

早期肝癌の診断と病理の研究

1. 目的

肝細胞癌（肝癌）は我が国において胃癌、肺癌に次いで多く、しかも年々増加傾向にあるが、最近の画像診断法の目覚ましい発達、および超音波誘導下細針生検法の導入により早期の微小な肝癌の発見が可能となった。本研究では早期の肝癌の生物学的特性、および病理学的本態を明らかにするとともに、より効果的な診断方法の開発を目的とする。

本研究の意義として、肝癌の診断法の進歩に加え、早期の肝癌の病理学的本態を明らかにすることにより、細針生検による組織診断や各種画像診断などの診断能の向上が期待され、それに伴い治療効果の向上、予後の改善が見込まれる。

2. 組織

〈平成元年度〉

研究代表者	神代正道	久留米大学医学部・第一病理
研究分担者	中沼安二	金沢大学医学部・第二病理
	北川知行	癌研究所・病理部
	広橋説雄	東京がんセンター・病理部
	谷川久一	久留米大学医学部・第二内科
	高崎 健	東京女子医科大学消化器病センター・外科
	山本正之	山梨医科大学・第一外科

〈平成二年度〉

研究代表者	神代正道	久留米大学医学部・第一病理
研究分担者	中沼安二	金沢大学医学部・第二病理
	北川知行	癌研究所・病理部
	広橋説雄	東京がんセンター・病理部
	谷川久一	久留米大学医学部・第二内科
	高崎 健	東京女子医科大学消化器病センター・外科
	山本正之	山梨医科大学・第一外科

〈平成三年度〉

研究代表者	神代正道	久留米大学医学部・第一病理
研究分担者	北川知行	癌研究所・病理部
	広橋説雄	東京がんセンター・病理部
	谷川久一	久留米大学医学部・第二内科
	沖田 極	山口大学医学部・第一内科
	坂口正剛	福岡大学医学部・第一内科
	工藤正俊	神戸市立中央病院・消化器科

3. 計画及び材料と方法

1) 早期診断法の確立に関する計画

平成元年度および2年度においては、肝癌の早期診断法としての超音波診断法、ならびに超音波誘導下細針生検法の有効性を明らかにするべく、各研究分担者の症例を持ち寄り検討し、さらに、平成3年度においては新たな診断法の開発・導入を計画した。

2) 早期肝癌の病理、ならびに生物学的特性の解明に関する計画

平成元年度から3年度まで、各研究分担者の早期肝癌切除例を病理形態学的に検討し、早期肝癌の病理学的特徴を明らかにすると共に、それらの画像所見との対比、及び、組織培養法ならびに分子生物学的手技を用いて肝癌の生物学的特性の解明を計画した。

4. 成果

A) 超音波診断法による早期診断

超音波診断法は簡便であるうえに肝内の微小な限局性病変の検出能が、他の画像診断法に比べ明らかに良く、特に、径15~20mmを越えると被膜および隔壁を反映したringやseptum、nodule in noduleなどの所見により肝癌の診断は比較的容易である。現在までに検出しえた細小の肝癌は径5mmである。また、早期肝癌の形態的特徴の一つとして高頻度に見られる脂肪化があげられるが、この脂肪化により早期肝癌は高エコー結節として検出されることが多い。(谷川・沖田・坂口)

B) 超音波誘導下細針生検法

早期肝癌の確定診断として超音波誘導下細針生検法に勝るものはなく、本法の導入以来、早期肝癌切除例の増加には目を見張るものがある。研究分担者谷川の施設では、毎年、肝癌約70症例60%前後が径2cm以下の微小な症例となっている。肝硬変に見られる結節性病変を生検により調べると2cm以下では90%以上が肝癌であるのに対し、1.5cm以下では約40%、1cm以下の微小な結節性病変の診断には超音波誘導下細針生検が不可欠である。しかし、後述するごとく早期肝癌の多くが異型に乏しい高分化癌のため、生検組織診断においてすくなからざる混乱があるが、本研究班の病理担当班員の努力、ならびに本研究班の研究活動の一環として行った「腫瘍生検研究会」により組織診断基準が明確になった。

