<短 報>

肝癌細胞内 HBc 抗原および HBe 抗原の局在に 関する免疫組織化学的研究

桑原 芳弘 青山 圭一 南部 修二
井上 恭一 佐々木 博*

肝細胞癌 (HCC) における癌部の B 型肝炎ウイルス (HBV) 関連抗原の陽性頻度は一般的に非癌部に比べて低く、特に HBc 抗原が観察される機会は極めて稀である¹⁻³⁾。今回著者らは血中 HBs 抗原陽性の HCC について、主に癌部における HBV 関連抗原の局在を免疫組織化学的手法を用いて検討し、HBV-DNA との関連から解析を加えたので報告する。

対象および方法：対象は組織学的に HCC と診断され、かつ血中 HBs 抗原陽性の46例で、RIA 法による血中 HBe 抗原・抗体の検索では HBe 抗原陽性10例 (22%)、HBe 抗体陽性15例 (32%)、両者陰性21例 (46%) であった。肝組織内 HBV 関連抗原については薄切切片全体における HBV 関連抗原陽性の肝細胞の占める割合 (分布量) を - ~ 4 + (- : 0%, 1 + : < 5%, 2 + : < 30%, 3 + : < 80%, 4 + : ≥ 80%) のスコアで評価した。また、連続切片法で同一箇所にて二種類の HBV 関連抗原が観察された場合には二重染色法⁴⁾を用いてその局在を確認した。

癌部で HBc 抗原の局在が観察された 2 症例 (症例

4, 6) に関しては癌部と非癌部から DNA を抽出し、southern blot hybridization 法により組織内の HBV-DNA の検索をした。なおプローブとして³²P でラベルしたクローン化 HBV-DNA を使用した。

成績：血中 HBs 抗原陽性 HCC (46例) の非癌部と癌部における HBs 抗原、HBc 抗原および HBe 抗原はそれぞれ、非癌部で34例 (74%)、19例 (41%) および 4 例 (9%) に観察され、一方癌部では 8 例 (17%)、2 例 (4%) および 1 例 (2%) に観察された。HBs 抗原と HBc 抗原の陽性頻度は共に癌部で有意に低値 ($p < 0.01$) を示した。また血中 HBe 抗原・抗体系と癌組織部における HBV 関連抗原の局在との関連では、血中 HBe 抗原陽性群 (10例) では癌部で HBs 抗原が 4 例 (40%)、HBc 抗原が 1 例 (10%)、HBe 抗原が 1 例 (10%) に観察され、血中 HBe 抗体陽性群 (15例) では癌部で HBs 抗原が 3 例 (20%)、HBc 抗原が 1 例 (7%) に観察されたが、HBe 抗原は観察されなかった。両者陰性群 (21例) では癌部で HBs 抗原が 1 例 (5%) に観察されただけであった。癌部における HBs

Table Summary of 8 HBsAg-seropositive cases in which HBsAg is localized in hepatocellular carcinoma.

Case No.	Age/Sex	Serum HBeAg/anti-HBe	AFP ng/ml	Liver cirrhosis	Histological classification	Edmondson's classification	HBsAg localization		HBcAg localization		HBeAg localization	
							Non-HCC	HCC	Non-HCC	HCC	Non-HCC	HCC
1	54/M	+/-	8	(+)	T	II	2+	1+	1+	-	-	-
2	38/M	+/-	57900	(+)	T	II	3+	1+	-	-	-	-
3	55/M	+/-	270000	(+)	T+P	II	2+	1+	1+	-	-	-
4	56/M	+/-	193	(+)	T+P	II	3+	2+	3+	3+	2+	2+
5	57/M	-/+	18	(+)	T	II	3+	2+	-	-	-	-
6	67/M	-/+	800	(+)	T	II+III	2+	1+	3+	1+	2+	-
7	49/M	-/+	60	(-)	T+P	III	3+	2+	-	-	-	-
8	46/M	-/-	18700	(+)	T	II	2+	1+	-	-	-	-

T: Trabecular, P: Pseudoglandular

- : 0%, 1+ : < 5%, 2+ : < 30%, 3+ : < 80%, 4+ : ≥ 80%

* 富山医科薬科大学第 3 内科

<受付日 63 年 5 月 16 日>

Fig. HBcAg (1) and HBeAg (2) in a case of hepatocellular carcinoma by serial section. ($\times 160$); the inset shows cytoplasmic HBeAg (arrows), cytoplasmic and nuclear HBeAg (arrow heads) in carcinoma cells. ($\times 480$) Indirect immunostaining counterstained with hematoxylin.

