとは言えない。

#### CKB：新たに見出されたHCV複製関連因子

そこで我々は、比較プロテオーム解析によって、HCV複製複合体を構成し複製調節に働く新規宿主因子の探索を行った。すなわち、前述のようにHCVゲノムが複製する細胞中のDRM分画では複製活性が保持されることから、サ

ブゲノムレプリコンを有するHuh-7細胞及び親株細胞からそれぞれDRM分画を調製し、各蛋白レベルを両分画間で比較し、レプリコン細胞のDRMで存在量が顕著に高かった蛋白27種類を同定した<sup>13)</sup>。その中には、分子シャペロンなど蛋白ホールディングに関わるもの、代謝、生合成系の酵素、細胞骨格形成蛋白などが含まれていた。これらの蛋白が実際にHCVの複製に関与するかどうかを調べるため、各分子に対するsiRNAをレプリコン細胞へ導入し細胞内HCV RNAレベルの変化を解析した結果、HCVゲノム複製を正に制御しうる因子としてcreatine kinase B (CKB)などを同定した。CKBについては、遺伝子ノックダウンの他、阻害剤cyclocreatineの添加、ドミナントネガティブ体の強制発現によってもHCV複製、感染性ウイルス産生が抑制されることを示した<sup>13)</sup>。creatine kinaseは、エネルギーを多く必要とする、あるいはエネルギーを急速に必要とする組織でのATPの供給、ATPレベルの維持に重要な酵素であり、高エネルギーリン酸結合を持つクレアチンリン酸からADPへリン酸基を転移しATP生成に働く。ATPのエネルギーを必要とする生化学反応系において、クレアチンリン酸と共にATPの再生系として利用される。CKBはcreatine kinaseのアイソフォームの一種であり肝

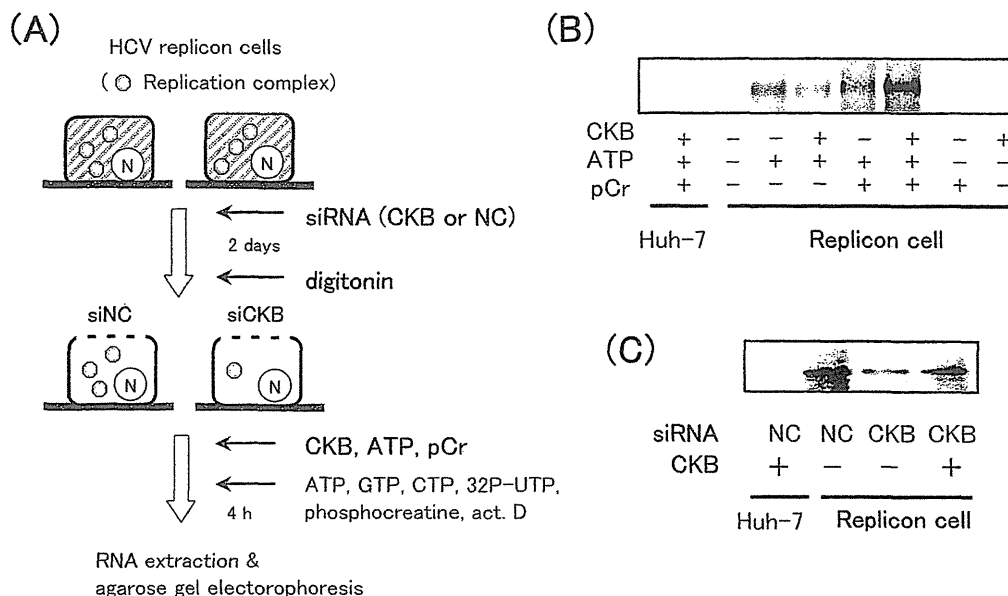


図2 CKBはHCV replicase活性を亢進させる<sup>13)</sup>

(A) セミインタクトレプリコン細胞を用いたHCV replicase assay. (B) 作製したセミインタクト細胞 (Huh7またはReplicon cell) に精製CKB, ATP, クレアチンリン酸 (pCr) を図のように添加し複製活性を調べた. (C) レプリコン細胞にCKBに対するsiRNAまたは陰性コントロールsiRNA (NC)を導入した後セミインタクト化した. それぞれにCKBを添加(または未添加)し複製活性を解析した.

臓を含む多様な組織で発現している. 興味深いことに, CKBはHCVの感染や複製によってその発現が亢進する訳ではないが, HCVレプリコン細胞ではDRM分画にenrichされることが示された<sup>13)</sup>. すなわち, HCVゲノムが複製している細胞においては, CKBが特定の細胞内分画に集積する現象が起こりうると考えられたため, 次に, CKBがHCV蛋白と相互作用し, それによってCKBがDRMヘリクルートされるという作業仮説を立て検証を行った. 免疫沈降解析の結果, CKBは, HCV非構造蛋白のうちNS4Aと相互作用すること, その相互作用にはCKBのC末端側とNS4Aの中央領域が重要であることが明らかとなった<sup>13)</sup>. NS4Aは54アミノ酸残基からなるポリペプチドで, その中央部を介してNS3と結合しNS3セリンプロテアーゼ活性のcofactorとして機能している. また, N末端側は膜貫通領域<sup>7)</sup>, C末端側はNS5Aの高リン酸化に関わる領域<sup>23)</sup>と報告されている. CKBとの相互作用に重要なNS4A領域はNS3との結合に関わる領域に近接すると考えられたが, 免疫沈降法の結果, CKBはNS3-4A結合を阻害する訳ではなく, CKB-NS4A-NS3三者の複合体が形成されることが示された. また, NS4Aとの結合部位を欠損したCKBでは, DRM分画局在性が低下し, HCV複製への関与がキャンセルされた<sup>13)</sup>.

さらに, 複製複合体へのCKBの介入がHCV replicase活性に重要かどうかを明らかにするため, セミインタクトレプリコン細胞を使ったreplicase assayを行った. これ

はMiyanariらによって開発された方法で, レプリコン細胞をジギトニン処理したセミインタクト状態でHCV RNA複製をモニターし, 複製活性に対するプロテアーゼ, 界面活性剤処理などの影響を解析することができる<sup>28)</sup> (図2A). セミインタクトレプリコン細胞にATPを加えるとreplicase活性の上昇が認められるが, ここへさらに精製CKB及びクレアチンリン酸 (pCr) を添加すると同活性が顕著に上昇することがわかった (図2B). また, レプリコン細胞からCKBをノックダウンしておいたセミインタクト細胞ではreplicase活性は低下するが, そこへCKBを添加すると活性の回復が観察された (図2C). replicase活性のうち, NS3-4Aが関与するATP依存的反応はRNA helicase活性であるが, 実際にこの活性がCKB, pCr添加によって亢進することをin vitro helicase assayで確認した<sup>13)</sup>.

以上の成績より, CKBを介したHCV複製分画へのATP供給が同ウイルスのゲノム複製調節に寄与していると結論づけた. CKBはNS4Aとの結合を通じてHCV複製複合体ヘリクルートされ, HCVゲノム複製調節に役割を果たすと考えられた.

#### HCV粒子形成機構に関する最近の知見

細胞内中性脂肪に蓄積に用いられる脂肪滴がHCVの感染性粒子形成に重要な役割を果たすことが2007年に報告<sup>27)</sup>されて以来, HCV粒子形成の分子機構に関する研究は, 脂肪滴のバイオロジー, リポ蛋白産生などの脂質代謝と関連

づけながら進められている。脂肪滴は小胞体由来膜構造等の小器官と相互作用しながら細胞質内で動的な振舞いを見せる。HCV増殖細胞の中では、脂肪滴膜上にHCVヌクレオキャプシド形成を担うCore蛋白が局在しており、膜構造に伴ったE1, E2蛋白また非構造蛋白も、膜間またはCore蛋白との相互作用によって脂肪滴周辺へ集合する。このようにして感染性HCV粒子の形成は脂肪滴周辺環境で効率よく進行すると考えられる<sup>27, 29)</sup>。筆者らは、非構造蛋白NS5Aが脂肪滴の周囲で粒子形成の初期過程に関与することを報告した<sup>26)</sup>。複製複合体で新生されたウイルスゲノムRNAをNS5Aが捕捉した後、NS5AのC末端領域とCoreとの相互作用を介して、ゲノムRNA-NS5A-Core複合体が作られる。これによりCoreによるRNAパッケージングが開始される、というモデルを提唱した(図1)。HCV粒子形成におけるNS5Aの役割は他の研究グループからも報告されている<sup>4, 38)</sup>。

