<症例報告>

lamivudine および adefovir 投与中に肝細胞癌を合併した B 型肝炎硬変の 1 例

南部 修二^{1)*} 寺崎 禎一²⁾ 新敷 吉成²⁾ 松井 一裕³⁾ 塚田 一博⁴⁾

要旨：症例は 56 歳男性。B 型肝炎硬変で経過観察をされていたが、2002 年 3 月の急性増悪に対し lamivudine (LMV) の投与を開始し肝機能は改善した。しかし、11 月には LMV 耐性 HBV による breakthrough hepatitis となり 2003 年 1 月より LMV に加え adefovir (ADV) の投与を開始した。血中 HBV DNA は次第に減少し測定感度以下となり肝機能も改善、沈静化した。しかし 2003 年 9 月、すなわち LMV 開始後 18 カ月、ADV 開始後 8 カ月後、画像診断で肝細胞癌 (HCC) と診断され 11 月に外科的切除を行った。腫瘍は 1.3cm 大の単純結節型の中分化型 HCC で、非癌部は慢性肝炎で新犬山分類 A1 F4 であった。免疫染色では HBs 抗原および HBc 抗原は正常肝細胞のみならず HCC 細胞にも観察された。術後も LMV と ADV を継続投与し 3 年以上経過しているが、無再発生存中である。本例のように、核酸アナログ投与により血液中 HBV DNA が持続的に陰性化し、肝炎が沈静化していても HCC を合併することがあり注意が必要である。

索引用語： lamivudine adefovir B 型肝炎硬変 肝細胞癌

はじめに

B 型肝炎ウイルス (HBV) に対する抗ウイルス薬である lamivudine (LMV) は B 型肝炎、肝硬変に対して使用されるようになり肝機能の改善が認められている¹⁾。しかし、LMV 耐性の YMDD モチーフ変異株の出現は高頻度であり²⁾、breakthrough hepatitis の際には YMDD 変異 HBV の増殖を抑制し肝機能を改善させる adefovir dipivoxil (ADV) が投与されるようになってきた^{2)~4)}。また、LMV の投与により発癌が抑制されると報告されているが、投与後、比較的早期の肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, 以下 HCC) の発生例も見られる¹⁾⁵⁾⁶⁾。今回、我々は B 型肝炎硬変に対する LMV 治療中に breakthrough hepatitis をおこし、ADV 投与により血液中 HBV DNA が測定感度以下を持続し肝炎は沈静化したが、LMV 開始後 18 カ月、ADV 併用投与後 8 カ月という比較的早期に HCC を合併し外科的切除

を行い、その後 3 年以上無再発生存中の 1 例を経験した。核酸アナログ投与中の HCC の合併について文献的考察を加え報告する。

症 例

患者：56 歳男性。

主訴：HCC の精査加療目的。

既往歴：2000 年 5 月狭心症に対し経皮的冠動脈形成術 (percutaneous transluminal coronary angioplasty, 以下 PTCA) を施行。

家族歴：特記事項なし。

現病歴 (Fig. 1)：済生会高岡病院にて 1996 年より狭心症、糖尿病の治療を受けていたが、2000 年 5 月狭心症に対し PTCA を施行された。その時に B 型肝炎硬変と診断され、以後加療を行っていた。時々肝炎の急性増悪を認め強力ネオミノファーゲン C[®] (Stronger NeoMinophagen C, 以下 SNMC) にて対処していた。2002 年 2 月より肝機能の悪化あり、3 月 12 日には AST 154, ALT 220, T-bil 1.8, Alb 3.6, PT (%) 40% となり肝不全が懸念されたため LMV の投与を開始した。この時点での肝ダイナミック CT および肝エコーでは SOL は認めなかった。血液中 HBV DNA 量の減少とともに肝機能は改善したが、9 月より HBV DNA が増加し遅れて肝機能の増悪もみられた。11 月 19 日には AST 76, ALT 93, HBV DNA 8.1 LGE/ml となり LMV 耐性

