

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19094

研究課題名(和文) C型肝炎におけるウイルス排除後の発癌リスクに関する分子病理学的解析

研究課題名(英文) Pathological analysis for risk of carcinogenesis after sustained virologic response for hepatitis C virus infection

研究代表者

近藤 礼一郎 (Kondo, Reiichiro)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50705217

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：慢性C型肝炎/肝硬変ではC型肝炎ウイルスを排除(SVR)することが可能になった。ただし、SVR後でも種々の確率で肝発癌がみられ、SVR後の適切な診療アルゴリズムの構築が議論されている。本研究は、SVR後に肝発癌を認めた53症例を病理学的に解析し、SVR後の発癌リスク予測へ応用するための研究基盤の確立を目的とした。免疫組織化学及び遺伝子解析を進め、(1)SVR後も非腫瘍部肝組織に線維化が残存する症例は発癌のリスクがあり、線維化の残存に類洞壁細胞におけるCD34及びSMAの発現が寄与している可能性があることを見いだした。また(2)対象から14例のHBV既往感染症例を見いだした。

研究成果の概要(英文)：Sustained virological response (SVR) is defined as undetectable serum hepatitis C virus (HCV) RNA after completion of antiviral therapy for chronic HCV infection. We studied resected liver tissues in 53 patients with initial hepatocellular carcinoma (HCC) after achieving SVR. This study found following insights. (1) Hepatic fibrosis that does not decrease sufficiently after achieving SVR may be a risk factor of liver carcinogenesis in the patients after achieving SVR. Sinusoidal capillarization, i.e., CD34 expression in sinusoidal mesenchymal cells, and activation of HSCs, i.e., SMA expression in sinusoidal mesenchymal cells, may contribute to hepatic fibrosis after achieving SVR. (2) There were 14 patients with previous infection of hepatitis B virus.

研究分野：人体病理

キーワード：C型肝炎 SVR 肝がん 線維化

### 1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス (HCV) 持続感染による慢性肝炎・肝硬変では、抗ウイルス治療によりウイルス学的著効 (sustained virological response: SVR) が得られ HCV 排除に成功すると、肝細胞癌の発生リスクが減少する。しかし、C型肝炎 SVR 後に発癌リスクが消失するわけではなく、種々の確率で肝発癌のリスクが残存することがわかっている [①]。近年、直接作用型抗ウイルス剤が開発され、多くの HCV 感染者が SVR を得られるようになったこともあり、SVR 後の発癌高リスク群の絞り込み、適切な肝がんのサーベイランスを行うことが、現在、大きな課題となっている。

C型肝炎 SVR 後の発癌リスク予測モデルとして、治療前の臨床所見や肝組織を用いた病理学的検討 (線維化、脂肪化) [②] や、SVR 判定時の血液検査による層別化 [③] などを用いたモデルが報告されているが、SVR 後に発癌がみられた肝組織の分子病理学的検討を加えたモデルの報告はなく、検討を必要とした。

### 2. 研究の目的

本研究は、C型肝炎 SVR 後に肝発癌を認めた症例について、(1) 肝星細胞の形質変化は SVR 後に改善するか、(2) 潜在性 B型肝炎ウイルス (HBV) 感染の有無、を解明することで、SVR 後の発癌リスク予測へ応用するための研究基盤の確立を目的とした。

### 3. 研究の方法

久留米大学病院で経験された肝細胞癌に対する外科的肝切除症例で、C型肝炎 SVR 後に肝発癌がみられた症例を対象とした。平成 28 年度から平成 29 年度にかけて、症例を収集するとともに、免疫組織化学や Taqman 法 PCR を用いて以下の検討を行った。

#### (1) 肝星細胞の形質変化は C型肝炎 SVR 後に改善するか

肝線維化は C型肝炎 SVR 後において、発癌との関係性が報告されている。C型肝炎では肝星細胞における  $\alpha$  SMA の発現が肝線維化伸展に寄与しており [④]、SVR 後に肝星細胞に見られる形質について免疫組織化学を用いて検討した。また、CD34+ $\alpha$  SMA 二重免疫組織化学により、C型肝炎により起こる類洞の毛細血管化や線維化した門脈域における血管構築の改変を検討した。

#### (2) 潜在性 HBV 感染の有無

慢性ウイルス性肝炎を伴わない症例での発癌のリスク因子として、潜在性 HBV 感染が報告されている [⑤]。血中 HBs 抗原が陰性で臨床的に HBV 感染が確認されない症例でも潜在性 HBV 感染がみられることがあり、HCV 排除後の発癌リスク因子として潜在性 HBV 感染を検索した。対象の肝組織に対する HBs 抗

原の免疫組織化学や Taqman 法 PCR による血中 HBV DNA の解析、血中 HBc 抗体の検索を行った。

なお、本研究は久留米大学倫理委員会から承認を得ている。

### 4. 研究成果

当初の研究実施計画では、C型肝炎 SVR 後に肝細胞癌で肝切除された症例を 30 例収集する計画であったが、平成 28 年度までに対象症例を 53 例収集することができた。

#### (1) 肝星細胞の形質変化は C型肝炎 SVR 後に改善するか

C型肝炎 SVR 後に肝発癌がみられた症例の非腫瘍部肝組織には高度の線維化 (新犬山分類 3  $\pm$  1) がみられ、免疫組織化学では 31 例 (58%) に、類洞壁細胞での  $\alpha$  SMA 発現が確認された (図 1)。また、類洞内皮細胞は CD34 に陽性を呈し毛細血管化が見られた (図 1)。次に、C型肝炎 SVR 後に肝発癌がみられた症例のうち、抗ウイルス治療前の肝組織が検索可能であった 14 例で、SVR 前後での非腫瘍部肝組織の変化を検討すると、14 例中 10 例 (71%) で炎症所見は減少していたが、線維化は 9 例 (64%) で減少がなかった。9 例では類洞壁細胞での  $\alpha$  SMA 発現の減少がみられなかった。

