

肝腺腫様過形成の臨床病理学的検討 病理組織学,細胞増殖活性,剖検例でのサーベイ及び臨床例での予後調査を中心に

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9209

肝腺腫様過形成の臨床病理学的検討

一病理組織学, 細胞増殖活性, 剖検例でのサーベイおよび
臨床例での予後調査を中心に一

金沢大学医学部医学科内科学第一講座 (主任: 小林健一教授)

金沢大学医学部医学科病理学第二講座 (主任: 中沼安二教授)

寺 崎 修 一

慢性進行性肝疾患, 特に肝硬変に, 周囲の再生結節より大きい直径 1cm 大の肝細胞性結節がみられ肝腺腫様過形成 (adenomatous hyperplasia of the liver, AH) と呼ばれている. 現在, この結節は肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) の境界病変あるいは前癌病変として注目されている. 今回, この AH の臨床病理学的特徴を明らかにするため, AH の細胞増殖活性, 肝硬変剖検症例での AH のサーベイ, 針生検肝組織を用いた AH の予後調査, 特に予後を規定する組織学的因子について検討した. さらに AH を細胞, 構造異型の有無により通常型腺腫様過形成 (ordinary adenomatous hyperplasia, OAH) と異型型腺腫様過形成 (atypical adenomatous hyperplasia, AAH) に分類し, AAH に関しては明らかな癌巣を内包している AAH (atypical adenomatous hyperplasia with malignant foci, MF (+) AAH) と癌巣を内包しない AAH (atypical adenomatous hyperplasia without malignant foci, MF (-) AAH) に亜分類した. AH の増殖活性は, 剖検肝および外科切除肝よりえられた AH 75結節 (OAH 40結節, MF (-) AAH 19結節, MF (+) AAH 16結節), HCC 25結節および肝硬変10例, 慢性活動性肝炎12例, 正常肝10例の肝生検組織を材料とし, 好銀性核小体構成体 (argyrophilic nucleolar organizer region, AgNOR) 染色と増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) の免疫染色により行った. AgNOR 数は肝硬変 2.93 ± 0.70 , OAH 2.95 ± 0.67 , MF (-) AAH 3.89 ± 1.04 , MF (+) AAH の非癌部 4.58 ± 1.14 , MF (+) AAH の癌部 5.71 ± 1.34 , HCC 6.18 ± 1.40 であった. PCNA 標識指数は OAH $4.1 \pm 2.5\%$, MF (-) AAH $16.4 \pm 7.6\%$, MF (+) AAH の非癌部 $16.0 \pm 4.1\%$, MF (+) AAH の癌部 $35.2 \pm 6.9\%$, HCC $42.4 \pm 18.3\%$ であった. OAH の増殖活性は肝硬変と差がなく, AAH は OAH と HCC の中間であり, MF (+) AAH の癌部は HCC と差がなかった. 次に, 1974年から1994年までの肝硬変剖検例257例の肝を全割して AH の出現頻度を検討した. AAH は15例 (5.8%) に44結節, OAH は44例 (17.1%) に98結節みられた. AAH 44結節のうち MF (+) AAH は18結節であった. AH 合併55例中31例は AH が多発していた. AAH は非 A 非 B 型肝硬変, 特に C 型肝炎ウイルスに対する抗体が陽性の例, また混合結節型の肝硬変に多い傾向があった. 一方, OAH は B 型肝硬変に多くみられた. AAH は HCC を合併していない肝硬変にはみられず, HCC を合併している肝硬変の 8.9% にみられ, 特に結節型 HCC 合併例で高率 (13.2%) であった. OAH の合併は HCC の有無とは関連なく出現した. AH の合併率の年次別検討では, OAH, AAH, HCC いずれもその合併率がやや増加していたが有意の差はなかった. 針生検にて診断された AH 22 結節 (AAH 8 結節, OAH 14 結節) を 1 年以上経過観察したところ, 平均観察期間 25.4 ヶ月 (13-50 ヶ月) で AAH 4 結節が HCC へと進展し, 他の 18 結節は不変あるいは消失した. HCC への進展に関連する病変は核密度の増加, 脂肪化, 小細胞性ディスプラジアであった. 特に小細胞性ディスプラジアと脂肪化の両所見がみられた 3 結節は全てが HCC へと進展した. 以上より, AH のうち, 種々の細胞, 構造異型を示す AAH は増殖活性が高く, 癌巣を内包する率が高く, 肝内で多発する傾向があり, また HCC の合併例も多いことから, HCC の前癌性病変の一つであることが示唆された. なお, AAH は近年増加の傾向があったが有意の差は得られなかった. 一方, OAH の増殖活性は肝硬変の再生結節と同等であり, HCC の合併とも関連性は乏しく, 単に大きなサイズの再生結節であると考えられた. また, 臨床例では針生検組織中に核密度の増加, 脂肪化, 小細胞性ディスプラジアがみられた結節は HCC へと進展するリスクの高い結節として対処すべきと考えられた.

Key words adenomatous hyperplasia of the liver, hepatocellular carcinoma, argyrophilic nucleolar organizer region, proliferating cell nuclear antigen, proliferating activity

平成 8 年 1 月 23 日受付, 平成 8 年 2 月 19 日受理

Abbreviations: AAH, atypical adenomatous hyperplasia; AgNOR, argyrophilic nucleolar organizer region; AH, adenomatous hyperplasia of the liver; BrdU, bromodeoxyuridine; CAH, chronic active hepatitis; HBs, hepatitis B surface; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; HCC, hepatocellular carcinoma; LC, livercirrhosis; LI, labeling index; MF (-) AAH, adenomatous hyperplasia without malignant foci;

近年の各種画像診断の発達に伴い、肝硬変の肝内に小結節性病変が検出されることが多くなってきた。これらは従来よりよく知られている古典的な肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) の画像所見とは異なり、血管造影で腫瘍濃染を示さないものが多い。外科的切除例の病理組織学的検討^{1)~9)} から一部は高分化な肝細胞癌と分類され、一部は異型が乏しく癌とは診断できない結節であることが明らかとなり、肝腺腫様過形成 (adenomatous hyperplasia of the liver, AH)^{10)~16)}、あるいは異型型腺腫様過形成 (atypical adenomatous hyperplasia)⁹⁾、類腺腫過形成 (adenomatoid hyperplasia)^{10)~11)}、腺腫様過形成性結節 (adenomatous hyperplastic nodule)^{2)~12)}、肝硬変にみられる小結節性病変 (small mass lesion in cirrhosis)⁷⁾、肝細胞性偽腫瘍 (hepatocellular pseudotumor)¹³⁾、粗大再生結節 (macroregenerative nodule, MRN)^{12)~14)~16)}、異形成性結節 (dysplastic nodule)¹⁰⁾ などの種々の呼称で呼ばれてきた。特に本邦では AH という呼称が広く用いられている。近年、この AH が肝発癌における前癌病変あるいは初期病変ではないかと推測されているが、これらの結節性病変の正確な定義は論争中であり、増殖活性などの生物学的特性や疫学的検討も十分行われていない。特に、現在 AH が増加しつつあるのか、あるいは以前より存在していたが注目されなかったのかも明らかではない。また、どのような肝硬変を背景に発生しやすいかも明らかとはなっていない。

今回、これらの点を明らかにするために、AH の増殖活性の検討、次に肝硬変剖検例における AH のサーベイ、特に過去の肝硬変剖検例を再調査し、AH 合併率の推移および AH 合併肝硬変の背景因子について検討した。

現在、細胞の増殖活性の検討には、ホルマリン固定標本でも検討可能な方法として好銀性核小体構成体 (argyrophilic nucleolar organizer region, AgNOR) 染色と増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) の免疫染色が活発に行われ、種々の臓器の悪性腫瘍や良性疾患における増殖活性や生物学的特性の評価に用いられている^{20)~23)}。AgNOR はリボゾーム RNA 遺伝子をコードする DNA の関連蛋白で^{24)~26)}、PCNA は S 期の増殖細胞の核に存在する DNA ポリメラーゼ

ルタの補助蛋白である^{29)~40)}。そこで今回、AgNOR 染色により染色された核内の AgNOR 数および PCNA の発現率を細胞増殖の指標として AH の増殖活性の検討を行った。

また、針生検肝組織を用いた臨床例での AH の組織学的予後因子の検討を行った。現在、臨床の現場で各種画像診断でこれらの結節性病変に遭遇した場合、エコーガイド下腫瘍生検を行い病理組織学的に診断が行われている。しかし、生検肝組織での AH の診断にはいくつかの問題点がある。一つは AH と HCC の鑑別診断が難しく、病理医間で診断が異なる結節があることである。すなわち癌とするか前癌病変とするかの鑑別は病理医の経験と主観によって判断されており、客観的な定義は未だ決められていない。さらに、どのような組織像を示す AH が HCC に進展するかも明らかとなっていない。これらの問題を明らかにするには結節性病変を経過観察し、その結節の予後を知ることが極めて重要である。そこで、針生検により AH と診断された結節を未治療で経過観察することにより、どのような組織所見を呈する結節が HCC に進展する可能性が高いかについても検討した。

対象および方法

1. AH, 肝細胞ディスプラジアの定義

肝硬変に見られる、周囲の再生結節より大きい直径 8mm 以上の肝細胞性過形成結節で古典的 HCC とは異なるものを AH とした¹⁾ (図 1)。さらに細胞および構造異型の有無により AH を以下の 2 群に分類した。

1. 通常型腺腫様過形成 (ordinary adenomatous hyperplasia, OAH) AH を構成する肝細胞が周囲の再生結節の肝細胞よりやや大きいか、あるいは変わらないもので、核異型はみられない (図 2)。

2. 異型型腺腫様過形成 (atypical adenomatous hyperplasia, AAH) AH を構成する肝細胞に核異型、構造異型を認めるが古典的な HCC とは言えないもの (図 3)。さらに内部に明らかな

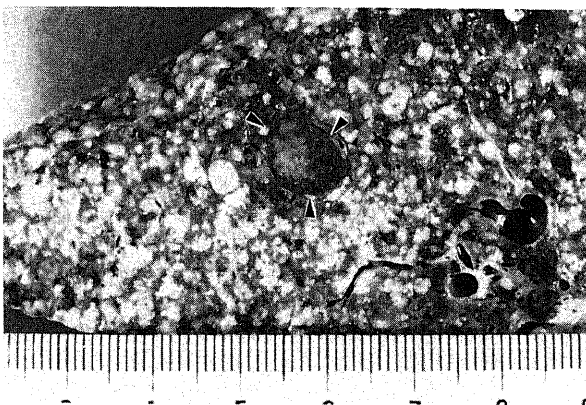


Fig. 1. Gross features of adenomatous hyperplasia. The adenomatous hyperplasia (arrowheads) is clearly larger than the surrounding regenerative nodules.

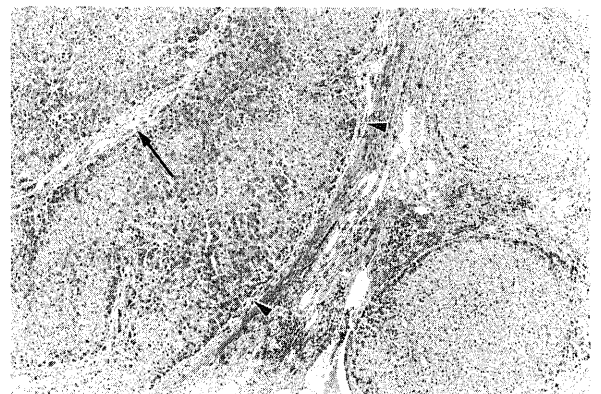


Fig. 2. Ordinary adenomatous hyperplasia. Arrowheads indicate the boundary of adenomatous hyperplasia. Hepatocytes of ordinary adenomatous hyperplasia have no atypia and resemble hepatocytes of surrounding regenerative nodules. A portal tract (arrow) is present within the adenomatous hyperplasia. HE, $\times 50$.