1) 八尾総合病院内科

旧：済生会高岡病院内科

2) 済生会高岡病院内科

3) 済生会高岡病院病理科

4) 富山大学大学院医学薬学研究部消化器・腫瘍・総合外科 (第 2 外科)

*Corresponding author: nambu-tym@umin.ac.jp

<受付日 2007 年 3 月 8 日><採択日 2007 年 7 月 26 日>

Fig. 1 Clinical course

YMDD 変異株(YIDD 変異)の出現による breakthrough hepatitis と診断し SNMC 100ml を連日投与した。AST, ALT はやや改善してきたが, HBV の増殖抑制目的にインターフェロン (interferon, 以下 IFN) 導入のため済生会高岡病院に 12 月 5 日入院となった(第 1 回目入院)。入院時検査所見では AST 37, ALT 42, T-bil 1.2, Alb 3.4, PT (%) 35%, WBC 4100, Hb 14.5, 血小板 6.8 万であった (Child-Pugh 分類 B, 8 点)。腹部エコー, 肝 MRI では, 肝硬変の所見のみで肝内 SOL は見られなかった。

入院後, 12 月 6 日より IFNα-2b 300 万単位 3 回/週投与を行い, 同時に SNMC 100ml とメルシ酸ガベキセート 1500mg/日を投与した。また LMV はそのまま継続した。AST, ALT はほとんど変化はなかったが, 次第に血小板減少, 血清 Alb および PT (%) の低下, T-bil の上昇がみられ, 肝不全が考えられたため 12 月 22 日で IFN 投与を中止した。中止後 12 月 27 日には HBV DNA 7.4LGE/ml とやや低下したが, HBV の再増殖が予想されたため, LMV に追加して ADV 10mg/日で 2003 年 1 月 8 日より投与した。なお ADV 投与前の肝機能 (2003 年 1 月 4 日) は AST 29, ALT 24, T-bil 2.2, Alb 2.8, PT (%) 39% であった (Child-Pugh 分類 B, 9 点)。投与後, 2 月中旬より腹水が腹部エコー上みられ

るようになったが, 利尿薬等で消失した。2 月下旬には HBV DNA は減少し PT (%) が回復傾向であり本人の退院希望が強かったために 2 月 28 日退院となった。退院直前の腹部エコーでは SOL は見られなかった。退院後は, HBV DNA はさらに低下し肝機能も次第に改善し, 7 月 4 日には AST 35, ALT 29, T-bil 1.0, Alb 3.4, PT (%) 71%, HBV DNA 3.7LGE/ml 未満で血小板も 9.0 万まで増加した (Child-Pugh 分類 A, 6 点)。定期的に行った 7 月 8 日の腹部エコーでは, 肝 S5 に胆嚢頸部と右門脈枝に接するように 1.2×1.0 cm の SOL が認められ HCC の可能性があり精査をすすめたが本人の同意を得られなかった。9 月に経過観察のため腹部エコーを行ったところ, SOL の大きさはエコー上 1.6×1.3 cm とやや増大傾向 (Fig. 2) にあり HCC を疑い肝ダイナミック CT (Fig. 3) および肝ダイナミック MRI を行った。いずれの動脈相においても腫瘍濃染像がみられ HCC と診断した。2003 年 10 月 29 日, 治療目的に富山医科薬科大学 (現富山大学) 第 2 外科に入院した (第 2 回目入院)。

入院時現症: 身長 166.7 cm, 体重 70.7 kg, 血圧 107/70 mmHg。結膜に黄染, 貧血なく, 意識清明で手掌紅斑, くも状血管腫は認めなかった。心肺異常なく腹部では, 肝を正中線上剣状突起下 3 横指触知し, その辺縁は鈍

Fig. 2 Abdominal ultrasonography showed a hypoechoic mass (arrows) in segment 5 of the liver.