C) CO₂動注US angiography

研究分担者、工藤は微小な早期肝癌が通常の血管造影法にて検出できない欠点を補うため、CO₂ガスを血管造影時に注入した超音波で観察することにより微小な肝癌結節を描出する新たな診断法を開発、その有用性を明らかにした。(工藤)

D) 早期肝癌の病理形態学的特徴

早期の最も特徴的な形態像は、その大部分が異型に乏しい高分化型肝癌の像を呈する事である。神代、谷川両研究員は主研究課題として高分化な早期肝癌の組織像とそれらの剖検時の広範に拡がった癌組織を比較検討し、肝癌が高分化癌から中一高分化癌へと脱分化をしながら増殖することを明らかにした。

E) 早期肝癌の生物学的特性

早期肝癌進展に関して各研究班員が異なった視点より研究し、以下のような成果を得た。形態学的な検討より早期の高分化肝癌が増殖進展するのは脱分化現象が大きく関与していることが示唆されたが、研究代表者の神代は分化度の異なる癌組織が境界明瞭に混在する小肝癌切除例の組織培養により、同一癌結節より高分化癌組織と低分化癌細胞の分離樹立に成功し、低分化癌細胞の増殖速度が高分化癌細胞より早いことから、同一の癌結節の脱分化現象は低分化癌細胞による高分化癌組織の置換によることを明らかにした。

中沼は、腺腫様過形成、異型腺腫様過形成、ならびに高分化肝癌の PCNA、および AgNoRs を免疫組織学的に検討し、PCNA の labeling index, AgNORs 活性とも腺腫様過形成—異型腺腫様過形成—高分化肝癌の順序で高くなることから 3 病変の間に段階的につながりが存在することを示唆した。

広橋は、肝癌は腺腫様過形成に代表される前癌病変から早期肝癌、さらに進行した肝癌へと多段階的に進展・増殖していく過程を明らかにしたが、さらに、それらの過程において腫瘍の血管および間質がどのように変化していくかを血管内皮の UEA-1 およびアクチンの発現について免疫組織学的に検討し、腺腫様過形成ではそれらの発現範囲 5-19% とわずかであるのに対し、早期肝癌では陽性範囲が増し、さらに癌が低分化になるほど陽性範囲が増加することを明らかにした。

北川、沖田は、ラット実験的肝癌とヒト肝癌の初期像の比較検討を行ない、実験的ラット肝発癌においてもその初期に脂肪化を伴う種々の大きさの結節形成がみられ、それらの多くが肝癌へと進展していくことを明らかにし、発癌初期における脂肪化の出現が結節における酵素変異によることを示唆すると共に、局所循環異常にも関与している可能性も示唆した。

F) 硬変肝にみられる結節性過形成病変

神代、広橋、中沼は硬変肝にみられる結節性病変を、組織学的に周囲の再生結節と同様の所見を示すものを「大再生結節」、種々の程度の細胞密度の増大、ならびに索状構造の明瞭化を示すものを「腺腫様過形成」、高分化癌との識別が困難なほどの過形成像を示すものを「異型腺腫様過形成」、明らかな高分化癌巣を内包するものを「癌を内包する腺腫様過形成」の 4 結節に大別した。なお、このうち「腺腫様過形成」が前癌病変の可能性を秘めていると思われ、広橋は、「腺腫様過形成—異型腺腫様過形成—癌を内包する腺腫様過形成—初期の肝癌—進行肝癌」という一連の発癌過（多段階発癌）の概念を提唱した。

G) 肝癌の多中心性発生

研究代表者神代は、早期肝癌外科切除例の非癌部、ならびに肝硬変剖検例について詳細な形態学的検討を行ない、外科切除例では約 20% の症例に「異型腺腫様過形成」あるいは「癌を内包する腺腫様過形成」の併存を認めることより、外科切除例の 20% 前後は同時性の多中心発生の可能性を示唆した。一方、肝硬変剖検例では、細小肝癌の 50% が同様の結節性病変を伴っていることから、肝癌の約半数が同時性の多中心性発生であることを示唆した。外科切除例と剖検例における多中心性発生の差は、外科切除例では術前に多結節性病変が明らかなものは、手術されないため頻度が低くなったものと思われる。

