

慢性進行性肝疾患にみられる肝細胞性異型病変の病理 肝細胞癌,異型肝腺腫様過形成との関連性を中心に

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/2297/9129

慢性進行性肝疾患にみられる肝細胞性異型病変の病理

—肝細胞癌, 異型肝腺腫様過形成との関連性を中心に—

金沢大学医学部病理学第二講座 (主任: 中沼安二教授)

平 田 公 一

肝細胞癌のほとんどは慢性進行性肝疾患を背景に発生するが, その正確な発生機序や前癌病変に関して不明な点が多い。最近, 肝細胞癌の前癌あるいは境界病変として直径 1~2cm 大の肝腺腫様過形成が注目されており, 肝細胞癌のかかりの症例はこの肝腺腫様過形成を経過して癌化すると注目されている。今回, 慢性進行性肝疾患 (肝細胞癌例の非癌部肝実質を含む) にみられる顕微鏡レベルの肝細胞性異型病変に注目し, 肝腺腫様過形成および肝細胞癌との関連性を中心に病理組織学的に検討した。肝細胞性異型病変は, 肝細胞癌結節との位置的な観点から大きく 2 種類に分けることができた。1) 非癌部肝実質内の微小異型病変: 異型肝腺腫様過形成結節は種々の程度の細胞, 構造異型を示す病変からなっている。これらの中から 6 種類の微小異型病変 (小細胞性ディスプラジア, 大細胞性ディスプラジア, 偽腺管型異型病変, 核類洞側偏位病変, マロリ体小集簇, 淡明細胞型異型病変) を抽出し, 慢性進行性肝疾患の肝実質で検索した。これらの微小異型病変は単独あるいは種々の組み合わせで散在性に出現し, 大きさは再生結節あるいは肝小葉の半分位のものが多かったが, 異型肝腺腫様過形成に近いサイズのものもみられた。いずれの病変も肝細胞癌合併例で高率で, 小細胞性ディスプラジアで有意であり, 癌の出現と密接に関連して出現していた。病因別の検討では C 型肝炎関連肝疾患とアルコール性肝疾患では小細胞性および偽腺管型異型病変が, B 型肝炎関連肝疾患では, 大細胞性ディスプラジアが肝細胞癌合併例でやや高率に出現した。これらの異型病変内の類洞には毛細血管化はなく, また肝細胞に α -フェトプロテインの発現はみられず, 肝細胞癌としての特徴がみられなかった。細胞増殖活性では, 小細胞性ディスプラジアと偽腺管形成型で増殖活性指数がやや高く, 異型肝腺腫様過形成に近似したものもみられたが, 肝細胞癌に比べ軽度であった。これらの結果から, これらの肝細胞性微小異型病変は肝腺腫様過形成のかかり以前の段階の病変と考えられた。2) 肝細胞癌結節周辺部の肝細胞性異型病変: 癌結節の周囲にバンド状に肝細胞性異型病変がみられた。さらにその異型度により異型肝腺腫様過形成の遺残と考えられるものと, 反応性変化とに 2 分出来た。特に前者の存在は, 異型肝腺腫様過形成からの肝細胞癌の発生を示唆する病変と考えられた。今回の研究で, 肝細胞性異型病変が, 慢性進行性肝疾患の肝実質に散在性にみられ, 微小異型病変から異型肝腺腫様過形成への移行, さらに肝細胞癌へと進展するプロセスが示唆された。これらの肝細胞性異型微小病変がどの時点で, またどの程度の頻度で異型肝腺腫様過形成への道を辿るかは, 今後の研究課題と考えられた。

Key words hepatocellular carcinoma, atypical adenomatous hyperplasia, dysplasia, microscopic atypical hepatocellular lesion, chronic advanced liver disease

現在, 慢性肝疾患, 特に, C 型肝炎と診断される症例が急増しており, これと連動し肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) も増加している¹⁾。そして臨床的には, HCC の発生予知と正確な診断, 積極的な治療と予後の決定が急務であり²⁻⁴⁾, 病理学的には慢性肝疾患で検出される肝細胞性腫瘍の正確な病理診断と HCC の発生機序の究明が重要である^{5,6)}。

さて, Anthony⁷⁾が1976年に HCC の発生に関連する肝細胞性病変として肝細胞性ディスプラジア (後述の大細胞性ディスプラジア) を報告して以来, HCC に関連するいくつかの微小な肝細胞性病変が報告されている。たとえば, Watanabe⁸⁾は小細胞性ディスプラジアを見出し, これが HCC 発生に先行すると述べ, また Nakanuma⁹⁾は肝硬変にみられるマロリ体陽性

肝細胞の集簇が肝細胞癌発生に関連する報告している。しかし, 現在までの研究でこれらの微小異型病変と肝細胞癌発生との直接的な関連性あるいは時間的な移行を示す研究はなく, 微小異型病変が果たして HCC へと移行するのかどうかは明確には示されていない。

最近, 画像診断学の進歩に伴い, 慢性進行性肝疾患例で 1cm 前後の肝細胞性結節性病変がしばしば検出され, 話題を集めている¹⁰⁻⁵⁾。

これらの結節のいくつかは組織学的に癌結節であるが, 癌とは言えない結節もしばしばみられ, これら癌とは断定できない結節は我が国では肝腺腫様過形成 (adenomatous hyperplasia, AH), あるいは大型再生結節 (macroregenerative nodule,

平成 6 年 12 月 16 日受付, 平成 7 年 2 月 17 日受理

Abbreviations: AAH, atypical adenomatous hyperplasia; ABC, avidin-biotin-peroxidase complex; AFP, α -fetoprotein; AH, adenomatous hyperplasia; CALD, chronic advanced liver disease; CAH, chronic active hepatitis; DAB, diaminobenzidine; FVIII-RA, factor VIII related antigen; HBsAg, hepatitis B surface antigen;

MRN) (図1) と呼ばれている^{24)~51)11)}。これら結節の中で種々の異型を示す結節は、特に、異型肝腺腫様過形成 (Atypical AH, AAH) あるいは MRN II 型と呼ばれ、結節によっては小さな癌巣を内包し、癌化への移行過程にある前癌性病変あるいは境界病変として考えられている²⁴⁾¹¹⁾。現在、国際的にもこれら肝細胞性結節病変が注目され、肝移植時の肝 (explant liver) でしばしば見出し、我が国で報告されている AAH あるいは MRN II 型との組織学的類似性も報告されている⁶⁾¹⁰⁾。また、第一線の臨床では、画像で見つかるこれらの小結節性病変の鑑別が重要な問題であり、現在、エコーガイド下の針生検診断や結節の血流分布等の検討で鑑別が試みられている³⁴⁾¹²⁾。しかし、AAH の形成機序やその先行病変、特に微小な肝細胞性異型病変との関連性は、ほとんど検索されていない。

そこで今回、慢性進行性肝疾患 (chronic advanced liver disease, CALD) にみられる肝細胞性の微小異型病変 (肝細胞ディスプラジアを含む) の分布、頻度とその意義を検討し、AAH (あるいは MRN II 型) との関連性を解明しようと試みた。

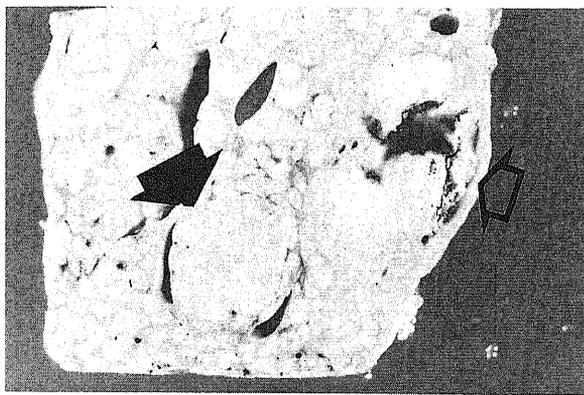


Fig. 1. Hepatocellular carcinoma and atypical adenomatous hyperplasia. Encapsulated hepatocellular carcinoma (open arrow) and atypical adenomatous hyperplasia (closed arrow) are seen in a cirrhotic liver.

材料および方法

1. 材 料

1. CALD (HCC, AAH 合併例を含む)

対象は1990年~1993年の間に、金沢大学医学部第二病理学教室、金沢大学医学部附属病院病理部、石川県立中央病院病理部、国立金沢病院病理部、福井県立病院病理部で経験された、CALD+HCC あるいは AAH の計96例と、それに AAH や HCC を伴わない CALD 29例である。なお、福井県立病院病理部と金沢大学医学部附属病院病理部では、この期間の該当症例の一部の症例のみが使用可能であった。CALD として、肝硬変、小葉改築傾向を示す慢性活動性肝炎、高度のアルコール性肝線維症を含めた。材料はいずれも外科的切除肝、あるいは大きめの外科的生検肝で、その内訳を表1に示す。外科的手術材料では、癌部および非癌部肝からそれぞれ採取された2~7個の標本、またやや大きめの外科生検肝では、標本そのものを用い以下の検討を行った。いずれも、10%中性ホルマリン固定後、パラフィン包埋され保存されていたものである。

次に背景肝病変である CALD の成因を B 型肝炎関連疾患、C 型肝炎関連疾患、アルコール性肝疾患、非 A 非 B 型肝炎関連疾患 (原因不明を含む) とした。B 型肝炎関連疾患は、血清中で B 型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) が陽性の例、あるいは肝細胞にオルセイン染色で封入体陽性像が認められる例¹³⁾とした。C 型肝炎関連疾患は、C 型肝炎ウイルスが発見され、その測定キットが導入された1990年以降の症例のみで評価が可能で¹⁴⁾、血清中の C 型肝炎関連マーカー [(hepatitis C virus, HCV) 関連抗体や (HCV-RNA)] が陽性の例とした。1990年以前の症例では、HCV 関連マーカーに関する成績は明かではなく、B 型肝炎マーカーがウイルス持続感染を示唆する陰性の慢性肝炎や肝硬変例を非 A 非 B 型肝炎関連疾患とした。アルコール性肝疾患は、日本酒に換算して1日3合以上の飲酒歴を有する例とした。二つ以上の成因が推定される場合は、亜群 (B 型あるいは C 型肝炎関連疾患+アルコール性肝疾患、それに B+C 型肝炎関連疾患) として検討した。なお、その他の成因の明らかな CALD [以下に述べる原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis, PBC) を除く] は症例数が少

Table 1. The patients and materials

Types of disease	Number of materials		Number of patients examined	Age of patients examined ($\bar{x} \pm SD$, years)	Suspected etiology of background liver			
	S	W			HBV	HCV	Alcohol	Unknown
HCC+CALD ^{a)}	89	3	92(70/22) ^{b)}	62.4 \pm 7.79(43-76) ^{c)}	22	48	16	19
AAH+CALD ^{a)}	3	1	4(2/2)	62.5 \pm 7.22(54-73)	0	2	0	2
CALD alone	8	21	29(16/13)	58.4 \pm 36.1 (29-80)	7	12	8	4

S, surgical materials; W, wedge biopsy materials; M, male; F, female; M \pm SD, mean \pm standard deviation; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; HCC, hepatocellular carcinoma; CALD, chronic advanced liver disease; AAH, atypical adenomatous hyperplasia

a) Including one case with HCC+AH+LC.

b) Number of male patients/number of female patients.

c) Range.

