

간세포암종에서 종괴와 종괴주변 간조직의 HBsAg 및 HBcAg 발현

연세대학교 의과대학 병리학교실 및 내과학교실*

한지영 · 정우희 · 전재윤* · 박찬일

The Tissue Expression of HBsAg and HBcAg in Hepatocellular Carcinoma and Peritumoral Liver

Jee Young Han, M.D., Woo Hee Jung, M.D., Chae Yoon Chon, M.D.* and Chanil Park, M.D.

Department of Pathology and Internal Medicine*, Yonsei University College of Medicine

To evaluate the tissue expression rate and pattern of HBsAg and HBcAg in tumors and peritumoral livers, an immunohistochemical study was undertaken on 47 surgically resected hepatocellular carcinomas(HCCs). The results are as follows. 1. Patients' sera were positive for HBsAg in 40 cases(85.1%). In the remaining 7 cases, the tumor and peritumoral liver expressed neither HBcAg nor HBsAg, suggesting that they were caused by other etiologies than hepatitis B virus. 2. The peritumoral liver had HBsAg and HBcAg in 95.0% and 27.5% among the 40 cases, respectively. But the tumor expressed HBsAg in 50.0% and HBcAg in none. 3. The expression of HBsAg within the tumor and both HBsAg and HBcAg in the peritumoral liver tended to be more frequent in the pretreated cases before surgery. 4. Edmondson-Steiner grade IV tumors revealed a lower expression rate of HBsAg than the low grade tumors($p < 0.05$). In cases with cirrhosis at peritumoral tissues, HBcAg was less frequently found than in those without cirrhosis. The majority of tissue HBsAg and HBcAg was represented as groups of positive cells. These results suggest that, during the development and progression of HCCs, the HBcAg containing cells are repeatedly removed and the HBcAg negative cells are selected, because cellular expression of HBcAg is the target of host immune response. (Korean J Pathol 1993; 27: 371~378)

Key Words: Tissue expression, Hepatocellular carcinoma, HBsAg, HBcAg, Liver cirrhosis

서 론

B형 간염바이러스(hepatitis B virus, HBV)가 간세포암종(hepatocellular carcinoma, HCC)의 발생에 있어서 가장 중요한 원인이라는데 이의를 가진 학자는 거의 없다. 특히 HBV에 의한 간경변증의 경우에는 약 45%가 HCC로 발전하는 것으로 알려져 있고¹⁾, 따라서 HBV 보균율이 높은 지역에 HCC의 발생이 많은 것은 당연한 일이다. 그러나 HCC의 종괴내

부와 종괴주변 간조직에서 HBsAg이나 HBcAg이 발현하는 빈도에 관한 기존의 연구 결과들을 보면 보고에 따라 발현빈도에 차이가 크다²⁻⁷⁾. 뿐만 아니라 종괴주변 간조직에 간경변증이 있는지의 여부에 따라 HCC의 성장방식이 다르고⁸⁾ HCC를 가진 간에서 보이는 간경변증은 대개 간세포의 파괴보다 재생이 더 우월한 상태에 있기 때문에 간경변증의 유무와 발생에 따라 조직내 HBV 표지자의 발현빈도와 발현 양상이 서로 다를 가능성이 있음에도 불구하고 지금까지의 연구들은 이러한 사항들을 고려하지 않고 포괄적인 빈도를 제시하는데 그친 것이 대부분이다.

우리나라는 HBV보균율이 높은 지역의 하나로서 HCC환자의 대부분에서 혈청 HBsAg이 양성이며 음성인 것이 19~26.6%로 보고되어 있다^{9,10)}. 혈청

접 수: 1993년 2월 17일, 게재승인: 1993년 5월 8일
주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134번지, 우편번호 120-752
연세대학교 의과대학 병리학교실, 박찬일

HBsAg이 음성인 예들 중 상당수는 C형 간염바이러스(hepatitis C virus, HCV)¹¹⁾ 또는 기타 HBV이외의 원인에 의해 발생하지만 적어도 일부는 HBV-DNA가 간세포핵에 삽입된 결과로 발생한다고 믿고 있다¹²⁻¹⁴⁾. 즉 HBV에 의한 HCC중 바이러스 DNA가 간세포핵에 삽입된 후 HBsAg mRNA를 생산하지 못하여 혈청 HBsAg이 음성이더라도 삽입된 바이러스 DNA가 HBcAg mRNA를 생산한다면 혈청 HBsAg이 음성인 HCC라도 암세포에서 HBcAg이 발현할 수 있다는 가설이 성립한다.