5. 考察

肝細胞癌（肝癌）は年々増加の一步をたどっており、現在、我が国ではその頻度は胃癌、肺癌についている。しかし、各種の画像診断法の著しい進歩により早期診断が可能となりつつあり、現在の我が国における肝癌の診断は、約 20 年前、胃癌の診断において内視鏡の発達・普及、および胃生検の導入により早期胃癌の概念が導入された時期に相当するとも言える。車両財団癌研究助成による「早期肝癌の診断と病理」に関する研究では、肝癌の診断、および基礎的研究において我が国の第 1 人者に研究分担者になってもらい、早期診断法の確立、および早期診断に欠かすことの出来ない早期肝癌の病理学的特徴、ならびに生物学的特性を明らかにすることを目的として 3 年間研究を行なった。

1980 年代に入って以来肝癌の画像診断、特に超音波診断法の目覚ましい進歩、ならびに肝癌発生高危険群として肝硬変患者の注意深い経過観察により、微小な結節性病変が数多く発見されるようになった。それらの結節性病変には肝癌、腺腫様過形成に代表されるような限局性の過形成病変、あるいは再生結節の大きなものなど種々であり、特に径の小さなものほど肝癌以外の病変の頻度が高くなる。一般に、肝癌は径 1.5-2.0cm を越えるころから線維性被膜、および隔壁をそれぞれ 70-80% に形成してくるため、超音波診断により被膜、隔壁を描出することにより肝癌の質的診断が可能となる。しかし、それらの特徴的形態を伴わないもの、あるいは被膜、隔壁形成に至らない微小な癌結節では超音波誘導下細針生検による診断が不可欠である。

肝癌の確定診断法としての超音波誘導下細針生検は久留米大学の谷川ら、ならびに千葉大学の大藤らにより 1980 年代半ばほぼ同時期に開発、導入された。導入当初は癌細胞の播種の危険性が議論されたが、4~5 年にわたり多数の生検例の蓄積により、癌細胞の播種は絶無ではないが十分注意を払うことにより、早期診断の有用性を損なうほどの危険性はないことが明かとなり、今日我が国において広く普及した。しかし、早期の微小な肝癌は異型に乏しい高分化な癌組織よりなり、従来の古典的な肝癌に関する病理学的知識では十分に対応出来ないため、早期肝癌の生検診断にあたり多くの問題が生じた。そこで、本研究班の谷川と神代は早期肝癌の生検組織診断ならびに画像診断についての研究会「肝腫瘍生検研究会」を 1988 年に発足させ、平成元年以降は車両財団癌研究助成研究班の研究活動にも含め、研究分担者も全員参加した。全国から肝臓内科、病理専門家の出席のもと 3 年間 6 回の研究会を行った結果、超音波細針生検法ならびにその組織診断について多くの進歩をみたため、発展的に研究会を解消し、現在では各地方で定期的に同様の研究会が開かれ、問題症例について討論が行なわれている。

微小な早期の肝癌の実態が明らかにされるにつれ、腺腫様過形成に代表される種々の過形成病変が注目されるようになり、特に、肝癌の前癌性病変としての意義が議論されるようになった。肝硬変にみられる過形成病変は、本研究班の神代、広橋、中沼らにより、組織学的に再生結節の大きなものである「大再生結節」、種々の程度の細胞密度の増大、ならびに索状構造の明瞭化を伴う「腺腫様過形成」、高分化癌との識別が困難な「異型腺腫様過形成」、ならびに「癌を内包する腺腫様過形成」の 4 結節に大別されることが明らかにされ、同分類は日本肝癌研究会により平成 4 年 2 月に発行された「臨床・病理：原発性肝癌取り扱い規約、第 3 版」にも採用された。「異型腺腫様過形成」や「癌を内包する腺腫様過形成」の存在により「腺腫様過形成」のなかには肝癌へ進展するものがあることが推察される。

広橋らのグループは 18 例の腺腫様過形成を臨床的に追跡し、うち 9 例 (50%) が癌化したと報告している。

このような過形成病変はしばしば肝癌に併存しており、その併存の実態を調べることに より、肝癌の同時性あるいは異時性の多中心性頻度について推測することが出来るが、現時点ではその頻度は 50%前後と見做される。この点については、今後、遺伝子レベルでの解析により、より客観的な情報が得られるものと思われる。