MF (+) AAH, adenomatous hyperplasia with malignant foci; MRN, macroregenerative nodule; NOR, nucleolar organizer region; OAH, ordinary adenomatous hyperplasia; PBC, primary biliary cirrhosis; PCNA, proliferating cell nuclear antigen

HCC 巣を内包している異型型腺腫様過形成 (atypical adenomatous hyperplasia with malignant foci, MF (+)AAH) (図4) と HCC 巣を内包しない異型型腺腫様過形成 (atypical adenomatous hyperplasia without malignant foci, MF (-)AAH) とに亜分類した。

今回の検討で HCC 巣を内包する OAH はなかった。なお、高分化型 HCC や AH 内での HCC 巣の有無の判断は Terada ら⁴¹⁾や Ferrell ら^{18,42)}に従い、核の異型度、構造の変化などにより判断した。

肝細胞性ディスプラジアを構成肝細胞の大きさにより小細胞性ディスプラジアと大細胞性ディスプラジアに二分類した。小細胞性ディスプラジアの定義は Watanabe ら⁴³⁾の報告に従い、細胞の小型化、核/細胞質比の増加、核の多形性を有する細胞変化とした。大細胞性ディスプラジアは Anthony ら⁴⁴⁾の報告に従い、核・細胞質ともに増大し、核の多形性や多核を認めるものとした。

II. AH の細胞増殖活性の検討

1. 材料

1972年から1990年までに金沢大学医学部第二病理, 金沢大学

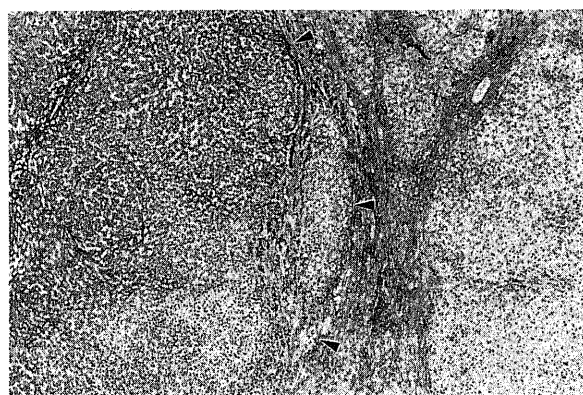


Fig. 3. Atypical adenomatous hyperplasia. Arrowheads indicate the boundary of adenomatous hyperplasia. Hepatocytes of atypical adenomatous hyperplasia have some atypia, including small cell dysplasia, mild nuclear hyperchromasia, and mild nuclear crowding, and are different in morphologic characteristics from the hepatocytes of surrounding regenerative nodules. HE, ×50.

医学部附属病院病理部, 黒部市民病院, 富山市民病院, 国立金沢病院, 石川県立中央病院, 福井県立病院, 福井県済生会病院の剖検肝および外科切除肝で経験された AH 40例75結節 (OAH 40結節, MF (-)AAH 19結節, MF (+)AAH 16結節) で, 対照は HCC 25例25結節, 肝硬変10例および慢性活動性肝

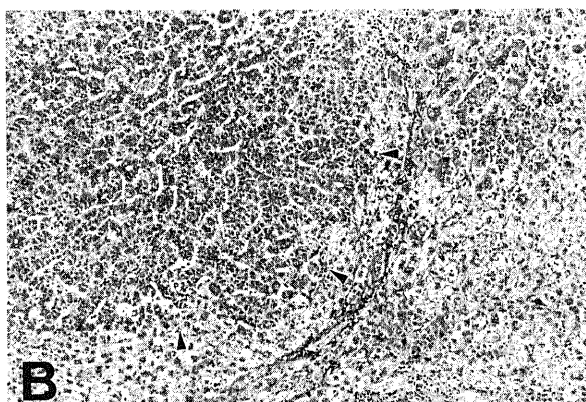
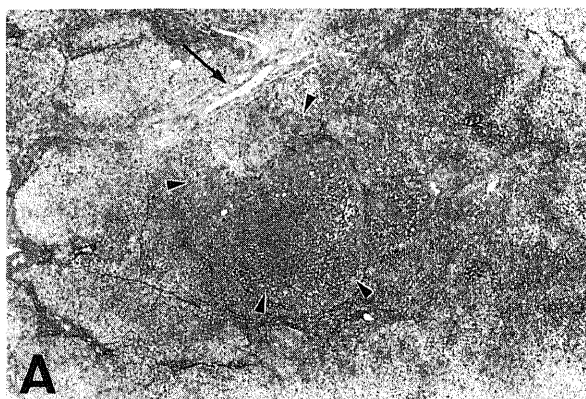


Fig. 4. Atypical adenomatous hyperplasia with malignant foci. (A) Lower magnification. Within the adenomatous hyperplasia, there is focus of overt carcinoma (arrowheads). A portal tract (arrow) is present within the adenomatous hyperplasia. HE, ×20. (B) Higher magnification. The malignant focus (arrowheads) consists of well-differentiated trabecular hepatocellular carcinoma. The non malignant area show feature of atypical adenomatous hyperplasia. HE, ×120.

Table 1. Clinical characteristics of subjects

Histology	No. of cases		No. of cases with etiology of chronic liver disease				Age (x̄±SD)	No. of specimens examined
	Male	Female	HBV	NANB	Alc	PBC		
Normal liver	12	10					53.4±15.4	22
CAH	10	11	8	13	0	0	45.3±13.3	21
LC	13	11	9	12	3	0	64.7±10.9	24
OAH	18	8	8	13	5	0	57.1±9.8	40
MF(-)AAH	9	4	3	9	1	0	64.3±4.9	19
MF(+)AAH	7	1	0	4	3	1	61.9±7.2	16
HCC	16	9	9	15	1	0	65.8±8.6	25

Alc, alcohol; CAH, chronic active hepatitis; HBV, hepatitis B virus; HCC, hepatocellular carcinoma; LC, liver cirrhosis; MF(-)AAH, atypical adenomatous hyperplasia without malignant foci; MF(+)AAH, atypical adenomatous hyperplasia with malignant foci; NANB, non A non B; No., number; OAH, ordinary adenomatous hyperplasia; PBC, primary biliary cirrhosis.

炎12例, 正常肝10例の肝生検組織とした(表1). 肝硬変や慢性活動性肝炎の成因は, B型肝炎ウイルス表面(hepatitis B surface, HBs)抗原陽性例をB型, 大酒家(1日5合以上, 10年以上)で組織像がアルコール性に矛盾しない例をアルコール性, 他の成因が除外された例を非A非B型とした. なお, 非A非B型例の中にC型肝炎ウイルス(hepatitis C virus, HCV)に対する抗体が測定され陽性であることが判明している29例を含めた.

2. 方法

AgNOR染色とPCNAの免疫染色を行った. AgNOR染色は

Crockerら²³⁾の方法に従い行なった. すなわち, ホルマリン固定標本の3 μ m切片を脱パラフィンした後, AgNOR反応液(2%のゼラチンを含有した1%蟻酸と50%硝酸銀溶液を1:2に混合)と室温で30分間反応させた. この方法によりAgNORは核内の銀顆粒として染色された. 肝細胞の同定のため0.3%メチルグリーンで核染した. 各例毎に病変部位から無作為に選んだ100個の細胞のAgNOR数を100倍の油浸レンズを用いて数え, その平均値を求めた.

PCNAの免疫染色はアビジンビオチンペルオキシダーゼ複合体(avidin-biotin-peroxidase complex, ABC)法⁴⁵⁾を用いて

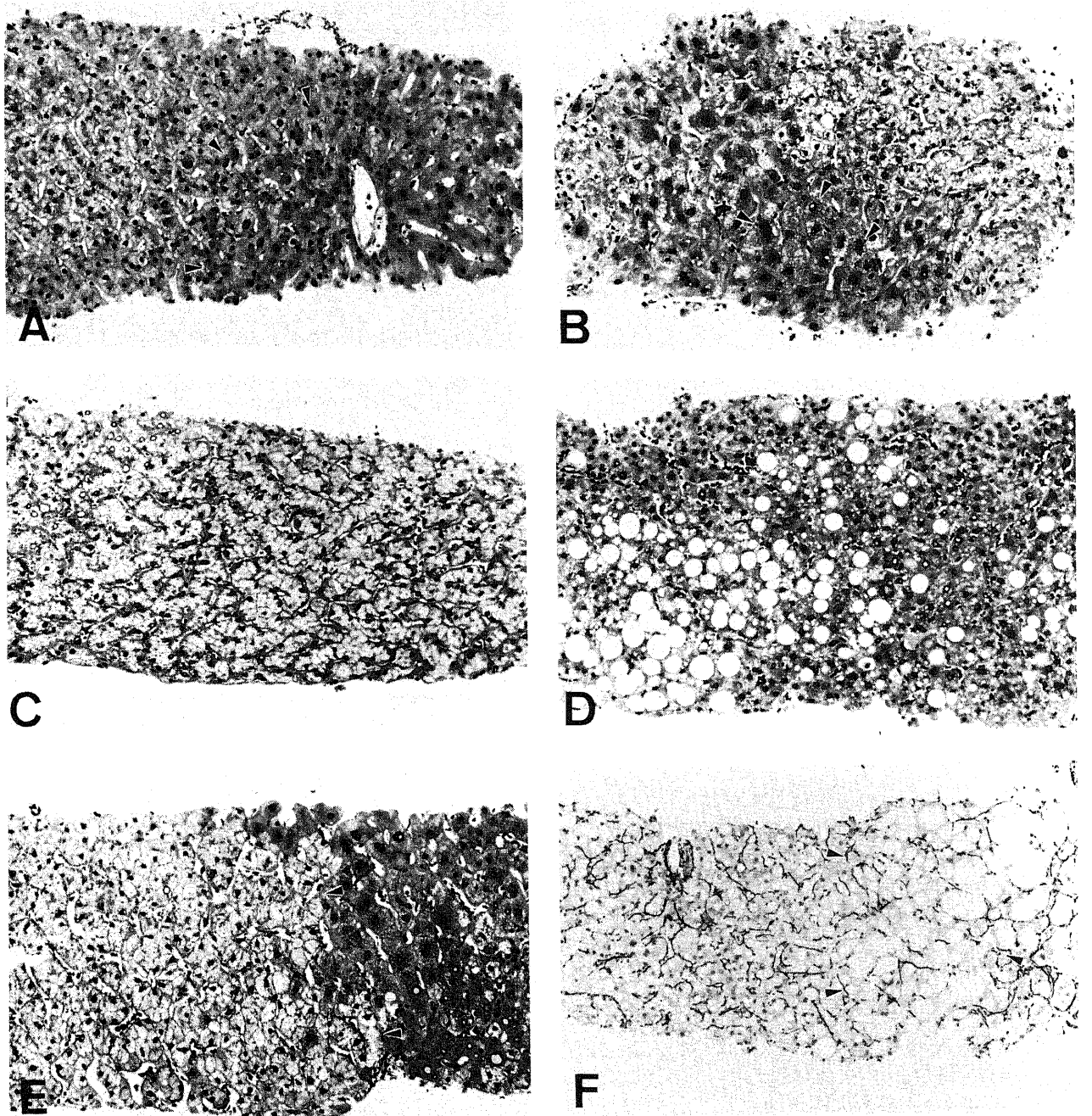


Fig. 5. Examples of histological parameters. (A) Small cell dysplasia (arrowheads). (B) Large cell dysplasia (arrowheads). (C) Nuclear deviation toward sinusoids. (D) Fatty change. Macro- and microvesicular fat deposition was seen. (E) Clear cell change (arrowheads). (F) Reduction of reticulin fiber, especially in area of hepatocytes with macrovesicular fat deposition (arrowheads). (A-E: HE, $\times 200$; F: reticulin stain, $\times 200$)

行った。ホルマリン固定標本の 3 μ m 切片を脱パラフィン後、1%過酸化水素水で内因性ペルオキシダーゼ処理を行い、さらに正常ヤギ血清を用いて非特異的反応を防止した。一次抗体としてモノクロナル抗 PCNA 抗体 (Novocastra Laboratories, Newcastle, United Kingdom) を200倍に希釈して用い、4 $^{\circ}$ Cで一晩反応させた。次に、ビオチン化抗マウス IgG 抗体 (Vector Laboratories, Burlingame, USA) を室温で40分間反応させた後、Vectastain ABC キット (Vector Laboratories) と室温で30分間反応させた。0.1%の過酸化水素水を含有した3.3'アミノベンチジン 4HCl 溶液で発色させた後、0.3%メチルグリーンで核染した。核が褐色に染色される像を陽性像とした。なお、この陽性反応は一次抗体の代わりに正常血清およびリン酸緩衝液を用いることにより消失した。PCNA の免疫染色は固定時間や保存状態により染色状態が異なるため、良好な陽性反応が得られた OAH 8 結節, MF(-)AAH 19 結節, MF(+)AAH 4 結節, HCC 14 結節について行った。PCNA の陽性率を標識指数 (labeling index, LI), つまりそれぞれの病変部位で無作為に選んだ500個の肝細胞のうち PCNA を発現している核数を数え、パーセントで示した。

Ⅲ. 肝硬変剖検例における AH のサーベイ

1. 材料

金沢大学第二病理において1974年から1994年までの21年間に剖検された肝硬変例257例を用いた (表2)。Eggel¹⁰⁾に従い、合併していた HCC の肉眼像を結節型, 塊状型, びまん型に分類し