で弾性硬であった。腹水、下腿浮腫は見られなかった。

入院時検査所見 (**Table 1**) : 血小板の低下が見られたが, AST, ALT, T-bil は正常範囲であった。Alb, PT(%)はやや低下し, ICG_{R15} は 59% と高値を示した。腫瘍マーカーは AFP 29ng/ml と高値を示したが, PIVKA-II は正常範囲であった。これらの結果より肝機能は Child-Pugh 分類 A (6 点) であった。

また, HBV genotype は C であった。precore (以下 PreC), core promotor (以下 CP) 領域の変異については, ADV 投与前 (2003 年 1 月) の血清を使用し direct sequence 法により塩基配列の解析を行った (Fig. 4) が, PreC 領域 1896 番目の塩基は G であり変異は認めなかった。CP 領域は 1762 番目の塩基が A で変異を認めなかったが, 1764 番目は G から A に変異していた。ADV 投与後 9 カ月 (2003 年 10 月) の血清中 HBV も解析を試みたが, ウイルス量が微量であるために解析できな

Fig. 3 Dynamic CT showed an early-enhanced nodule (arrow) in segment 5 of the liver.

Table 2 Amino acid mutations in polymerase region conferring resistance to nucleos(t)ide analogues before and after adding adefovir on lamivudine treatment

	I169	V173	L180	A181	T184	S202	M204	N236	P237	N238	M250
before (Jan 2003)	wild	wild	wild	wild	wild	wild	mutant (I)	wild	wild	wild	wild
after (Oct 2003)	wild	wild	wild	wild	wild	wild	mutant (I)	wild	wild	wild	wild

Fig. 5 CT during arteriportography (CTAP) and hepatic arteriography (CTHA) showed a solitary tumor.

a) CTAP demonstrated a perfusion defect in segment 5.

b) CTHA showed it as a contrast-enhanced nodule with an internal hypodense focus.

部消化管検査では軽度の食道静脈瘤 (Cw, Lm, F1, RC (-), Lg (-)) を認めるのみであった。

入院後経過：以上より、B 型肝炎硬変に合併した肝 S5 の肝細胞癌 stage I と診断した。肝予備能は肝障害度 A であった。治療の選択肢として経皮的ラジオ波焼灼療法も可能であったが、腫瘍が肝表面にあり胆嚢および右門脈枝に接しており胆嚢損傷の可能性があったために十分なインフォームド・コンセントをとった上で肝部分切除を行うこととした。

Fig. 6 Macroscopic finding of resected specimen. The tumor was 1.3cm in diameter and identified as a nodule-in-nodule appearance.

11 月 11 日に胆嚢摘出術および S5 の腫瘍を含む肝部分切除が行われた。切除標本では、腫瘍は 1.3cm 大の単純結節型で nodule-in-nodule 像を呈し T1, N0, M0, stage I であった (Fig. 6)。組織学的には腫瘍部 (Fig. 7-a) は中分化型肝細胞癌が大部分であり、低分化型、高分化型の成分も認められ、一部壊死を含む結節が見られた。また、腫瘍内への小円形細胞浸潤はわずかに認められるのみであった。非腫瘍部肝組織 (Fig. 7-b) は、再生結節が形成されており肝硬変の所見であり、interface hepatitis は軽度で肝実質の壊死巣はほとんど見られなかった (Chronic hepatitis, 新犬山分類 A1 F4)。腫瘍部、非腫瘍部組織の HBs 抗原および HBc 抗原に対する免疫組織学的検討では、いずれも正常肝細胞のみならず癌細胞の一部で細胞質に陽性反応が認められた (Fig. 8-a, b)。HBV DNA の肝組織染色体 DNA への integration については検索できなかった。術後、合併症なく 2003 年 12 月 9 日に退院した。退院後も引き続き LMV と ADV を投与しているが、術後早期より AST, ALT はいずれも 20 台、HBV DNA は 3.7LGE/ml

Fig. 7 Microscopic findings.

a) Histological examination revealed that tumor tissue was composed predominantly of moderately differentiated HCC. (H & E stain, ×100)

b) Regenerative nodular formation, mild interface hepatitis and few intranodular focal necrosis were detected in non-tumor tissue. (H & E stain, ×40)