HCV感染患者の血中ウイルスは多様な密度(約1.05から1.25g/mL)を示すことが知られている。低密度域のHCV粒子は、アポリポ蛋白を含みトリグリセリドに富んだ超低比重リポ蛋白VLDLが会合したかたちで存在するものと推定され、このような低密度粒子は高い感染性を有することがチンパンジー、培養細胞での感染実験で示されている<sup>6, 14, 24)</sup>。また筆者らはHCV粒子表面のコレステロール、スフィンゴ脂質が感染性に重要であることを示した<sup>2)</sup>。VLDLの構成因子であるアポリポ蛋白B(apoB)及びアポリポ蛋白E(apoE)がHCV粒子形成に関与すると報告されており<sup>5, 8, 10, 15, 18)</sup>、HCVエンベロープ蛋白の細胞外への分泌はapoB陽性リポ蛋白のアセンブリーに依存している<sup>16)</sup>。apoEについては遺伝子ノックダウンによってHCVの細胞への侵入過程、ゲノム複製は影響をうけないものの感染性HCVの産生は顕著に低下すること<sup>18)</sup>、NS5Aと相互作用することなどが見出されている<sup>5)</sup>。また、VLDLの産生を低下させるミクロソームトリグリセリド転移蛋白阻害剤によって感染性HCV産生は有意に抑制される<sup>18)</sup>。

最近、HCV非構造蛋白についてNS5A以外にNS3, NS2も感染性粒子の形成に関与することが報告されている。NS3のC末端側helicase領域が粒子形成に係わっているとされている<sup>25)</sup>。NS2についてもmutagenesis解析から膜貫通領域、C末端領域など粒子形成に重要な領域が見出されている<sup>17, 19, 20, 34)</sup>(鈴木ら未発表)。

#### おわりに

インターフェロンを基軸とした化学療法の進歩により、最近テレビで流れているように「C型肝炎は治る病気になりました」と言っても過言でないのかもしれない。しかしながら、現行の治療法に対する無効例、治療終了後に肝炎が再燃するケースも依然として多い。化学療法の治療効果をより高め、症状、体質などの異なる様々な症例に対応す

るためには、作用標的の異なる種々の抗HCV剤の創薬化が重要である。現在、HCVプロテアーゼ、ポリメラーゼ、NS5Aをそれぞれ標的とした化合物あるいはシクロスポリン誘導体などによるHCV複製阻害剤の開発が進んでいる。本稿で紹介したように、HCVゲノム複製調節に働く種々の宿主因子が同定され、感染性粒子形成の分子機構も明らかにされつつある。これらは次世代抗HCV薬開発のための新たな標的になるものと期待される。

#### 文献

- 1) Aizaki H, Lee KJ, Sung VM, Ishiko H, Lai MM.: Characterization of the hepatitis C virus RNA replication complex associated with lipid rafts. *Virology* 324: 450-461, 2004.
- 2) Aizaki H, Morikawa K, Fukasawa M, Hara H, Inoue Y, Tani H, Saito K, Nishijima M, Hanada K, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T.: A Critical Role of Virion-Associated Cholesterol and Sphingolipid in Hepatitis C Virus Infection. *J Virol.* 82: 5715-5724, 2008.
- 3) Ali N, Tardif KD, Siddiqui A.: Cell-free replication of the hepatitis C virus subgenomic replicon. *J Virol.* 76: 12001-12007, 2002.
- 4) Appel N, Zayas M, Miller S, Krijnse-Locker J, Schaller T, Friebe P, Kallis S, Engel U, Bartenschlager R.: Essential role of domain III of nonstructural protein 5A for hepatitis C virus infectious particle assembly. *PLoS Pathog.* 4: e1000035, 2008.
- 5) Benga WJ, Krieger SE, Dimitrova M, Zeisel MB, Parnot M, Lupberger J, Hildt E, Luo G, McLauchlan J, Baumert TF, Schuster C.: Apolipoprotein E interacts with hepatitis C virus nonstructural protein 5A and determines assembly of infectious particles. *Hepatology* 51: 43-53, 2010.
- 6) Bradley D, McCaustland K, Krawczynski K, Spelbring J, Humphrey C, Cook EH.: Hepatitis C virus: buoyant density of the factor VIII-derived isolate in sucrose. *J Med Virol.* 34: 206-208, 1991.
- 7) Brass V, Berke JM, Montserret R, Blum HE, Penin F, Moradpour D.: Structural determinants for membrane association and dynamic organization of the hepatitis C virus NS3-4A complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105: 14545-14550, 2008.
- 8) Chang KS, Jiang J, Cai Z, Luo G.: Human apolipoprotein e is required for infectivity and production of hepatitis C virus in cell culture. *J Virol.* 81: 13783-13793, 2007.
- 9) Gao L, Aizaki H, He JW, Lai MM.: Interactions between viral nonstructural proteins and host protein hVAP-33 mediate the formation of hepatitis C virus RNA replication complex on lipid raft. *J Virol.* 78: 3480-3488, 2004.
- 10) Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, Zhong J, Liao W, Chisari FV.: Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J Virol.* 82: 2120-2129, 2007.
- 11) Gosert R, Egger D, Lohmann V, Bartenschlager R,

- Blum HE, Bienz K, Moradpour D. Identification of the hepatitis C virus RNA replication complex in Huh-7 cells harboring subgenomic replicons. *J Virol.* 77: 5487-5492, 2003.
- 12) Hamamoto I, Nishimura Y, Okamoto T, Aizaki H, Liu M, Mori Y, Abe T, Suzuki T, Lai MM, Miyamura T, Moriishi K, Matsuura Y.: Human VAP-B is involved in hepatitis C virus replication through interaction with NS5A and NS5B. *J Virol.* 79: 13473-13482, 2005.
  - 13) Hara H, Aizaki H, Matsuda M, Shinkai-Ouchi F, Inoue Y, Murakami K, Shoji I, Kawakami H, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T.: Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein. *J Virol.* 83: 5137-5147, 2009.
  - 14) Hijikata M, Shimizu YK, Kato H, Iwamoto A, Shih JW, Alter HJ, Purcell RH, Yoshikura H.: Equilibrium centrifugation studies of hepatitis C virus: evidence for circulating immune complexes. *J Virol.* 67: 1953-1958, 1993.
  - 15) Huang H, Sun F, Owen DM, Li W, Chen Y, Gale M, Ye J.: Hepatitis C virus production by human hepatocytes dependent on assembly and secretion of very low-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104: 5848-53, 2007.
  - 16) Icard V, Diaz O, Scholtes C, Perrin-Cocon L, Ramière C, Bartenschlager R, Penin F, Lotteau V, Andr P.: Secretion of hepatitis C virus envelope glycoproteins depends on assembly of apolipoprotein B positive lipoproteins. *PLoS One.* 4: e4233, 2009.
  - 17) Ishii K, Murakami K, Hmwe SS, Bin Z, Li J, Shirakura M, Morikawa K, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T.: Trans-encapsidation of hepatitis C virus subgenomic replicon RNA with viral structure proteins. *Biochem Biophys Res Commun.* 371: 446-450, 2008
  - 18) Jiang J, Luo G. Apolipoprotein E but not B is required for the formation of infectious hepatitis C virus particles. *J Virol.* 83: 12680-12691, 2009.
  - 19) Jirasko V, Montserret R, Appel N, Janvier A, Eustachi I, Brohm C, Steinmann E, Pietschmann T, Penin F, Bartenschlager R.: Structural and functional characterization of nonstructural protein 2 for its role in hepatitis C virus assembly. *J Biol Chem.* 283: 28546-28562, 2008.
  - 20) Jones CT, Murray CL, Eastmann DK, Tassello J, Rice CM.: Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *J Virol.* 81: 8374-8383, 2007.
  - 21) Kukihara H, Moriishi K, Taguwa S, Tani H, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Fukuhara T, Taketomi A, Maehara Y, Matsuura Y.: Human VAP-C negatively regulates hepatitis C virus propagation. *J Virol.* 83: 7959-7969, 2009.
  - 22) Lai VC, Dempsey S, Lau JY, Hong Z, Zhong W.: In vitro RNA replication directed by replicase complexes isolated from the subgenomic replicon cells of hepatitis C virus. *J Virol.* 77: 2295-2300, 2003.
  - 23) Lindenbach BD, Prágai BM, Montserret R, Beran RK, Pyle AM, Penin F, Rice CM.: The C terminus of hepatitis C virus NS4A encodes an electrostatic switch that regulates NS5A hyperphosphorylation and viral replication. *J Virol.* 81: 8905-8918, 2007.
  - 24) Lindenbach BD, Meuleman P, Ploss A, Vanwolleghem T, Syder AJ, McKeating JA, Lanford RE, Feinstone SM, Major ME, Leroux-Roels G, Rice CM.: Cell culture-grown hepatitis C virus is infectious in vivo and can be recultured in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103: 3805-3809, 2006.
  - 25) Ma Y, Yates J, Liang Y, Lemon SM, Yi M.: NS3 helix domains involved in infectious intracellular hepatitis C virus particle assembly. *J Virol.* 82: 7624-7639, 2008.
  - 26) Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Murayama A, Date T, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, and Suzuki T.: Interaction of hepatitis C virus nonstructural protein 5A with core protein is critical for the production of infectious virus particles. *J Virol.* 82:7964-76, 2008.
  - 27) Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K.: The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol.* 9: 1089-1097, 2007.
  - 28) Miyanari Y, Hijikata M, Yamaji M, Hosaka M, Takahashi H, Shimotohno K.: Hepatitis C virus non-structural proteins in the probable membranous compartment function in viral genome replication. *J Biol Chem* 278: 50301-50308, 2003.
  - 29) Ogawa K, Hishiki T, Shimizu Y, Funami K, Sugiyama K, Miyanari Y, Shimotohno K.: Hepatitis C virus utilizes lipid droplet for production of infectious virus. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 85: 217-228, 2009.
  - 30) Okamoto T, Omori H, Kaname Y, Abe T, Nishimura Y, Suzuki T, Miyamura T, Yoshimori T, Moriishi K, Matsuura Y.: A single-amino-acid mutation in hepatitis C virus NS5A disrupting FKBP8 interaction impairs viral replication. *J Virol.* 82: 3480-3489, 2008.
  - 31) Okamoto T, Nishimura Y, Ichimura T, Suzuki K, Miyamura T, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y.: Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90. *EMBO J.* 25: 5015-5025, 2006.
  - 32) Sakamoto H, Okamoto K, Aoki M, Kato H, Katsume A, Ohta A, Tsukuda T, Shimma N, Aoki Y, Arisawa M, Kohara M, Sudoh M.: Host sphingolipid biosynthesis as a target for hepatitis C virus therapy. *Nat Chem Biol.* 1: 333-337, 2005.
  - 33) Shi ST, Lee KJ, Aizaki H, Hwang SB, Lai MM.: Hepatitis C virus RNA replication occurs on a detergent-resistant membrane that cofractionates with caveolin-2. *J Virol.* 77: 4160-4168, 2003.
  - 34) Steinmann E, Brohm C, Kallis S, Bartenschlager R, Pietschmann T.: Efficient trans-encapsidation of hepatitis C virus RNAs into infectious virus-like particles. *J Virol.* 82: 7034-7046, 2008.
  - 35) Suzuki T, Ishii K, Aizaki H, Wakita T.: Hepatitis C viral life cycle. *Adv Drug Deliv Rev.* 59: 1200-1212, 2007.