HBV, hepatitis B virus; HCC, hepatocellular carcinoma; HCV, hepatitis C virus; MRN, macroregenerative nodule; PBC, primary biliary cirrhosis; PBS, phosphate-buffered saline; PCNA, proliferating cell nuclear antigen; PCNA-LI, PCNA labelling index; UEA-1, *ulex europaeus* agglutinin-1

なかったので今回の対象例には含めなかった。

2. HCC および AAH

上述の検索症例の中で固定や組織保存状態が良好で、壊死性変化をほとんど認めない HCC 結節16例 (いずれも外科的切除材料) と明瞭な癌化巣を含まない AAH の7結節を、以下の組織学的、免疫組織学的検討に用いた。なお、AAH の定義は、Nakanuma ら²⁾に従い、0.8cm 以上の肝細胞性結節とし、種々の細胞、構造異型が見られる癌とは診断出来ないものとした。また、高分化 HCC や AAH 内での癌化巣の有無は Terada ら⁵⁾、Ferrell ら⁶⁾に従い、核の異型度、構造の変化、類洞壁の変化などにより判断した。

3. PBC

36例の PBC 患者から得られた37個の外科的生検肝 (1期11例, 2期17例, 3期9例。いずれも10%中性ホルマリン固定パラフィン切片) を用い、以下の組織学的、免疫組織学的検討、組織計測学的検討を行った。症例の内訳は男3例, 女33例で、年齢は35-70才に分布し、これらは臨床的に抗ミトコンドリア抗体が陽性で、胆道系酵素の持続的上昇があり、肝組織像も PBC に一致し、PBC の診断基準¹⁰⁾を満たしていた。PBC の病期は、Scheuer に従い病理組織学的に行い⁹⁾、1期 (肝限界板の破壊ない段階)、2期 (種々の程度の肝限界板の破壊と線維化を認める時期)、3期 (線維化が進行した段階)、4期 (肝硬変期) の4期に分け検討を行った。1期が11生検肝、2期が17生検肝、3期が、9生検肝で4期に相当する例はなかった。

II. 組織標本の作製

各々の症例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより、約4 μ の厚さの切片を約15枚作製した。これらの切片を型の如く、脱パラフィン後、HE染色、アザン・マロリ染色、オルセイン染色、鍍銀染色を行い、組織学的検索に用いた。なお、残りの切片は以下に述べる免疫組織化学的検討に用いた。

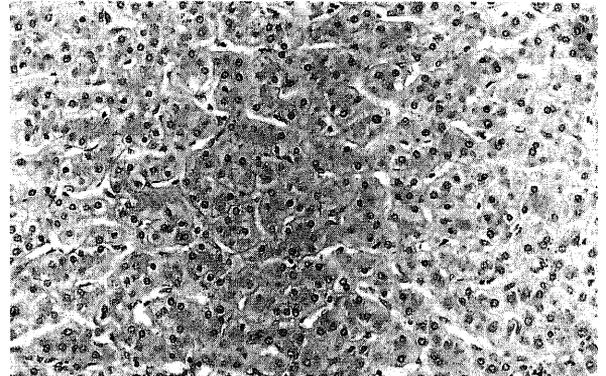
III. 核密度の計測

HE染色標本で、後述の肝細胞性微小異型病巣の領域と、これとはやや離れ、かつ異型性がない肝実質領域 (非病変部) で、無作為に10枚の写真を一定の倍率 ($\times 400$ 倍) 撮影した。その後、焼き付けし、一定面積内での肝細胞の核の数をカウントし、その平均値を求めた。その後、同一症例での非病変部の核数の平均値との比率を各病巣毎に求め、当該病巣部の核密度とした。一定面積での肝細胞核密度の増加は、肝細胞の小型化を反映する像と考えた。なお、対照とした HCC 結節、AAH 結節、それに後述の PBC 肝にみられた肝細胞性微小異型病変で

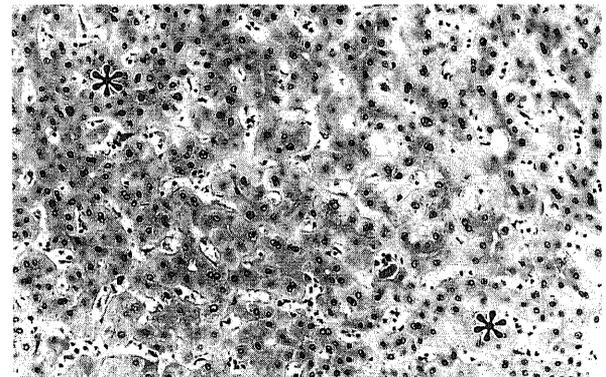
も同様の計測を行った。

IV. 免疫組織化学的検索

Hsu らのアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体 (avidin-biotin-peroxidase complex, ABC) 法¹⁷⁾で、以下の物質の局在やレクチン結合性を検索した。つまり、脈管内皮のハリエニシダ凝集素 I レクチン (*Ulex europaeus* agglutinin-I, UEA-1) に対する結合性をレクチン染色で、血管内皮に発現する第八因子関連抗原 (factor VIII related antigen, FVIII-RA)、HCC の腫瘍マーカーである α -フェトプロテイン (α -fetopro-



A



B

Fig. 2. Small cell dysplasia in atypical adenomatous hyperplasia (A) and cirrhotic regenerative nodule (B, *). These areas show increased cellular and nuclear density and their cytoplasm are deeply stained. Kupffer cells are identifiable in these lesions. A and B, hematoxylin and eosin stain, $\times 200$.

Table 2. Primary antibodies, biotinylated lectin, and secondary biotinylated antibodies, and their dilution and sources

Antibodies and lectin	Animals	Dilution	Source
Primary antibody			
Anti-AFP (polyclonal, IgG)	Rabbit	1 : 400	Dakopatts, Copenhagen, Denmark
Anti-PCNA (monoclonal, IgG2a)	Mouse	1 : 200	Novocastra Laboratories, Newcastle, UK
Lectin			
Biotinylated UEA-1		1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, USA
Secondary biotinylated antibody			
(to rabbit IgG)	Goat	1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, USA
(to mouse IgG2a)	Horse	1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, USA

AFP, α -fetoprotein; PCNA, proliferating cell nuclear antigen; UEA-1, *Ulex europaeus* agglutinin-1.

tein, AFP), それに増殖期の細胞の核に発現する抗原である (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) の発現を免疫染色で検討した. なお, 正常肝の類洞内皮は UEA-1 に結合せず, F VII-RA は陰性であるが, 門脈域内の小血管や毛細血管, 毛細血管化した類洞内皮は UEA-1 に結合性を示し, また F VII-RA の発現を認めることが知られている¹⁰⁾. この方法で肝類洞内皮の表現型の変化 (毛細血管化) の有無を検討した. また, 各病巣につき約1000個の肝細胞あるいは腫瘍細胞を検索し, PCNA 陽性核を持つ細胞を%で表現した (PCNA-labelling index, PCNA-LI).

以下に, 染色方法を簡単に述べる. ホルマリン固定パラフィン切片を型の如く脱パラフィンし, 内因性ペルオキシダーゼを 0.3% H₂O₂ の溶液中で15分間室温で処理した. その後, 非特異的反応を少なくするため切片を10%非免疫血清で20分間処理した. 次に, 100-200倍に希釈したビオチン標識した UEA-1, 抗 AFP, 抗 PCNA, あるいは抗 F VII-RA の各々の一次抗体 (表2) を4℃で一晩反応させた. 次に, ビオチン標識した二次抗体を室温で30分間作用させた (なお, UEA-1 染色の場合は, この過程を省略) 後, 使用直前に混合した ABC 混合液 (Vectastain ABC キット) (Vector Lab, Santa Barbara, U.S.A.) 内で室温で30分間反応させた. その後, 0.03% H₂O₂ 添加ジアミノベンチジン (diaminobenzidine, DAB) 溶液内で5-

10分間発色させ, ヘマトキシリンで淡く核染色後, 鏡検した. なお, PCNA は Shi ら¹⁰⁾ に従い, マイクロウェーブで処理後に, 上述の免疫染色を行った. また各々の染色や反応は, リン酸緩衝溶液 (phosphate-buffered saline, PBS) (pH7.2) で十分に洗浄した後に行った.

V. 推計学的検討

X²検定および t検定を用いて検討し, 危険率0.05以下をもって有意差ありと判断した.