た。背景の肝硬変を WHO 分類¹⁰⁾に従い、形態学的に小結節性肝硬変 (micronodular cirrhosis, 結節の大きさがほぼ均一ですべてが 3mm 以下の小結節からなるもの), 大結節性肝硬変 (macronodular cirrhosis, 3mm 以上の大結節が多くみられるもの), 混合結節性肝硬変 (mixed nodular cirrhosis, 小結節と大結節がほぼ同数みられるもの) に分類したところ、小結節性肝硬変83例 (B型13例, 非A非B型42例, アルコール性22例, 原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis, PBC) 3例, その他3例), 大結節性肝硬変50例 (B型23例, 非A非B型23例, アルコール性2例, その他2例), 混合結節性肝硬変124例 (B型29例, 非A非B型81例, アルコール性7例, PBC 4例, その他3例) であった。

2. 方法

これらの剖検肝を 5-10mm 幅で全割し肉眼的に周囲の結節より大きい直径 8mm 以上の結節を全て標本とした。同定された肝細胞性結節をホルマリン固定パラフィン包埋し、ルーチンの染色を行ない組織学的に検討した。HCC を除外した肝細胞性結節を AH とし前述の如く分類した。

Ⅳ. AH の予後因子の検討: 針生検肝組織を用いた組織学的検討

1. 対象

金沢大学第一内科で、肝硬変にみられた 3cm 以下の結節性病変81個に対し、腫瘍生検を行い、以下の組織学的検討を行った。なお、腫瘍生検には腹部超音波装置は東芝 SSA-260A, プ

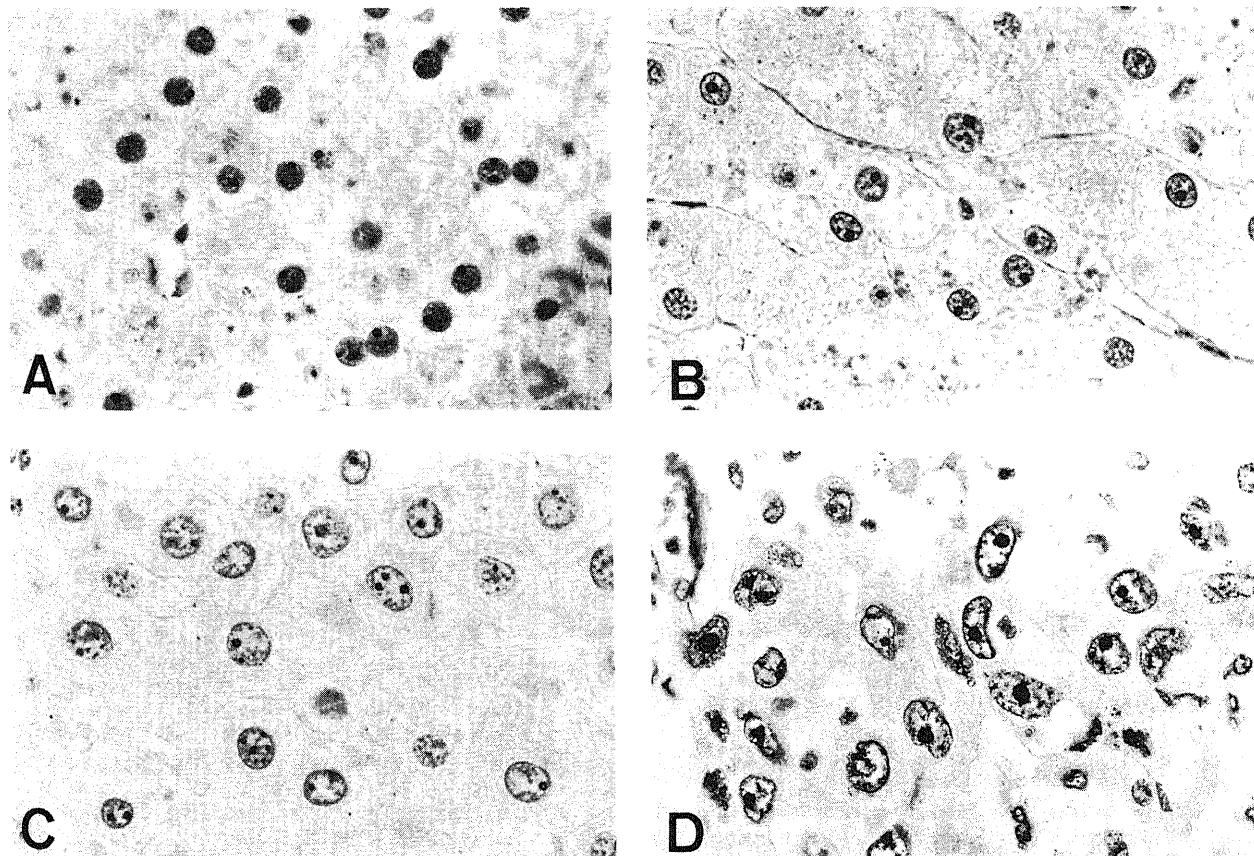


Fig. 6. Argyrophilic nucleolar organizer regions of each lesion. (A) Normal liver. (B) Liver cirrhosis. (C) Atypical adenomatous hyperplasia. (D) Hepatocellular carcinoma. Argyrophilic nucleolar organizer region stain, $\times 600$.

ローベは 3.5MHz のセクタプローベを用い、生検針は21ゲージの Majima 針を使用して行った。また、結節部と比較するため非結節部からの肝生検も行った。組織学的に HCC と診断されなかった結節は再度生検を行った。

2. 組織学的検討

3 μ m のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用い、HE 染色と鍍銀染色を行い、核密度、小細胞性ディスプラジア、大細胞性ディスプラジア、偽腺管形成、淡明細胞化、核の類洞側偏位、脂肪化、細胞質の染色性変化、鍍銀繊維の減少についてブラインドで判定した(図5)。核密度は結節部および非結節部よりそれぞれ無作為に 500 μ m \times 500 μ m 内の肝細胞核数を数え、結節部の核密度および非結節部の核密度に対する結節部のそれとの比を算出した。

V. 統計学的解析

統計学的解析は独立した標本の t 検定、 χ^2 検定、Fisher の直接確率計算法を用い、危険度 5% 以下をもって有意とした。

成 績

I. AH の細胞増殖活性

AgNOR は核内の銀顆粒として染色され、正常肝では核小体とほぼ一致していた。HCC では AgNOR は増加し大小不同がみられた(図6)。AgNOR 数は正常肝で 1.62 ± 0.32 、慢性活動性肝炎で 1.76 ± 0.20 、肝硬変で 2.93 ± 0.70 、OAH で 2.95 ± 0.67 、MF(-)AAH で 3.89 ± 1.04 、MF(+)AAH の非癌部で 4.58 ± 1.14 、MF(+)AAH の癌部で 5.71 ± 1.34 、HCC で 6.18 ± 1.40

であった(図7)。OAH の AgNOR 数は肝硬変と類似した。一方、AAH は肝硬変、OAH より AgNOR 数が多かった($P < 0.05$)。しかし、MF(-)AAH と MF(+)AAH の非癌部は HCC や MF(+)AAH の癌部に較べ低かった($P < 0.05$)。HCC と MF(+)AAH の癌部との間に差はなかった。

PCNA 陽性の核は OAH ではまばらにみられ、HCC では多数みられた(図8)。PCNA LI は OAH で $4.1 \pm 2.5\%$ 、MF(-)AAH で $16.4 \pm 7.6\%$ 、MF(+)AAH の非癌部で $16.0 \pm 4.1\%$ 、MF(+)AAH の癌部で $35.2 \pm 6.9\%$ 、HCC で $42.4 \pm 18.3\%$ であった(図9)。HCC と MF(+)AAH の癌部の PCNA LI が最も高く、MF(-)AAH の PCNA LI は OAH より高く($p < 0.0005$)、HCC より低値であった($p < 0.0001$)。

II. 肝硬変剖検例での AH のサーベイ

検索した肝硬変剖検例257例のうち、168例(65.4%)に HCC がみられ、それらの肉眼分類は結節型106例、塊状型53例、びまん型9例であった。HCC の合併率はB型肝硬変では50/65(76.9%)、非A非B型肝硬変では104/146(71.2%)、アルコール性肝硬変では12/31(38.7%)、PBC では1/7(14.3%)であり、B型肝硬変と非A非B型肝硬変の間で差はなかったが、両群ともアルコール性肝硬変に比し有意に HCC の合併率が高かった($p < 0.001$)。

AH は257例中55例(21.4%)に142結節みられ、その内訳はAAH 15例(5.8%) 44結節、OAH が44例(17.1%) 98結節であった。さらに AAH 44結節のうち MF(+)AAH は18結節、MF(-)AAH は26結節であった。肝の大部分が HCC により占

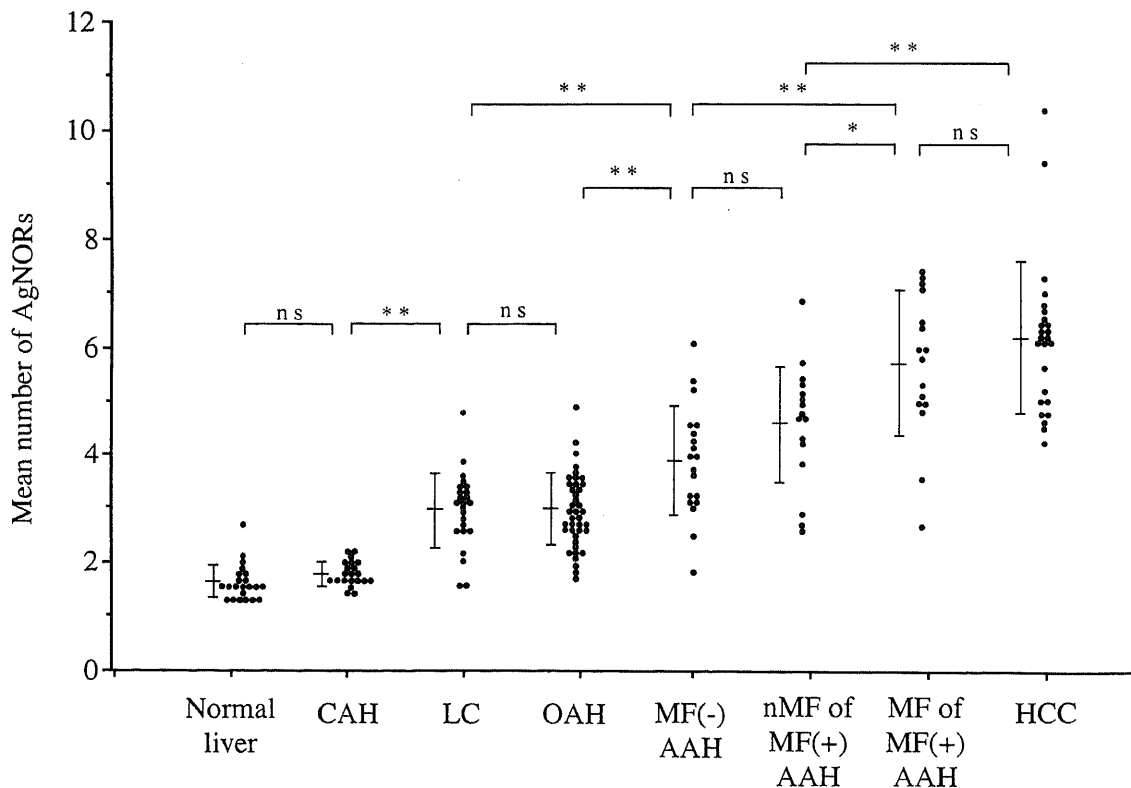


Fig. 7. Scattergram showing the mean number of AgNORs of each lesional area. CAH, chronic active hepatitis; LC, liver cirrhosis; MF(-)AAH, adenomatous hyperplasia without malignant foci; MF of MF(+)AAH, malignant foci of adenomatous hyperplasia with malignant foci; nMF of MF(+)AAH, non malignant foci of adenomatous hyperplasia with malignant foci; OAH, ordinary adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$. ns, not significant. Vertical bars mean the mean number of AgNORs and the standard deviation.