現在では 1cm 以下の微小な肝癌の診断も可能となってきたが、研究分担者、工藤が用いている炭酸ガス動注血管造影法などにより腺腫様過形成の癌化などの悪性変化をも臨床的に捉えられるようになるのも近いと思われる。

6. 発表

- ・ 神代正道：肝細胞癌の類似病変；とくに硬変肝にみられる結節性病変について．消化器病セミナー 48, 35-43, 1992
- ・ 神代正道、他；細小肝癌と前癌病変の病理．臨床消化器内科 7, 477-484, 1992
- ・ Osamu Nakajima, Shigetaka Sugihara, Akira Eguchi, Jun Taguchi, Jiro Watanabe, Masamichi Kojiro: Pathomorphologic Study of Pale Bodies in Hepatocellular Carcinoma. Acta Pathologica Japonica 42, 414-417, 1992
- ・ Akira Eguchi, Osamu Nakashima, Sadayuki Okudaira, Shigetaka Sugihara, Masamichi Kojiro: Adenomatous Hyperplasia in the Vicinity of Small Hepatocellular Carcinoma. Hepatology 15, 843-848, 1992
- ・ Shigetaka Sugihara, Osamu Nakashima, Masamichi Kojiro, et al.: The Morphologic Transition in Hepatocellular Carcinoma. A Comparison of the Individual Histologic Features Disclosed by Ultrasound-Guide Fine-Needle Biopsy with Those of Autopsy. Cancer 70, 1488-1492, 1992
- ・ 神代正道：肝癌の早期形態像と脱分化．消化器外科 14, 529-535, 1991
- ・ 神代正道：早期肝癌の病理組織と発癌様式．消化器癌 1, 36-42, 1991
- ・ 枝光 理、清松和光、中島 収、杉原茂孝、神代正道、他：高エコー像を呈する肝細胞癌の病理形態学的検討．肝臓 32, 618-624, 1991
- ・ 神代正道：原発性肝癌の境界病変—最小肝癌ならびに類似病変の病理像—内科 68, 1015-1019, 1991
- ・ 神代正道：肝細胞癌の組織学的分化度．肝胆膵 23, 653-658, 1991

- ・ 真島康雄、藤本隆史、谷川久一：細小肝癌の治療法—その適応と予後 (1) エタノール局注療法を中心に．臨床消化器内科 7, 531-536, 1992
- ・ 真島康雄、谷川久一：小肝細胞癌の内科的治療．M B Gastro. 2, 77-84, 1992
- ・ 谷川久一、他：肝・胆・膵の外科—最近の動向—生検による肝癌診断の問題点 外科 53, 1246-1252, 1991
- ・ 谷川久一：細小肝癌診断の実際．内科 68, 1053-10257, 1991
- ・ 真島康雄、谷川久一：検査・診断 生検．最新内科学大系 50, 92-100, 1991
- ・ Kenji Hirai, Yoshinori Aoki, Yasuo Majima, Hirohiko Abe, Osamu Nakashima, Masamichi