- 36) Taguwa S, Kambara H, Omori H, Tani H, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Yoshimori T, Moriishi K, Matsuura Y.: Cochaperone activity of human butyrate-induced transcript 1 facilitates hepatitis C virus replication through an Hsp90-dependent pathway. *J Virol.* 83: 10427-10436, 2009.
- 37) Taguwa S, Okamoto T, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y.: Human butyrate-induced transcript 1 interacts with hepatitis C virus NS5A and regulates viral replication. *J Virol.* 82: 2631-2641, 2008.
- 38) Tellinghuisen TL, Foss KL, Treadaway J.: Regulation of hepatitis C virion production via phosphorylation of the NS5A protein. *PLoS Pathog* 4: e1000032, 2008.
- 39) Umehara T, Sudoh M, Yasui F, Matsuda C, Hayashi Y, Chayama K, Kohara M.: Serine palmitoyltransferase inhibitor suppresses HCV replication in a mouse model. *Biochem Biophys Res Commun.* 346: 67-73, 2006.
- 40) Wang C, Gale M Jr, Keller BC, Huang H, Brown MS, Goldstein JL, Ye J.: Identification of FBL2 as a geranylgeranylated cellular protein required for hepatitis C virus RNA replication. *Mol Cell.* 18: 425-434, 2004.
- 41) Watashi K, Ishii N, Hijikata M, Inoue D, Murata T, Miyanari Y, Shimotohno K.: Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell.* 19: 111-122, 2005.

## Advances in research on HCV replication and virion formation

**Tetsuro SUZUKI\***, Hiromichi HARA, Hideki AIZAKI,  
Ryosuke SUZUKI, Takahiro MASAKI

Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases.

\*Present address: Department of Infectious Diseases,

Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan

tesuzuki@hama-med.ac.jp

Hepatitis C virus (HCV) establishes a persistent infection and is recognized as a major cause of chronic liver diseases worldwide. Although much work remains to be done regarding the viral life cycle, significant progress has been made with respect to the molecular biology of HCV, especially the viral genome replication and virion formation. A variety of host cell factors, which play roles in replication of the viral genome RNA, have been identified. Involvement of lipid droplet, lipid metabolism and the viral nonstructural proteins in the production of the infectious particles has also been revealed.

660

における TACE の成績について述べる。肝外転移がなくまた以前に他の治療法を受けていない肝細胞癌 8,510 例の成績は、中央値 34 か月で 1 年、3 年、5 年の生存率は各々 82%、47%、26%であった。また、肝障害度別に予後を見ると、肝障害度 A、B、C の 5 年生存率は各々 33%、21%、8%であった。また、TNM stage 別にみた 5 年生存率は、Stage I、II、III、IV-A では各々 47%、32%、20%、10%であった (Gastroenterology 131: 461, 2006)。

予後を規定する独立因子として肝障害度、癌の肉眼的進行度 (TNM stage)、 $\alpha$ -フェトプロテイン値の 3 つが挙げられた。また、TACE 施行 30 日以内の死亡率は 0.5% で、肝不全が全体の 40% を占め、次いで癌死、癌腫の破裂、食道・胃静脈瘤破裂などであった。

#### 【再肝動脈化学塞栓療法 (TACE) の時期】

造影 CT や MRI を用いた 3~4 か月ごとの画像診断を主に、腫瘍マーカー値を参考に効果判定を行い、再発確認後再 TACE を行っている。最近、ソナゾイドを用いた造影超音波が効果判定に用いられるようになってきた。

## 肝癌に対する陽子線治療

proton radiotherapy for hepatocellular carcinoma

松崎靖司 東京医科大学教授・茨城医療センター 消化器内科

#### 【陽子線治療の概要】

原発性肝細胞癌 (HCC) に対する放射線療法に関し、残念ながら科学的根拠に基づく多施設無作為試験 (RCT) の報告はない。HCC の集学的治療の一環としての放射線照射療法の有効性は、現段階では phase II 試験として有効性を示唆する報告により

支持せざるを得ない。近年わが国においては、HCC に対する新しい陽子線、炭素線などの重荷電粒子線照射療法などの放射線照射療法の進歩が著しく、有効性を示す成績の報告が多くなってきた。

#### 【粒子線治療の理論的根拠】

新しい放射線療法として現在臨床応用されているものは、重荷電粒子線として陽子線、重イオン (炭素、アルゴン、ネオンなど) が挙げられる。重粒子とは電子より重い粒子のことをいい、これを加速器で高速にしたものを広義の重粒子と呼ぶ。陽子線やさらにエネルギーの強い炭素線が体内を一定深度で高線量域 (Bragg-peak) を形成する (図 11-18)。選択的照射は線量が表面で少なく体内深部で大きくなる本特性を利用したものである。

#### 【陽子線治療の方法】

高エネルギー物理学研究機構内の筑波大学陽子線医学研究利用センターにおいて、165 例の肝癌患者が第 1 相/第 2 相臨床研究としての陽子線治療を施行された。そのときの照射基本は、患側 1 門または 2-3 門の固定照射により、線量分布調整体を用い病巣のみをその形状にあわせ選択的に照射した。正確に照射するためにイリジウム針をマーカーとして、腫瘍の辺縁に置くことである。照射線量の中央値は 72 Gy (50~88 Gy) で平均総線量は 72 Gy、1 回線量の中央値は 4.5 Gy (2.9~6 Gy)、1 回照射平均 4 Gy、平均 16 回照射であった。現在はほぼ本治療方法が一般的である。さらに本システムではガントリーも使用できる。

#### 【治療成績】

筆者らの経験では、観察期間中の局所制御率は 5 年局所制御率で 88.4% であった。全体の生存率は、1 年 79.6% (N=129)、3 年 57.4% (N=93)、および 5 年 24.2% (N=35) であった。多変量解析により、最適な治療効果を得るには、併存肝疾患の重症度と腫瘍数が生存に寄与する因子と判明