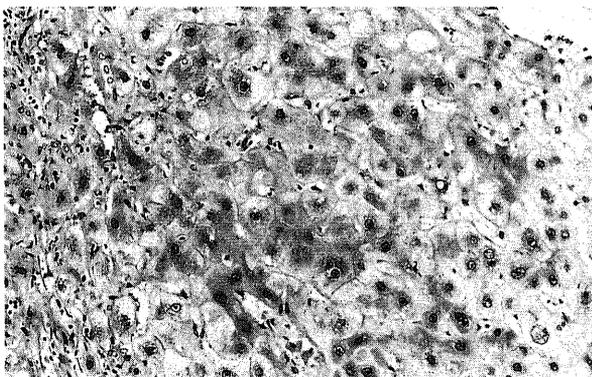
成 績

I. 癌を内包しない AAH 内での肝細胞性異型病変の抽出と分類

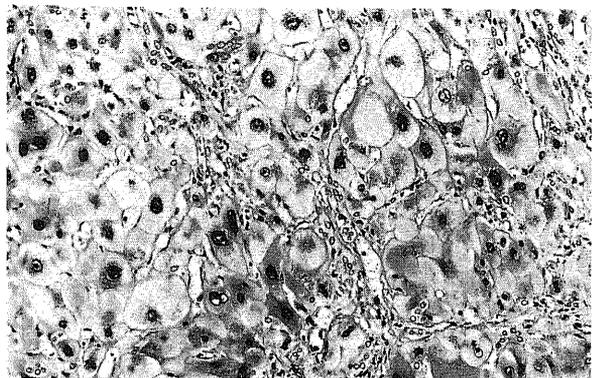
癌巣を含まない7例の AAH 結節を組織学的に検討し, 種々の異型像を示す病巣を調べた. なお, 5個の AAH は2種以上の異型病巣から構成されて, 2個の AAH 結節ではほぼ単一の異型病巣の組織像から構成されていた. AAH 結節にみられるこれらの異型病巣にはいろいろ段階と移行像がみられたが, 大きくいくつかの病巣に分類することが出来た. 今回は, これらの中から以下に述べる6病巣を選んだ.

1. 小細胞性ディスプラジア (図 2A)

肝細胞の小型化と核濃染が特徴で, 核/胞体比の上昇を伴う. 胞体は濃染する傾向があり, 好塩基性のものが多かったが, 好

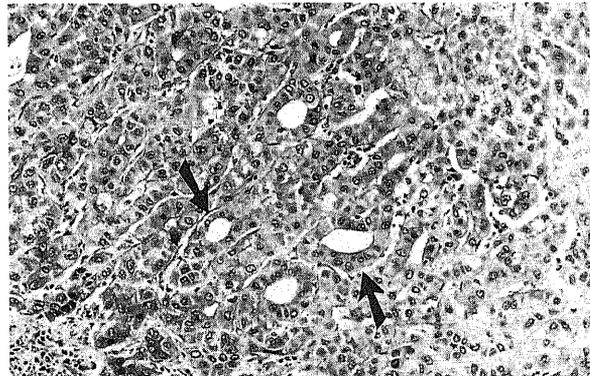


A

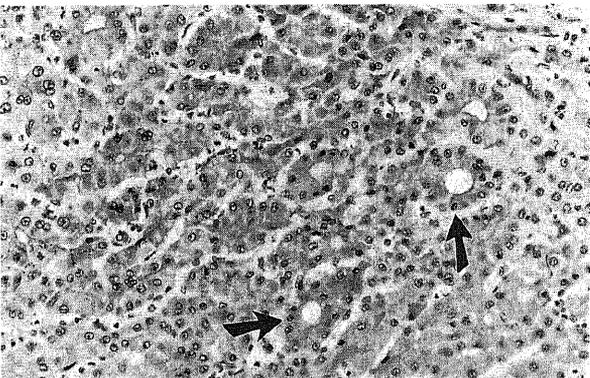


B

Fig. 3. Large cell dysplasia in atypical adenomatous hyperplasia (A) and cirrhotic regenerative nodule (B). Hepatocellular cytoplasm of these areas are large and their nuclei are also increased in sizes and chromatin contents. Nucleoli are prominent. A and B, hematoxylin and eosin stain, $\times 200$.



A



B

Fig. 4. Pseudoglandular lesion in atypical adenomatous hyperplasia (A) and cirrhotic regenerative nodule (B). Variable-sized pseudoglands or secondary acini (arrow) are found in these foci. A and B, hematoxylin and eosin stain, $\times 200$.

酸性のもの、胞体が淡明なものもみられた。類洞はやや拡張傾向を示し、病変部の肝細胞は2~3層性の索状パターンを示すもの、充実性の増殖を示すものがあった。細胞の小型化に伴い核密度は増加し、 1.86 ± 0.39 であった(なお、対象とした2例のHCCでは 2.78 ± 0.47 と 1.63 ± 0.81 であった)。病変部の肝細胞と周囲の肝細胞索(他の異型病巣や隣接する肝実質部)としばしば同じ肝細胞索で連続性に移行した。なお、拡張した類洞内へ芽状に発育し、核異型や核濃染の目立つものは高分化HCCとした。

2. 大細胞性ディスプラジア(図3A)

肝細胞は大型化し、核も大型でややいびつで、核小体も目立つが、核胞体比の上昇は明瞭ではないか、あるいは軽度の病変である。類洞は狭小化する傾向があり、病巣が充実性にみえる傾向があった。小集簇性に出現し、周囲に対して圧排性に増殖し、鍍銀染色では周囲の肝細胞索と連続的に移行する像がしばしばみられた。胞体はおおむね好酸性で、細胞質の凝集像も所々にみられた。

3. 偽腺管型異型病巣(図4A)

偽腺管形成性(毛細胆道が拡張したものも含める)を示す肝細胞巣がやや密在する病巣で、この病巣内の肝細胞は小型化し、胞体は好酸性あるいは好塩基性で、核は濃染する傾向があった。偽腺管内に胆汁栓を入れていないものが多かった。上

述の小細胞性ディスプラジアや次の核類洞側偏位病巣に混在してみられるものもみられ、いわゆる高分化HCCとの鑑別が時々困難であったが、細胞や核の異型性や周囲の病巣の形態等で高分化肝細胞癌と鑑別を行った。

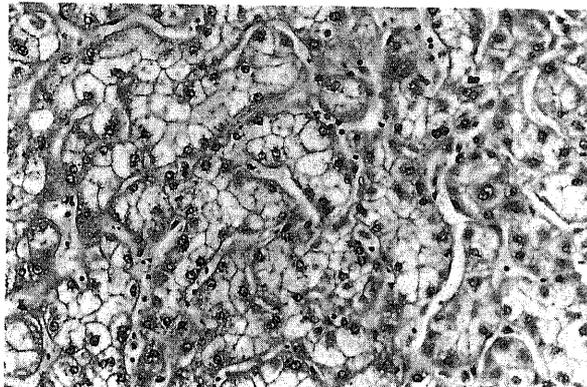
4. 核類洞側偏位病巣(図5A)

肝細胞の核は類洞側に偏位し、胞体の淡明化するものと、やや濃染するものがあったが、いずれも胞体は類洞側で相対的に濃染あるいは凝集した。これに伴い、毛細胆管側の胞体は相対的に淡明化する傾向があった。細胞はやや大型化し、類洞は軽度の拡張を示すものが多くみられた。なお、拡張した類洞内へ、肝細胞索が発芽様に発育し、核の異型と濃染を伴うものは高分化HCCとした。

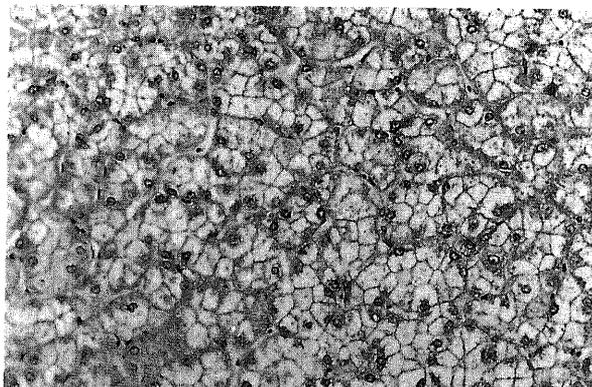
5. マロリ体小集簇巣(図6A)

マロリ体陽性の肝細胞が、少なくとも5個以上、比較的密に領域性に分布する病巣である。肝細胞の胞体と核は大型化し、核はいびつ化し、核小体が目立った。肝細胞周囲に種々の程度の線維化を伴っていた。病変部の肝細胞が周囲に対してやや圧排性の領域を示すものが多くみられた。一部のマロリ体陽性肝細胞は胞体の淡明化や腫大などの変性像を示し、周囲に好中球の浸潤を伴っていたが、細胞の障害像に乏しく、活発に増殖していると思われる病巣もみられた。

6. 淡明細胞型異型病巣(図7A)

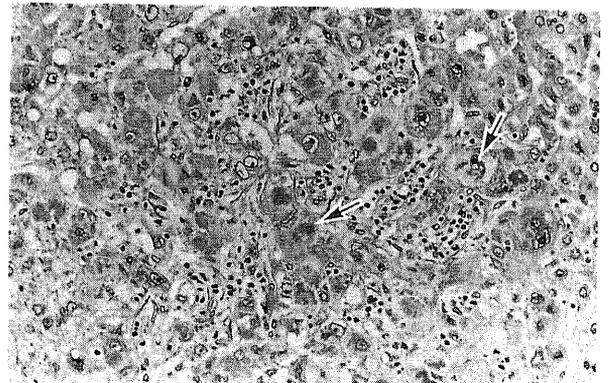


A

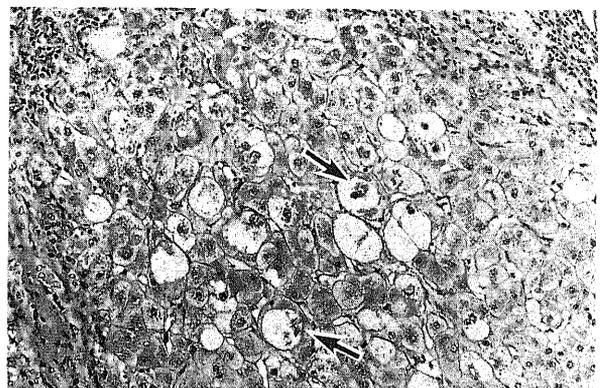


B

Fig. 5. Perisinusoidal nuclear deviated lesion with thin trabecular pattern in atypical adenomatous hyperplasia (A) and cirrhotic regenerative nodules (B). Nuclei and cytoplasmic materials are moved to the sinusoidal surface and cytoplasm around bile canaliculus surface looks empty. A and B, hematoxylin and eosin, $\times 200$.



