

肝癌撲滅をめざして

福 田 善 弘

Approach to Eradication of Hepatocellular Carcinoma

Yoshihiro FUKUDA

Abstract: The number of case with hepatocellular carcinoma (HCC) in Japan has been increasing since about 1975. The majority of HCCs are associated with infection by hepatitis B virus (HBV) or Hepatitis C virus (HCV), especially by HCV.

Once HCC has occurred, it's survival rate is very low because of high recurrence rate in spite of recent advances in treatment such as surgical management, transcatheter arterial embolization and percutaneous ethanol injection therapy and so on.

Prevention like block of HBV transmission from infected mothers to neonates by HB immunoglobulin and HB vaccine, block of HCV transmission by sensitive HCV screening and interferon therapy for chronic hepatitis C is therefore very important and most effective.

On the other hand, many factors and genetic alterations responsible for hepatocarcinogenesis have been indentified by means of recent molecular approaches.

As a result, new strategies for treatment which are able to control such factors and genetic alterations are anticipated in the near future.

Key words: Hepatocellular carcinoma, Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, hepatocarcinogenesis

は じ め に¹⁾

わが国では1975年頃を境にして肝細胞癌(肝癌)患者が急増しており、最近の年間死亡者数は3万人を超える勢いで、これは胃癌、肺癌について癌死の第3位を占めている。さらにこの肝癌発生率は先進国の中でも飛び抜けて高く、その背景には戦後わが国の社会的あるいは医療事情、すなわち輸血等による医療行為やヒロポンなどの覚醒剤の蔓延にもとづき急速に広がったC型肝炎ウイルス(HCV)感染が大きく関与している。京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科
京都市左京区聖護院川原町53
Division of Medical Technology, College of Medical Technology, Kyoto University
1999年7月28日受付

わっている。

一方、米国においても、ここ数十年、覚醒剤によると思われる HCV 感染者の増加ひいては肝癌の増加が問題視され、エイズに向けられていた膨大な研究費、対策費がC型肝炎関連に向けられている。

このような事情から日本肝臓学会は「肝癌の撲滅」を旗印として掲げその運動を推進し、また世界に向けてもわが国での経験、医療上のノウハウを発進すべく取り組んでいる。肝癌を征服するには肝癌のことを十分知る必要がある。ここでは肝癌の原因、背景、肝発癌・進展機構、治療の現状と問題点、予防について触れてみたい。

肝癌の原因、背景因子¹⁾ (表1)

肝癌の原因として多くのものがあげられているが、わが国での肝癌の90%以上はB型肝炎ウイルス (HBV), またはHCVの持続感染が原因である。これまでアルコールが原因と考えられていた肝硬変、肝癌はC型肝炎の診断が可能になって、その大部分はHCVが原因であることが明らかにされた。従って、わが国の肝癌の70~80%がHCVにより10~15%がHBVによるものとされている。残りの10%前後がアルコール、自己免疫性肝障害などによるものである。近年、わが国での飲酒量の増加や、自己免疫性肝障害の予後改善、延命などによりこれらの原因による肝癌も増加傾向にあると思われる。

肝癌での男女比は2~3:1と男性に多いことが知られている。年齢分布はHBVによるものでは45~55歳が中心で時に若年発生例がみられる。これに対してHCVによるものでは60~70歳が中心と高齢である。基盤となる肝病変は、C型肝炎では肝硬変を中心とした線維化の進んだものから発生するのに対して、B型肝炎では必ずしも肝硬変を伴わず肝病変のほとんどない例からの発生もみられる。また、GPTからみるとB型肝炎ではGPT正常例より肝癌が発生することがあるが、C型肝炎での肝癌発生はほとんどがGPT異常の肝硬変からで特に80以上が持続する方が80未満より発癌率が高いという報告²⁾がみられる。従ってC型肝炎では慢性肝炎とくに線維化の進んだものから肝硬変を中心に腫瘍マーカー、画像検査によりフォローアップしていると容易に早期肝癌が発見できるのに比してB型肝炎ではそのようなフォローアップが困難で、すでに巨大腫瘍として発見されることが少なくない。