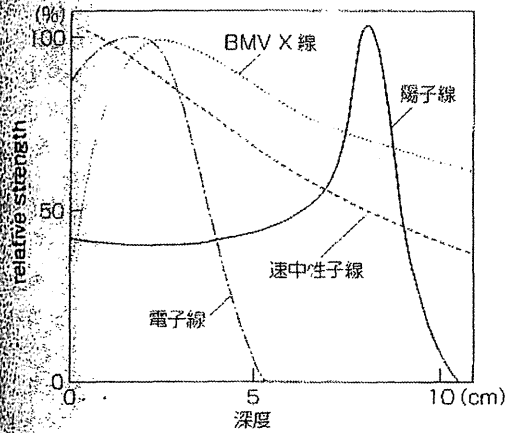


図 11-18 陽子線の Bragg-peak 特性

た、単発で腫瘍径に関係なく、肝機能が慢性肝炎あるいは Child A～B 肝硬変合併肝細胞癌の 5 年生存率は良好である。

#### 【適応・禁忌】

HCC に対する陽子線照射の基本的な適応基準は、①切除術拒否例、②以下のようなさまざまな理由により RFA などの焼灼療法の実行が困難な症例、③ 3 cm を超える肝細胞癌症例、④ US にて描出困難な腫瘍、⑤肝表面、深部、大血管近傍などの局在により腫瘍への穿刺が困難な場合、⑥肝硬変を含む他の合併症により既存治療が施行しがたい症例、⑦限局的な PVT、静脈内血栓症例、などを現段階での適応としている。とりわけ多変量解析の結果より、Child-Pugh A 肝硬変で単発腫瘍であることが最大の適応であると考えている。

総ビリルビン値 3.0 mg/dL 以上、難治性腹水や消化管に近接した腫瘍は、現状では技術的な観点から禁忌である。

#### 【合併症回避対策】

治療による副作用は、急性期から亜急性期のもは重篤なものはなく、照射終了後には改善するものであった。晩期副反応は anemia、消化管出血などがあり、胆管や、消化管への影響も考慮しなければならない問題であると考えられる。照射の適応を決

めるとき、重要なことは腫瘍と消化管との位置関係である。腫瘍と消化管の両者が最低 2 cm は離れていないと、消化管に障害を起こす。難治性の潰瘍や出血を起こすことがある。また肝門部の照射も注意が必要である。腫瘍と腸管と胆管との位置関係は今後考慮しなければならない課題である。

#### 【患者説明のポイント】

現在、本治療は高度先進医療であるので治療費用が高額であることをしっかり説明する。陽子線照射療法において腫瘍の大きさが局所制御や生存率に影響しない点を考慮すれば、焼灼療法の適応になりがたい大きさの単発腫瘍に関しては、よい治療法となりうる可能性がある。また、尾状葉などでも十分に照射可能であること、現行の治療法で有効とされる 3 cm 以下の腫瘍に陽子線治療を積極的に行う必要があるか否かは議論のあるところであることを明確にする。さらに陽子線治療はあくまで局所療法であることから、肝細胞癌の臨床的特徴を考慮すると、肝内に散在する 4 個以上の肝細胞癌には適応しがたい。



## XIV 肝細胞癌以外の肝腫瘍

### 肝嚢胞腺腫

Hepatic cystadenoma

Key words: 肝嚢胞腺腫

本多 彰  
池上 正  
松崎 靖司

#### 1. 概念・定義

肝嚢胞腺腫は1892年Keenによって最初に報告されたまれな疾患である<sup>1)</sup>。同種の疾患について(肝内)胆管嚢胞腺腫という名称も用いられているが、両者の正確な使い分けは行われておらず、ほぼ同義として用いられている<sup>2)</sup>。2000年のWHOの分類でintrahepatic bile duct cystadenoma、2001年の米軍病理学研究所(Armed Forces Institute of Pathology: AFIP)の分類でhepatobiliary cystadenoma(biliary cystadenomaと同義)と称されるものが、これらに相当すると考えられる。

近年、嚢胞性膵腫瘍が粘液性嚢胞腫瘍(mucinous cystic neoplasm: MCN)と膵管内乳頭粘液性腫瘍(intraductal papillary mucinous neoplasm: IPMN)に整理されたように、嚢胞性肝腫瘍も肝MCNと胆管IPMN(または胆管内乳頭状腫瘍(intraductal papillary neoplasm of bile duct: IPNB))に分類整理されつつある<sup>3,4)</sup>。

この分類からすると、従来の肝嚢胞腫瘍(肝嚢胞腺腫および肝嚢胞腺癌)とは、肝MCNと著明に肝内胆管が拡張した胆管IPMN(またはIPNB)の両者を包括した表現であると考えられる。

#### 2. 疫学

嚢胞性肝疾患の大多数は単純性嚢胞であり、嚢胞腺腫はまれである。米国での文献的な報告は約200例、我が国では約60例である。80-85%が女性であり、診断時の平均年齢は40-50歳

である。嚢胞内容が粘液性のものが約95%を占め、残りは漿液性であったという。MCN(粘液性嚢胞腺腫および腺癌)に限っていえば、そのほとんどが女性に発生する。

#### 3. 病因

1985年WheelerとEdmondsonは、従来の診断によってhepatobiliary cystadenomaとされた22症例を詳しく調査し、嚢胞壁の上皮直下に間葉系間質(現在では卵巣様間質という)を有するcystadenoma with mesenchymal stroma(CMS)とそれ以外のものに分類した<sup>5)</sup>。その結果CMSは17例で全例女性、CMS以外は5例ですべて男性であったという。このCMSが現在の粘液性嚢胞腺腫に相当し、CMS以外のものが胆管内乳頭状腺腫に相当するものと推測される。

膵のMCNも卵巣様間質を有し、ほとんど女性に発生する。また、肝・膵のMCNともに、プロゲステロンやエストロゲンの受容体が検出される<sup>6)</sup>。MCNは卵巣では比較的頻度の高い疾患であることから、肝・膵・卵巣のMCNは類縁疾患であり、女性ホルモンに感受性があるという点も含めて共通の病因を有する可能性が示唆される。卵巣様間質を有することとほとんどが女性に発生することから、原始卵巣原基の散布あるいは遺残が推測されているが、卵巣様間質を有する男性のMCN症例も少数ながら報告されており<sup>7)</sup>、その発生メカニズムはいまだ不明である。

Akira Honda, Tadashi Ikegami, Yasushi Matsuzaki: Department of Gastroenterology, Tokyo Medical University Ibaraki Medical Center 東京医科大学茨城医療センター 消化器内科

#### 4. 病 態

肝嚢胞腺腫の症状は、嚢胞の大きさと存在場所次第であり、比較的小さなものは無症状のことが多い。しかし、大きなものは直径が15cm以上に達し、上腹部の圧迫感や持続痛のほか、門脈の圧迫による門脈圧亢進症状(脾腫、腹水など)、胆管系の圧迫による胆汁うっ滞症状(黄疸、胆道系酵素の上昇など)、下大静脈の圧迫による下肢の浮腫などが認められることがある。また、まれなケースとして、嚢胞内出血、破裂による腹腔内出血、嚢胞の捻転などによる急性腹症を起こすことがある。

血液生化学検査では異常を認めないことが多いが、サイズが大きい場合には胆道系酵素やビリルビンの上昇を認めることがある。トランスアミナーゼまで上昇することはまれである。

血清の腫瘍マーカーでは、時にCA19-9の上昇を認めることがあるが、CEAやAFPは正常のことが多い。一方、嚢胞内容液のCA19-9とCEAは上昇していることが多いが、正常範囲内の症例も存在する。また、CA19-9とCEAの値のみから嚢胞腺腫と嚢胞腺癌を鑑別することは困難である<sup>8)</sup>。

#### 5. 診断と鑑別診断

##### a. 画像診断

上記臨床症状の精査のために行う腹部の画像検査で診断されるが、健診の腹部超音波検査で偶然に発見されることも多い。典型例の超音波検査では、内部隔壁を有する(多房性の)境界明瞭な嚢胞性病変として観察されるが、単房性の症例も1/4程度に認められる。また壁の肥厚、凹凸や結節、乳頭状増殖、嚢胞内出血などに伴う部分的な高エコー領域を伴うことが多い。

CT検査所見では、境界明瞭な嚢胞性病変の外縁または内部に隔壁や壁の肥厚による実質性の増殖像や石灰化が観察される。また造影CT検査では、しばしば壁の一部に強く染まる部分が観察される。内部隔壁の検出感度は超音波検査の方が勝っているというが、病変の全体像と血管、胆管の圧迫状況を評価するにはCT検査