A

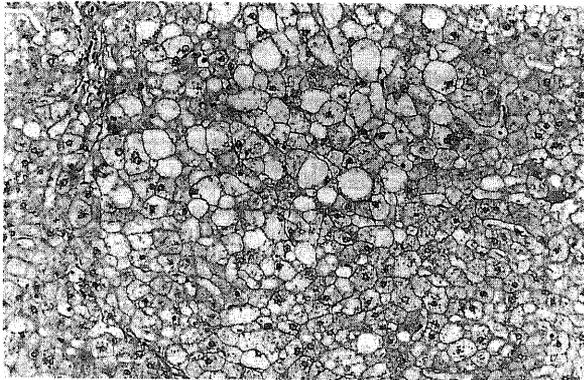


B

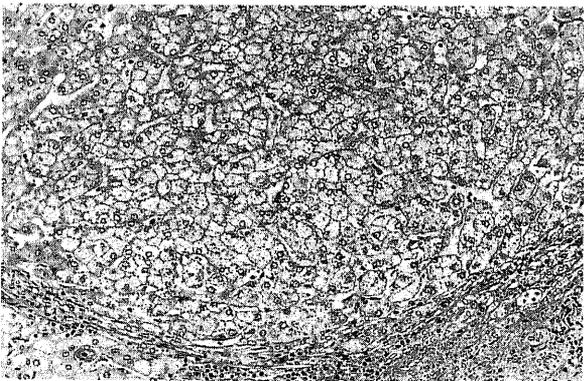
Fig. 6. Mallory body clustering lesion in atypical adenomatous hyperplasia (A) and cirrhotic regenerative nodule (B). Mallory bodies are shown by arrows, and Mallory body containing hepatocytes are enlarged. A and B, hematoxylin and eosin, $\times 200$.

淡明な胞体を持つ肝細胞が膨張性の発育を示すのが特徴である。大型の肝細胞からなり一見植物細胞様にみえるものが多かったが、多くの病巣で種々の大きさの肝細胞が同時に混在していた。核は大型化し、核濃染やいびつ化などの異型を示す傾向があった。胞体の淡明化の原因として、糖原の沈着が主と考えられたが、空胞状で脂肪沈着も関与している病巣もみられた。なお、ほとんど脂肪沈着のみからなる病巣は除外した。ほとんどの病巣で類洞は圧排され、病巣は充実性に増殖していた。

なお、これら6種の異型病変以外にも脂肪沈着、線維沈着、ヘモジリン沈着陰性巣、胆汁鬱滞などの微小な病巣が AAH



A



B

Fig. 7. Clear cell lesion in atypical adenomatous hyperplasia (A) and cirrhotic regenerative nodule (B). These cells are more or less clear, and there are occasional fat-containing cells in these foci. A and B, hematoxylin and eosin, $\times 200$.

内にみられたが、予備的な検討では、これらの病変は非癌部の再生結節内で高率に、かつ非特異的に出現したので、今回の検索では異型病巣として抽出、検討しなかった。

II. 非癌部肝実質内での肝細胞性微小異型病変の検索

非癌部 (CALD) での肝細胞性異型病変は、HCC 結節との位置的な関連性で、以下の2種類に分けることが出来た。HCC 結節とは直接に接していない肝実質内にみられる異型病変 (A) と HCC に接してみられる異型病変 (B) である。なお、HCC の周囲肝組織への浸潤や非癌部肝実質での微小転移巣は今回の検索から除外した。

1. 非癌部肝実質内の肝細胞性微小異型病変 (表3)

上述した、AAH 内にみられた6種の肝細胞性微小異型病変の有無と分布を調査した結果、これらと類似したあるいはほぼ同質の病変がみられた (図2-B, 3-B, 4-B, 5-B, 6-B, 7-B)。なお、肝実質内で類洞が拡張し肝細胞が圧排され、小型肝細胞化した病巣 (多くは三角状あるいはひし形状) は循環障害による二次的変化の可能性が強く、今回の小細胞性ディスプラジアには含めなかった。また、小葉周辺や再生結節周辺に散在性に出現するマロリ体⁹⁾はマロリ体集簇巣には含めなかった。なお、大細胞性ディスプラジアは小細胞性ディスプラジアと混在してあるいは隣接して認めることもあった。これらの病巣内では周囲の非病変部と同様に kupffer 細胞やリンパ球の浸潤がみられた。また、今回の検討では、肝実質内での微小異型病変部で鍍銀線維の消失や減少はみられなかった。

検索した125例中95例でいずれかの微小異型病変がみられた。これらの病変は肝硬変の再生結節内や CAH の肝小葉内の種々の部位に見い出され、多発している例と単発の例がみられ、そ

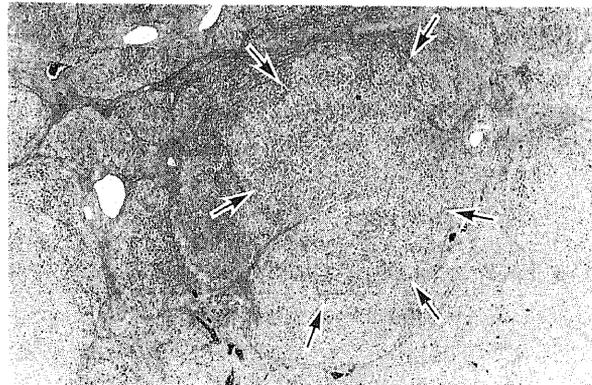


Fig. 8. Minute atypical hepatocellular lesion. In a regenerative nodule, minute atypical focus is shown by arrows. Hematoxylin and eosin, $\times 20$.

Table 3. Incidence of hepatocellular atypical lesion in nonneoplastic liver

Type of disease	Number of cases	Number (%) of cases					
		Types of minute atypical hepatocellular lesions					
		small cell dysplasia	Large cell dysplasia	Pseudoglandular lesion	Perisinusoidal nuclear deviated lesion	Mallory body clustering lesion	Clear cell lesion
CALD+HCC	96	13(13.5)*	46(47.9)	15(15.6)	35(36.5)	23(24.0)	47(49.0)
CALD+alone	29	0(0)	5(17.2)	1(3.4)	6(20.7)	1(3.4)	5(17.2)

* $P < 0.05$ vs. CALD alone group.

の大きさは1~4mm程度が主であるが(図8), 5, 6mm大の大きさで, AAHにほとんど類似する大きさの病巣もみられた(図9). 微小異型病変の大きさは最大で肝小葉あるいは再生結節の3/4位で, 最小では肝小葉の約1/3位, または亜小葉性の再生結節では, その結節全体を占めた.

HCCを合併するCALDとHCCを合併しないCALDでの, これらの微小異型病巣の出現率を表3に示す. これらの異型病巣はHCC合併例で多く出現する傾向があり, 小細胞性ディスプラジアはHCCを合併するCALDの群ではHCCを合併しないCALDの群に比べて有意に高率であった.

成因別検討では, 表4に示す如く, B型肝炎関連肝疾患では大細胞性ディスプラジア, マロリ体小集簇が, C型肝炎関連疾患やアルコール性肝疾患では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, 淡明細胞型が高率にみられた.

1) 類洞内皮の表現型

CALDの非癌部肝実質部の類洞内皮はUEA-1への結合性を示さず, またFVIII-R Aの発現もみられなかった(但し, 門脈域や線維性隔壁に接した肝実質の一部ではこれらの発現や結合性がみられた). 一方, HCCでは種々の程度と範囲で, UEA-1結合性とFVIII-R Aの発現がみられ, 同部では, kuffer細胞やリンパ球浸潤は殆どみられなかった¹³⁾¹⁶⁾. しかし, HCC部で明瞭な毛細血管化現象(UEA-1結合性とFVIII-R Aの発現がしばしばみられる)を欠く部位も混在してみられた. AAHでは, 部分的かつ不完全な毛細血管化がみられ, kuffer細胞や浸潤リンパ球は種々の程度にみられた.

Table 4. Incidence of minute atypical hepatocellular lesion in chronic liver disease according to its suspected etiology

Type of disease	Number of cases	Number (%) of cases						
		Types of minute atypical hepatocellular lesions						
		Small cell dysplasia	Large cell dysplasia	Pseudoglandular lesion	Perisinusoidal nuclear deviated lesion	Mallory body clustering lesion	Clear cell lesion	
CALD (B)	With HCC	17	1(5.9)	12(70.6)	1(5.9)	4(23.5)	5(29.4)	6(35.3)
	Alone	7	1(14.3)	3(42.9)	1(14.3)	2(28.6)	1(14.3)	2(28.6)
	Total	24	2(8.3)	15(62.5)	2(8.3)	6(25.0)	6(25.0)	8(33.3)
CALD (C)	With HCC	41	7(17.1)	19(46.3)	9(22.0)	20(48.8)	12(29.3)	21(51.2)
	Alone	9	0(0)	1(11.1)	0(0)	3(33.3)	0(0)	2(22.2)
	Total	50	7(14.0)	20(40.0)	9(18.0)	23(46.0)	12(24.0)	23(46.0)
CALD (alcoholic)	With HCC	4	1(25.0)	2(50.0)	3(75.0)	2(50.0)	0(0)	2(50.0)
	Alone	7	0(0)	0(0)	0(0)	1(14.3)	0(0)	1(14.3)
	Total	11	1(9.1)	2(18.2)	3(27.3)	3(27.3)	0(0)	3(27.3)
CALD (unknown)	With HCC	20	2(10.0)	4(20.0)	0(0)	3(15.0)	5(25.0)	9(45.0)
	Alone	5	0(0)	2(40.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	Total	25	2(8.0)	6(24.0)	0(0)	3(12.0)	5(20.0)	9(36.0)
CALD (BorC+ alcoholic)	With HCC	12	1(8.3)	6(50.0)	2(16.7)	4(33.3)	2(16.7)	6(50.0)
	Alone	1	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)	1(100)
	Total	13	1(7.7)	6(46.2)	2(15.4)	4(30.8)	7(53.8)	7(53.8)

Two cases of HBV and HCV are not shown.

