

日本病理学会会誌

第81巻 第1号

Transactions Societatis Pathologicae Japonicae

1992

The Japanese Society of Pathology

Editorial Office : Clinical Laboratory Division, National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan

Tr Soc Pathol Jpn ISSN 0300-9181

III-H-7 C型肝炎ウイルスマーカーと慢性肝疾患との関係について

伊倉義弘、桜井幹己（大阪市立大学医学部第二病理）

＜目的＞近年、C型肝炎ウイルス（以下HCV）に対する種々の血清学的診断法の確立により、慢性肝疾患（慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌）の数多くがHCVに関連したものであることが解かってきた。今回、我々は剖検例を対象とし、慢性肝疾患、特に肝細胞癌におけるHCVの影響について調査、検討した。

＜方法＞対象は1978年から1989年までに大阪大学医学部付属病院で病理理解剖の施行された359症例である。各症例につき、剖検時に血清を採取し、オーソ社のキットを用いてC-100抗体の測定を行なった。肝臓は各々数切片づつ採取しH.E, Azan等の染色を施し、組織学的な検索を加えた。

＜結果＞調査対象となった359例中、C-100抗体陽性例は158例であり、さらにその内、慢性肝疾患有するものは48例であった。48例の内訳は、慢性肝炎5例、肝硬変42例、肝細胞癌26例であった。HCVに関連した慢性肝疾患はB型肝炎ウイルス（以下HBV）によるそれとほぼ同様な組織学的所見を示したが、HCVによると考えられる肝細胞癌はHBVによる肝細胞癌をもつ肝臓より、やや強い炎症を有する肝臓に発生する傾向にあることが解かった。

III-H-8 ウィルス性慢性肝炎における proliferating cell nuclear antigen/cyclin による肝細胞増殖能の評価

中村智次、馬場 健、酒井俊彦、発地雅夫（信州大・医・第二病理）

ウィルス性慢性肝炎（CH）からの肝硬変（LC）への進展・肝癌（HCC）の発生には、ウィルスそのものの関与よりも肝細胞の壊死・再生の繰り返しが重要と考えられている。今回、CHにおける肝細胞の増殖能の評価を目的として、肝生検材料62例のホルマリン固定・パラフィン切片にproliferating cell nuclear antigen/cyclin (PCNA)に対する单クローニング抗体 (PC10, Dakopatts) を用いた免疫組織化学的染色を行なった。病理組織像はKnodellらのhistology activity index (HAI) によりスコア化し、肝細胞のPCNA陽性率との相関を検討した。その結果、B型・C型・非A非B型を問わず、慢性活動性肝炎(CPH) 15例ではHAI score 10以下、PCNA陽性率3.0%以下であったが、慢性活動性肝炎(CAH)39例及びLC 8例ではHAI scoreは8以上、PCNA陽性率は最高10%まで様々であった。また、陽性率3.5%以上の12例のうち11例はHAI score 10以上のCAHであった。しかしPCNA陽性率高値例ではHAIの各組織所見項目のscoreとの間に明らかな相関はなかった。以上よりCAHには肝細胞の増殖能がCPHと同程度のものとCPHより高い増殖能を示すものとがあり、特に後者ではLC, HCCの発生との相関についてさらにfollow-up dataの蓄積が必要と考えられる。

III-H-9 コドン12に点突然変異をもつras遺伝子によるマウス肝細胞株の形質転換

神田浩明、李 康弘、野村起美恵、大竹啓子、北川知行（癌研病理）

マウスの肝癌では、高率にc-H-ras遺伝子コドン61に点突然変異がある。しかし、ラット乳癌で頻発するコドン12変異は殆んど無い。その理由として、1) 変異の起こり易い部位に臓器差、種差がある、2) コドン12の点突然変異がマウスの肝細胞に対して形質転換能を持たない、が考えられる。今回、李らが樹立した不死化肝細胞(MLE-10)を用いて2)の可能性を検討した。（方法）コドン12に点突然変異を持つヒトc-H-ras遺伝子(PT24, Gly→Val)をPSV₂neo遺伝子と共に、MLE-10へランクスフェクトし、G418選択培養でできたコロニーから、6細胞株を樹立した(MLE-10-24)。陽、陰性対照としてPSK₂(コドン61に変異を持つヒトc-H-ras遺伝子、Glu→Leu)+PSV₂neo、PSV₂neoのみ、をそれぞれ同様にランクスフェクトし、各々3および6株を樹立した(MLE-10-SK₂, MLE-10-neo)。導入遺伝子の組み込みと発現を確認したのち、各々につきヌードマウスの皮下と軟寒天培地での増殖性を検索した。（結果）MLE-10-24とMEL-10-SK₂はすべて4週間以内にヌードマウスの皮下に腫瘍をつくり、軟寒天でも増殖可能であった。MLE-10-neoは、両者とも陰性だった。（結論）コドン12に変異のあるras遺伝子もコドン61変異と同様にマウス肝細胞の形質転換能があることが示された。