が優れている。

MRI検査では嚢胞内容の性状に関する情報が得られる。嚢胞内に漿液および粘液を有する単純性嚢胞と嚢胞腺腫では、通常T1強調画像で低信号、T2強調画像で高信号を認める。T1強調画像で高信号の場合には、嚢胞内の液体にタンパクや脂質が多いことが推測され、嚢胞内出血や嚢胞腺癌の可能性も疑う<sup>9)</sup>。

##### b. 病理組織学的診断

これまで臨床的に肝嚢胞腺腫と診断されてきた疾患も、今後は病理組織学的に肝MCNと胆管IPMN(またはIPNB)に分けて診断する必要があると考えられる。臨床所見のみから両者を鑑別することは非常に困難である。胆管との交通がある場合、男性例、単房性の場合には肝MCNよりも胆管IPMN(またはIPNB)の可能性の方が高いとされるが、胆管との交通があるMCN、男性のMCN、単房性のMCNも報告されている。逆に胆管との交通が途絶えた胆管IPMN(またはIPNB)や、屈曲した拡張胆管によって多房性に見える胆管IPMN(またはIPNB)もある。

病理組織学的にも肝MCNと胆管IPMN(またはIPNB)は類似している。いずれも胆管上皮で覆われ、しばしば腸上皮化生や胃粘膜化生がみられる。しかし肝MCNでは、肥厚した嚢胞壁や隔壁に通常のHE染色で卵巣様間質を認めるという特徴がある<sup>3,4)</sup>。エストロゲンおよびプロゲステロンレセプターの免疫染色も卵巣様間質の同定に有用である<sup>3)</sup>。一方、卵巣様間質が観察できない症例では、胆管IPMN(またはIPNB)を強く疑う必要がある。胆管IPMN(またはIPNB)の多くは高分化型の乳頭状腺癌であるが、境界病変あるいは腺腫の場合もある<sup>4)</sup>。

##### c. 鑑別診断

鑑別診断としては、単純性嚢胞、出血性嚢胞、嚢胞腺癌、肝エキノкокクス症、肝膿瘍、壊死を伴う充実性肝腫瘍、嚢胞性の転移性肝腫瘍などが問題となる。肝エキノкокクス症は抗体検査によってほぼ診断できるが、その他の嚢胞性病変の鑑別は容易ではない<sup>10)</sup>。

特に嚢胞腺腫と嚢胞腺癌の鑑別に関しては、



画像診断による術前診断は極めて困難とされる<sup>11)</sup>。嚢胞腺癌では嚢胞内容液の細胞診でも3割強に偽陰性例があること、また手術中の穿刺が原因で腹膜播種をきたした症例の報告もあることから<sup>12)</sup>、細胞診による確定診断も積極的には勧められない。最終的には切除標本の全面的な病理組織学的検査によらなければならない。

## 6. 治療と予後

### a. 治療

嚢胞腺癌との鑑別が困難であること、また腺腫の癌化も報告されていることから<sup>13)</sup>、嚢胞腺

腫が疑われた場合には、外科的な完全切除が必要である。

### b. 予後

外科的に完全切除された嚢胞腺腫症例の予後は良好である。一方、嚢胞腺癌の予後は卵巣様間質の有無で異なり、女性の卵巣様間質を有する嚢胞腺癌は進行が遅く予後良好であったのに対して、卵巣様間質をもたない男性の嚢胞腺癌は進行が速く、予後も悪かったという<sup>14)</sup>。前者は現在の分類では肝MCN、後者は胆管IPMN(またはIPNB)であった可能性が高いと考えられる。

## 参考文献

- 1) Keen W: On resection of the liver, especially for hepatic tumours. *Boston Med Surg J* 126: 405-409, 1892.
- 2) 高浜龍彦ほか: 肝腺腫, 肝嚢胞腺腫, 肝内胆管嚢胞腺腫. 別冊日本臨牀 肝・胆道系症候群 肝臓編(上) p387-391, 日本臨牀社, 1995.
- 3) 信川文誠ほか: 胆管嚢胞腫瘍(biliary cystadenoma/adenocarcinoma)の病理—肝のMCNと言えるか. *消化器画像* 9: 229-234, 2007.
- 4) 中沼安二ほか: 粘液産生胆管腫瘍と粘液性嚢胞性胆管腫瘍—両者の鑑別と瘳と比較しての問題点—, *胆と瘳* 29: 479-485, 2008.
- 5) Wheeler DA, Edmondson HA: Cystadenoma with mesenchymal stroma(CMS) in the liver and bile ducts. *Cancer* 56: 1434-1445, 1985.
- 6) Abdul-Al HM, et al: Expression of estrogen and progesterone receptors and inhibin- $\alpha$  in hepatobiliary cystadenoma: an immunohistochemical study. *Virchows Arch* 450: 691-697, 2007.
- 7) Suzuki M, et al: Mucinous cystic neoplasm in a young male patient. *J Gastroenterol* 40: 1070-1074, 2005.
- 8) 竹内内午ほか: 肝嚢胞性疾患49例の臨床病理学的検討. *日消外会誌* 30: 719-723, 1997.
- 9) 仲田興平ほか: 9年間の経過観察を経て肝嚢胞腺癌と診断された1例. *胆と瘳* 27: 607-611, 2006.
- 10) Anthony YB, et al: Biliary cystadenoma and other complicated cystic lesions of the liver: diagnostic and therapeutic challenges. *World J Surg* 30: 1560-1566, 2006.
- 11) Del Poggio P, Buonocore M: Cystic tumors of the liver: A practical approach. *World J Gastroenterol* 14: 3616-3620, 2008.
- 12) Iemoto Y, et al: Biliary cystadenocarcinoma with peritoneal carcinomatosis. *Cancer* 48: 1664-1667, 1981.
- 13) Devaney K, et al: Hepatobiliary cystadenoma and cystadenocarcinoma. A light microscopic and immunohistochemical study of 70 patients. *Am J Surg Pathol* 18: 1078-1091, 1994.

# 5

## 肝癌の診断

### A 腫瘍マーカー

- 肝細胞癌のサーベイランスにおいては、2種類以上の腫瘍マーカーを測定することが推奨される。
- 腫瘍マーカー高値を認めた場合、超音波検査で腫瘍が検出できなくても dynamic CT あるいは dynamic MRI を撮像することを考慮する。

#### a. 総論

肝細胞癌の代表的腫瘍マーカーには AFP ( $\alpha$ -fetoprotein)<sup>1)</sup>、AFP-L3 分画(レンズマメ結合性 AFP)<sup>2)</sup> および PIVKA-II (protein induced by vitamine K absence or antagonist-II)<sup>3,4)</sup> の3種類がある。2008年4月から、保険制度上、AFPとPIVKA II両者の同時測定が可能となり、肝細胞癌の補助診断として広く使用されている。一方、最近高感度 AFP-L3 分画の測定系が開発され、AFP-L3%のAFP低値例(20 ng/ml未滿)での測定が可能となったが、評価の方法は基本的には変わらない<sup>5)</sup>。AFP-L3 分画の測定は、現行保険上は肝細胞癌の可能性が強く疑われるときのみ算定される。

腫瘍マーカーに求められるのは①存在診断〔早期診断、進展度診断(stage分類)〕、②質的診断(鑑別診断、悪性度診断)、③治療効果判定・再発診断の3点である。これらをすべて満たす腫瘍マーカーは現在のところ存在しない。しかし、3種類の腫瘍マーカーを効果的に組み合わせることによ

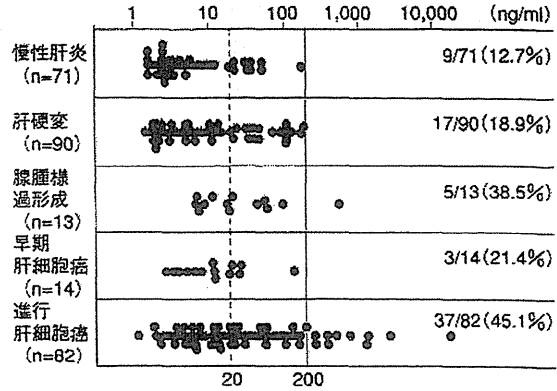


図5-1 慢性肝疾患におけるAFP

りその診断率は向上する。

#### 1) AFP

AFPの問題点は慢性肝疾患においても上昇し特異性に欠けることである<sup>1)</sup>。カットオフ値を20 ng/ml とすると(図5-1)、慢性肝炎、肝硬変、腺腫様過形成(AH)、早期肝細胞癌(高分化型肝細胞癌)および進行肝細胞癌(最大径3 cm以下、中・低分化型肝細胞癌)の陽性率はそれぞれ9/71(12.7%)、17/90(18.9%)、5/13(38.5%)、3/14(21.4%) および37/82(45.1%)で、感度41.6%、特異度82.2%であった。一方、カットオフ値を200 ng/ml とすると、慢性肝炎、肝硬変、AH、早期肝細胞癌および進行肝細胞癌の陽性率はそれぞれ0/71(0.0%)、0/90(0.0%)、1/13(7.7%) および10/82(12.2%)となり、感度10.4%、特異度99.4%であった。カットオフ値を上げることによって特異度は増したが感度が低下した。こ