未満と肝炎は良好にコントロールされており、2007年1月現在、再発は認めていない。

考 案

LMV および ADV はいずれも HBV の増殖を抑制する核酸アナログであり、作用機序は逆転写酵素に対する新生 DNA 鎖伸長時にそれぞれシトシン、アデニンの取り込みを競合的に阻害することと、DNA 鎖に取り込まれた後、DNA 鎖の伸長を停止させることによると考えられている。LMV には細胞毒性はないといわれており、また、動物実験における癌原性試験では明らかな腫瘍の発生の増加は見られていない。ADV も LMV と同様に動物実験での癌原性は見られない。臨床的には、LMV は継続的な長期投与により慢性肝炎、肝硬変患者の発癌を予防することが明らかになっている¹⁵⁾が、発癌例では LMV 投与後、比較的早期に発癌する例が多いことが指摘されている。鈴木ら⁶⁾によれば LMV 投与後の HCC 合併例は 329 例中 5 例で、発癌は LMV 投与開始後 8~15 カ月以内と早期にみられ、投与開始後、2 年以降の発癌は認められていない。一般に薬剤による発癌性は投与期間が長期になるにしたがい高くなると考えられており、LMV の発癌への関与は多くないとも述べている。また、LMV 抵抗性慢性 B 型肝炎に対する

48 週の ADV 単独投与、LMV との併用投与例では発癌例は 1 例も見られていない^{3,4)}。本例は LMV 投与開始後 18 カ月、ADV 併用後 8 カ月後の早期の HCC の合併であるが、後述するように ADV の使用あるいは LMV との併用が HCC の増殖に関与している可能性は完全否定できないものの、ADV は LMV と同一の作用機序であり HCC 合併までの期間も投与開始 8 カ月後であり、発癌への関与は低いと考えられた。

HBV 関連 HCC では、ウイルス側の観点から、HBV genotype B と C を比較すると genotype C が genotype B より肝病変の進展が速く発癌率も高いとされている^{8,9)}。また、CP 領域の重複遺伝子変異 (A1762T/G1764A) のある症例で発癌が起りやすく¹⁰⁾、genotype C では C1653T, T1753V の変異の関与も報告されている¹¹⁾。本例の HBV は genotype C で、CP 領域の遺伝子変異は A1762 には変異は認めず、G1764 のみに A への変異を認めた。また、C1653T, T1753V の変異はみられなかった。DNA ポリメラーゼ領域の変異については、鈴木らの報告⁶⁾では、LMV 投与中の HCC 合併例 5 例すべてで YMDD モチーフ変異株が認められていたが、本例でも YIDD に変異しており、HBV の変異と発癌との関連の観点から興味深い。

Fig. 8 Immunohistochemical examination for HBsAg and HBcAg in HCC and non-tumor tissues ($\times 200$).

a) HBsAg was positive in some cells (arrows) in HCC and non-tumor tissues.

b) HBcAg-positive cells (arrows) were also detected in both tissues.

現在, HBV 関連肝発癌過程は, 複数の因子が組み合わさり直接的, 間接的に発癌に関与していると考えられている¹²⁾. すなわち, クローナルな腫瘍増殖過程がはじまる段階では HBV DNA が宿主肝細胞の染色体 DNA にすでに integration されており, これが転写調節やテロメア関連遺伝子などの多くの遺伝子に insertional mutagenesis を起こしたり, また, integration された

HBx から翻訳される HBx 蛋白がシグナル伝達系や転写因子に影響し癌化を促進していることも知られている. さらに, B 型慢性肝炎, 肝硬変では, 肝炎ウイルスあるいは肝炎ウイルス関連抗原に対する細胞障害性 T リンパ球を中心とした細胞性免疫機序による HBV 感染細胞の部分的な破壊と再生が行われており, このような慢性炎症が genomic instability を高め, 宿主遺伝子変異が