これら背景をもとにしてC型肝炎硬変からは年率5~7%の割合で経年的に肝癌が発生するがB型肝炎硬変では年率2~3%と少し低く、また10年以降は横ばいとなっている。

このように他の癌と違って肝癌はその大部分の原因が肝炎ウイルスなかでもHCVと特定で

表1 肝癌における成因別にみた臨床的相違

項 目	B型肝炎	C型肝炎
年 齢	45~55歳	60~70歳
男女比	3:1	2:1
肝硬変	70%	ほとんど
輸血歴	少ない	40%
肝炎の活動性 (GOT, GPTの値)	低い	高い
発癌状態	単発傾向	多発傾向

きる癌であり、それによりハイリスクグループの設定が可能となる。

肝発癌・進展機構

近年の分子生物学の進歩により大腸癌をはじめとして種々の癌の発生・進展機構に癌遺伝子の活性化や癌抑制遺伝子の不活化(機能消失)が関わっており、これら遺伝子異常の蓄積がさらなる進展に関与するという“多段階発癌”が明らかにされている。肝癌においても手術材料、腫瘍狙撃生検の増加により病理組織学的に多段階的に発生、進展していくことが示され、それぞれの段階における遺伝子異常の解析が進められている。ここでは現在までに明らかにされている遺伝子異常について概略し、今後の治療戦略を考察してみたい。

前述のようにわが国における肝癌の90%近くは肝炎ウイルスなかでもHCVの持続感染に基づく慢性肝炎/肝硬変をその発生母体としているためまず肝炎ウイルスの肝発癌における役割について述べる。

1. 肝炎ウイルス

従来より、B型肝炎ウイルス(HBV)による肝癌では、HBVゲノムがレチノイン酸受容体遺伝子やサイクリンA遺伝子など増殖・分化に関連する遺伝子近傍への組み込みによると思われる若年発生例が散見され、一時この組み込みが重要な意義をもつと考えられた。しかし、その後の検討から組み込みの部位は一定でなく、この機序による肝発癌は主たる経路ではないように思われる。従ってHBVによる肝癌の多くは、HCV同様、肝細胞が壊死・再生を繰り返

す中でゲノムの不安定化、遺伝子異常の固定、蓄積がおり肝発癌につながるものと推定されている。このような中で HBX 遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスにおいて高率に肝発癌が発生する事が示された³⁾。また X 蛋白が他の遺伝子のプロモーター領域に結合して転写を活性化したり、癌抑制遺伝子 p53 と結合してその活性を阻害したり、あるいは細胞内に強制発現することで形質転換を誘導したりすることが明らかになり、HBX 遺伝子の癌化への直接関与を示唆するものと思われる。一方、HCV においてもコア蛋白が p53 の転写を抑制し、細胞増殖を促進させたり、ごく最近、コア蛋白を発現するトランスジェニックマウスで肝発癌が示され⁴⁾、より直接的に癌化に関わることが示唆されている。しかしながら、ヒトでは肝機能が全く正常な HCV キャリアーからの肝発癌例はほとんどなく、HCV による直接的な肝発癌より HCV により引き起こされた肝炎の存在が重要と考えられる (inflammation mediated hepatocarcinogenesis)。B 型肝炎では病変の進展と共に HBV の減少が示されており HBV、HCV のウイルス蛋白による肝発癌への関与は感染細胞のアポトーシス回避など感染後比較的早期から起こっていることが推察される。

2. 癌遺伝子、細胞増殖因子

膀胱癌や大腸癌で高頻度に認められる ras 遺伝子の点突然変異は肝癌では 5%以下にしかみられず、肝発癌への関与は低いとされる一方、N-ras の発現亢進や Ras p21 蛋白が肝癌のみならず肝硬変でもみられ、増殖シグナルのスイッチの状態がうかがわれる。われわれは c-myc 遺伝子も同様に、肝癌のみならず慢性肝炎／肝硬変において過剰発現を明らかにしている⁵⁾。さらに進行肝癌において細胞周期を促進するサイクリン D1 遺伝子の増幅ならびに過剰発現をそれぞれ 11%、22%に認めた⁶⁾。肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor; HGF) の受容体をコードしている c-met 遺伝子も肝癌とくに低分化型で過剰発現がみられ、HGF の