- Kojiro, Kyuichi Tanikawa: Magnetic Resonance Imaging of Small Hepatocellular Carcinoma. *Am J Gastroenterol* 86, 205-209, 1991
- 谷川久一：小肝細胞癌の診断と治療. 特別・教育講演集 79-105, 1991
 - 沖田 極、他：肝疾患の診断と治療 肝癌：早期肝細胞癌を中心として. *Tokyo Tanabe Quarterly* 39, 64-75, 1992
 - 黒川典枝、沖田 極：肝細胞癌の栄養治療—アミノ酸を中心に. 栄養—評価と治療 9, 142-146, 1992
 - 沖田 極、他：前癌病変としての Adenomatous Hyperplasia. *カレントセラピー 別冊* 10, 206-211, 1992
 - 沖田 極、他：実験的肝発癌予防. *肝胆膵* 24, 745-752, 1992
 - 竹中一行、山下 仰、黒川典枝、沖田 極：高齢者の肝癌. *老年消化器病* 4, 19-23, 1992
 - Kiwamu Okita: Present status of immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Primary Liver Cancer in Japan.*, Springer-Verlag, pp. 307-314, 1992
 - 山下 仰、黒川典枝、久保善嗣、沖田 極：日本の肝癌の特徴. *内科* 68, 1005-1009, 1991
 - 古川哲也、山下 仰、沖田 極：原発性肝癌. *臨床と研究* 68 2266-2270, 1991
 - 工藤正俊:核医学画像による肝臓および肝腫瘍の機能評価. *腹部画像診断* 12, 687-700, 1992
 - Masatoshi Kudo, et al.: Small Hepatocellular Carcinoma: Diagnosis with US Angiography with Intraarterial CO₂ Microbubbles¹. *Radiology* 182, 155-160, 1992
 - Masatoshi Kudo, et al.: Sonography with Intraarterial Infusion of Carbon Dioxide Microbubbles (Sonographic Angiography): Value in Differential Diagnosis of Hepatic Tumors. *AJR* 158, 65-74, 1992
 - Masatoshi Kudo, et al.: Hepatic Focal Nodular Hyperplasia: Specific Findings at Dynamic Contrast-enhanced US with Carbon Dioxide Microbubbles¹. *Radiology* 179, 377-382, 1991
 - 梶尾人司、富田周介、工藤正俊、他：US angiography で乏血性を示す肝細胞癌及びその境界病変の腫瘍発育速度—門脈血流の有無との関連について超音波医学 18, 742-748, 1991.
 - 工藤正俊、他：肝硬変に伴う結節性病変の腫瘍内血流動態—癌化の進展と血液動態の変化との関連について— *日消誌* 88, 1554-1565, 1991
 - 工藤正俊、他：小肝細胞癌の動脈性 vascularity と組織所見：CO₂ 動注 US angiography および切除標本による検討. *肝臓* 32, 1008-1016, 1991
 - 工藤正俊、他：小肝細胞癌における腫瘍内血流動態：CO₂ 動注 US angiography による検討. *日消誌* 87, 2691, 1991
 - Kyu Sung Rim, Miciie Sakamoto, Hedejiro Watanabe, Yushihiro Matsuno, Yukihiro Nakanishi Kiyoshi Mukai, Setsuo Hirohashi: Pathology and DNA Cytophotometry of Small Hepatocellular Carcinoma with a Nodule-in-nodule Appearance — Evidence for

- Stepwise Progression of Hepatocellular Carcinoma Jpn. J. Clin. Oncol. (印刷中)
- 広橋説雄：肝細胞癌のプログレッションに伴う血管間質の変化。(投稿予定)
 - Sakamoto M., Hirohashi S., et al.: Early stages of multistep hepatocarcinogenesis; Adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma. Hum. Pathol., 22, 172-178, 1991
 - 山本正之：複数の病巣を有する肝細胞癌切除症例における高分化型肝細胞癌併存例の検討——多中心性発生例の病理学的特徴。(投稿予定)

 - Ueda K., Terada T., Nakanuma Y.: Vascular supply in adenomatous hyperplasia of the liver and hepatocellular carcinoma; A morphometric study. Hum. Pathol. (in press)
 - Terada T., Nakanuma Y.: Expression of ABH blood group antigens, Ulex europaeus agglutinin I, and type IV collagen in the sinusoids of hepatocellular carcinoma. Arch. Pathol Lab. Med, 115, 50-55, 1991
 - Terada T., Nakanuma Y.: Expression of ABH blood group antigens, receptors of Ulex europaeus agglutinin I, and factor VIII-related antigen in adenomatous hyperplasia in human cirrhotic livers. Hum. Pathol. 22, 486-493, 1991
 - Terada T., Nakanuma Y.: Cell proliferative activity in hepatic adenomatous hyperplasia and hepatocellular carcinoma: An immunohistochemical study demonstrating proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Cancer (in submission)
 - Terasaki S., Terada T., Nakanuma Y., et al.: Argyrophilic nucleolar organizer regions and alpha-feroprotein in adenomatous hyperplasia in human cirrhotic livers. Am. J. Clin. Pathol. 95, 850-857, 1991

 - 北川知行：肝癌の発生 日病会誌 79, 21-38, 1990