HCC의 치료를 위하여 여러가지 방법이 모색되고 있으며 현재 시도되고 있는 비외과적 치료법으로는 방사선요법, 고온요법, 색전요법, lipiodol 주입법, 알코올주입법 등이 있다. 그러나 아직 확실한 치료법이 없을 뿐 아니라 동일한 방법을 적용하더라도 환자에 따라 효과가 일정하지 않다. 이러한 치료법들은 면역학적 이론과는 무관한 비특이적인 방법이지만 암세포들의 HBV 표지자 발현여부 및 발현양상이 치료에 대한 감수성에 영향을 미칠 가능성을 배제할 수 없다.

그러므로 본 연구에서는 외과적으로 절제된 HCC를 대상으로 혈청 HBsAg 및 HBeAg 양성 여부, 수술 전의 비외과적 치료 여부, 종양의 성장방식, 암세포의 분화도, 주변 간조직의 간경변증 유무에 따라 종괴 및 그 주변 간조직에서 HBsAg과 HBcAg의 발현빈도와 발현양상을 비교하여 보고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구대상

연구재료로는 1985년부터 1991년까지 본 의료원에서 HCC로 진단받고 간 절제술을 시행받은 환자 중 종괴주변 간조직이 충분히 포함된 47예를 대상으로 하였다. 환자의 임상기록에서 혈청 HBV표지자 및 수술적 치료경력에 관하여 조사하였다.

2. 연구방법

1) 일반적인 형태학적 검색: 절제된 간을 육안적으로 검사하여 간경변증의 유무를 기록하고, 박동⁸⁾의 분류법에 따라 종양의 성장방식을 분류하였다. 파라핀 포매조직으로 hematoxylin-eosin 염색과 Masson trichrome 염색을 시행하여 Edmondson-Steiner¹⁵⁾의 기준에 따른 종양의 조직학적 분화도, 종괴주변 간조직의 간경변증 유무등을 관찰하였다.

2) 면역조직화학적 검색: 연구대상 예들의 종괴와 종괴주변 조직에서 만든 각 2개씩의 파라핀 포매조직으로부터 연속절편을 만들어 labeled streptavidin-biotin(LSAB)법으로 HBsAg 및 HBcAg에 대한 면역조직화학적 염색을 시행한 후 종괴와 그 주변조직에서 항원의 발현여부 및 발현양상을 검색하였다. HBsAg 염색상 세포막 또는 세포질이,