本検討で、C型肝炎 SVR 後も非腫瘍部肝組織に線維化が残存する症例は発癌のリスクがあることを示し、その病態に類洞壁細胞における  $\alpha$  SMA の発現が寄与している可能性があることを見いだした。この結果は、国際学会で報告し、高い評価を得た (Single Topic Conference of APASL, Young Investigator award 受賞)。

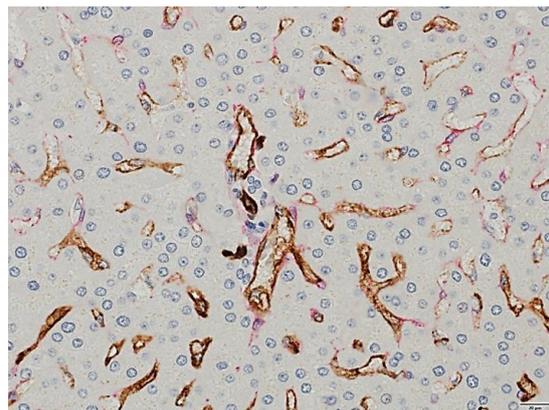


図 1. CD34+ $\alpha$  SMA 二重免疫組織化学

#### (2) 潜在性 HBV 感染の有無

Taqman 法 PCR による血中 HBV DNA の解析、血中 HBc 抗体の検索、肝組織における HBs 抗原の免疫組織化学を行い、対象から 14 例の HBV 既往感染症例を見いだした。HBV 既感染群は平均年齢 66  $\pm$  7 歳、男:女 12:2 で、いずれも HBV 未感染群と有意差はなかった。術後 10 年間での再発は HBV 既感染群で 8 例

(57%) にみられ、HBV 未感染群より有意に高かった ( $p < 0.05$ )。HBV 既感染群と HBV 未感染群で、腫瘍長径、腫瘍分化度、門脈侵襲の有無に有意差はなかった。非腫瘍部肝組織では、線維化や炎症に HBV 既感染群と HBV 未感染群で有意差はなかったが、肝細胞における Large liver cell change (LCC) が HBV 既感染群の 10 例 (71%) にみられ、HBV 未感染群より明らかに高率にみられた ( $P < 0.01$ )。本検討から、HBV 既往感染や潜在性 HBV 感染は C 型肝炎 SVR 後の発癌に参与している可能性が示唆された。また、HBV 既往感染がある症例の非腫瘍部肝組織の特徴として、LCC が高率にみられることを見だし、国内学会で報告した。

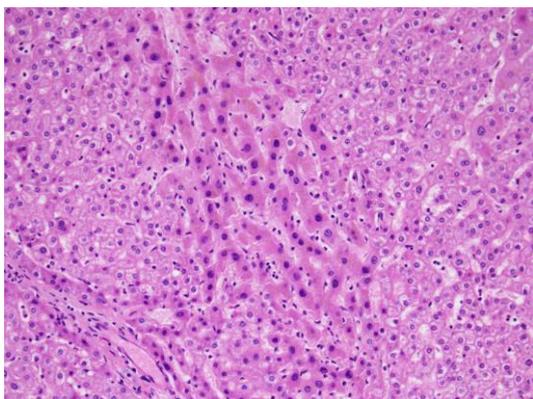


図 2. 肝細胞の Large liver cell change

〈引用文献〉

- ① Arase Y, et al. Hepatology 2013; 57: 964-973.
- ② Kurosaki M, et al. Hepatol Res 2010; 40: 870-877.
- ③ Kurosaki M et al. Hepatology 2013; 58: 902A
- ④ Kondo R, et al. J Gastroenterol 2013; 48: 526-534.
- ⑤ Tamori, et al. J Med Virol 2003; 71: 492-498.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 6 件)

- ① Reiichiro Kondo et al. Pathological characteristics of patients who develop primary hepatocellular carcinoma after sustained virologic response for hepatitis C virus infection. The Liver meeting, AASLD' s 68th Annual meeting, 2017.
- ② Reiichiro Kondo et al. Pathological characteristics of patients who develop hepatocellular carcinoma after sustained

virologic response for hepatitis C virus infection. Single Topic Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 2017.

- ③ 近藤礼一郎 他、C型肝炎ウイルス排除後に肝細胞癌を発症した症例の病理学的特徴、第 106 回日本病理学会総会、2017 年
- ④ 近藤礼一郎 他、B型肝炎ウイルス既往感染は C型肝炎ウイルス排除後の発癌に参与するか、第 42 回日本肝臓学会西部会、2017 年
- ⑤ 近藤礼一郎 他、肝癌および非腫瘍肝組織の病理学的特徴からみた C型肝炎 SVR 後の問題点、第 53 回日本肝臓学会総会、2017 年
- ⑥ 近藤礼一郎 他、C型肝炎ウイルスの SVR 後にみられた原発性肝癌の臨床病理学的特徴、第 53 回日本肝臓学会、2017 年

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 礼一郎 (KONDO Reiichiro)  
 久留米大学・医学部・助教  
 研究者番号：50705217

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

矢野 博久 (YANO Hirohisa)  
秋葉 純 (AKIBA Jun)  
内藤 嘉紀 (NAITO Yoshiki)  
草野 弘宣 (KUSANO Hironori)