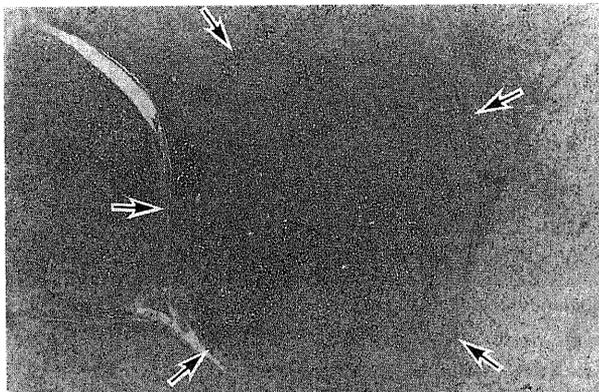


Fig. 9. Minute atypical hepatocellular lesion. The size of minute atypical hepatocellular lesion is about 5 mm in its diameter. Hematoxylin and eosin, $\times 20$.

Table 5. Labelling index of proliferating cell nuclear antigen (PCNA-LI)

Types of minute atypical hepatocellular lesion	Number of cases	Labelling index (%) ($\bar{x} \pm SD$)
Small cell dysplasia	15	8.5 \pm 16.1
Large cell dysplasia	14	0.2 \pm 0.79
Pseudoglandular lesion	2	15.7 \pm 21.1
Perisinusoidal nuclear deviate lesion	28	2.5 \pm 3.9
Clear cell lesion	19	1.8 \pm 2.5
CALD		
CAH	14	1.7 \pm 2.9
LC	19	1.9 \pm 3.3
HCC	30	28.0 \pm 16.0

Foci of Mallory body clustering lesions are so small in their number that they are not evaluated.

なお、非癌部肝実質に見られる肝細胞性微小異型病巣や HCC 結節に隣接する肝細胞性異型病巣 (乏異型群, 異型群の両方とも) では、これらの毛細血管化現象はみられなかった。

2) AFP の発現

非癌部肝実質にみられる肝細胞性微小異型病巣や HCC 結節周囲の肝細胞性異型病巣、また PBC 肝に出現する肝細胞性微小異型病巣で、AFP の発現はみられなかった。微小異型病巣以外の肝実質も同様に陰性であった。なお、対照の HCC では 10 例中 5 例で、HCC 細胞の胞体に微細顆粒状かつびまん性に AFP の発現している部位が散在性にみられた。AAH では、検索した全例において、AFP の発現はみられなかった。

3) PCNA の発現 (PCNA-LI) (表 5)

HCC の PCNA-LI ($28.0 \pm 16.0\%$) は、非癌部肝実質 ($1.7 \sim 1.9\%$) に比べ高値であったが統計学的に有意な差はなかった。非癌部の肝実質でみられた微小異型病巣での PCNA-LI は、小細胞性ディスプラジアと偽腺管型異型病巣で高値を示したが、その他の異型病巣では低値であり異型病巣を認めない非癌部肝実質の PCNA-LI と差がなかった。

2. HCC 結節周囲の異型肝細胞性病変

125 例中 41 例で、HCC 結節に接して異型肝細胞性病変が帯状にみられた。その幅は大体、肝小葉大あるいはそれ以下であった。HCC 結節が線維性被膜で囲まれている場合、被膜の外側に

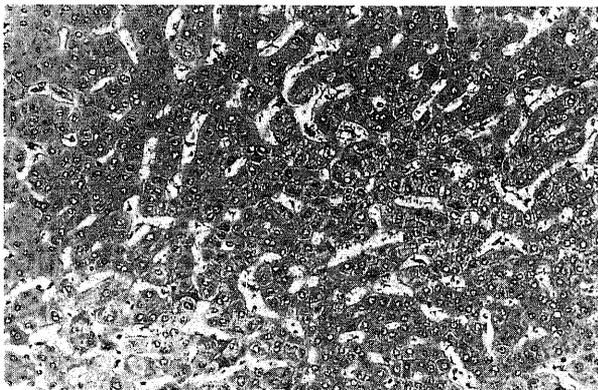


Fig. 10. Hepatocellular atypia around nodule of hepatocellular carcinoma. The degree of atypia is mild. Hematoxylin and eosin, $\times 200$.

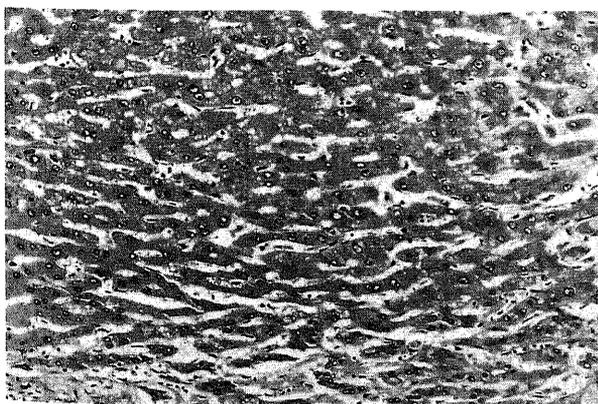


Fig. 11. Hepatocellular atypia around nodule of hepatocellular carcinoma. The degree of atypia is moderate. Hematoxylin and eosin, $\times 200$.

接した肝小葉あるいは再生結節にこの異型病変が帯状にみられた (図 10, 11)。これらは構成肝細胞の異型度により、異型度の弱い群 (軽度異型群, 28 例, 22.4%) (図 10) とある程度の異型性を示す群 (中等度異型群, 13 例 10.4%) (図 11) に 2 分し得た。これらの異型病巣は HCC 結節の周囲性に種々の範囲で連続性、非連続性にみられた。なお、今回の検討では、HCC 結節の全周を検討しなかった。

軽度異型群では、肝細胞はやや小型化したが、上述の小細胞性ディスプラジアに比べ、核濃染は強くなかった。

中等度異型群では肝細胞は小型化し、(上述の肝細胞性微小異型病変に類似し)、核濃染し、核胞体比が上昇し、偽腺管配列もみられた。部分的に UEA-1 に対する結合性や FVIII-RA の発現がみられた。しかし、AFP は陰性であった。中等度異型群では、しばしば周囲に線維増生を伴い HCC の間質浸潤との区別は、時に困難であった。

3. PBC の肝実質内での肝細胞性微小異型病巣

小細胞性ディスプラジアが 1 期の症例の 36% 、2 期の症例の 71% 、3 期の症例の 100% に認められた。大細胞性ディスプラジアは 1 期の症例の 27% 、2 期の症例の 47% 、3 期の症例の 22% に認められた。偽腺管配列は 1 期では認められなかったが、2 期の 41% 、3 期の 33% の症例に認められた。これらの異型病変は種々の頻度と範囲でみられたが、CALD にみられた肝細胞性微小異型病巣に比べその範囲は同じかあるいはやや広範囲に出現する傾向があった。核密度は 6 例の小細胞性ディスプラジアで計測し、 2.29 ± 0.17 , 1.99 ± 0.17 , 1.97 ± 0.26 , 1.85 ± 0.17 , 1.66 ± 0.19 , 1.63 ± 0.17 であった。CALD にみられたその他の微小異型病変は今回の検索では PBC 肝では明らかでなかった。PBC 肝でのこれらの異型病変では、類洞を構成する鍍銀線維の消失や減少は見られず、また AFP の発現や毛細血管の類洞化も見られなかった。なお、これら PBC 症例は、肝生検後、いずれも、5～6 年の経過観察が行われているが、その期間中にて HCC や AAH の発生は画像診断で検出されておらず、また内 5 例では剖検が行われたが、HCC や AAH は剖検肝で認められなかった。

考 察

慢性進行性肝疾患 (CALD)、特に肝硬変の再生結節内で、顕微鏡レベルの肝細胞性異型病巣が従来より知られており、小細胞性あるいは大細胞性ディスプラジアなどが代表的である^{7,8)}。核の形状や DNA 量の定量的解析、プロイディパターン、また組織学的所見より、これらの異型病変は前癌性病変あるいは癌の発生に深く関連する病変として捉えられ、欧米を中心に多くの報告がなされてきた^{10,20,21)}。これまでの研究では、これらの微小異型病巣が HCC と種々の類似性あるいは共通性を示すとされているが、実際に HCC の発生と直接、どの様に関連するか、特に形態的、経時的移行や中間的病変の存在に関して、明確な成績や解答は得られていない。これが、肝細胞性微小異型病変を前癌性病変あるいは癌化に直接関連付ける際の最大の弱点である。

さて、現在、HCC の前癌病変、先行病変あるいは境界病変として肉眼的に結節性病変として同定される AAH (あるいは MRN II 型) が議論の対照となっている¹⁰⁾。著者は、これら AAH の組織像が万人の認める HCC とは異なるが、しかし種々の異型像を呈すること、そしてこれらの異型像のかなりの