集積し高発癌状態を引き起こしていると考えられている。このような持続的炎症は、B 型のみならず、C 型肝炎などでもその発癌過程で極めて重要視されている。

LMV による発癌抑制は、HBV 増殖を抑制することにより肝炎を沈静化させ、genomic instability を低下させることによるところが多いと考えられている¹³⁾が、ADV も同様の作用が推定される。本例では、LMV 投与後の LMV 耐性 HBV による breakthrough hepatitis に対して ADV を併用投与することにより血液中 HBV DNA が漸減し肝炎も沈静化し、6 カ月後には HBV DNA は測定感度以下となり肝機能も併用前 Child-Pugh 分類 B (9 点) が A (6 点) と明らかに改善し持続していたが、この時期 (ADV の併用投与開始後 8 カ月) に HCC の合併が診断されたことは興味深い。しかし、切除された非癌部肝組織では A1 という軽度の肝炎の所見が存在しかつ一部で HBs 抗原陽性肝細胞あるいは HBc 抗原陽性肝細胞がみられており、LMV と ADV の併用投与により血液中では HBV DNA の持続陰性化が得られていたにもかかわらず、肝細胞中には HBV DNA が微量に存在し軽度の肝炎の持続があり、それが HCC の発癌に関与している可能性が示唆された。

一方、本症例も含め LMV や ADV 投与後早期の発癌例では、これらの投与開始時には肝病変は慢性肝炎、肝硬変にまで進行しており、持続的な肝細胞の破壊と再生が繰り返されることによりすでに発癌し、画像診断で診断不能な HCC が存在していた可能性は否定できず、核酸アナログ投与により血液中 HBV が低下し肝炎が沈静化した時期に臨床的に診断可能な癌まで増殖した可能性も考えられる。HCC の増殖に関し、実験的にヒトの HBs 抗原発現 HCC 培養細胞を移植したマウスで HBs 抗原特異的 T 細胞を介した免疫反応により HCC の増殖が抑制されることが報告され¹⁴⁾¹⁵⁾、HBV に対する細胞性免疫機構がヒトの体内でも HBV 感染肝細胞のみならず HBV 関連蛋白質を産生する HCC 細胞に対し増殖抑制作用を示す可能性がある。本例では、切除組織で免疫組織学的に正常肝細胞のみならず HCC 細胞にも HBs 抗原および HBc 抗原が認められており、LMV と ADV の併用投与による HBV DNA の増殖抑制が HBV に対する細胞性免疫能を低下させ HCC の増殖に関与した可能性は完全には否定できない。

また、術後再発に関して Kubo ら¹⁶⁾は、血液中 HBV DNA 高値の HCC の完全切除例で術後の LMV 投与群と非投与群を比較し投与群での無再発生存率が高いことを示している。本例では、LMV および ADV の投与

は肝切除後も継続しているが、術後 3 年以上経過し肝炎のコントロールは良好で癌の再発はみられてない。これらのことから LMV と ADV あるいは LMV 単独の術後投与により HBV の増殖を抑制し肝炎の増悪を防止し新たな発癌を抑制しているのではないかと考えられ、B 型慢性肝疾患に合併した HCC の完全切除例では再発予防にも肝炎の沈静化が重要であることを示唆している。

このように持続的肝炎が肝発癌過程における極めて重要な因子のひとつと考えられているが、核酸アナログ投与により血液中 HBV DNA が持続的に陰性化し、臨床的に肝機能が改善、沈静化していても、本例のように HCC を合併することがあり注意が必要であるとともに、画像診断検査を定期的に行い早期 HCC を見逃さないことが重要である。

結 論

B 型肝炎硬変に対する LMV 治療中に breakthrough hepatitis をおこし、ADV の併用投与により血液中 HBV DNA の陰性化と肝機能の改善を得たが、LMV 開始後 18 カ月、ADV 併用投与 8 カ月後に HCC が合併し外科的切除を行った 1 例を経験した。核酸アナログ投与により、血液中 HBV DNA が持続的に陰性化し、肝炎が沈静化していても HCC を合併することがあり、画像診断検査を定期的に行い早期 HCC を見逃さないことが重要である。