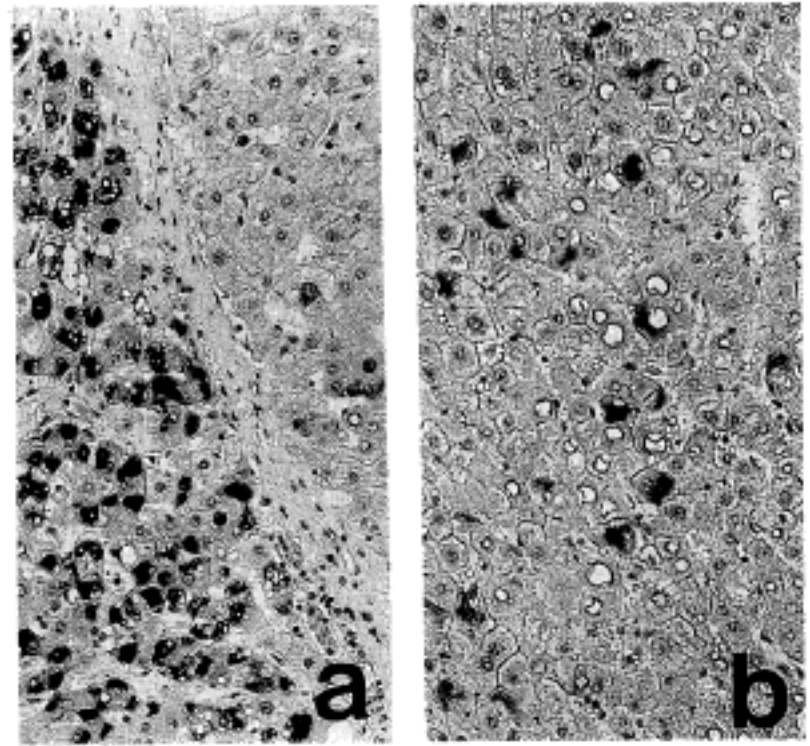


Fig. 1. Tissue expression pattern of HBsAg in non-neoplastic portion of liver(LSAB method). (a) Most liver cells in one cirrhotic nodule are positive for HBsAg in contrast to the other nodule(grouped). (b) The HBsAg containing cells are scattered throughout the microscopic field.

HBcAg 염색상 핵 또는 세포질이 적갈색으로 염색된 것을 양성으로 판독하였으며, 양성으로 염색되는 세포의 수와 염색의 강도는 고려하지 않았다. 발현양상은 HBsAg와 HBcAg이 각각 집단으로 나타나는 경우(grouped)와 산재하여 나타나는 경우(scattered)로 나누었다(Fig. 1). 개개의 세포에서 HBsAg이 발현하는 양상은 세포질내에 미만성 또는 과립형으로 염색되는 경우(cytoplasmic, cHBsAg)와 세포막을 따라서 염색되는 경우(membraneous, mHBsAg)로 나누었으며(Fig. 2). HBcAg이 발현하는 양상은 핵에서만 발현되는 경우(nuclear, nHBcAg)와 핵 및 세포질에서 모두 발현되는 경우(cytoplasmic, cHBcAg)로 나누었다(Fig. 3).

3) 통계학적 처리: 통계처리를 위하여는 Chi-square test를 이용하였으며, p-value가 0.05이하인 경우를 유의있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 종괴와 종괴주변 간조직에서 HBsAg 및 HBcAg의 발현빈도

연구대상 47예 중 혈청 HBsAg이 양성인 것은 40예로 85.1%였다. HBsAg이 양성인 40예중 혈청 HBeAg 검사는 28예에서 시행되었으며 그 중 양성인

것은 7예로 25.0%에 불과하였다(Table 1).

1) **혈청 HBV 표지자의 유무에 따른 발현빈도:** 혈청 HBsAg 양성인 40예 중 종괴와 종괴주변 간조직에서 HBsAg이 발현된 예는 각각 20예(50.0%) 및 38예(95.0%)였으며, 혈청 HBsAg 음성인 경우에는 조직에서 HBsAg이 발현된 예가 하나도 없었다. 혈청 HBeAg이 양성인 7예 중 종괴와 그 주변에서 HBsAg이 발현된 예는 각각 3예(42.9%) 및 7예(100.0%)였으며(Table 1), 종괴내 HBsAg의 발현빈도는 종괴주변의 약 1/2정도로 낮았다.

혈청 HBsAg이 양성인 경우 종괴주변에서는 HBcAg의 발현빈도가 27.5%였고 특히 혈청 HBeAg이 양성인 경우에는 57.1%로 높았으나($p < 0.05$) 종괴내에 HBcAg이 양성인 예는 없었다. 혈청 HBsAg이 음성인 경우에는 조직내에서 HBsAg이나 HBcAg이 발현한 예가 하나도 없었다(Table 1). 그러므로 이하부터는 혈청 HBsAg이 양성인 40예만을 대상으로 분석하였다.