III-H-10 ペルオキシゾーム増生物質により誘発された肝前癌病変の免疫組織化学的検討

萩原昭裕、長谷川良平、広瀬雅雄、朝元誠人、玉野静光、伊東信行（名古屋市立大学医学部第一病理）

肝発癌物質は、中期発癌試験法において一般に胎盤型glutathione S-transferase (GST-P)陽性細胞巣の発現を増強するが、非変異原性の肝発癌物質であるペルオキシゾーム増生物質では例外的に顕著な減少を観察した。今回は、clofibrate (CF) により発現した肝の小増殖巣における各種酵素の変動を免疫組織化学的に検討した。

【材料と方法】6週令雄F344ラットにDEN (200mg/kg)腹腔内投与2週後より1% CFを6週間投与し、第3週に2/3肝部分切除した。肝についてGST-P, enoyl CoA hydratase (ECH), Mn-superoxide dismutase (Mn-SOD), carbonic anhydrase III(CA III) 等を免疫組織化学的に検索した。

【結果】CF投与ラットにおける肝の小増殖巣は、GST-Pで陽性にECH, Mn-SOD, CA IIIでは陰性に染色された。DEN単独の対照群と比較して、GST-P陽性, Mn-SODまたはCA III陰性細胞巣の数および面積とともに顕著な減少を示した。ECHではCF投与によるペルオキシゾーム増生に起因して背景が染まるため、小増殖巣が陰性に検出された。【結論】CFによる肝の前癌病変の指標酵素としてGST-Pが最適であった。ECHはペルオキシゾーム増生物質の肝発癌に限定される指標酵素であった。

III-H-11 DENによるラット肝発癌過程における AFP, γ -GTP, および GST-P の免疫組織化学的検討

真坂 彰、吉田秀樹、吉村秀宏、岡田仁史、相田芳夫、前山史朗、打越敏之（聖マリアンナ医科大学第2病理学教室）

【目的】DEN投与ラット肝発癌過程における酵素変異巣、過形成結節をみるため一般染色に加えAFP, γ -GTP, GST-Pを用いて免疫組織染色を行い併せて血清AFP値を測定し検討した。

【方法】Fisher系雄ラット（5週令）を用い、基礎試料のみの対象群とDEN経口投与12週群に分け2週以降16週まで隔週ごとエーテル麻酔下に開腹、採血後肝臓を摘出した。各葉より切片を作成、この材料より一般染色の他GST-P, γ -GTP, AFPの免疫染色（ABC法）を行い病理組織学的態度および血清AFP値の変動について検討した。

【結果およびまとめ】2週にはGST-P染色陽性の酵素偏異巣の出現を、6週では過形成結節の出現を認めた。GST-P染色陽性巣は週数に比例しその面積を増した。10～12週で異型性の強い過形成結節がみられ、一部は癌と考えられた。同部でのGST-Pの染色性は不均一であった。 γ -GTPは6週から変異巣および過形成結節部で陽性を示した。AFPでは癌の一部に染まるもの一定の傾向はなかった。これら酵素の染色性の組合せを血清AFP値の変動と併せて報告する。

III-H-12 F344 congenic無アルブミンラット肝内へのF344ラット肝過形成結節細胞の移植による肝発癌

太田知明¹、西川祐司¹、小川勝洋¹、長瀬すみ²（¹旭川医大第1病理、²佐々木研究所）

ラットの肝化学発癌では過形成結節が肝癌の発生母地になるとされているが、これに対する直接的な証明は乏しい。今回我々はF344ラット肝にSolt & Farber法により作製した過形成結節を含む肝細胞を無アルブミンラット肝内に経腸間膜靜脈的に移植し、その後1～2年間0.05%フェノバルビタール食にて飼育後屠殺し、肝癌が発生するか観察した。移植を行ったラット16匹の肝内には10個の肝癌が認められ、GST-P, アルブミン染色ともに陽性であった。この他に合計2157個のGST-P陽性の肝過形成結節を認め、このうちの2157個がアルブミン染色陽性を示した。この過形成結節と肝癌の一部を実体解剖顕微鏡下に未染色標本からくりぬき、これを鉄型にPCR法によりNARで知られているアルブミン遺伝子の7塩基欠損部を含む領域を増幅して調べたところ、genomeのレベルでもdonor由来であることが確認された。さらに移植を行った群では血清アルブミン値はコントロールの40倍の高値を示し、血清蛋白電気泳動ではアルブミンの上昇にともないグロブリンの低下を認めた。以上よりF344由来の分離肝過形成結節細胞を移植することによりF344 congenic無アルブミンラット肝内にdonor由来の肝癌を誘発できることが明らかになった。