パラクリン機構による細胞増殖の可能性が示唆される。しかし HGF は培養肝癌細胞に対して増殖抑制に働くという報告もあり、この点はお不明である。その他、肝細胞を増殖させるトランスフォーミング増殖因子 α (transforming growth factor- α ; TGF- α) およびヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (heparin-binding EGF-like growth factor; HB-EGF) は共に肝癌で過剰発現がみられ、これらの受容体である EGF 受容体も発現していることから、これら増殖因子のオートクリン機序による増殖が考えられる。さらにインシュリン様増殖因子-II (insulin-like growth factor-II; IGF-II) とその受容体も肝癌で過剰発現がみられたり、血管内皮細胞の増殖因子である VEGF (vascular endothelial growth factor) が肝癌組織で過剰発現しており、腫瘍濃染像と相関することが報告されている⁷⁾。VEGF の受容体である Flt 受容体ファミリーが肝類洞壁内皮細胞に存在することも明らかにされている。TGF- α や VEGF は肝硬変でも発現しており、これら増殖に働く因子群がオートクリン、パラクリン機構により腫瘍の発生、成長に働くものと思われる。

3. ヘテロ接合性の消失、癌抑制遺伝子、細胞増殖抑制因子

肝癌において、われわれやその他の施設から 1p, 4q, 4p, 5q, 6q, 8p, 9p, 10q, 11p, 13q, 16q, 17p, 17q, 22q の領域で比較的高頻度にヘテロ接合性の消失 (LOH) が報告されている。さらに第13, 17, 9 染色体にはそれぞれ RB, p53, p16 遺伝子が同定されており、肝癌で 15%, 32%, 5% に変異が明らかにされている。1p 上の LOH や、6q 上の IGF-II 遺伝子座位の LOH がそれぞれ早期の肝癌や肝腺腫に高頻度に認められるとの報告があるものの、多くの染色体欠失は進行癌でみられ、それらの蓄積が肝癌のさらなる進展に関与するものと考えられる。今後はこのような多段階に関わる多くの新しい癌抑制遺伝子が単離、同定されると思われる。RB, p53, p16 遺伝子はいずれも細胞周期に関わり、その不活化が先述の c-myc,

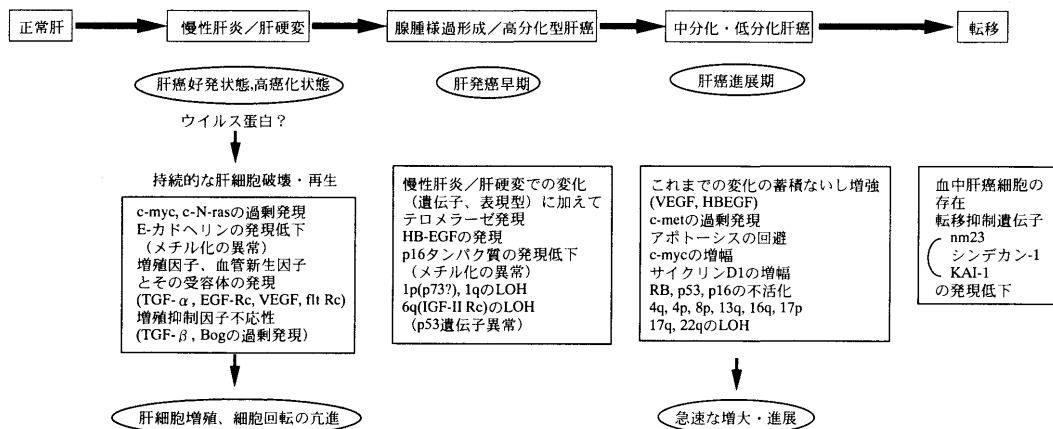


図1 肝発癌・進展過程に関わる要因、遺伝子異常

サイクリン D1 の過剰発現と相俟って細胞周期脱制御をひきおこし、肝発癌・進展、特に悪性化につながるものと推察される。

一方、肝再生の制御に重要な役割を演じ、腫瘍細胞にも増殖抑制に働く $TGF\beta_1$ は肝癌細胞から多量に産生されるにもかかわらず、その受容体の欠損あるいはプロセシングの異常のため不応性となり、肝癌細胞は $TGF\beta_1$ による抑制がきかず増殖するものと思われる。また $TGF\beta_1$ は腫瘍免疫を抑制したり、腫瘍血管新生を促進することも明らかにされており、肝癌の成長により有利に働くものと考えられる⁸⁾。