2) **수술전 치료 여부에 따른 발현빈도:** 수술전 치료를 받은 예는 모두 14예였으며, 종괴와 그 주변조직의

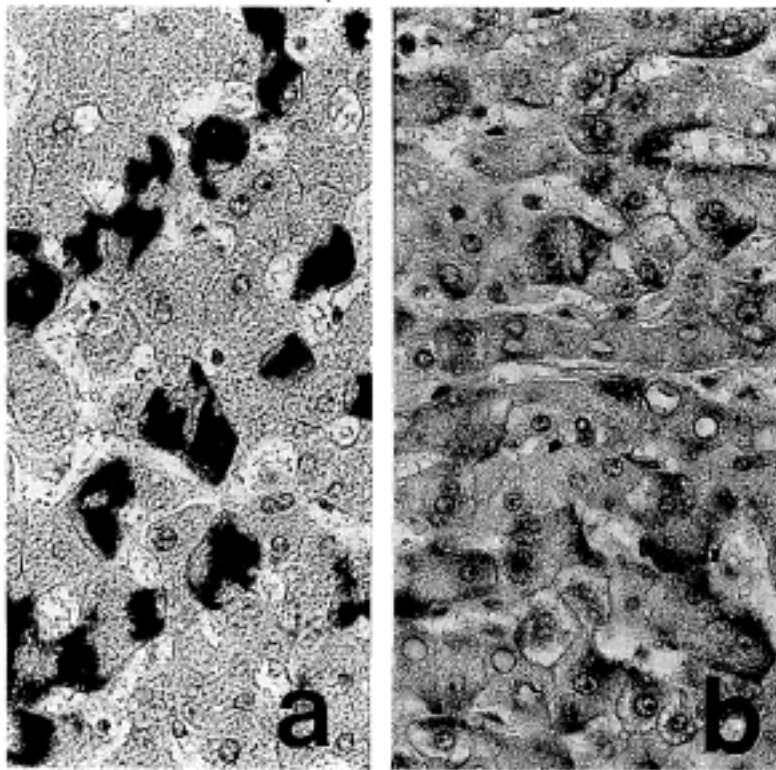


Fig. 2. Cellular expression pattern of HBsAg in non-neoplastic portion of liver(LSAB method). The expression of hepatocellular HBsAg is (a) intracytoplasmic and homogenous(cHBsAg), but is (b) linear along the cell membrane (mHBsAg).

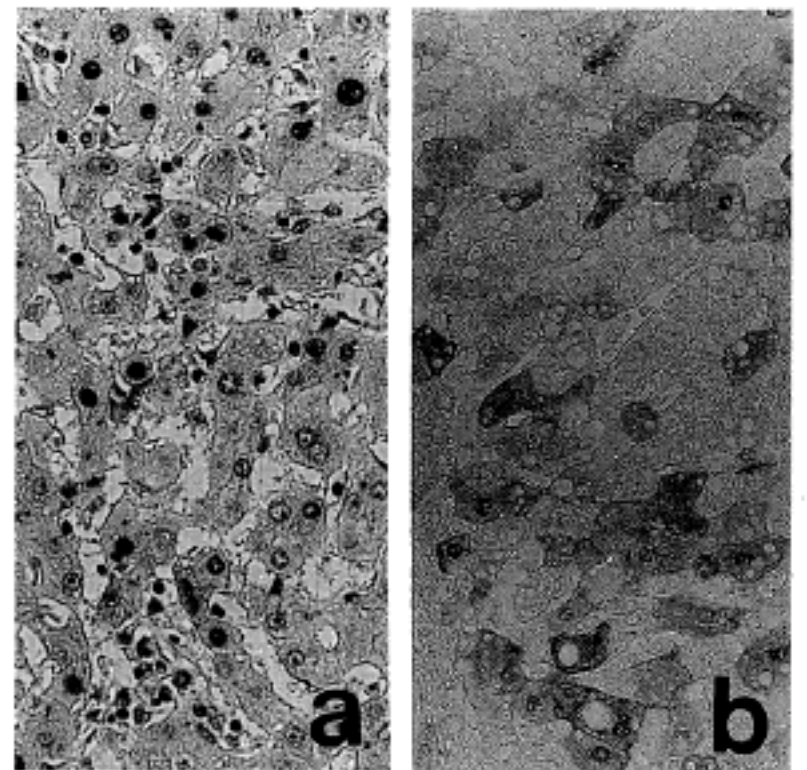


Fig. 3. Cellular expression pattern of HBcAg in non-neoplastic portion of liver(LSAB method). (a) Only nuclear staining of HBcAg(nHBcAg), and (b) both nuclear and cytoplasmic staining of HBcAg(cHBcAg).