ものが従来報告されてきた微小異型病変に類似することより、この AAH を構成する病巣から非癌性の 6 種の異型病巣を抽出し、CALD (肝硬変や CAH) の肝実質でサーベイした。この過程により、非癌部肝実質で顕微鏡的に同定される微小異型肝細胞病巣が AAH や HCC 発生とどの様に関連しているかを明らかに出来ると考えたからである。また、肝生検などでこれらの病変が見い出された場合、どの様に意義付けるか、あるいは診断するかの道筋が出来ると考えたからである。

まず、HCC を合併する CALD の非癌部実質での肝細胞性異型病変は、再生結節内あるいは肝小葉内に散在性に出現するものと肝細胞癌結節の周囲にバンド状に出現するものに大きく 2 分出来た。これら病変の出現頻度と分布を背景の肝病変や HCC の合併との関連性で検討した。今回抽出した 6 種の病巣は、HCC あるいは AAH 合併例で、非合併例に比べ、高率であった。つまり、これらの病巣は癌の存在と密接に関連して出現すると考えられた。しかし、以下の述べる如く各々の異型病巣ごとに、その出現頻度が異なっていた。

小細胞性ディスプラジアは Watanabe ら⁹⁾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付けられる。Watanabe ら⁹⁾、Theise ら¹⁰⁾により、この病巣は HCC と関連性があると指摘されている。今回の組織計測学的研究でも、核密度の増加がみられ、小細胞性ディスプラジアが肝細胞癌と関連があることが定量的に裏付けられた。現在、小型の高分化 HCC でも癌細胞の小型化や、核濃染が指摘され、この形態学的類似性からも小細胞性ディスプラジアが HCC の初期病変ではないかと考えられている¹⁸⁾。今回の検討でも、HCC との関連性が強く、また肝小葉の 3/4 位を占める 4mm 大の小細胞性ディスプラジアもみられた。小細胞性ディスプラジアの一部は増殖して AAH へ移行する可能性が高く、その一部はさらに高分化 HCC に移行することも考えられる。

大細胞性ディスプラジアは Anthony ら⁷⁾により初めて報告されたもので、プロイディパターン、核の形態などから HCC の前癌性病変ではないかと注目されてきた^{10,20)}。しかし、我が国では、HCC の発生とは直接の関連性はなく、むしろ、慢性 B 型肝炎との関連性が話題となっている。事実、今回の研究でも B 型 CALD との関連性の深いことが示唆された。しかし、C 型肝炎で肝硬変へ進展した例、特に HCC 合併例でも大細胞性ディスプラジアが少なからずみられること、また AAH 内でも大細胞性ディスプラジアと同じ病変がみられたので、大細胞性ディスプラジアの一部は HCC の発生や存在と関連していると思われる。また、大細胞性ディスプラジアの中には核/胞体比の上昇しているものや活発に増殖しているものも知られており⁹⁾、この仮説を支持する。今後、大細胞性ディスプラジアの亜群の設定と研究が必要であろう。同様の考えは、既に Nakanuma らが報告している^{22,23)}。

さて、最近の欧米の 1 つの考え方として、AAH は上述した大細胞性あるいは小細胞性ディスプラジアを伴った大型の再生結節とする見解が発表されている²⁰⁾。つまり、顕微鏡レベルで検出される微小異型病変を伴った大型の再生結節が AAH として捉えられているとしている。このような考え方は、理論的であり、従来の組織レベルでみつけるディスプラジアと画像で見つかりつつある AAH を結び手掛かりになるかもしれない。その具体的な過程と HCC への移行の研究が必要がある。しかし、HCC の発生が希な PBC 肝を用いた検索でも、類似の大細

胞性、小細胞性ディスプラジアがしばしばみられた。このことは、これらの微小異型病変そのものが必ずしも AAH や HCC と直接結びつく病巣とは考えられない。これらの病巣が、AAH や HCC の向こうには、形態学ではわからない別の因子が存在すると思われる。

次に、マロリ体小集簇巣は、Nakanuma らが HCC と関連があると指摘した病変である^{23,24)}。マロリ体は肝細胞癌で高率に出現することが知られており²⁰⁾、French らは実験動物を用いた研究より、マロリ体は癌化に伴う肝細胞の形質変化の 1 つと考え、前癌病変としてとらえられている^{23,24)}。今回の研究では、HCC 合併例で非癌部実質に、マロリ体集簇巣が高率にみられた。示唆するサイズの多くは 1~2mm 程度の集簇巣で、AAH や HCC との直接の関連性を今後の課題と考えられた。さて、Lefkowitz らは最近、C 型慢性肝炎の進行例でマロリ体が門脈域周辺の肝細胞にしばしばみられると報告しており、この病変の持つ意義を強調している²⁵⁾。今回の検索でもマロリ体集簇巣は C 型慢性肝疾患に多く出現しており、また最近、川原らも今回の成績に似た報告を発表している²⁶⁾。今後の重要な研究課題と考えられている。

偽腺管形成は、いわゆる早期の高分化 HCC の組織学的特徴の一つとされている²⁷⁾。私の経験でも、この偽腺管形成、特に比較的大型の偽腺管は高分化の小型 HCC の同定に役立つ組織所見の一つと考えている²⁸⁾。しかし、類似の病変は再生像の一つとしても、従来よりよく知られており、特に胆汁うっ滞性疾患で出現しやすい¹⁹⁾。今回、HCC 合併例の非癌部でこの病変が高率にみられたので、再生結節内や CAH の肝小葉内に出現する偽腺管型異型病巣の少なくとも一部は HCC 発生と関連して出現するのかもしれない。偽腺管型異型病巣は、少なくとも、PCNA-LI の検討で、小細胞性ディスプラジアと並んで増殖活性の高い病変であった。しかし、今回の研究では、PBC 肝で高率にこの異型病変が認められた。また、AAH や高分化型 HCC でも類似の病変が出現するので、この構造異型そのものは肝の示す非特異的な病変の 1 つであり、その他の因子の解析が必要である。

核の類洞側偏位を伴う病変も、早期の高分化 HCC に出現しやすい、あるいはこれを同定する際に用いられてきた病変である⁹⁾。今回の研究では、この病変は C 型肝炎関連肝疾患で高率に出現し、アルコール性肝障害でも HCC 合併の 35% にみられた。HCC 発生に際し注目される病変の一つと考えられる。しかし、この構造自体は細胞の増殖に関連したものと考えられ、類似の病変ながらも核や細胞に種々の異型度がみられた。したがって、この病変の存在が、ただちに、HCC を意味する病変でないと思われるが、2 例においてこの種の異型病変からなる 5mm 大の病変がみられ、小型 AAH と呼べる病変もみられ AAH へ移行する可能性の高い病変と思われる。

淡明細胞型異型は、糖原(一部は脂肪)の沈着を伴う病変である。従来より、げっ歯動物を用いた発癌実験で、糖代謝の異常が癌発生に関連して出現し、前癌病変あるいは結節として報告されている²⁹⁾。同様な病変がヒトの CALD でも出現し、かつ HCC の発生と深く関連している点で興味深い。限局性に発生する糖代謝障害を伴った肝細胞のクローナルな増殖と思われ、その正確な代謝機序の解明が必要である。さらに、淡明化肝細胞は高分化の HCC でもみられ、淡明細胞型肝細胞癌としても指摘されている³⁰⁾。なお、最近、Von Gierke 氏病で肝細胞腺腫

や HCC が少なからず発生し話題となっている。このように淡明細胞型異型は糖代謝の異常と HCC 発生の観点から議論されている¹⁹⁾。

次に、これらの肝細胞性微小異型病変の生物学的性状を検討した。まず、これら病巣における類洞の表現型の変化を検討した。一般的に、HCC では、細胞や構造の異型に加え、その類洞の変化、特にその表現型の変化が注目されている¹⁰⁾。AAH でも、不完全、また部分的な表現型の変化が知られている。今回の検討でも HCC で毛細血管化現象が、高率に認められ、AAH でも不完全、部分的な毛細血管化が所々に認められた。しかし、肝実質内での異型病巣で毛細血管化は全く認められなかった。また、HCC でしばしば類洞での鍍銀線維が消失、減少することが知られ、HCC と境界病変との鑑別に用いられているが、今回の微小異型病変では鍍銀線維の消失は見られなかった。この像は AAH でもみられない。このことは、今回検索した異型病変は、類洞の表現型の面からは HCC と共通する像がないと考えられた。また、HCC の特異的なマーカーである AFP の発現のないこともこの解釈を支持している。しかし、AFP は AAH でも発現しておらず、このことは AFP 発現や鍍銀線維の消失は、かなり進行した HCC にみられる性格を表しているのかもしれない。

これらの微小異型病変での細胞増殖活性を PCNA-LI で検討した結果、HCC では強い増殖活性が認められ、AAH は周囲の再生結節や CAH の肝小葉と HCC との中間的な値を示した。微小異型病変では、偽腺管型と小細胞性ディスプラジアにおいて周囲の肝実質に比べ増殖活性の軽度の亢進が認められた。しかし、その他の微小異型病変では増殖活性の明瞭な亢進はみられなかった。微小異型病変の多くは増殖活性が高くないものと考えられる。Kondo ら³¹⁾、Komatsu ら³²⁾は、HCC 結節と周囲の肝実質との境界部の検討を行い、HCC 結節の周囲に高分化 HCC が高率にみられると報告している。また、Nakanuma らも、PBC に合併した HCC を検討し、HCC 結節の周囲に帯状に異型病巣のみられることを報告している³³⁾。そして、これらの病変の解釈として高分化型 HCC あるいは AAH を背景に分化度のやや低い HCC が同心円状に発生し、大きくなったとの解釈が一般的である³⁶⁾³⁷⁾。