抛されている塊状型およびびまん型 HCC を除いた195例で検討すると、AH は47例 (24.1%) にみられ、AAH は14例 (7.2%), OAH は40例 (20.5%) であった。AH の直径は OAH が 10.1 ± 2.6 mm (8–20mm), AAH は 12.6 ± 4.4 mm (8–22mm) であり、有意に AAH の結節径が大きかった ($p < 0.0005$)。しかし、MF(–) AAH の結節径は 10.9 ± 4.2 と OAH と差はなく、MF(+) AAH の結節径は 14.1 ± 4.2 mm であり、OAH および MF(–) AAH より有意に大きかった ($P < 0.0005$, $P < 0.05$)。また、AH は55例中31例で多発していた (最多14個)。AAH に関しては、AAH 合併例15例中11例で AAH は多発し (最多9個)、OAH 合併例44例中24例で OAH が多発していた (最多7個)。

次にこれら AH の合併率を肝硬変の成因別に検討した (表2)。AAH はB型肝炎硬変では $1/65$ (1.5%)、非A非B型肝炎硬変では $13/146$ (8.9%)、アルコール性肝硬変では $0/31$ (0.0%)、PBC では $1/7$ (14.3%) でその他の肝硬変にはみられなかった。統計学的に有意ではないが非A非B型肝炎硬変ではB型肝炎硬変に比し AAH 合併が多い傾向にあった ($p = 0.07$)。一方、OAH の合併率はB型肝炎硬変では $17/65$ (26.2%)、非A非B型肝炎硬変では $20/146$ (13.7%)、アルコール性肝硬変では $3/31$ (9.7%)、PBC では $2/7$ (28.6%) であり、OAH の合併はB型肝炎硬変が非A非B型肝炎硬変より有意に高率であった ($p < 0.05$)。なお、非A非B型肝炎硬変のうち HCV 抗体が陽性と判明している29例では AH が5例 (17.2%)、OAH が2例 (6.9%)、AAH が4例 (13.8%)、HCC が24例 (82.8%) であった。

AH の合併率を背景肝硬変の形態分類により検討した (表3)。OAH は大結節性肝硬変に $18/50$ (36.0%) と最も多く合併しており、AAH の合併は混合結節性肝硬変に多く小結節性肝硬変に少なかった ($p < 0.05$)。HCC の合併率は大結節性肝硬変と混合結節性肝硬変に多く小結節性肝硬変には少なかった ($p < 0.0005$)。

HCC 合併の有無およびその肉眼分類別の AH 合併率を検討すると OAH の合併率は HCC の有無と関連はなかったが、AAH は HCC のみられない肝硬変には1結節もなく、HCC を有する肝硬変では $15/168$ (8.9%) にみられ、特に結節型では $14/106$ (13.2%) とより高率であった (表4)。

また、AH の合併を年次別に検討すると、OAH, AAH,

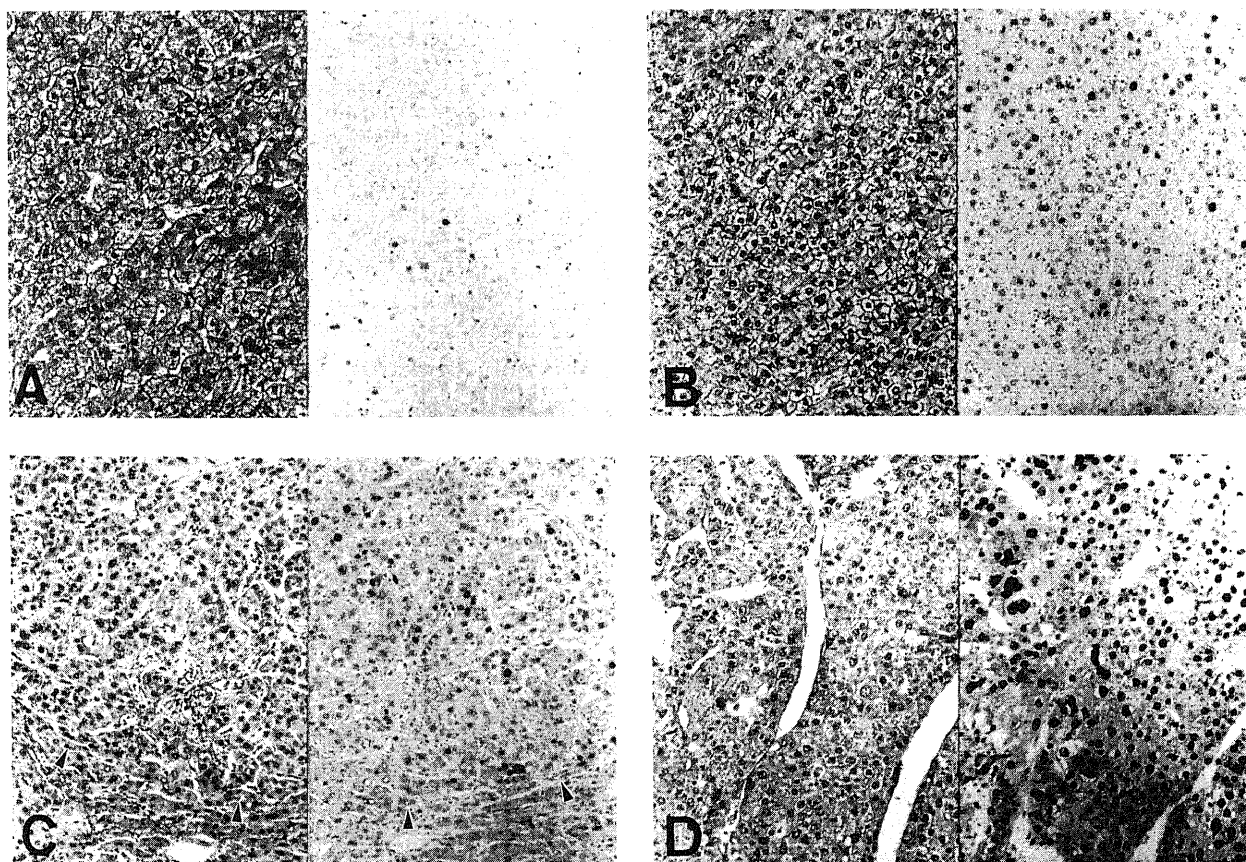


Fig. 8. Immunostain for PCNA of AH and HCC. (A) Ordinary adenomatous hyperplasia. (Left) The hepatocytes have no atypia and resemble those of surrounding regenerative nodules. (Right) PCNA immunoreactivity is seen in the nuclei of a few hepatocytes (left: HE, $\times 150$; right: immunostain for PCNA, $\times 150$). (B) Atypical adenomatous hyperplasia. (Left) The hepatocytes have nuclear crowding and increased cellularity, but lack overt malignant features. (Right) PCNA immunoreactivity is seen in the nuclei of hepatocytes (left: HE, $\times 150$; right: immunostain for PCNA, $\times 150$). (C) Atypical adenomatous hyperplasia with malignant foci. (Left) The malignant focus (above arrowheads) consists of atypical hepatocytes with nuclear crowding and hypercellularity. Pseudoglandular formation and mitosis also can be seen. (Right) PCNA immunoreactivity is seen in the nuclei of many hepatocytes (left: HE, $\times 150$; right: immunostain for PCNA, $\times 150$). (D) Hepatocellular carcinoma. (Left) Hepatocellular carcinoma showing a macrotrabecular pattern. (Right) PCNA immunoreactivity is seen in the nuclei of many hepatocytes (left: HE, $\times 150$; right: immunostain for PCNA, $\times 150$).

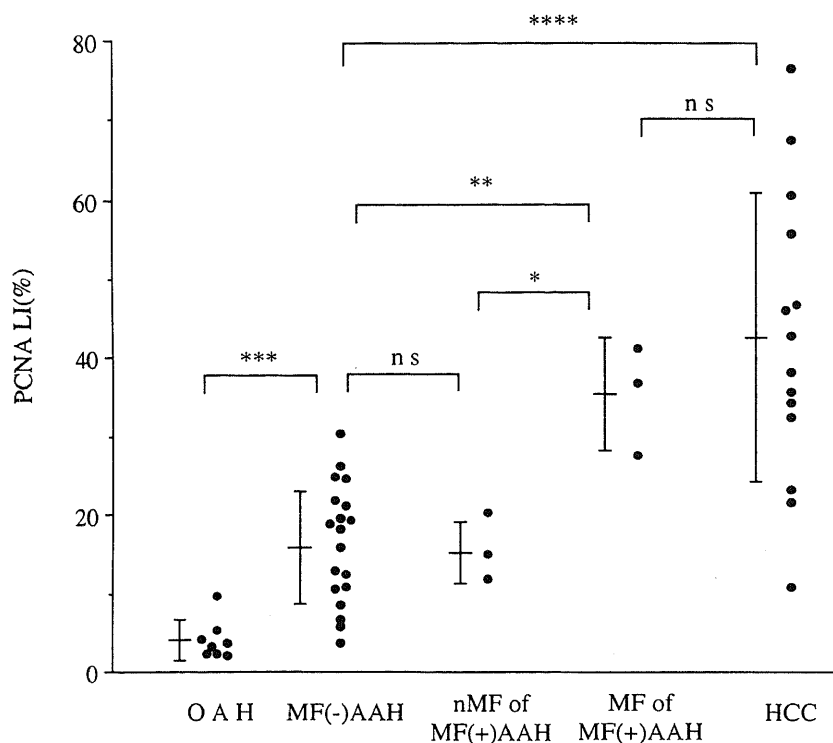


Fig. 9. Scattergram showing the PCNA labeling indices of each lesional area. HCC, hepatocellular carcinoma; MF(-)AAH; adenomatous hyperplasia without malignant foci; MF of MF(+)AAH, malignant foci of adenomatous hyperplasia with malignant foci; nMF of MF(+)AAH, non malignant foci of adenomatous hyperplasia with malignant foci; OAH, ordinary adenomatous hyperplasia; PCNA LI, labeling index of proliferating cell nuclear antigen. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0005$, **** $p < 0.0001$. ns, not significant. Vertical bars mean the mean and the standard deviation of PCNA labeling indices.

Table 2. Etiology of cirrhosis with adenomatous hyperplasias

Etiology of LC	No. of cases with LC		Age ($\bar{x} \pm SD$)	No. of cases with the nodules				No. of cases with the types of HCC		
	Male	Female		AH	Ordinary AH	Atypical AH	HCC	Nodular	Massive	Diffuse
HBV	50	15	56.8 \pm 11.5	17	17 (26.2) ^{a)}	1 (1.5)	50 (76.9)	24	21	5
Non A non B	103	43	64.4 \pm 9.2	26	20 (13.7)	13 (8.9)	104 (71.2)	75	28	1
Alcohol	28	3	53.1 \pm 9.9	3	3 (9.7)	0 (0.0)	12 (38.7)	6	3	3
PBC	1	6	53.9 \pm 9.1	3	2 (28.6)	1 (14.3)	1 (14.3)	1	0	0
Hemochromatosis	2	1	53.0 \pm 8.8	1	1	0	1	0	1	0
Secondary biliary cirrhosis	1	1	53.5 \pm 14.5	2	2	0	0	0	0	0
Fatty cirrhosis	0	1	56	1	1	0	0	0	0	0
PSC	0	1	62	0	0	0	0	0	0	0
Wilson's disease	0	1	15	0	0	0	0	0	0	0

AH, adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma; HBV, hepatitis B virus; No, number; PBC, primary biliary cirrhosis; PSC, primary sclerosing cholangitis.

a) Figures in parenthesis indicate percentage of cases with the nodules.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.005$.

Table 3. Histological classification of cirrhosis with adenomatous hyperplasias

Type of LC	No. of cases with LC	No. (%) of cases with the nodules			
		AH	Ordinary AH	Atypical AH	HCC
Micronodular	83	8 (9.6)	8 (9.6)	1 (1.2)	38 (45.8)
Macronodular	50	9 (38.0)	18 (36.0)	3 (6.0)	40 (80.0)
Mixed nodular	124	26 (21.0)	20 (16.1)	11 (8.9)	90 (72.6)

LC, liver cirrhosis; AH, adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0005$.

HCC ともその合併率に増減はみられなかった (表 5)。検討した21年間を前半11年 (1974-1984) と後半10年 (1985-1994) に分けて検討したところ AH, AAH, OAH, HCC の合併率に有意な変化はなかったが, AAH の合併率は前半で 5/127 (3.9%), 後半で10/130 (7.7%) と増加傾向がみられた。

Ⅲ. AH の予後因子の検討: 針生検肝組織を用いた組織学的検討

対象の81結節は3名の病理医により組織学的に HCC 35結節, AAH 26結節, OAH 20結節と診断された。このうち12ヶ月以上経過観察ができた AH 20例22結節 (AAH 10結節, OAH 15結節) について検討した (表 6)。これらの平均年齢は 61.7±8.7才で, 性別は男性12例・女性8例, 肝炎ウイルス感染

は HBV 6例, HCV 14例であった。これら22結節は平均観察期間25.4ヶ月 (13-50ヶ月) において AAH 4結節が HCC へと進展 (進展群) したが, 他の18結節は不変あるいは消失した (非進展群)。

表 7 に全結節における組織学的パラメータを, 表 8 に進展群と非進展群の2群間における組織学的パラメータの比較の結果を示した。結節部の核密度は進展群, および非進展群でそれぞれ 2059±549/mm², 1597±335/mm², 全体としては 1682±400/mm², 結節部/非結節部の比はそれぞれ 1.37±0.36, 1.02±0.23, 1.08±0.27 と伴に進展群が非進展群に比し有意に高かった (p<0.05)。小細胞性ディスプラジアは進展群 3/4 (75%), 非進展群 4/18 (22%) と進展群に多い傾向にあった

Table 4. Association of adenomatous hyperplasia and hepatocellular carcinoma in liver cirrhosis

Existence of HCC	Type of HCC	No. of cases with LC	No. (%) of cases with the nodules		
			AH	Ordinary AH	Atypical AH
Without HCC		89	19(21.3)	19(21.3)	0(0.0)
With HCC		168	34(20.2)	27(16.1)	15(8.9)
	Nodular	106	28(26.4)	21(19.8)	14(13.2)
	Massive	53	6(11.3)	6(11.3)	1(1.9)
	Diffuse	9	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

LC, liver cirrhosis; AH, adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma.