文 献

- 1) Liaw YF, Sung JY, Chow WC, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521—1531
- 2) Perrillo R, Schiff E, Yoshida E, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis mutants. *Hepatology* 2000; 32: 129—134
- 3) Perrillo R, Hann HW, Mutimer D, et al. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2004; 126: 81—90
- 4) Peters MG, Hann HW, Martin P, et al. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2004; 126: 91—101
- 5) Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, et al. Efficacy of lamivudine for preventing hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: A multicenter

- retrospective study of 2795 patients. *Hepatology* 2005; 32: 173—184
- 6) 鈴木文孝, 池田健次, 荒瀬康司, 他. B 型肝炎, 肝硬変に対するラミブジン投与例からの発癌についての検討. *肝臓* 2003 ; 44 : 243—244
- 7) 南 祐仁, 岡上 武. 核酸誘導体による B 型肝炎治療の現状と課題. *肝臓* 2006 ; 47 : 499—502
- 8) 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* 2001; 34: 590—594
- 9) Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2000; 118: 554—559
- 10) Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2003; 124: 327—334
- 11) Tanaka Y, Mukaide M, Orito E, et al. Specific mutations in enhancer II/core promoter of hepatitis B virus subgenotypes C1/C2 increase the risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2006; 45: 646—653
- 12) Lupberger J, Hildt E. Hepatitis B virus-induced oncogenesis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 74—81
- 13) 松本晶博, 田中栄司, 清澤研道. ラミブジンによる発癌予防とその理論的背景. *肝胆膵* 2006 ; 52 : 377—383
- 14) Ilan Y, Gabay E, Amit G, et al. Suppression of human hepatoma in mice through adoptive transfer of immunity to the hepatitis B surface antigen. *J Hepatol* 1997; 27: 170—176
- 15) Gotsman I, Alper R, Klein A, et al. Inducing oral immune regulation of hepatitis B virus envelope proteins suppresses the growth of hepatocellular carcinoma in mice. *Cancer* 2002; 94: 406—414
- 16) Kubo S, Tanaka H, Takemura S, et al. Effects of lamivudine on outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma in patients with active replication of hepatitis B virus. *Hepatology* 2007; 37: 94—100

A case of liver cirrhosis type B accompanied by hepatocellular carcinoma under lamivudine and adefovir treatment

Shuji Nambu¹⁾*, Teiichi Terasaki²⁾, Yoshinari Atarashi²⁾,
Kazuhiro Matsui³⁾, Kazuhiro Tsukada⁴⁾

A 56 year-old male with liver cirrhosis type B started lamivudine (LMV) treatment against acute exacerbation of the hepatitis on March in 2002. Although his liver function improved, LMV-resistant HBV appeared, leading to breakthrough hepatitis on November in 2002. Administration of adefovir dipivoxil (ADV) in combination with LMV began on January in 2003. Since then, HBV DNA levels in his serum gradually decreased to less than measurement sensitivity and his liver function improved. On September in 2003, namely 18 months and 8 months after starting LMV monotherapy and the combination treatment respectively, he developed a small HCC and underwent resection of the HCC on November. Histologically, the tumor tissue was composed of moderately differentiated HCC, and the non-tumor tissue showed liver cirrhosis with mild inflammation. HBsAg and HBcAg were immunohistochemically detected not only in normal hepatocytes but also in HCC cells. He has taken LMV and ADV continuously and been alive without recurrence for more than three years after the surgery. This case suggests that it is important to pay attention to development of HCC in patients with liver cirrhosis type B under nucleotide analogues administration, even if their blood HBV DNA concentrations are continuously less than measurement sensitivity, leading to improvement of their liver functions.

Key words: lamivudine adefovir liver cirrhosis type B hepatocellular carcinoma

Kanzo 2007; 48: 429—438

1) Department of Internal Medicine, Yatsuo General Hospital

(Past address: Department of Internal Medicine, Saiseikai Takaoka Hospital)

2) Department of Internal Medicine, Saiseikai Takaoka Hospital

3) Department of Pathology, Saiseikai Takaoka Hospital

4) Department of Surgery and Science, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences for Research, University of Toyama

*Corresponding author: nambu-tym@umin.ac.jp