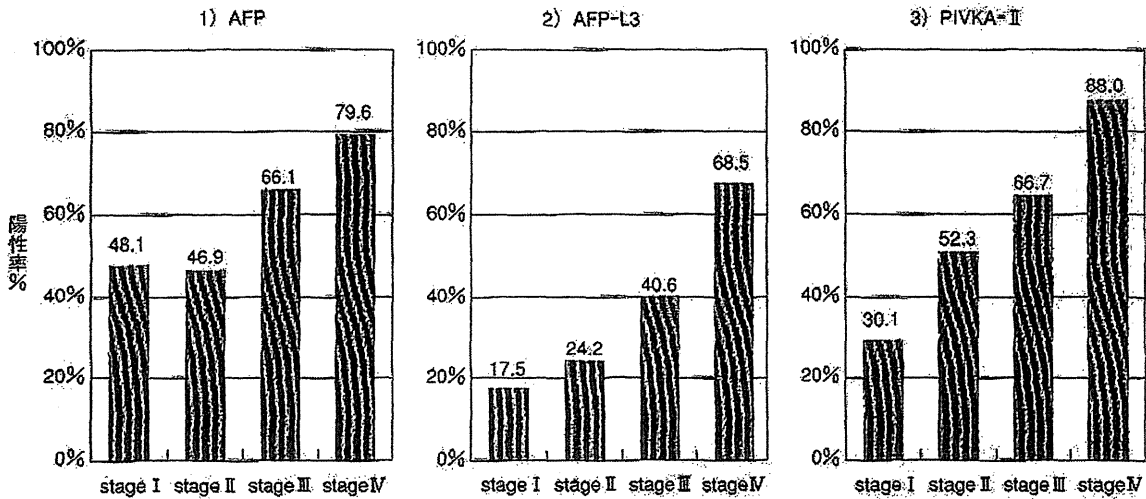


図 5-2 肝細胞癌の進行度と陽性率 (n = 712)

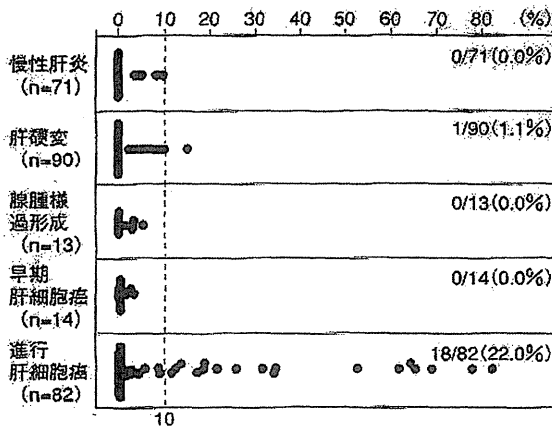


図 5-3 慢性肝疾患における AFP-L3 分画

のように AFP は種々の状態で増加するために軽度の上昇の場合には肝細胞癌との鑑別には他の血清学的検査の動態および画像診断等を参考とする必要がある<sup>1)</sup>。図 5-2 に進行度別の AFP の陽性率を示した。

## 2) AFP-L3 分画

AFP-L3 分画は AFP の特異性を向上させることを目的として AFP の複合型糖鎖の癌性変化の 1 つをとらえたものである。カットオフ値は当初 15% に設定されていたが<sup>20)</sup>、その後の検討から 10% を採用することが多い<sup>7)</sup>。慢性肝炎、肝硬変、

AH、早期肝細胞癌および進行肝細胞癌の陽性率はそれぞれ 0/71 (0.0%)、1/90 (1.1%)、0/13 (0.0%)、0/14 (0.0%) および 18/82 (22.0%) で、感度 18.8%、特異度 99.4% であった (図 5-3)。特異度は高いものの感度は低く小さな肝細胞癌の発見は単独では限界がある。しかし小さくても上昇例では進行肝細胞癌と診断できる<sup>8)</sup>。なお、AFP-L3 分画は肝不全時に上昇することがありその解釈には注意する<sup>9)</sup>。図 5-2 に肝細胞癌の進行度別の AFP-L3 分画の陽性率を示した。

## 3) PIVKA-II

PIVKA-II は des-γ-carboxy prothrombin (DCP) とも呼ばれ、凝固活性のない異常プロトロンビンである。カットオフ値は 40 mAU/ml で、慢性肝炎、肝硬変、AH、早期肝細胞癌および進行肝細胞癌の陽性率はそれぞれ 0/71 (0.0%)、2/90 (2.2%)、0/13 (0.0%)、2/14 (14.3%) および 39/82 (47.6%) で、感度 42.7%、特異度 98.9% であった (図 5-4)。単独での陽性率は 3 つの腫瘍マーカーの中で最も高く特異性も優れていた。やはり早期肝細胞癌での陽性率は低い。なお、PIVKA-II は黄疸が長期続いてビタミン K 欠乏をきたしたとき (閉塞性黄疸、肝内胆汁うっ滞など) やビタミン K サイクルを阻害するワルファリンや広域スペクトラムの抗生物質 (セフェム系) を投与され

表5-1 各種腫瘍マーカーの組み合わせによる陽性率(n=270)

	AFPのみ	AFP-L3のみ	PIVKA-IIのみ	AFP+AFP-L3	AFP+PIVKA-II	AFP-L3+PIVKA-II
overall accuracy <sup>1)</sup>	67.8%	70.7%	78.9%	68.1%	74.8%	80.0%
感度 <sup>2)</sup>	41.7%	18.8%	42.7%	42.7%	63.5%	46.9%
特異度 <sup>3)</sup>	82.2%	93.4%	98.9%	82.2%	81.0%	98.3%
PPV <sup>4)</sup>	46.3%	74.7%	95.3%	56.9%	64.9%	93.8%
NPV <sup>5)</sup>	71.9%	69.5%	75.8%	72.2%	80.1%	77.0%

TP: true-positive, TN: true-negative, FP: false-positive, FN: false negative

1) overall accuracy: TP+TN/TP+FP+TN+FN, 2) 感度: TP/TP+FN, 3) 特異度: TN/FP+TN, 4) positive predictive value (PPV): TP/TP+FP, negative predictive value (NPV): TN/FN+TN

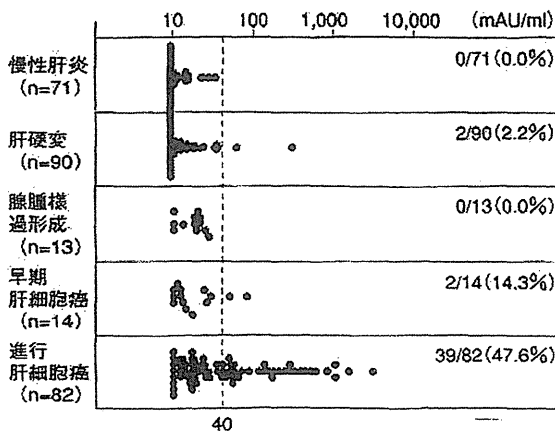


図5-4 慢性肝炎疾患における PIVKA-II

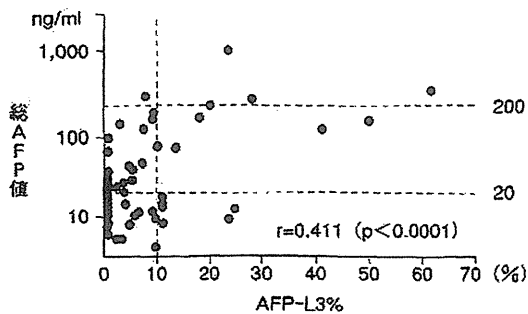


図5-5 小肝細胞癌における AFP と AFP-L3 分画

た時に上昇することがあり、その解釈には注意する。図5-2に肝細胞癌の進行度別の PIVKA-II の陽性率を示した。

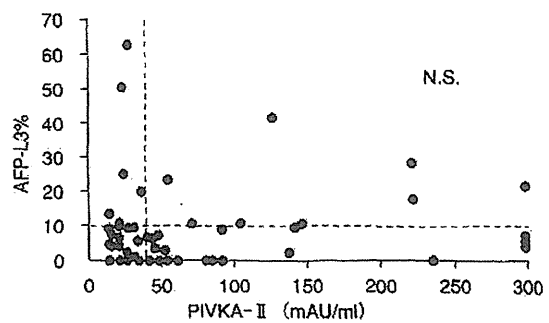


図5-6 小肝細胞癌における PIVKA-II と AFP-L3 分画

### b. 組み合わせ診断の仕方

今まで述べてきたように単独での腫瘍マーカーの陽性率には限界がある。前述したように AFP と PIVKA-II の同時測定が最近可能となった。各々の腫瘍マーカーの相関は弱い(図5-5)か認められない(図5-6)ため組み合わせでの測定が勧められる<sup>8,9)</sup>。3 cm 以下の肝細胞癌での組み合わせ診断の結果を表5-1に示す。AFP と PIVKA-II もしくは AFP-L3 分画と PIVKA-II の組み合わせ測定が感度、特異度、positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV)の面から勧められる。