*p<0.005, **p<0.0005.

Table 5. Number of cirrhotic cases with adenomatous hyperplasias

Year	No. of cases with LC	No. of cases with the nodules			
		AH	Ordinary AH	Atypical AH	HCC
1974	1	0	0	0	0
1975	14	3	3	0	6
1976	7	0	0	0	4
1977	11	3	3	1	7
1978	11	2	2	2	8
1979	16	2	2	0	11
1980	16	2	2	1	10
1981	16	2	2	0	7
1982	12	2	2	0	8
1983	9	2	2	1	9
1984	14	3	3	0	8
1985	10	4	3	1	5
1986	12	3	2	1	7
1987	19	2	2	1	12
1988	21	9	8	1	11
1989	12	4	3	2	10
1990	8	1	1	1	7
1991	11	1	1	0	10
1992	13	4	3	3	9
1993	15	2	2	0	12
1994	9	0	0	0	7
1974-84	127	21(16.5) ^{a)}	21(16.5)	5(3.9)	78(61.4)
1985-94	130	32(24.6)	25(19.2)	10(7.7)	90(69.2)
Total	257	53(20.6)	46(17.9)	15(5.8)	168(65.4)

AH, adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma; LC, liver cirrhosis.

a) Figures in parenthesis indicate percentage of cases with the nodules.

Table 6. Clinical characteristic of subjects

Nodule number	Histological diagnosis (needle biopsy)	Age	Sex	Associated virus	Size of nodules (mm)	Progression to HCC (periods)	Follow up periods (mo)
1	AAH	69	Male	HCV	13	+(6 mo)	26
2	AAH	67	Male	HCV	13	+(7 mo)	35
3	AAH	56	Male	HCV	10	+(14 mo)	50
4	AAH	63	Female	HCV	6	+(15 mo)	18
5	AAH	46	Female	HBV	11	-	13
6	AAH	76	Male	HCV	8	-	14
7	AAH	68	Female	HCV	7	-	27
8	AAH	57	Female	HCV	15	-	34
9	OAH	64	Male	HBV	20	-	23
10	OAH	71	Male	HCV	13	-	27
11	OAH	57	Female	HCV	15	-	19
12(1)	OAH	44	Male	HBV	12	-	20
12(2)	OAH	44	Male	HBV	17	-	20
12(3)	OAH	44	Male	HBV	14	-	20
13	OAH	56	Female	HCV	8	-	26
14	OAH	64	Female	HCV	10	-	15
15	OAH	62	Male	HCV	10	-	18
16	OAH	71	Male	HBV	6	-	26
17	OAH	68	Male	HBV	9	-	26
18	OAH	64	Female	HCV	6	-	30
19	OAH	66	Male	HBV	8	-	35
20	OAH	45	Male	HCV	10	-	36

AAH, atypical adenomatous hyperplasia; OAH, ordinary adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma; HBV, Hepatitis B virus; HCV, Hepatitis C virus; mo, months; +, positive; -, negative.

Table 7. Histological parameters of needle biopsy specimens

Nodule number	Progression to HCC	Histological diagnosis	Nuclear ^{a)} density (/mm ²)	Ratio of ^{b)} nuclear density	SCD	LCD	Microacinar formation	Clear cell change	Nuclear deviation	Fatty change	Alteration of stainability	Reduction of reticulin fiber
1	+	AAH	2008	1.32	+	-	-	+	-	+	+	-
2	+	AAH	1882	1.08	+	-	-	-	-	+	-	-
3	+	AAH	1525	1.18	-	-	-	+	-	+	-	-
4	+	AAH	2824	1.88	+	-	-	-	-	+	+	-
5	-	AAH	1780	0.93	-	-	-	-	-	+	-	+
6	-	AAH	1745	1.33	-	-	-	-	+	-	-	+
7	-	AAH	1362	1.19	+	-	-	+	-	-	+	-
8	-	AAH	2082	1.41	+	-	-	-	-	-	+	-
9	-	OAH	1395	0.86	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	OAH	1629	0.86	-	-	-	-	+	-	+	-
11	-	OAH	1479	1.16	-	-	-	-	-	-	-	-
12(1)	-	OAH	1602	1.11	-	+	-	+	-	-	-	-
12(2)	-	OAH	1584	1.10	-	+	-	-	-	-	-	-
12(3)	-	OAH	870	0.60	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	OAH	1773	1.33	-	+	-	-	-	+	-	-
14	-	OAH	1903	1.16	+	-	-	-	-	-	-	-
15	-	OAH	1930	0.85	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	OAH	1656	1.00	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	OAH	2190	1.03	+	+	-	-	-	-	-	-
18	-	OAH	1082	0.63	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	OAH	1398	0.79	-	-	-	-	-	+	-	-
20	-	OAH	1301	0.96	-	-	-	-	-	+	-	-

AAH, adenomatous hyperplasia; HCC, hepatocellular carcinoma; LCD, large cell dysplasia; OAH, ordinary adenomatous hyperplasia; SCD, small cell dysplasia; +, positive; -, negative.

Table 8. Progression to hepatocellular carcinoma and histological parameters

Histological parameters	Progression to HCC		P value
	HCC group ^{a)} (4) ^{b)}	Non HCC group ^{c)} (18) ^{d)}	
Nuclear density in the nodule (/mm ²)	2059±549	1597±335	p<0.05
Ratio of nuclear density ^{e)}	1.37±0.36	1.02±0.23	p<0.05
Small cell dysplasia	3 (75) ^{f)}	4 (22)	p=0.08
Large cell dysplasia	0 (0)	4 (22)	
Microacinar formation	0 (0)	0 (0)	
Clear cell change	2 (50)	2 (11)	
Nuclear deviation toward the sinusoids	0 (0)	2 (11)	
Fatty change	4 (100)	4 (22)	p<0.01
Alteration of stainability	2 (50)	3 (17)	
Reduction of reticulin fiber	0 (0)	2 (11)	

HCC, hepatocellular carcinoma.

a) HCC group consists of the nodules which progressed to HCC.

b) Number of cases who belong to the HCC group.

c) Non HCC group consists of the nodules which did not progress to HCC in follow-up periods.

d) Number of cases who belong to the non HCC group.

e) Nuclear density in the nodule/nuclear density outside of the nodule.

f) Figures in parenthesis indicate % of positive cases to total cases to cases of each group.

(p=0.08). 脂肪化は進展群 4/4 (100%), 非進展群 4/18 (22%) と進展群に有意に多く見られた (p<0.01). 特に小細胞性ディスプラジアと脂肪化の両所見がみられた 3 結節は全てが進展群であった (表 7). なお, その他の組織学的パラメータでは両群間で差はなかった.

考 察

各種画像診断の進歩により慢性肝疾患の肝内で直径 1cm 前後の小結節性病変が発見されるようになってきた. そして, これらのなかには従来の経験では癌とは診断できないが種々の異型性を示す結節性病変が経験され, それらの内部にはグリソン鞘が残存し, さらに明らかな HCC 病巣を内包しているものも存在することが次第に明らかとなってきた^{1)2)5)9)11)17)18)47)~49)}.

さて, これらの結節性病変は Edmondson⁵⁰⁾ が記述した AH と形態学的に類似しているため, 本邦においてはこれらを AH と呼ぶことが多い. これまでの報告では, AH を構成する肝細胞に異型がほとんどないものと異型があるものとの分類しているものが多い¹¹⁾⁴¹⁾⁷¹⁾⁸⁾. OAH は形態学的に周囲の再生結節と類似し, 再生結節の大きいものであると考えられており⁴⁸⁾, 大型再生結節 (large regenerative nodule)⁵¹⁾⁵⁴⁾⁸⁾とも呼ばれている. 一方, AAH の内部にはさまざまな異型病巣⁴¹⁾や HCC 病巣がみられること¹⁾²⁾⁵⁾⁹⁾¹²⁾¹⁴⁾¹⁷⁾¹⁸⁾⁴¹⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾から腫瘍性病変と推察されている. さらに, Tsuda ら⁹⁾は HBs 抗原陽性肝硬変例にみられた HCC 病巣を内包する AAH のモノクロナリティーを B 型肝炎ウイルスの組み込みパターンから解析し, AAH がモノクロナルに増殖し, 内部の HCC 巣が同一クローンから発生していたことを報告した.

原発性肝癌取扱い規約第 3 版⁵¹⁾では異型を有する結節性病変を AH と AAH に細分類している. 1995 年 Wanless らを中心とした国際ワーキングパーティ (international working party)⁵²⁾は明らかな癌とはいえない異形成 (dysplasia) を伴う結節を異形成性結節 (dysplastic nodule) とし, さらにその異型の程度により低異型度 (low-grade) と高異型度 (high-grade) とに

分類している. しかし, 異型を有する結節をさらにその異型の程度により分類することはしばしば困難であり, これらの結節性病変の研究を行う場合に客観性が失われる可能性が危惧される. このため, 本検討においては Nakanuma ら¹¹⁾の定義・分類に従い, OAH と AAH に分類した.

さて, 細胞増殖活性の検索は腫瘍性病変の生物学的特性を評価するうえで有用である^{26)~32)}. 従来, 細胞増殖を評価する方法として, ³H チミジンの取り込み, AgNOR 染色, DNA ポリメラーゼ α , Ki-67, ブロモデオキシウリジン (bromodeoxyuridine, BrdU), PCNA の免疫染色, フローサイトメーターなどの手法がある. これらのうち AgNOR 染色と PCNA 免疫染色はホルマリン固定パラフィン包埋切片に対しても検討可能な手法であり, 多くの報告がなされている. AgNOR 数と PCNA LI は BrdU LI, Ki-67 染色, フローサイトメーターを用いた細胞動態の指標とよく相関する^{53)~56)}.

近年, AgNOR は肝を含めた多数の臓器における悪性腫瘍, 前癌病変, 良性増殖性疾患の増殖活性や悪性度の評価に有用であることが報告されている^{26)~32)}. ヒトにおいて核小体構成領域 (nucleolar organizer region, NOR) は D 群, G 群のアクロセントリック染色体である 13 番, 14 番, 15 番, 21 番, 22 番染色体の中期 (metaphase) にみられる⁵⁷⁾. NOR 関連蛋白は RNA ポリメラーゼ I³⁴⁾, B23, C23 と関連していると考えられており³⁵⁾³⁷⁾³⁸⁾, これらは rRNA の転写の調節機能を有しているとされている³⁶⁾. 最近, 各種肝疾患での AgNOR の解析が報告されている. Crocker ら²¹⁾は肝細胞の平均 AgNOR 数は正常肝, 肝硬変, 肝悪性腫瘍の順に有意に増加していたと述べている. Tanaka ら⁵⁴⁾はラット肝発癌モデルにおける前癌病変や HCC について, AgNOR 数と BrdU LI を検討し, 肝細胞での両マーカーは正常肝から HCC へと段階的に増加することを報告している. Seki ら⁵⁸⁾は AgNOR 数は HCC の病期と関連し, また悪性度を反映していると報告している.