4. メチル化の異常

DNA のメチル化が遺伝子発現の制御に重要であり、種々の癌において検討されている。われわれはすでに慢性肝炎/肝硬変において5メチルシトシン量の低下、c-myc, c-fos 遺伝子体部の低メチル化、過剰発現を高頻度に認め、肝発癌早期に関わる変化と考えられる。

また RB, p16, E カドヘリン遺伝子のプロモーター領域の高メチル化が肝癌で報告されており、これらの不活化、発現の低下に関与しているのかもしれない。

5. テロメラーゼ、アポトーシス関連

癌細胞では正常細胞と異なり、テロメアを回復する酵素(テロメラーゼ)が発現している。肝癌においても比較的早期からテロメラーゼ活

性ならびに hTERT (human telomelase reverse transcriptase) mRNA の過剰発現がみられるが、慢性肝炎/肝硬変でも弱いながらその活性がみられ⁹⁾、肝細胞の不老化→肝発癌につながるのかもしれない。

最近の細胞死(アポトーシス)の研究により細胞の癌化過程はアポトーシス回避機構の獲得とも考えられるようになってきた。HBX 遺伝子トランスジェニックマウスやウッドチャック肝発癌過程同様、ヒトでも HBV, HCV による慢性肝炎/肝硬変で主として Fas・Fas リガンド系を介したアポトーシスが認められているが、中・低分化型肝癌では Fas の発現の低下～消失がみられ、細胞障害性 T リンパ球(CTL)からのアポトーシス回避が示唆される。従ってアポトーシスに陥っていく肝細胞の中で、何らかの遺伝子変異によりアポトーシスを回避したものが生き残り、肝発癌・進展していくものと考えられる。

6. 転移関連

転移抑制遺伝子として nm23 遺伝子がマウスメラノーマ細胞の低転移株からクローニングされた。肝癌では nm23-H1 の方が nm23-H2 より重要で、蛋白レベルや mRNA レベルでの癌部での発現の減弱あるいは消失が肝内、肝外転移、生存期間の短縮と関連していることが報告されている。またシンデカン-1 も同様に転移

に関連しており、これらが今後、転移の予測、予後の推定に有用かもしれない。

以上、肝発癌・進展には実に多くの要因、遺伝子が関与しているが図1に段階別に分けて示す。未だ肝発癌のキーとなる肝癌特異的な遺伝子異常は解明されていないが、テロメラーゼ阻害剤、アポトーシス誘導、血管新生阻害剤、抗転移薬、遺伝子治療などここに示された要因、遺伝子をコントロールする新しい治療戦略の臨床応用が待たれる。

肝癌治療の現状と問題点

肝癌は慢性肝炎／肝硬変を発生母地としているため同時性あるいは異時性の肝内転移による再発率が極めて高いことが知られている。この再発率の高さと、多くは肝硬変を基盤としているため、一旦、肝癌が発生すると治療に難治となり肺癌、胆道癌、膵癌と共に肝癌は生存率の低い癌の1つとなっている。

われわれは微量の血中肝癌細胞を RT-PCR 法を用いて AFPmRNA を増幅することにより検出する測定系を開発した¹⁰⁾。それにより血中 AFPmRNA の陽性率は肉眼的進行程度（ステージ）の進展と共に増加し、腫瘍径、門脈腫瘍栓の有無、肝内、肝外転移の有無と相関していた（表2）。さらに血中肝癌細胞の陽性例では陰性例に比し、ステージの進行例のみならずステージⅠ～Ⅱにおいても病期の進行あるいは死亡との関連がみられた。

肝癌では早期から門脈、肝静脈へ浸潤することが特徴とされているが、われわれの検討ではステージⅠ～Ⅱで AFPmRNA の陽性率は9%であり、早期でもすでに大循環系にも肝癌細胞が検出され肝内転移につながる可能性が示唆された。

肝癌治療としてわが国では肝動脈塞栓術（TAE）、エタノール注入療法（PEIT）、肝切除などが広く行われているが、われわれの検討で治療前陰性であった AFPmRNA が治療後陽性となり、その後肝内転移など病期の進行につながった例がみられた。