### c. 悪性度評価

腫瘍マーカーは肝細胞癌の生物学的悪性度(発育速度および浸潤・転移能)の評価に適している。組織学的には分化度が、画像的には血流動態(肝動脈血優位、門脈血欠損)が悪性度評価に使用されることが多い。図5-7に腫瘍の血流動態、組織



## D 腫瘍マーカーによる効果判定

### Consensus Statement

- ・ 治療前の腫瘍マーカーの陽性数が多い症例の予後は不良である。
- ・ 治療後の腫瘍マーカーの陽性数が多い症例は予後不良であり、治療前よりその傾向は顕著である。
- ・ 治療後の腫瘍マーカーが陽性例では、画像診断上腫瘍が捉えられなくても未治療の病変の存在が示唆され慎重な対応が必要である。

#### a. 治療前の腫瘍マーカーと予後

腫瘍マーカーが陽性か陰性かにより予後を検討すると AFP(カットオフ値 20 ng/ml), AFP-L3 分画(カットオフ値 10%), PIVKA-II(カットオフ値 40 mAU/ml)のいずれも陰性例が陽性例に比して有意に長期間生存していた( $p < 0.0001$ ) (図 7-2)。さらに治療前の腫瘍マーカーの陽性数と予後をみたものが図 7-3 である。陽性数が 0 個, 1 個, 2 個, 3 個と増加するにつれ予後は悪化した<sup>1)</sup>。

#### b. 治療後の腫瘍マーカーと予後

AFP, AFP-L3 分画および PIVKA-II の治療前後の腫瘍マーカーの動態と予後を解析したのが図 7-4 である。いずれの腫瘍マーカーも治療前陽性で陰性化した群(陰性化群), 治療前陰性で治療後も陰性が持続している群(持続陰性群), 治療前陰性で治療後陽性化した群(陽性化群), および治療前も治療後も陽性の群(持続陽性群)の 4 群に分類した<sup>1,2)</sup>。なお治療後の腫瘍マーカーの測定は治療後 1~3 か月のものを採用した。AFP, AFP-

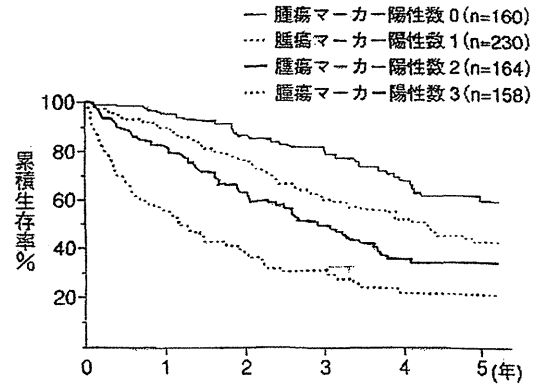


図 7-3 治療前の腫瘍マーカーの陽性数と予後

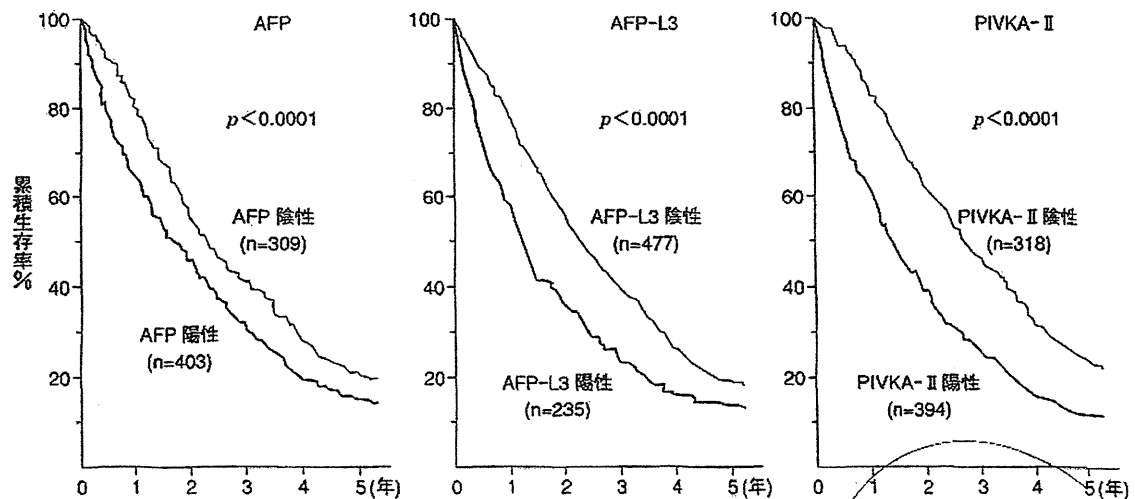


図 7-2 腫瘍マーカーの陽性の有無と予後



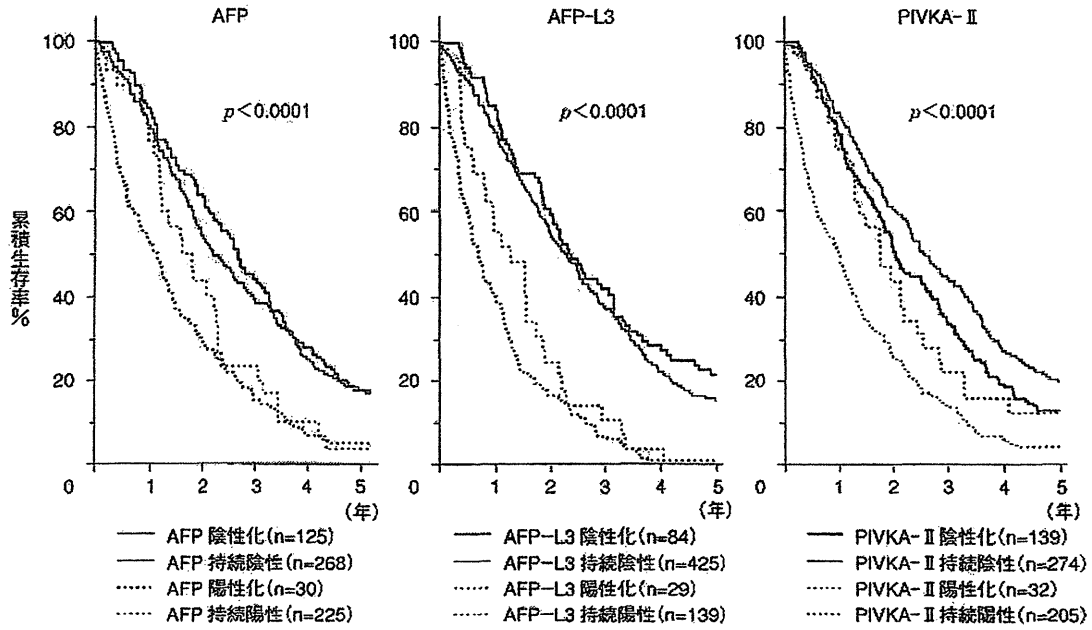


図 7-4 治療前後の腫瘍マーカーの動態と予後

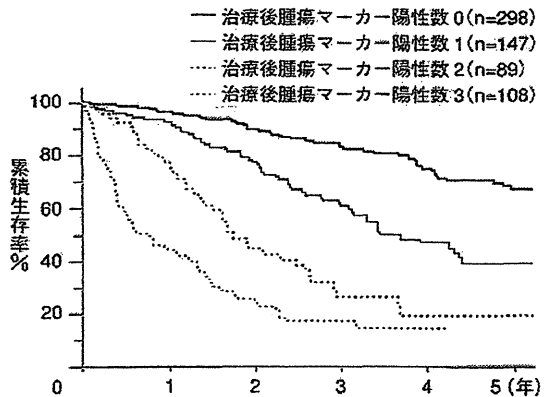


図 7-5 治療後も陰性化しない腫瘍マーカーの個数と生存率

L3 分画および PIVKA-II とともに陰性化群と持続陰性群の間には差を認めず、陽性化群と持続陽性群の間にも差を認めなかった。しかし陰性化群・持続陰性群と陽性化群または持続陽性群の間にはいずれの群間でも差を認め、特に AFP-L3 で顕著であった ( $p < 0.0001$ )。一方、治療後の腫瘍マーカーの陽性数と予後を見たものが図 7-5 である。陽性数が増加するにつれて予後は悪化し、その傾