一方, PCNA はサイクリン (cyclin) とよばれ, 細胞周期に関連する 36kDa の核蛋白である⁵⁹⁾. PCNA は DNA ポリメラー

ゼデルタの補助蛋白であり、S期の増殖細胞の核に存在する³⁹⁾⁴⁰⁾。PCNA免疫染色を用いた検討では、Nakajimaら⁶⁰⁾はPCNA LIがHCCの分化度と相関すると報告している。しかし、従来の検討で多数例でのAHの増殖活性を検討した報告はみられない。

今回の検討の結果、AHのAgNOR数は肝硬変とHCCの中間の値を示し、OAH、MF(-)AAH、MF(+)AAHの非癌部、MF(+)AAHの癌部の順に増加していた。PCNA LIにおいてもMF(-)AAHがOAHとHCCの中間の値を示した。そして、OAHと肝硬変のAgNOR数に差がなかったことは、OAHがその周囲の再生結節と形態学的に類似しているのみならず、肝細胞の増殖活性も類似していることを示唆している。MF(-)AAHとMF(+)AAHの非癌部のAgNOR数はOAHと肝硬変より有意に高く、HCCより低かった。このことは、MF(-)AAHとMF(+)AAHの非癌部の増殖活性がOAHと肝硬変より高いことを示している。MF(+)AAHの癌部のAgNOR数はMF(-)AAHより高く、HCCと差がなかったことは、MF(+)AAHの癌部が形態像のみならず、その増殖活性の面からもHCCと同等の生物学的特性を有することを示唆している。このように、MF(-)AAHがHCCと肝硬変との中間の増殖活性を示し、さらにAAHに内包されたHCC巣がHCCと同様の増殖活性を有していることは、AAHが前癌病変であり、その内部にHCCが発生するという多段階発癌を支持している。

さて、慢性肝疾患でのAHの頻度に関して、剖検肝、切除肝、移植時摘出肝を用いたいくつかの検討がなされている^{5)14)17)~19)47)48)61)}。AHの合併頻度はその定義・分類により異なり、特に種々の異型を有するAHについてはその定義やHCCとの鑑別などが問題となり、その頻度を単純に比較することに慎重であらねばならない。しかし、古典的なHCCを除外した結節性病変の頻度は各報告者間においても比較が可能であろう。剖検肝での検討は本邦より二つ報告されている。Furuyaら¹⁴⁾は345例の慢性肝疾患の剖検肝を検索し、49例14.2%に86個のMRNが合併し、これらは大結節性肝硬変に多かったと報告している。また、Wadaら¹⁹⁾は141例の肝硬変剖検例を検討し、53例37.6%に94個の結節性病変をみとめ、83個の大型再生結節と11個の異形成性結節(dysplastic nodule)であったと報告している。今回の検討ではAHは21.4%に認められており、これらの2つの報告との差は結節性病変の定義における最小径の差によると思われる。本検討では結節の最小径を8mm以上としているのに対し、Furuyaらは10mm以上、Wadaらは5mm以上としている。

欧米における移植時摘出肝でのAHの頻度は、Theiseら¹⁷⁾は44例中11例25%、Ferrellら¹⁸⁾は110例中15例13.6%に、Hytioglouら⁶¹⁾は155例中44例28.4%にみられたと報告しており、移植例では剖検例より年齢が若く、HCC合併例が少ないにもかかわらずAHの合併頻度は剖検例での検討の結果とほぼ同様であった。

何らかの異型を有するAHの頻度について、剖検例での検討ではFuruyaら¹⁴⁾はⅡ型MRNが2.9%に、Wadaら¹⁹⁾は異形成性結節が3.5%に、Ferrellら¹⁸⁾は異型型MRNが2.7%にみられたと報告している。一方、EguchiらとSakamotoらは肝癌切除例の切除肝について検討しており、Eguchiら⁴⁸⁾はAH群(AH, AAH, AH with containing cancerous foci)が20%にみ

れたと報告しており、Sakamotoら⁶⁾は大型再生結節とは異なる小結節性病変が12.8%にみられたと報告している。彼らはこれらを部分的に明らかなHCCと同様の構造異型を有している早期(early)HCCと構造異型のみられないAHとに分類しており、本報告でのMF(+)AAH、MF(-)AAHに相当すると考えられる。これらは切除肝であるので肝全体を検索していないにもかかわらずAHの合併は高率である。これは後述のようにHCC合併例では異型を有するAHの合併が多いこと¹⁷⁾¹⁸⁾⁶¹⁾と関連していると考えられる。

今回の検討では、AAHは肝硬変剖検例の5.8%に合併していた。この結果は上述の剖検肝および移植時摘出肝での検討の結果とほぼ一致している。これらの病変が前癌病変とするとHCCの合併率65.8%に比して低率と言わざるを得ない。予想より低い理由として、大腸癌で報告されている前癌病変を介さない発癌過程(de novo)が肝においてもかなり存在するのかもしれない⁶²⁾。あるいは、慢性肝炎から肝硬変、肝癌に至る過程においてAAHの好発する時期が存在し、剖検時においてはAAHはHCCへと進展しているかあるいは消失してしまうのかもしれない。外科切除例の検討においてAAHの合併が高率であるのもこのことに関連しているのかもしれない。

肝硬変の成因別の検討では、OAHは様々な成因の肝硬変に合併していたが、AAHはB型肝硬変と非A非B型肝硬変とPBCにのみみられた。特に興味深いのは、AAH合併肝硬変15例中13例(86.7%)とそのほとんどが非A非B型肝硬変例であり、B型肝硬変例はまれ(15例中1例)であったことである。症例が少ないため両者間のAAH合併率に有意差はなかったが、非A非B型肝硬変とそれ以外の肝硬変とを比較すると有意にAAHの合併が非A非B型肝硬変で高率であった($p < 0.05$)。これらのことは、OAHとAAHが異なる成因の肝硬変を背景に発生しやすいことを示唆している。この理由は不明であるが、AAHの発生には非A非B型肝炎ウイルス感染、すなわちHCV感染が関連していることを示唆している。一方、HCCの合併率はB型肝硬変と非A非B型肝硬変で差がなく、B型肝硬変と非A非B型肝硬変における発癌過程が異なることが推測される。すなわち、非A非B型肝硬変ではAHを介する多段階発癌によるHCCの発生頻度がB型肝硬変より多いのかもしれない。肝硬変の形態分類別の検討では、OAHは大結節性肝硬変に多く合併し、AAHは混合結節性肝硬変に多く合併していた。FerrellらもMRNは混合結節性肝硬変に多く合併していたと報告している。

また、AAHを合併していた肝硬変例は全例、HCCを合併していた。このことはAAHとHCCは共通の発生母地を有していることを示唆している。つまり、剖検時においてHCCの発生をみない、発癌のリスクの低い症例ではAAHの発生もみられないことを意味している。また、AAHが前癌病変とすれば、AAHとHCCが同時に存在していたことやAAH多発例が多くみられたことはHCCが多中心性に発生する^{63)~65)}ことに合致している。また、AAH切除例はHCC発生のハイリスク群であるとされており⁶⁶⁾、このこともAAHとHCCの関連性を示している。AAHと同時にみられたHCCのほとんどは結節型であった。したがって、結節型のHCC症例に遭遇した際には、AAHの併発を十分考慮しなければならない⁴⁸⁾。一方、OAHはHCCの存在とは無関係にみられた。このこともOAHは前癌病変ではなく、単なる大きな再生結節であるという考えを支持

する。Hytioglou ら⁶¹⁾は MRN の存在と HCC が関連していることを報告しており、異型を伴う II 型 MRN のみならず、頻度は低い異型を伴わない I 型 MRN も HCC と関連があったとしている。本検討の対象においては HCC を内包する AH は全て AAH であったことから、I 型 MRN や OAH から HCC へ進展するのではなく、OAH が発生しやすい肝硬変と HCC が発生しやすい肝硬変との間に何か共通の因子があるのであろう。

なお、今回の検討で後半の10年間(1985-1994)では前半の11年間(1974-1984)より統計学的に有意差はないものの AH、特に AAH の合併頻度が高く、これらが徐々に増加傾向にあることを示唆している。近年肝硬変の成因に変化がみられ、特に HCV 感染に関連する肝硬変が増加している⁶⁷⁾。本検討においても AAH 合併は非 A 非 B 型肝炎硬変で 8.9%、特に HCV 抗体陽性例では 13.8% と高率であったこともこれを支持しており、Ferrell らも HCV 感染は MRN の合併に関連していると報告している¹⁹⁾。非 A 非 B 型肝炎硬変のほとんどが HCV 感染例であることから、HCV 感染例の増加が AAH 合併率の増加に関与しているのかもしれない。

臨床的に発見される肝結節性病変の診断には、結節の狙撃生検による病理学的検索が重要な情報を提供してくれる。生検により組織学的に診断された AH の自然経過の検討として、本邦およびイタリアから 4 つの報告がある。Kondo ら⁹⁾は 17 結節の大型再生結節(本検討の OAH とほぼ一致)を一年以上経過観察し、いずれもサイズの増大はみられず、4 例は画像上同定されなくなり、再度生検を行った 7 例はいずれも組織学的にも HCC と診断されなかったと報告している。Takayama ら⁶⁸⁾は生検により診断された 18 結節の AH (細胞密度の増大はあるが、核異型や構造異型のないものと定義)を 1-5 年経過観察し、その増大速度と画像所見の変化から 9 結節(50%)が画像診断上癌化し、うち 7 結節は組織学的にも HCC への進展を確認できたと報告している。Rapaccini ら⁶⁹⁾は腹部エコーで検出された 12 個の再生結節(regenerative nodule)を経過観察し、10 結節が癌化したと報告している。しかし、彼らの対象とした結節の結節径は平均 33.7mm で最小 17mm から最大 52mm と大きい。Lencioni ら⁷⁰⁾は AH 19 結節を経過観察し、13 結節(68%)が HCC へと進展したと報告している。この検討での AH の基準は周囲の再生結節より小型で索状構造の変化、細胞密度の軽度増加がみられるものとしており、異型を有する AH を対象としている。しかし、Rapaccini と同様、彼らの対象の 19 結節の平均結節径は 19mm と大きく、20mm 以上の結節が 6 結節含まれている。切除例、剖検例、移植時摘出肝での検討では AH のほとんどが 15mm 以下であり、悪性度の高い病変は結節径も大きいことが報告されている⁵¹⁽⁴¹⁾⁷¹⁽⁹⁴⁾⁷⁴⁽⁸⁸⁾。したがって、Rapaccini ら⁶⁹⁾と Lencioni ら⁷⁰⁾はより HCC に近い結節あるいは既に HCC になった例を対象としていると思われる。しかし、これらのいずれの報告も組織所見と癌化との関連性については十分検討されていない。また、切除肝や剖検肝では結節全体を組織学的に観察できるが、針生検組織では結節の一部分のみしか観察できない。したがって、組織学的に OAH、AAH、HCC の診断が困難な場合もあり、また悪性度を過小評価する危険がある。このため本検討では生検にて OAH と診断されているものも対象に含めて検討した。

今回、これらの生検標本でどのような組織学的な所見がみられる結節が HCC へ進展するポテンシャルが高いかがわかれば

臨床的に有用であると考え、組織学的所見をいくつかのパラメータに分けて検討した。組織学的診断では病理医の主観が入るが、もしそれぞれの組織学的パラメータに分けて検討すれば、より客観的な指標となりうると考えたからである。

AAH にはさまざまな異型がみられる⁴¹⁾が、その中でどの異型所見がみられる結節が HCC へと進展しやすいかは未だ明らかとはなっていない。今回の検討から、核密度の増加、小細胞性ディスプラジア、脂肪化のみられる結節が肝細胞癌へ進展するリスクが高いことが示された。

脂肪化は異型を有する AH や高分化型 HCC に高率にみられるとされている⁵⁴⁾。今回の検討では脂肪化は重要な危険因子ではあったが、脂肪化以外の所見を伴わない結節では癌化しない結節もあり、脂肪化に加え他の組織学的因子、特に小細胞性ディスプラジアを同時に認める結節は HCC へ進展するリスクの高い結節であった。

核密度や細胞密度は客観性のある病理組織学的指標となりうる。しかし、結節部の核密度の計測は切片の厚みや標本作成時の固定などの種々の影響をうけやすい。そこで、結節部と非結節部の比を用いれば異なる研究者や臨床家間で比較可能な指標として用いることができる。本検討では結節部の核密度も結節部と非結節部の比もいずれも HCC への進展と関連していた。国際ワーキングパーティ(international working party)⁷²⁾は高分化型肝細胞癌(well differentiated HCC)、異形成性結節(dysplastic nodule)の鑑別診断の一つの指標に細胞密度をあげている。Kondo ら⁹⁾は細胞密度の増加と小腺管形成と細胞質の好塩基性変化を高分化型肝細胞癌の三主徴と提唱している。核密度、細胞密度が高いことはその結節の増殖活性が高いことを反映していると思われ、より癌化のポテンシャルが高いと考えられる。

肝細胞性ディスプラジアのうち、大細胞性ディスプラジアは Anthony ら⁴¹⁾により初めて報告され、プロイディーパターンや核の形態などから HCC の前癌病変ではないかと注目されてきた。しかし、本邦においては B 型慢性肝炎との関連性が注目されており⁷¹⁾、むしろ反応性の病変ではないかと考えられている。最近、Borzio ら⁷³⁾は 307 例の肝硬変を対象としてコホート研究を行い HCC 発生に関わる因子を多変量解析し、大細胞性ディスプラジアが最も有意な因子であったことを報告している。一方、小細胞性ディスプラジアは Watanabe ら⁴³⁾により初めて報告され、肝細胞の小型化、核濃染と核胞体比の上昇で特徴づけられる。小細胞性ディスプラジアは細胞増殖活性が高く、また、P53 蛋白の過剰発現がみられることが免疫組織学的に示されており⁷³⁻⁷⁵⁾この病巣も HCC の発生と関連があると考えられている⁴³⁾⁷⁴⁾。AH の内部にみられるディスプラジアが慢性肝疾患にみられるディスプラジアと形態学的には類似しているが、全く同一のものであるかは不明である。Hytioglou ら⁶¹⁾は結節内にみられる大細胞性ディスプラジアは HCC との関連性はなく II 型 MRN の定義における細胞異型には含めるべきではない報告している。本検討においても AH 内にみられる大細胞性ディスプラジアは HCC 進展への危険因子ではなかった。肝細胞性ディスプラジアと AAH の発生との関連性も含め、今後のさらなる検討が必要と考えられる。

結 論

肝腫瘍様過形成についてその細胞増殖活性、肝硬変剖検例に

おけるサーベイ, 組織学的予後因子について臨床病理学的に検討し, 以下の結論を得た.