私も、今回の検討で、同様な高分化 HCC 成分を認めた。さらに、明瞭な癌とは異なるが種々の異型のある 2 種類のバンド状の肝細胞性病変を、HCC 結節の周囲に約 30% の症例で見出した。HCC 結節の周囲性のこれらの異型病巣はその異型度によりさらに異型の軽度なもの（軽度異型群）とある程度の異型を認めるもの（中等度異型群）の 2 種類に分けることが出来た。中等度異型群は、前述した微小異型病変や AAH に似ており AAH の遺残、つまり、HCC が発生し、その周囲に AAH が残存する様に付着していると考えた。類洞の表現型の変化も AAH のそれに一致する。このことは従来考えられている如く³⁶⁾³⁷⁾、HCC が AAH を経由して多段階的に発生、進展するプロセスを具体的に示す所見と考えられる。

一方、異型の軽度ものはむしろ反応性の変化と考えた方が妥当と思われる。上述の微小異型病変より異型度は軽く、また AAH にみられる類洞の変化もみられなかった。このような癌の周囲の軽度の異型性病変は、他臓器の癌周囲の非癌部でも知られている。例えば、大腸癌では癌と非癌部の間に移行部の出現することが知られている³⁸⁾。今回の異型の少ない肝細胞性のパ

ンドはこの様な病態を反映している可能性が高い。AAH は現在、最も癌に近い前癌性病変あるいは癌化への移行段階にある病変として捉えられている。そして、実際にこの内部に癌巣が同心円状にみられることが病理組織学的に、また種々の画像診断で指摘されている。また臨床的な経過観察でも AAH が次第に動脈血で支配され、癌化する例も知られており、松井らの報告³¹⁾によると 2 年間の経過観察で、AAH の 30% が癌化し、さらにその内のいくつかは古典的な HCC に移行したと報告している。今回、検討した肝細胞性微小異型病変は病巣がいずれも肝臓腫瘍過形成内にみられるのと同質の小さな異型病巣であり、AAH と同一線上にある病変と考えたい。これらの微小異型病変が AAH あるいは HCC へと向かうのか、あるいはその多くは反応性で一部のみが AAH へと進展するのかわ不明である。しかし、類洞の表現型や細胞増殖活性などは AAH とは少し異なる病変として捉えられる。また、HCC の発生が殆どない PBC 肝でもこれらの微小異型異型病巣がしばしばみられた。しかし、これら病変の数と細胞、構造異型を考えると、多くの微小異型病変は癌化が始まるはるか以前の段階のもので、かなりのものは可逆的な段階の可能性が高い。従って、CALD の肝実質内にこれらの病変が出現しても、その多くは腫瘍性とは言

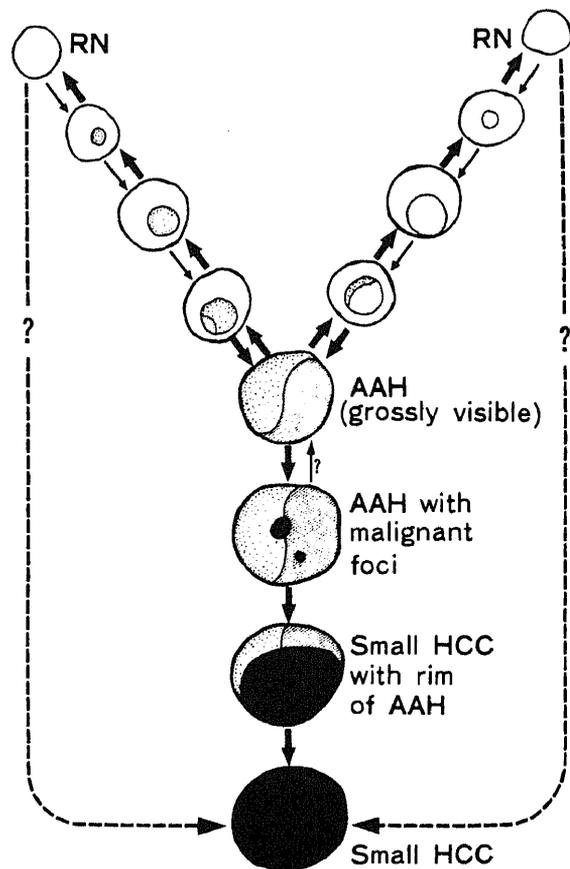


Fig. 12. Schema of the relation between regenerative nodule (RN), atypical adenomatous hyperplasia (AAH), small hepatocellular carcinoma (small HCC). Shade and dotted areas are minute hepatocellular atypical foci. Black areas are malignant foci or hepatocellular carcinoma. Thick arrows denote a more likely or probably progression; thin arrows denote a possible progression; dotted line denotes a questionable progression.

えないと考えるのが妥当かもしれない。しかし、AAH と病理組織学的に類似しており、肝生検でこれらの病変がみられた場合、HCC や AAH の診断に、常にこれらの微小異型病変を念頭に、再生異型の観点を含め、診断する必要があると思う。

今回の研究を基に、これらの異型肝細胞病変が HCC あるいは AAH の発生とどのような関連性を有するかに関して、私の考えを図12に示した。つまり、HCC への移行が確実視されている AAH でも類似の病変がみられるので、肝細胞性微小異型病変の一部が AAH、さらにその一部が HCC へと進展すると推定される。つまり、これらの中のいくつかは選択され、いくつかの段階を終えて AAH へと進展していくものと思われる。そして、ある程度の大きさの AAH になってしまうと、その多くは不可逆性の進行を示すと考えられ、特に癌と考えられる病巣が出現してからは、臨床的に検出される、あるいは臨床症状を呈する進行癌へと進展すると考えている。

最近、Wanless を中心とした研究班は、今回報告した微小異型病巣と AAH をまとめて異型結節として報告している³⁰。しかし、全ての微小異型病変が AAH に移行する成績がなく、明らかに仮説に基にした強引な考えと言わざるをえない。また、微小異型病変の生物学的性状に関し不明な点が多く、AAH と同一視することに抵抗を感じる。今後、1-2mm 大の微小異型病変がどのような遺伝学的変遷をとげ、AAH に移行するかが重要な課題と考えられ、詳細な分子病理学的検討が必要と考えられる。特に、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の検討が必要であろう。

最後に、Ishak は最近、慢性肝炎の診断で、病理医がなすべき義務として、慢性肝炎そのものの診断に加え、いわゆる前癌病変の有無の記述を薦めてする³¹。つまり、微小異型肝細胞性病変があるかどうかの記述である。医療診断でのこのような成績の蓄積が、今回明らかにした異型微小病変の持つ病理学的意義や患者の予後との関連性、さらには肝癌との発生に関し、より多くの明解な解答を与えてくれると思われる。

結 論

進行性慢性肝疾患に出現する微小異型肝細胞性病変をサーベイし、これらの病変の病理学的意義を検索し、その頻度、HCC との関連性、さらにその生物学的特性を検討し、以下の結論を得た。

1. HCC を合併する慢性進行性肝疾患の検討から、異型肝細胞病巣は部位により、HCC 結節周囲に出現するものと肝実質再生結節内にみられる病巣に2分出来た。
2. 肝癌を内包しない AAH 内にみられる肝細胞性異型病変を検討し、6種類の異型病巣を特定、抽出することが組織学的に可能であった。
3. AAH で抽出された微小異型病変を肝実質内で検討するとその多くは散在性にみられ、再生結節や肝小葉の内部にある程度の領域をもって認められた。多くは1~2mm程度で希に4~6mm程度のものもみられた。
4. これらの肝実質内の異型病巣はHCCや、AAH合併で非合併例より高率に出現し、特に小細胞性ディスプラジアは有意差をもって高率に出現した。
5. これらの肝細胞性微小異型病巣には、HCCやAAHにみられる表現型の変化やAFPの発現はみられず、細胞増殖活性も非癌部とほぼ同じであった。
6. HCCの発生の殆どないPBCでも類似の異型病変が高率

に出現し、PBC肝でみられるこれらの変化は反応性のものと考えられた。これらの異型病巣のいくつかは進行性の性格も存在すると考えられ、多段階的な進展が考えられたが、反応性のものも混在すると考えられた。

7. 他の1つの異型肝細胞性病変であるHCC結節周辺型は、反応性のものと先行するAAHが関連するものの2種類があった。

以上より、今回、抽出、検索した異型肝細胞性病変は、その一部はAAHあるいはHCCへと移行するポテンシャルを持っていながらも、反応性病変とは区別できなかった。これらの微小異型病変のいくつかは、選択されAAHへと進展するものと推定された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、終始御指導を賜りました恩師中沼安二教授に深謝します。また、貴重な御意見を賜りました第二病理学教室の先生方、また標本作成、染色などを快く行って頂きました第二病理学教室と国立金沢病院病理部の方々に感謝します。最後に、貴重な症例を御貸与頂きました金沢大学医学部付属病院病理部野々村昭孝博士、石川県立中央病院病理科車谷 宏博士、湊 宏博士、国立金沢病院病理科渡辺謙七郎博士、福井県立病院病理部土井下健治博士に深く感謝します。なお、本論文の一部の要旨は第27回日本肝臓学会総会(1991年、愛媛)、第27回日本肝癌研究会(1991年、愛媛)、第29回日本肝癌研究会(1993年、大阪)で発表した。

文 献

- 1) 小林健一: 肝硬変, 肝細胞癌—最近の動向: 肝硬変と肝癌. 消化器診療プラクティス(小林健一編), 第1版, 2-6頁, 文光堂, 東京, 1994.
- 2) Nakanuma, Y., Terada, T., Ueda, K., Tersaki, S., Nonomura, A. & Matsui, O.: Adenomatous hyperplasia of the liver as a precancerous lesion. *Liver*, 13, 1-9 (1993).
- 3) 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).
- 4) 神代正道: 早期肝癌の病理形態学的特徴. 肝腫瘍生検と画像第一巻(谷川久一編), 第1版, 19-32頁, 国際医書出版, 東京, 1989.
- 5) Terada, T., Ueda, K. & Nakanuma, Y.: Histological and morphometrical analysis of atypical adenomatous hyperplasia of human cirrhotic livers. *Virchow Arch. A Pathol. Histopathol.*, 422, 381-388 (1993).
- 6) 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).
- 7) Anthony, P. P.: Precursor lesions for liver cancer in humans. *Cancer Res.*, 36, 2579-2583 (1976).
- 8) Watanabe, S., Okita, K., Harada, T., Komada, T., Numa, Y., Takemoto, T. & Takahashi, T.: Morphologic studies of the liver cell dysplasia. *Cancer*, 51, 2197-2205 (1983).
- 9) Nakanuma, Y. & Ohta, G.: Is Mallory body formation