Table 1. Tissue expression of HBsAg and HBcAg according to serum status of HBsAg and HBeAg

| Serum HBV marker | No of cases | Non-neoplastic liver | | HCC tissue | |
|------------------|-------------|----------------------|-----------|------------|-------|
| | | HBsAg | HBcAg | HBsAg | HBcAg |
| HBsAg positive | 40 | 38(95.0%) | 11(27.5%) | 20(50.0%) | 0 |
| HBeAg(+) | 7 | 7(100.0%) | 4(57.1%)* | 3(42.9%) | |
| HBeAg(-) | 21 | 19(90.5%) | 6(28.6%) | 10(47.6%) | |
| HBeAg ND | 12 | 12(100.0%) | 1(8.3%) | 7(58.3%) | |
| HBsAg negative | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total | 47 | 38(80.9%) | 11(23.4%) | 20(42.6%) | 0 |

* $p < 0.05$ in comparison to HBeAg(-) cases

ND: not done

HBsAg 및 HBcAg 발현빈도는 수술전 치료를 받은 예에서 좀 더 높았으나(Table 2) 통계학적인 의의는 없었다.

3) HCC의 육안적 성장방식에 따른 발현빈도: 혈청 HBsAg이 양성인 40예를 종괴의 육안적 성장방식에 따라 분류한 결과 팽창(expanding)형이 14예, 부분파급(focal spreading)형이 14예, 파급(spreading)형이 7예였으며, 나머지 5예는 유사경변(cirrhoto-mimetic)형이었다. 조직내 HBV표지자의 발현빈도는 대체적으로 종괴의 육안적 성장방식에 따라 특별한 차이를 보이지 않았으나 유사경변형의 경우 종괴주변

조직의 HBcAg 발현율이 현저하게 높았다($p < 0.05$) (Table 3).

4) HCC의 조직학적 분화도에 따른 발현빈도: 암세포들의 분화도를 Edmondson-Steiner의 기준에 따라 나눈 결과 등급 I이 4예, 등급 II가 19예, 등급 III과 IV가 각각 10예 및 4예였으며, 3예에서는 수술전 치료로 종양이 완전히 괴사조직으로 대치되어 분화도를 결정할 수 없었다. HBsAg과 HBcAg의 발현빈도는 전반적으로 조직학적 분화도에 따른 차이를 보이지 않았으며(Table 4), 다만 등급 IV인 경우 종괴내에 HBsAg의 발현율이 낮았다($p < 0.05$).

Table 2. Tissue expression rate of HBsAg and HBcAg according to performance of preoperative treatment

| Preoperative treatment | No of cases | Non-neoplastic liver | | HCC tissue | |
|------------------------|-------------|----------------------|-----------|------------|-------|
| | | HBsAg | HBcAg | HBsAg | HBcAg |
| Done | 14 | 14(100.0%) | 5(35.7%) | 8(57.1%) | 0 |
| Not done | 26 | 24 (92.3%) | 6(23.1%) | 12(46.2%) | 0 |
| Total | 40 | 38 (95.0%) | 11(27.5%) | 20(50.0%) | 0 |

Table 3. Tissue expression rate of HBsAg and HBcAg according to growth pattern of HCC

| Growth pattern | No of cases | Non-neoplastic liver | | HCC tissue | |
|------------------|-------------|----------------------|-----------|------------|-------|
| | | HBsAg | HBcAg | HBsAg | HBcAg |
| Expanding | 14 | 14(100.0%) | 4(28.6%) | 8(57.1%) | 0 |
| Focal Spreading | 14 | 13 (92.9%) | 3(21.4%) | 7(50.0%) | 0 |
| Spreading | 7 | 7(100.0%) | 1(14.3%) | 2(28.6%) | 0 |
| Cirrhoto-mimetic | 5 | 4 (80.0%) | 3(60.0%)* | 3(60.0%) | 0 |
| Total | 40 | 38 (95.0%) | 11(27.5%) | 20(50.0%) | 0 |

* $p < 0.05$ in comparison to the other growth patterns.