表2 血中 AFPmRNA 検出と臨床パラメーターとの関係

臨床パラ メーター	AFPmRNA 陽性例数／総数	(%)	
HCC のステージ			
I	1/9	(11)	
II	2/23	(9)	
III	3/10	(30)	
IV	17/22	(77)	
腫瘍径			
≥5cm	15/17	(88)	p<0.001
<5cm	8/47	(17)	
血中 AFP 値			
≥300ng/ml	16/20	(80)	p<0.014
<300ng/ml	7/44	(16)	
肝内転移			
(+)	20/34	(59)	p<0.001
(-)	3/30	(10)	
門脈腫瘍栓			
(+)	10/10	(100)	p<0.001
(-)	13/54	(24)	
肝外転移			
(+)	6/6	(100)	p<0.001
(-)	17/58	(29)	

文献10より

TAE 後、酸素虚血からまぬがれた肝癌細胞が前述の VEGF を産生し、より低酸素に強い、悪性度の高い肝癌細胞に変化していく可能性や PEIT や手術の操作などにより肝癌細胞を遊出させる可能性が考えられ、そのため特に初回の治療は重要な意義をもつと考えられる。

本来、血中を循環する癌細胞はナチュラルキラー（NK）細胞、CTL、マクロファージなどの免疫監視機構により処理されるのが一般的であるが、肝癌では基盤の慢性肝炎／肝硬変における免疫能の低下、肝癌細胞からの免疫抑制因子の産生、Fas の発現を欠く肝癌細胞の存在などの理由で免疫監視機構から逃れているのかもしれない。さらに肝癌細胞自身が Fas リガンドを産生し、攻撃してきた CTL をかえり討ちにするという機構も考えられている。

このように肝癌細胞は自身に有利な環境を作る巧妙な仕組みを持ち、さらに遺伝子異常の蓄

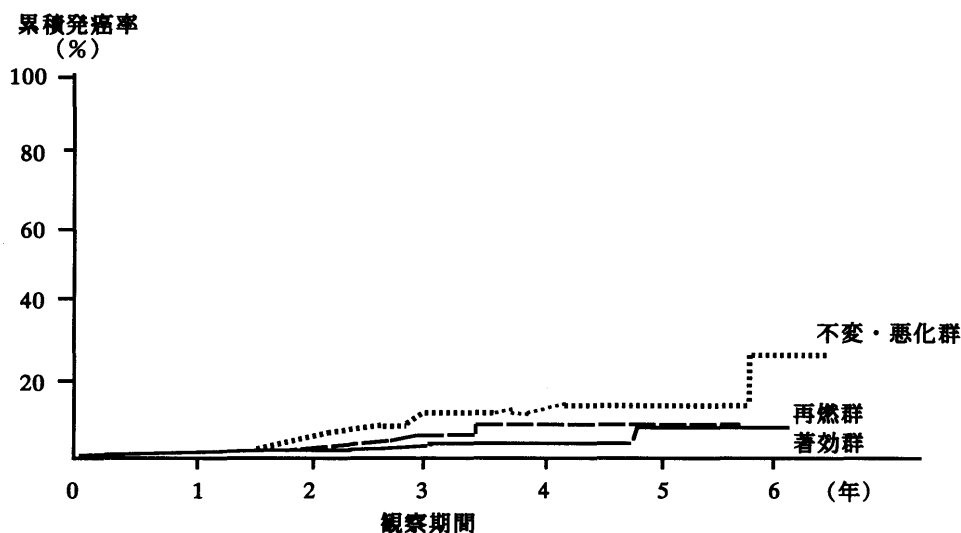


図2 IFN 治療を受けたC型慢性肝炎における累積発癌率

(大阪大学第1内科他・多施設) 文献11より

積などにより、悪性度が増し、転移能を獲得するなど、治療困難に陥るものと思われる。

肝癌予防の重要性

昔から「予防に勝る治療なし」といわれているが、このように難治性の肝癌についてもようやく予防の時代がやってきた。まず、わが国の肝癌の原因の大部分である肝炎ウイルスに対してであるが、HBV については高力価 HBs 抗体含有ガンマグロブリン (HBIG) と HB ワクチンにより母児感染、水平感染がほぼ阻止できるようになった。HCV についてもワクチンの開発は未だ確立されていないが、HCV 抗体診断法の進歩により輸血製剤のチェックが広く行われ輸血後C型肝炎は激減した。いずれにしてもB型肝炎、C型肝炎の新規の患者の発生は極めて稀なものとなり、ほぼ制圧された感がある。