向は術前の腫瘍マーカー陽性数(図 7-3)よりも顕著であった。

### C. 治療効果判定のための腫瘍マーカーの意義

肝切除、局所治療、肝動脈塞栓術などの治療効果の判定は治療終了の可否、すなわち追加治療の要不要を判断する重要なものである<sup>9)</sup>。現状では画像診断による判定が主であることはいうまでもないが、画像診断法の進歩した現在においてもその検出には当然限界がある。画像上検出可能なすべての腫瘍が治療されれば治療は終了となるが、術前に陽性であった腫瘍マーカーが治療後も陽性を持続している場合、未治療肝細胞癌残存の可能性が示唆される。画像診断上描出されないものを治療することは困難であるので、より慎重な経過観察、さらに評価は定まっていないが術後の補助化学療法追加などを考慮する必要がある。

### 【文献】

- 1) Toyoda H, Kumada T, Kiriya S, et al : Impact of surveillance on survival of patients with initial

- hepatocellular carcinoma : a study from Japan. Clin Gastroenterol Hepatol 4 : 1170-1176, 2006
- 2) Hayashi K, Kumada T, Nakano S. et al : Usefulness of measurement of *Lens culinaris* agglutinin-reactive fraction of  $\alpha$ -fetoprotein as a marker of prognosis and recurrence of small hepatocellular carcinoma. Am J Gastroenterol 94 : 3028-3033, 1999
  - 3) Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y. et al : Prognostic value of pretreatment levels of tumor markers for hepatocellular carcinoma on survival after curative treatment of patients with HCC. J Hepatol 49 : 223-232, 2008

(熊田 卓、豊田秀徳)

# B/C型肝炎

## 19 ALT正常値のC型キャリアと考えられたが、肝生検で線維化が進展していた症例

大垣市民病院消化器科 藤田 卓

### 症 例

60歳代、女性。

〔主 訴〕 特になし。

〔既往歴〕 30歳代に背部の脂肪腫の摘出術。輸血歴なし。飲酒・喫煙歴なし。

〔家族歴〕 特記すべきことなし。

〔現病歴〕 2006年2月に当院口腔外科で抜歯前の採血でHCV抗体陽性をチェックされ消化器科に紹介となる。AST 32 IU/L、ALT 31 IU/L、 $\gamma$ -GTP 17 IU/Lと基準値内であったので経過観察となる。以後トランスアミナーゼは常に基準値内であった。今回、患者と相談して治療適応を決めるための肝生検の入院となる。

〔入院時検査所見〕 表1に示す。AST 26 IU/L、ALT 26 IU/Lで基準値内であった。TTT、ZTTのみ異常高値を認めた。genotype(遺伝子型)は1B、HCV RNAは7.1 log-c/mLを示していた。図1に本症例のALT値、ZTT値、HCV RNA量の経時的変化を示す。約15年前の1995年(このときのHCVAb〈HCV抗体〉は未測定)のALTは16 IU/L、ZTTは8.2 Uであった。

〔肝臓超音波所見〕 入院時の

右肋弓下走査で得られた像を図2に示す。肝実質のスペックルパターンに異常は認めず、辺縁は鋭であった。

〔肝生検所見〕 ヘマトキシリン-エオジン染色(HE染色)では門脈域に強いリンパ球浸潤を認め限界板の破壊を認めた。Azan-Mallory染色(Azan染色)ではP-P結合(portal to portal bridging fibrosis)が認められ、A2/F2と考えた(図3)。

表1 本症例の入院時検査所見

白血球	5,307/mm <sup>3</sup>	CHO	192 mg/dL
血色素	11.9 g/dL	AFP	1.6 ng/mL
血小板	279,310/mm <sup>3</sup>	PT	108%
TTT	8.0 U	TC	153 mg/dL
ZTT	15.9 U	IgA	genotype C
AST	26 IU/L	TCM	2.1%
ALT	26 IU/L	BUN	4.8 mg/dL
$\gamma$ -GTP	15 IU/L	CRE	1.0 mg/dL
T-Bil	0.5 mg/dL	ヒアルロン酸	27 ng/mL
ALP	263 IU/L	ICG15	10%
LDH	173 IU/L	HCV RNA	7.1 log-c/mL
CHE	258 IU/L	HCV genotype	1B
TP	7.3 g/dL	AFP	1.6 ng/mL
ALB	4.2 g/dL	AFP-L3%	not detectable
A/G比	1.35	PIVKA-II	17 mAU/mL

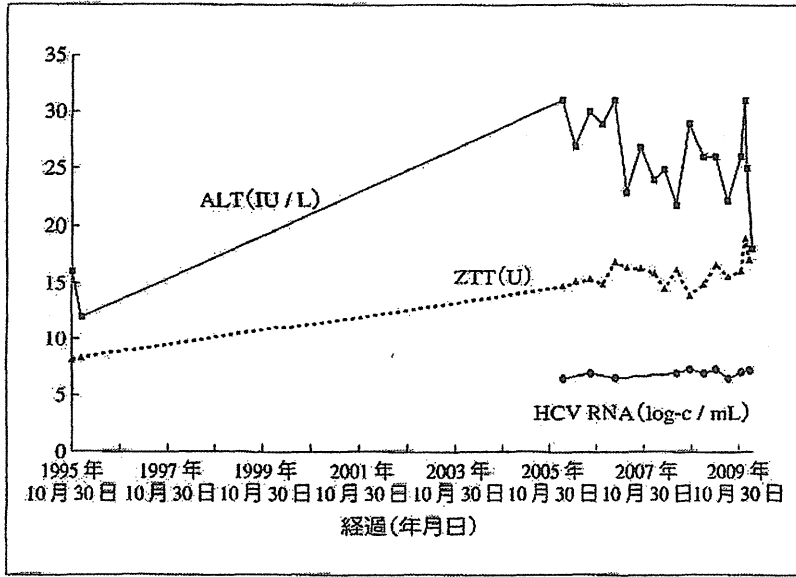


図1 本症例のALT、ZTT、HCV RNAの経過

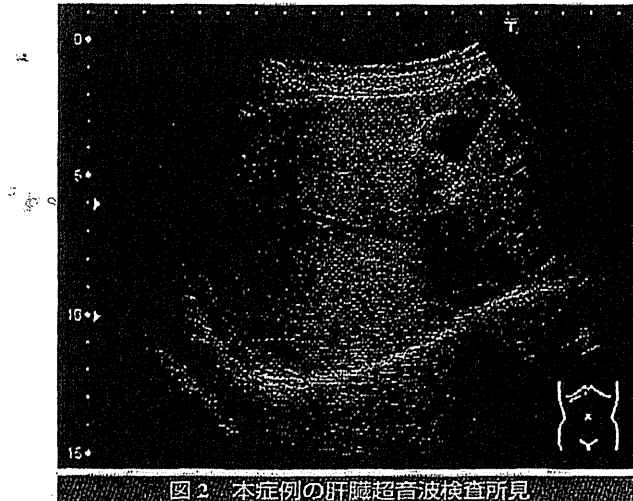


図2 本症例の肝臓超音波検査所見  
入院時の右肋弓下走査で得られた像。

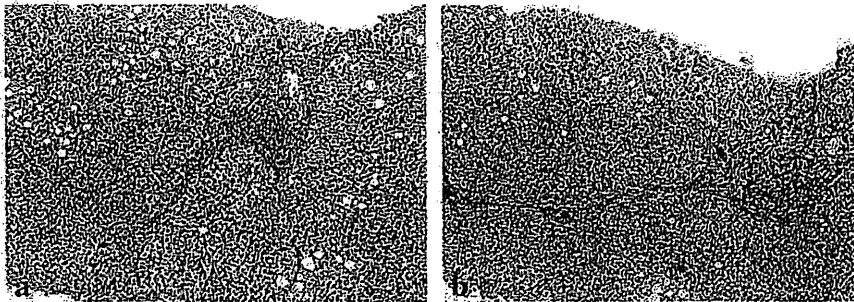


図3 本症例の肝生検所見

a: HE染色(×100), b: Azan染色(×100).

口絵の図4参照.