Table 4. Tissue expression rate of HBsAg and HBcAg according to histologic grade of HCC

| Histologic grade | No of cases* | Non-neoplastic liver | | HCC tissue | |
|------------------|--------------|----------------------|-----------|------------|-------|
| | | HBsAg | HBcAg | HBsAg | HBcAg |
| I | 4 | 4(100.0%) | 1(25.0%) | 2(50.0%) | 0 |
| II | 19 | 17 (89.5%) | 6(31.6%) | 10(52.6%) | 0 |
| III | 10 | 10(100.0%) | 3(30.0%) | 7(70.0%) | 0 |
| IV | 4 | 3 (75.0%) | 1(25.0%) | 1(25.0%)* | 0 |
| Total | 37 | 34 (91.9%) | 11(29.7%) | 20(54.1%) | 0 |

#: excluding 3 cases where the tumors underwent total necrosis

* $p < 0.05$ in comparison to the other grades.

Table 5. Tissue expression rate of HBsAg and HBcAg according to histologic state of non-neoplastic liver

| Cirrhosis | No of cases | Non-neoplastic liver | | HCC tissue | |
|-----------|-------------|----------------------|------------|------------|-------|
| | | HBsAg | HBcAg | HBsAg | HBcAg |
| Present | 31 | 29 (93.5%) | 7 (22.6%) | 16(51.6%) | 0 |
| Absent | 9 | 9(100.0%) | 4 (44.4%) | 4(44.4%) | 0 |
| Total | 40 | 38 (95.0%) | 11 (27.5%) | 20(50.0%) | 0 |

Table 6. Tissue expression pattern of HBsAg and HBcAg in HCC and non-neoplastic liver tissue

| | HBsAg | | | HBcAg | | |
|-----------------------|----------|-----------|-------|----------|-----------|-------|
| | Grouped | Scattered | Total | Grouped | Scattered | Total |
| Non-neoplastic tissue | 34(89.5) | 4(10.5) | 38 | 9(81.8) | 2(18.2) | 11 |
| Cirrhotic | 25(86.2) | 4(13.8) | 29 | 6(85.7) | 1(14.3) | 7 |
| Active | 10(83.3) | 2(16.7) | 12 | 1(50.0) | 1(50.0) | 2 |
| Inactive | 15(88.2) | 2(11.8) | 17 | 5(100.0) | 0 | 5 |
| Non-cirrhotic | 9(100.0) | 0 | 9 | 3(75.0) | 1(25.0) | 4 |
| HCC tissue | 14(70.0) | 6(30.0) | 20 | 0 | 0 | 0 |

Values in parentheses are percent of total.

Table 7. Cellular expression pattern of HBsAg and HBcAg in HCC and non-neoplastic liver tissue

| | HBsAg | | | HBcAg | | |
|-----------------------|----------|----------|-------|---------|----------|-------|
| | cHBsAg | mHBsAg | Total | nHBcAg | cHBcAg | Total |
| Non-neoplastic tissue | 30(78.9) | 8(21.1) | 38 | 2(18.2) | 9 (81.8) | 11 |
| Cirrhotic | 23(79.3) | 6(20.7) | 29 | 1(14.3) | 6 (85.7) | 7 |
| Active | 7(58.3) | 5(41.7)* | 12 | 0 | 2(100.0) | 2 |
| Inactive | 16(94.3) | 1(5.7) | 17 | 1(20.0) | 4 (80.0) | 5 |
| Non-cirrhotic | 7(77.8) | 2(22.2) | 9 | 1(16.7) | 5 (83.4) | 6 |
| HCC tissue | 19(95.0) | 1(5.0) | 20 | 0 | 0 | 0 |

Values in parentheses are percent of total.

cHBsAg: cytoplasmic HBsAg, mHBsAg: membranous HBsAg, nHBcAg: nuclear HBcAg,

cHBcAg: cytoplasmic HBcAg

*p<0.05 in comparison to inactive cirrhosis

5) 종괴주변 간조직의 간경변증 유무에 따른 발현빈도: 간경변증이 동반된 예는 모두 31예였으며, 간경변증이 동반되지 않은 경우와 비교할 때 HBcAg의 발현빈도가 낮았던 것 이외에는 HBV포지자의 발현빈도에 뚜렷한 차이가 없었다(Table 5).