C型慢性肝炎については1992年にインターフェロン (IFN) 療法が導入され30~40%の患者でHCVが消失し、GPTが正常化する完全著効 (CR) が得られている。このCR例のみならず一過性に反応した (再燃) 例でも肝発癌が抑制されることが明らかにされた (図2)¹¹⁾。また無効例においても従来のウルソデキシコー

ル酸 (UDCA)、小柴胡湯、強力ミノファージンC (SNMC) などでGPTを下げることなどにより肝発癌を防止したり、遅延させたりできることもわかってきた。

しかしHCV量が多く、これら治療に抵抗性の患者に対する治療対策が今後の大きな課題である。

最も肝発癌の可能性の高いC型肝硬変についても未だ保険適応とはなっていないが、いくつかの施設でIFN治療が試みられ、やはり肝発癌の抑制がみられており、保険適応が待たれる。

最近、肝癌再発 (二次肝癌) 予防にレチノイド (ビタミンA誘導体) が投与され、再発の抑制のみならず生存率の改善もみられることが報告された¹²⁾。このことは肝硬変からの一次肝発癌予防にも有効と思われ、早急な臨床応用が期待される。

おわりに

わが国では肝癌が急増しており、その対策は急務である。幸い肝癌は多くの癌の中でもその原因が特定されており、ハイリスクグループの設定が可能な癌の1つであるため、その予防や早期発見が可能である。

ここに述べてきたように新しいHBV, HCVキャリアー発生の阻止, IFNによるHCVの駆除, さらには肝発癌抑制, また最近の画像診断の進歩による早期発見ひいては早期治療など着々と肝癌撲滅に向けての展開がみられる。

欧米では肝癌に対する治療として脳死肝移植が良い成績をあげている。わが国でようやく始まった脳死肝移植であるが, もっと普及し, 適応のある肝癌患者にもその恩恵が得られることを期待したい。さらに肝発癌・進展に関わる要因, 遺伝子をコントロールする新しい治療の開発も急務と考えられる。

文 献

- 1) 日本肝臓学会編：肝がん白書 平成11年. 東京：廣済堂, 1999.
- 2) 多羅尾和郎, 清水昭男, 大川伸一, 他：肝癌再発の病態. 肝硬変を母地とした肝癌発生と再発. 肝胆脾, 1995; 31: 195-207
- 3) Koike K, Moriya K, Iino S, et al: High level expression of hepatitis B virus HBx gene and hepatocarcinogenesis in transgenic mice. Hepatology 1994; 19: 810-819
- 4) Moriya K, Fujie H, Shintani Y, et al: Hepatitis C virus core protein induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. Nature 1998; 4: 1065-1068
- 5) Himeno Y, Fukuda Y, Hatanaka M, et al: Expression of oncogenes in human liver disease. Liver 1988; 8: 208-212
- 6) Nishida N, Fukuda Y, Komeda T, et al: Amplification and overexpression of the cyclin D1 gene in aggressive human hepatocellular carcinoma. Cancer Res. 1994; 54: 3107-3110
- 7) Mise M, Arai S, Higashitani H, et al: Clinical significance of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor gene expression in liver tumor. Hepatology 1996; 23: 455-464
- 8) 河田純男：Basic Science. ヒト肝癌と細胞増殖因子. 戸田剛太郎他編, 肝臓病学, 東京：医学書院, 1998
- 9) Takara H, Nakanishi T, Kitamoto M, et al: Telomerase activity in human liver tissues: Comparison between chronic liver disease and hepatocellular carcinomas. Cancer Res. 1995; 55: 2734-2736
- 10) Komeda T, Fukuda Y, Sando T, et al: Sensitive detection of circulating hepatocellular carcinoma cells in peripheral venous blood. Cancer 1995; 75: 2214-2219
- 11) Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, et al: Risk factor for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. Hepatology 1998; 27: 1394-1402
- 12) Muto Y, Moriwaki H, Saito A: Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid in patients with hepatocellular carcinoma. N Eng J Med 1999; 340: 1046-1047