- a preneoplastic change: a study of 181 cases of liver bearing hepatocellular carcinoma and 82 cases of cirrhosis. *Cancer*, 55, 2400-2404 (1985).
- 10) Theise, N. D., Lapook, J. D. & Thung, S. N.: A macroregenerative nodule containing multiple foci of hepatocellular carcinoma in a noncirrhotic liver. *Hepatology*, 17, 993-6 (1993).
- 11) 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, 99-115 (1988).
- 12) 松井 修, 角谷真澄, 古川 淳, 荒川和徳, 蒲田敏文, 小林健一, 出町 洋, 高島 力, 中沼安二, 寺田忠史: 肝硬変に伴う結節性病変の血流支配—画像による in vivo での検討—. *Minophagen Medical Review*, 36141, 234-237 (1991).
- 13) Shikata, T., Uzawa, T., Yoshiwara, N., Akatsuka, T. & Yamazawa, S.: Staining methods of Australia antigen in paraffin section-detection of cytoplasmic inclusion bodies. *Jap. J. Exp. Med.*, 44, 25-36 (1974).
- 14) Choo, Q. L., Kuo, G., Weiner, A. J., Overby, L. R., Bradley, D. W. & Houghton, M.: Isolation of a cDNA derived from a blood borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244, 359-362 (1989).
- 15) Klatskin, G. & Conn, Ho.: *Histopathology of the Liver*, 1st ed., p636-645, Oxford University Press., New York, 1993.
- 16) Scheuer, P. J. & Lefkowitz, J. H.: *Liver Biopsy Interpretation*, 5th ed., p53-78, WB Saunders Comp., London, 1994.
- 17) Hsu, M., Raine, L. & Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled (PAP) procedure. *J. Histochem. Cytochem.*, 29, 557-580 (1981).
- 18) Terada, T. & Nakanuma, Y.: Expression of ABH blood group antigens, receptor of Ulex europaeus agglutinin, and factor VIII-related antigen in adenomatous hyperplasia in human cirrhotic livers. *Human Pathol.*, 22, 486-493 (1991).
- 19) Shi, S. R., Key, M. E. & Karla, K. L.: Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin embedded tissue: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.*, 39, 741-748 (1991).
- 20) Rubin, E. R., DeRose, P. B. & Cohen, C.: Comparative image cytometric DNA ploidy of liver cell dysplasia and hepatocellular carcinoma. *Modern Pathol.*, 6, 677-680 (1994).
- 21) Edmondson, H. A.: *Tumors of the Liver and Intrahepatic Bile Ducts. Atlas of Tumor Pathology, Fascicle 25*, 1st ed., p76-95, Washington D. C.: Armed Forces Institute of Pathology, Los Angeles, 1958.
- 22) Nakanuma, Y., Kanel, G. C., Doishita, K., Ohta, G. & Peters, R. L.: Risk lesions in cirrhosis and development of hepatocellular carcinoma: an autopsy study. *Biomed. Pharmacother.*, 43, 127-133 (1989).
- 23) Nakanuma, Y. & Ohta, G.: Expression of Mallory bodies in hepatocellular carcinoma in man and its significance. *Cancer*, 57, 81-6 (1989).
- 24) Katsuma, Y., Swierenga, S. H., Khettry, U., Marceau, N. & French, S. W.: Change in the cytokeratin intermediate filament cytoskeleton associated with Mallory body formation in mouse and human liver. *Hepatology*, 7, 1215-23 (1987).
- 25) Lefkowitz, J. H., Schiff, E. R., Davis G. L., Perrillo, R. P., Lindsay, K., Bodenheimer, H. C., Balart, L. A., Ortego, T. J., Payne, J., Dienstag, J. L., Gibas, A., Jacobson, I. M., Tamburro, C. H., Carey, W., O'Brien, C., Samplinger, R., Van Thiel, D. H., Feit, D., Albrecht, J., Meschievitz, C., Sanghvi, B., Vaughan, R. D. & the Hepatitis Interventional Therapy Group: Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: A multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterol.*, 104, 595-603 (1993).
- 26) 川原 弘, 上嶋康洋, 浦島左千夫, 澤田 信, 土島 誠: C型肝炎におけるユビキチンの免疫組織学的検討. *肝臓*, 35, 97 学会抄録 (1994).
- 27) Kondo, F., Hirooka, N., Wada, K. & Kondo, Y.: Morphological clues for the diagnosis of small hepatocellular carcinomas. *Virchow Archiv. A*, 411, 15-21 (1987).
- 28) Nakanuma, Y., Ohta, G., Sugiura, H. & Watanabe, K.: Incidental solitary hepatocellular carcinoma smaller than 1 cm in size found at autopsy: A morphologic study. *Hepatology*, 6, 631-635 (1986).
- 29) Bannasch, P.: Cytology and cytology of neoplastic (hyperplastic) hepatic nodules. *Can. Res.*, 36, 2555-2562 (1976).
- 30) Wu, P. C., Lai, C. L., Lam, K. C., Lok, A. S. F. & Lin, H. J.: Clear-cell carcinoma of the liver. An ultrastructural study. *Cancer*, 52, 504-507 (1983).
- 31) Kondo, Y., Kondo, F., Wada, K. & Okabayashi, A.: Pathologic features of small hepatocellular carcinoma. *Acta. Pathol. Jpn.*, 36, 1149-69 (1986).
- 32) Komatsu, T., Kondo, Y., Yamamoto, Y. & Isono, K.: Hepatocellular carcinoma presenting well differentiated, normotrabeular patterns in peripheral or metastatic foci. Analysis of 103 resected cases. *Acta. Pathol. Jpn.*, 40, 887-893 (1990).
- 33) Nakanuma, Y., Terada, T., Doishita, K. & Miwa, A.: Hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis. An autopsy study. *Hepatol.*, 11, 1010-1060 (1990).
- 34) Wanless, I. R.: Dysplastic nodules. *Hepatology*, (in press, 1995).
- 35) Ishak, K. G.: Chronic hepatitis: morphology and nomenclature. *Modern Path.* 7, 690-713 (1994).
- 36) Kondo, F., Ebara, M., Sugihara N., Wada, K., Kita, K., Horooka, N., Nagato, Y., Kondo, Y., Ohto, M., & Okuda, K.: Histological features and clinical course of large regenerative nodules: evaluation of their precancerous potentiality. *Hepatol.*, 12, 592-598 (1990).

37) Nagato, Y., Kondo, F., Kondo, Y., Ebara, M. & Ohto, M.: Histological and morphometrical indicators for a biopsy diagnosis of well differentiated hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 14, 473-478 (1991).

38) Vogelstein, B., Fearon, E. R. & Hamilton, S. R.: Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl J Med.*, 319, 525-532 (1988).

Hepatocellular Atypical Lesions in Chronic Advanced Liver Disease with Respect to Hepatocellular Carcinoma and Atypical Adenomatous Hyperplasia of the Liver Kouichi Hirata, Department of Pathology (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med. Soc., 104, 246—258 (1995)

Key words hepatocellular carcinoma, atypical adenomatous hyperplasia, dysplasia, microscopic atypical hepatocellular lesions, chronic advanced liver diseases

Abstract

Although most hepatocellular carcinoma (HCC) develop in chronic advanced liver diseases, much remains unclear with regard to the exact pathogenesis and precancerous lesions of HCC. Recently, adenomatous hyperplasia (AH), which are hepatocellular nodular lesions 1-2 cm in diameter, has been regarded as precancerous or borderline lesions of HCC. Notably, some HCCs have been thought to arise from AH. In this study, I have therefore examined the microscopic hepatocellular atypical lesions (HAL) seen in chronic advanced liver diseases with special reference to the relationship among HAL, HCC and AH. HALs were divisible into the following two types from the standpoint of location of coexisting HCC: HALs in the noncancerous liver parenchyma and HALs around the HCC. The former consisted of hepatocytes with a variable degree of cellular and structural atypia, and were divisible into the following six foci: small cell dysplasia, large cell dysplasia, pseudoglandular foci, perisinusoidal nuclear deviated lesion, Mallory body clustering and clear cell foci. These foci were scattered singly or in combination. Their size was similar to or half of that of cirrhotic nodules, although there were foci with a size similar to that of AH. Any foci were frequent in cases with HCC; small cell dysplasia was significantly associated with HCC. With regard to etiology, in hepatitis C virus-related and alcoholic liver diseases, small cell dysplasia and large cell dysplasia were associated with HCC, and in hepatitis B virus-related diseases large cell dysplasia was associated with HCC. There were no sinusoidal capillarization, hepatocellular expression of alpha-fetoprotein or other features of HCC. Cell proliferative activity was rather high in small cell dysplasia and pseudoglandular foci; it was occasionally similar to that of AH, but was significantly lower than that of HCC. These data suggest that HALs in the noncancerous liver parenchyma are precedent lesion of AH. On the other hand, in HALs around the HCC, HALs were located around the HCC, HALs were located around HCC nodules with a band-like appearance. They were divisible into the following two types: remnant of atypical AH, and reactive hepatocytes. In particular, the former may represent that atypical AH transforms in HCC. These data suggest that HALs are scattered in chronic advanced liver diseases, may progress to atypical AH, and further transform to HCC. It remains to be elucidated when and with what frequency these HALs transform to atypical AH.