1. AgNOR 染色と PCNA 免疫染色を用いて増殖活性を検討したところ AAH の増殖活性は, 肝硬変と HCC の中間であった. 一方, OAH の増殖活性は肝硬変と同等であった. また, AAH 内部にみられた HCC 巢の増殖活性は HCC と同等であった.

2. 全肝硬変剖検例のうち AH は257例中55例 (21.4%) 140結節みられ, AAH は15例 (5.8%) に44結節, OAH は44例 (17.1%) に98結節みられた. AAH 44結節のうち18結節は MF (+) AAH であった.

3. 結節の大きさは OAH が 10.1 ± 2.6 mm, AAH は 12.6 ± 4.4 mm であり, 有意に AAH の結節径が大きかった. しかし, MF (-) AAH のみでは結節径は 10.9 ± 4.2 と OAH と有意差はなく, MF (+) AAH の結節径は 14.1 ± 4.2 mm であり OAH および MF (-) AAH より有意に大きかった. また, AAH, OAH とも多発例が多くみられた.

4. AAH はB型肝硬変より非A非B型肝硬変に多い傾向にあった. 特に HCV 抗体陽性例ではさらに AAH の合併率が高かった. 一方, OAH は非A非B型肝硬変よりB型肝硬変に多かった. しかし, HCC の合併率はB型肝硬変と非A非B型肝硬変で差はなかった. したがって, 非A非B型肝硬変とB型肝硬変では発癌過程が異なっていると考えられた.

5. OAH の合併率は HCC の有無と関連はなかったが, AAH は HCC を合併した肝硬変に高率に合併しており, HCC を合併していない肝硬変にはみられなかった. このことから, AAH と HCC が共通の発生母地を有していることが示唆された.

6. AH の合併率を年次別に検討すると, OAH, AAH, HCC ともその合併率に変化はみとめなかった. しかし, AAH は増加傾向にあった.

7. HCC への進展と関連していたのは核密度の増加, 脂肪化, 小細胞性ディスプラジアであった. 特に小細胞性ディスプラジアと脂肪化の両所見がみられた3結節は全てが HCC へ進展した.

以上より, AAH は増殖活性が高く, HCC の合併と関連しており, 前癌病変あるいは初期の肝細胞癌であることが示唆された. 一方, OAH は増殖活性が肝硬変と同等であり, HCC の合併とも関連は乏しく, 腫瘍性の性格のない大きな再生結節であると考えられた. また, 臨床的には, 生検組織中に核密度の増加, 脂肪化, 小細胞性ディスプラジアがみられた結節は HCC へ進展するリスクの高い結節として対処すべきと考えられた.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 御指導と御検閲を賜りました恩師小林健一教授に深甚なる謝意を表します. また, 本研究の遂行にあたり直接の御指導, 御助言をいただきました恩師中沼安二教授, 寺田忠史助教授に深謝の意を表します. さらに, 本研究に終始御協力, 御援助いただきました金沢大学第一内科, 金沢大学第二病理の諸先生, 技師の方々に深謝します.

本論文の一部は第26回日本肝臓学会総会 (1990, 東京), 第28回日本肝臓学会総会 (1992, 東京) において発表した.

文 献

1) Nakanuma, Y., Terada, T., Terasaki, S., Ueda, K.,

Nonomura, A., Kawahara, E. & Matsui, O.: 'Atypical adenomatous hyperplasia' in liver cirrhosis: low-grade hepatocellular carcinoma or borderline lesion? *Histopathology*, 17, 27-35 (1990).

2) Arakawa, M., Kage, M., Sugihara, S., Nakashima, T., Suenaga, M. & Okuda, K.: Emergence of malignant lesions within an adenomatous hyperplastic nodule in a cirrhotic liver. Observations in five cases. *Gastroenterology*, 91, 198-208 (1986).

3) Kondo, F., Ebara, M., Sugiura, N., Wada, K., Kita, K., Hirooka, N., Nagato, Y., Kondo, Y., Ohto, M. & Okuda, K.: Histological features and clinical course of large regenerative nodules: evaluation of their precancerous potentiality. *Hepatology*, 12, 592-598 (1990).

4) Kondo, F., Wada, K., Nagato, Y., Nakajima, T., Kondo, Y., Hirooka, N., Ebara, M., Ohto, M. & Okuda, K.: Biopsy diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma based on new morphologic criteria. *Hepatology*, 9, 751-755 (1989).

5) Sakamoto, M., Hirohashi, S. & Shimosato, Y.: Early stages of multistep hepatocarcinogenesis: adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma. *Hum. Pathol.*, 22, 172-178 (1991).

6) Matsui, O., Kadoya, M., Kameyama, T., Yoshikawa, J., Takashima, T., Nakanuma, Y., Unoura, M., Kobayashi, K., Izumi, R., Ida, M. & Kitagawa, K.: Benign and malignant nodules in cirrhotic livers: distinction based on blood supply. *Radiology*, 178, 493-497 (1991).

7) Arakawa, M., Sugihara, S., Kenmochi, K., Kage, M., Nakashima, T., Nakayama, T., Tashiro, S., Hiraoka, T., Suenaga, M. & Okuda, K.: Small mass lesions in cirrhosis: transition from benign adenomatous hyperplasia to hepatocellular carcinoma? *J. Gastroenterology and Hepatology*, 1, 3-14 (1986).

8) Terada, T., Hosono, M. & Nakanuma, Y.: Mallory body clustering in adenomatous hyperplasia in human cirrhotic livers: report of four cases. *Hum. Pathol.*, 20, 868-890 (1989).

9) Tsuda, H., Hirohashi, S., Shimosato, Y., Terada, M. & Hasegawa, H.: Clonal origin of atypical adenomatous hyperplasia of the liver and clonal identity with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 95, 1664-1666 (1988).

10) Gibson, J. & Sobin, H.: *Histological Typing of Tumor of the Liver, Biliary Tract and Pancreas*: No 20, p19-25, World Health Organization, Geneva, 1978.

11) Ohta, G. & Nakanuma, Y.: Comparative study of the three nodular lesions in cirrhosis. Adenomatoid hyperplasia, adenomatoid hyperplasia with intermediate lesion, and small hepatocellular carcinoma. *In* K. Okuda & K. Ishak (eds.), *Neoplasm of the Liver*, 1st ed., p177-187, Springer-Verlag, Berlin, 1987.

12) Terada, T., Kadoya, M., Nakanuma, Y. & Matsui, O.: Iron-accumulating adenomatous hyperplastic nodule with malignant foci in the cirrhotic liver. Histopathologic, quantitative iron, and magnetic resonance imaging in vitro

- studies. *Cancer*, **65**, 1994-2000 (1990).
- 13) Nagasue, N., Akamizu, H., Yukaya, H. & Yuuki, I.: Hepatocellular pseudotumor in the cirrhotic liver. Report of three cases. *Cancer*, **54**, 2487-2494 (1984).
- 14) Furuya, K., Nakamura, M., Yamamoto, Y., Toge, K. & Otsuka, H.: Macroregenerative nodule of the liver. A clinicopathologic study of 345 autopsy cases of chronic liver disease. *Cancer*, **61**, 99-105 (1988).
- 15) Terada, T., Nakanuma, Y., Hoso, M., Saito, K., Sasaki, M. & Nonomura, A.: Fatty macroregenerative nodule in non-steatotic liver cirrhosis. A morphologic study. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.*, **415**, 131-136 (1989).
- 16) Terada, T. & Nakanuma, Y.: Iron-negative foci in siderotic macroregenerative nodules in human cirrhotic liver. A marker of incipient neoplastic lesions. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **113**, 916-920 (1989).
- 17) Theise, N. D., Schwartz, M., Miller, C. & Thung, S. N.: Macroregenerative nodules and hepatocellular carcinoma in forty-four sequential adult liver explants with cirrhosis. *Hepatology*, **16**, 949-955 (1992).
- 18) Ferrell, L., Wright, T., Lake, J., Roberts, J. & Ascher, N.: Incidence and diagnostic features of macroregenerative nodules vs. small hepatocellular carcinoma in cirrhotic livers. *Hepatology*, **16**, 1372-1381 (1992).
- 19) Wada, K., Kondo, F. & Kondo, Y.: Large regenerative nodules and dysplastic nodules in cirrhotic livers: a histopathologic study. *Hepatology*, **8**, 1684-1688 (1988).
- 20) Cairns, P., Suarez, V., Newman, J. & Crocker, J.: Nucleolar organizer regions in transitional cell tumors of the bladder. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **113**, 1250-1252 (1989).
- 21) Crocker, J. & McGovern, J.: Nucleolar organizer regions in normal, cirrhotic, and carcinomatous livers. *J. Clin. Pathol.*, **41**, 1044-1048 (1988).
- 22) Crocker, J. & Skilbeck, N.: Nucleolar organizer region associated proteins in cutaneous melanotic lesions: a quantitative study. *J. Clin. Pathol.*, **40**, 885-889 (1987).
- 23) Fallowfield, M. E. & Cook, M. G.: The value of nucleolar organizer region staining in the differential diagnosis of borderline melanocytic lesions. *Histopathology*, **14**, 299-304 (1989).
- 24) Helpap, B.: Observations on the number, size and localization of nucleoli in hyperplastic and neoplastic prostatic disease. *Histopathology*, **13**, 203-211 (1988).
- 25) Smith, R. & Crocker, J.: Evaluation of nucleolar organizer region-associated proteins in breast malignancy. *Histopathology*, **12**, 113-125 (1988).
- 26) Konishi, N., Nakaoka, S., Tsuzuki, T., Kitahori, Y., Nishii, K., Kitamura, M., Ohshima, M. & Hiasa, Y.: Progressive activity in latent prostate carcinoma defined by argyrophilic staining of the nucleolar organizer regions (AgNOR). *Pathol. Int.*, **44**, 297-302 (1994).
- 27) Kunishio, K., Ohmoto, T., Matsuhisa, T., Maeshiro, T., Furuta, T. & Matsumoto, K.: The significance of nucleolar organizer region (AgNOR) score in predicting meningioma recurrence. *Cancer*, **73**, 2200-2205 (1994).
- 28) Nielsen, A. L., Nyholm, H. C. & Engel, P.: Expression of MIB-1 (paraffin ki-67) and AgNOR morphology in endometrial adenocarcinomas of endometrioid type. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, **13**, 37-44 (1994).
- 29) Kuwano, H., Sumiyoshi, K., Nozoe, T., Yasuda, M., Watanabe, M. & Sugimachi, K.: The prognostic significance of the cytophotometric DNA content and its relationship with the argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in oesophageal cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.*, **21**, 368-373 (1995).
- 30) Shimazui, T., Tomobe, M., Hattori, K., Uchida, K., Akaza, H. & Koiso, K.: A prognostic significance of nucleolar organizer region (AgNOR) in renal cell carcinoma. *J. Urol.*, **154**, 1522-1526 (1995).
- 31) Fogt, F., Vortmeyer, A. O. & Tahan, S. R.: Nucleolar organizer regions (AgNOR) and Ki-67 immunoreactivity in cutaneous melanocytic lesions. *Am. J. Dermatopathol.*, **17**, 12-17 (1995).
- 32) Zoeller, J., Flentje, M., Sinn, P. & Born, I. A.: Evaluation of AgNOR and Ki-67 antigen as cell kinetic parameters in oral dysplasias and carcinomas. *Anal Cell Pathol.*, **7**, 77-88 (1994).
- 33) Limas, C. & Frizelle, S. P.: Proliferative activity in benign and neoplastic prostatic epithelium. *J. Pathol.*, **174**, 201-208 (1994).
- 34) Williams, M. A., Kleinschmidt, J. A., Krohne, G. & Franke, W. W.: Argyrophilic nuclear and nucleolar proteins of *Xenopus laevis* oocytes identified by gel electrophoresis. *Exp. Cell Res.*, **137**, 341-351 (1982).
- 35) Buys, C. H. & Osinga, J.: Selective staining of the same set of nucleolar phosphoproteins by silver and Giemsa. A combined biochemical and cytochemical study on staining of NORs. *Chromosoma*, **89**, 387-396 (1984).
- 36) Olson, M. O. & Thompson, B. A.: Distribution of proteins among chromatin components of nucleoli. *Biochemistry*, **22**, 3187-3193 (1983).
- 37) Ochs, R. L. & Busch, H.: Further evidence that phosphoprotein C23 (110 kD/pI 5.1) is the nucleolar silver staining protein. *Exp. Cell Res.*, **152**, 260-265 (1984).
- 38) Lishwe, M., Smetana, K., Olson, M. & Busch, H.: Protein C23 and B23 are the major nucleolar silver staining proteins. *Life Sci.*, **25**, 701-708 (1979).
- 39) Bravo, R., Frank, R., Blundell, P. A. & Macdonald Bravo, H.: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature*, **326**, 515-517 (1987).
- 40) Celis, J. E. & Celis, A.: Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 3262-3266 (1985).
- 41) Terada, T., Ueda, K. & Nakanuma, Y.: Histopathological and morphometric analysis of atypical adenomatous hyperplasia of human cirrhotic livers. *Virchows Arch. A*