抗原の陽性頻度は血中 HBe 抗原陽性群が両者陰性群に対して有意に高値を示した ($p < 0.01$).

癌部に HBs 抗原が観察された 8 例の組織形態像および HBV 関連抗原の局在は Table に示すごとくで、癌部で HBc 抗原の局在が観察された 2 例 (症例 4, 6) は他の症例に比し、非癌部での HBc 抗原の分布量が 3 十と高かった。血中 HBe 抗原陽性の症例 4 では癌部で HBc 抗原 (Fig. 1) のみならず HBe 抗原 (Fig. 2) も主として細胞質内に観察された。細胞単位でも HBc 抗原保有腫瘍細胞は同時に HBs 抗原ならびに HBe 抗原も保有していることが二重染色法によって観察された。一方血中 HBe 抗体陽性の症例 6 の癌部で観察された HBc 抗原は核内に局在した。HBV-DNA の検索によると、症例 4 では癌部、非癌部共に遊離型が、症例 6 では癌部で組み込み型、非癌部で遊離型が観察された。

考案および結論：非癌部に比し癌部における HBV

関連抗原の低陽性率の理由として、悪性化による HBV 関連抗原の産生抑制⁵⁾、また HBV-DNA が組み込み後に受けるメチル化による遺伝子発現の抑制などが考えられている。PLC/PRF/5 (Alexander) 細胞の組み込まれた HBV-DNA では、Gene S がほとんどかあるいは全くメチル化されないのに対し、Gene C は広範囲にメチル化されていることが観察されており⁶⁾、HBV-DNA の全 sequence が組み込まれているにもかかわらず PLC/PRF/5 細胞で HBc 抗原が産生 (発現) されない理由として、この Gene C に対するメチル化の選択的発現が考えられている。また臨床例においてもこのメチル化が癌部における HBc 抗原の低陽性率へ深く関与しているものと考えられる。

血中 HBe 抗原陽性例の癌部でも HBV-DNA は遊離型の場合と組み込み型の場合があるとされ⁷⁾、血中 HBV 関連抗原・抗体の出現・消失から HBV-DNA の存在様式を規定することは困難であるが、今回の検索結果から、①血中 HBe 抗原陽性で細胞質型 HBc 抗原が観察され、HBV-DNA が遊離型の場合には癌部での盛んな HBV の複製が行われ、②血中 HBe 抗体陽性で核型 HBc 抗原が観察されたとしても、HBV-DNA が組み込み型の場合にはメチル化の関連からも、癌部での完全な HBV⁸⁾の複製はない可能性が強いものと考えられた。

索引用語：肝細胞癌、HBc 抗原、HBe 抗原

文 献：1) Trevisan A, et al: J Clin Pathol 31: 1133-1139, 1978 2) Suzuki K, et al: Cancer 56: 321-327, 1985 3) 岡島 愛, 他: 肝臓 28: 1497-1501, 1987 4) 桑原芳弘, 他: 肝臓 29: 1013-1022, 1988 5) Omata M, et al: Gastroenterology 76: 279-287, 1979 6) Miller RH, et al: Proc Natl Acad Sci USA 80: 2534-2538, 1983 7) Bréchet C, et al: Hepatology 2: 27s-34s, 1982 8) Ou JH, et al: Proc Natl Acad Sci USA 83: 1578-1582, 1986

Immunohistochemical study of hepatitis B core and e antigens in hepatocellular carcinoma

Yoshihiro KUWABARA, Keiichi AOYAMA, Shuji NAMBU,
Kyoichi INOUE and Hiroshi SASAKI*

* Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University (Toyama)