- Pathol. Anat. Histopathol., 422, 381-388 (1993).
- 42) Ferrell, L. D., Crawford, J. M., Dhillon, A. P., Scheuer, P. J. & Nakanuma, Y.: Proposal for standardized criteria for the diagnosis of benign, borderline, and malignant hepatocellular lesions arising in chronic advanced liver disease. *Am. J. Surg. Pathol.*, 17, 1113-1123 (1993).
- 43) Watanabe, S., Okita, K., Harada, T., Kodama, T., Numa, Y., Takemoto, T. & Takahashi, T.: Morphologic studies of the liver cell dysplasia. *Cancer*, 51, 2197-2205 (1983).
- 44) Anthony, P. P., Vogel, C. L. & Barker, L. F.: Liver cell dysplasia: a premalignant condition. *J. Clin. Pathol.*, 26, 217-223 (1973).
- 45) Hsu, S. M., Raine, L. & Fanger, H.: The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am. J. Clin. Pathol.*, 75, 816-821 (1981).
- 46) Eggel, H.: Uber das Carcinom der Leber. *Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol.*, 30, 506-604 (1901).
- 47) Bail, B., Belleannee, G., Bernard, P., Saric, J., Balabaud, C. & Bioulac-Sage, P.: Adenomatous hyperplasia in cirrhotic livers: Histological evaluation, cellular density, and proliferative activity of 35 macronodular lesions in the cirrhotic explants of 10 adult french patients. *Hum. Pathol.*, 26, 897-906 (1995).
- 48) Eguchi, A., Nakashima, O., Okudaira, S., Sugihara, S. & Kojiro, M.: Adenomatous hyperplasia in the vicinity of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 15, 843-848 (1992).
- 49) Nakanuma, Y., Terada, T., Ueda, K., Terasaki, S., Nonomura, A. & Matsui, O.: Adenomatous hyperplasia of the liver as a precancerous lesion. *Liver*, 13, 1-9 (1993).
- 50) Edmondson, H. A.: Benign epithelial tumors and tumor-like lesions of the liver. In K. Okuda & R. Peters (eds.) *Hepatocellular Carcinoma*, 1st ed., p309-330, John Wiley and Sons, New York, 1976.
- 51) 日本肝癌研究会: 原発性肝癌取扱い規約, 第3版, 38-39頁, 金原出版社, 東京, 1992.
- 52) International Working Party: Terminology of nodular hepatocellular lesions. *Hepatology*, 22, 983-993 (1995).
- 53) Garcia, R. L., Coltrera, M. D. & Gown, A. M.: Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis. *Am. J. Pathol.*, 134, 733-739 (1989).
- 54) Tanaka, T., Takeuchi, T., Nishikawa, A., Takami, T. & Mori, H.: Nucleolar organizer regions in hepatocarcinogenesis induced by N-2-fluorenylacetylamide in rats: comparison with bromodeoxyuridine immunohistochemistry. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80, 1047-1051 (1989).
- 55) Crocker, J., Macartney, J. C. & Smith, P. J.: Correlation between DNA flow cytometric and nucleolar organizer region data in non-Hodgkin's lymphomas. *J. Pathol.*, 154, 151-156 (1988).
- 56) Giri, D. D., Nottingham, J. F., Lawry, J., Dundas, S. A. & Underwood, J. C.: Silver-binding nucleolar organizer regions (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: correlations with ploidy and growth phase by DNA flow cytometry. *J. Pathol.*, 157, 307-313 (1989).
- 57) Ferguson-Smith, M. & Handmaker, S.: Observations on the satellited human chromosomes. *Lancet*, 1, 638-640 (1961).
- 58) Seki, S., Sakaguchi, H., Kawakita, N., Yanai, A., Tamori, A., Yabusako, T., Nishiguchi, S., Kuroki, T., Kobayashi, K. & Morina, T.: Detection of the preneoplastic lesions of small hepatocellular carcinoma in cirrhotic livers. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 8, 582-589 (1993).
- 59) Mathews, M. B., Bernstein, R. M., Franza, B. R., Jr. & Garrels, J. I.: Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature*, 309, 374-376 (1984).
- 60) Nakajima, T., Kagawa, K., Ueda, K., Ohkawara, T., Kimura, H., Kakusui, M., Deguchi, T., Okanoue, T., Kashima, K. & Ashihara, T.: Evaluation of hepatic proliferative activity in chronic liver diseases and hepatocellular carcinomas by proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemical staining of methanol-fixed tissues. *J. Gastroenterol.*, 29, 450-454 (1994).
- 61) Hytioglou, P., Theise, N. D., Schwartz, M., Mor, E., Miller, C. & Thung, S. N.: Macroregenerative nodules in a series of adult cirrhotic liver explants: issues of classification and nomenclature. *Hepatology*, 21, 703-708 (1995).
- 62) Hirooka, N., Nitta, Y., Tsunoda, T., Kitazawa, E., Sato, J., Machii, A., Murakami, Y., Takahashi, M. & Kondo, F.: Microscopic incipient hepatocellular carcinoma found incidentally in a routine liver biopsy specimen. *Hepatology*, 12, 291-294 (1990).
- 63) Sakamoto, M., Hirohashi, S., Tsuda, H., Shimosato, Y., Makuuchi, M. & Hosoda, Y.: Multicentric independent development of hepatocellular carcinoma revealed by analysis of hepatitis B virus integration pattern. *Am. J. Surg. Pathol.*, 13, 1064-1067 (1989).
- 64) Sheu, J. C., Huang, G. T., Chou, H. C., Lee, P. H., Wang, J. T., Lee, H. S. & Chen, D. S.: Multiple hepatocellular carcinomas at the early stage have different clonality. *Gastroenterology*, 105, 1471-1476 (1993).
- 65) Takenaka, K., Adachi, E., Nishizaki, T., Hiroshige, K., Ikeda, T., Tsuneyoshi, M. & Sugimachi, K.: Possible multicentric occurrence of hepatocellular carcinoma: a clinicopathological study. *Hepatology*, 19, 889-894 (1994).
- 66) Kaji, K., Terada, T. & Nakanuma, Y.: Frequent occurrence of hepatocellular carcinoma in cirrhotic livers after surgical resection of atypical adenomatous hyperplasia (borderline hepatocellular lesion): a follow-up study. *Am. J. Gastroenterol.*, 89, 903-908 (1994).
- 67) 鶴浦雅志, 寺崎修一, 卜部 健, 松下栄紀, 金子周一, 小林健一: 肝硬変の予後の変遷と肝癌. *肝胆脾*, 26, 257-262 (1993).

- 68) Takayama, T., Makuuchi, M., Hirohashi, S., Sakamoto, M., Okazaki, N., Takayasu, K., Kosuge, T., Motoo, Y., Yamazaki, S. & Hasegawa, H.: Malignant transformation of adenomatous hyperplasia to hepatocellular carcinoma. *Lancet*, **336**, 1150-1153 (1990).
- 69) Rapaccini, G. L., Pompili, M., Caturelli, E., Anti, M., Aliotta, A., Cedrone, A., Amadei, E., Grattagliano, A., Squillante, M. M., Rabitti, C. & Gambassi, G.: Focal ultrasound lesions in liver cirrhosis diagnosed as regenerating nodules by fine-needle biopsy. Follow-up of 12 cases. *Dig. Dis. Sci.*, **35**, 422-427 (1990).
- 70) Lencioni, R., Caramella, D., Bartolozzi, C. & Di Coscio, G.: Long-term follow-up study of adenomatous hyperplasia in liver cirrhosis. *Ital. J. Gastroenterol.*, **26**, 163-168 (1994).
- 71) Akagi, G., Furuya, K., Kanamura, A., Chihara, T. & Otsuka, H.: Liver cell dysplasia and hepatitis B surface antigen in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Cancer*, **54**, 315-318 (1984).
- 72) Borzio, M., Bruno, S., Roncalli, M., Mels, G. C., Ramella, G., Borzio, F., Leandro, G., Servida, E. & Podda, M.: Liver cell dysplasia is a major risk factor for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a prospective study. *Gastroenterology*, **108**, 812-817 (1995).
- 73) Adachi, E., Hashimoto, H. & Tsuneyoshi, M.: Proliferating cell nuclear antigen in hepatocellular carcinoma and small cell liver dysplasia. *Cancer*, **72**, 2902-2909 (1993).
- 74) Zhao, M., Zhang, N. X., Du, Z. Y., Laissue, J. A. & Zimmermann, A.: Three types of liver cell dysplasia (LCD) in small cirrhotic nodules are distinguishable by karyometry and PCNA labelling, and their features resemble distinct grades of hepatocellular carcinoma. *Histol. Histopathol.*, **9**, 73-83 (1994).
- 75) Zhao, M., Zhang, N. X., Laissue, J. A. & Zimmermann, A.: Immunohistochemical analysis of p53 protein overexpression in liver cell dysplasia and in hepatocellular carcinoma. *Virchows Arch.*, **424**, 613-621 (1994).

Clinicopathological Study of Adenomatous Hyperplasia of Human Cirrhotic Liver Shuichi Terasaki, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **105**, 333—349 (1996)

Key words adenomatous hyperplasia of the liver, hepatocellular carcinoma, argyrophilic nucleolar organizer region, proliferating cell nuclear antigen, proliferating activity

Abstract

Adenomatous hyperplasia (AH) in the human cirrhotic liver is thought to be a borderline lesion of hepatocellular carcinoma (HCC). Its proliferative activity, the prevalence in cirrhotic livers of autopsy cases, and the histological prognostic factors in biopsy specimens were examined. AHs were classified into two types. Ordinary AH (OAH) implies a lack of atypia. Atypical AH (AAH) represents AH with structural atypia and cellular atypia. AAHs occasionally contained overt carcinoma. So AAHs were subdivided into two subtypes: AAH with malignant foci (MF(+))AAH and AAH without malignant foci (MF(-))AAH. The proliferative activity of 75 AHs (40 OAHs and 35 AAHs including 16 MF(+))AAHs and other liver diseases was examined using staining of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) and immunostaining for proliferating cell nuclear antigen (PCNA). AgNOR counts in OAH (2.95) were similar to those of cirrhosis (3.93). AgNOR counts in MF(-))AAH (3.89) were significantly higher than those in OAH, and lower than those in HCC (6.18). PCNA labeling indices demonstrated similar findings as AgNOR staining: OAH (4.1), MF(-))AAH (16.4), HCC (42.4). The author surveyed 257 consecutive cirrhotic liver autopsies during the last 21 years (1974-1994). One hundred and forty AHs were found in 55 cirrhotic livers (21.4%); 98 OAH in 44 cirrhotic livers (17.1%), and 44 AAHs include 18 MF(+))AAHs in 15 cirrhotic livers (5.8%). The rate of cirrhotic livers with AH did not change in this period. AAHs were associated with cirrhosis of non-A non-B type. All cirrhotic livers with AAHs had HCCs, whereas OAHs were not related to a coexistence of HCC. Twenty two AHs diagnosed by needle biopsy were followed for more than 1 year. Four AAHs progressed to HCC. The histological factors of progression to HCC were increase of nuclear density, fatty change, and small cell dysplasia. In particular, all 3 nodules that showed both fatty change and small cell dysplasia progressed to HCC. In conclusion, AAHs exhibit considerable proliferative activity and were associated with the coexistence of HCC. So, AAH is thought to be a preneoplastic lesion or an early stage of HCC. By contrast, OAH is thought to be merely large regenerative nodules having a similar proliferative activity to surrounding cirrhotic nodules. The nodules in chronic liver disease that show increase of nuclear density, fatty change, and small cell dysplasia in biopsy specimens should be recognized as high risk nodules for HCC.