2. 종괴와 종괴주변 간조직에서 HBsAg 및 HBcAg의 발현양상

종괴주변조직에서는 간경변증의 유무와 간경변증의 활성여부에 관계없이 HBsAg이나 HBcAg을 함유

한 세포들이 대개 집단으로 출현하였으며, 종괴내의 HBsAg발현도 집단으로 분포하는 것이 산발적으로 출현하는 것보다 7:3의 비율로 많았다(Table 6). 세포내에서 HBV포지자가 발현하는 모습을 요약하면 Table 7과 같다. 즉 세포내에 HBsAg이 발현하는 양상으로는 세포질에 미만성으로 염색되는 cHBsAg형이 종괴(Fig. 4)와 종괴주변조직에서 각각 95.0% 및 78.9%를 차지하였으며, 특히 비활성 간경변증 조직과 암세포에서는 cHBsAg의 비율이 더욱 높은 반면 활성 간경변증 조직에서는 mHBsAg형이 41.7%나 되

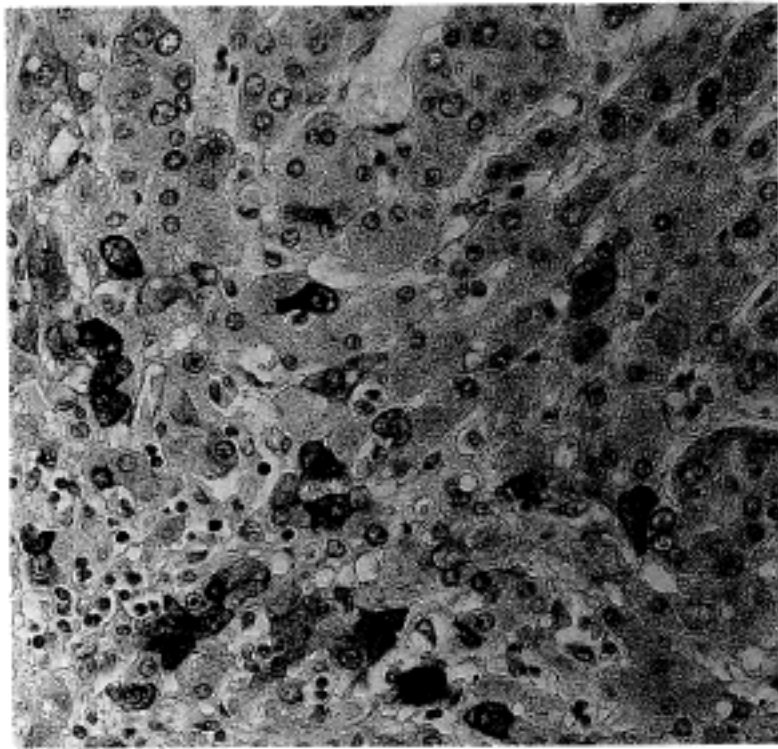


Fig. 4. Expression of HBsAg in hepatocellular carcinoma(LASB method). Several tumor cells reveal positive immunostaining for HBsAg.

었다($p < 0.05$). HBcAg의 세포내 발현양상으로는 핵과 세포질에 동시에 발현하는 경우(cHBcAg)가 훨씬 많았으며 특히 활성 간경변증이 있는 경우에는 HBcAg이 발현된 2예 모두 cHBcAg형이었다.

고 찰

많은 학자들이 HBV가 HCC의 원인으로 관여한다고 생각하여 이를 규명하기 위한 다방면의 연구들을 수행하여 왔다. 병리학적인 측면에서도 면역조직화학적 방법의 발달에 따라 HCC종괴와 그 주변 간조직의 HBsAg 및 HBcAg 발현에 대한 연구결과들이 제시되고 있으나 이러한 조직내 HBV표지자 특히 HBcAg의 발현빈도는 저자들에 따라 매우 큰 차이를 보이고 있다. HCC를 제외한 만성 HBV 간질환에서 간조직에 HBcAg이 발현하는 빈도는 60~95%이며¹⁶⁻¹⁸⁾ 그 중 만성 지속성 감염이나 정상 HBsAg 보유자와 같은 비활성 HBV 간질환의 경우에는 약 60%로 보고되어 있다¹⁶⁻¹⁹⁾. 본 연구결과 HCC 종괴주변의 HBcAg 발현율은 27.5%로서 HCC가 없는 HBV 간질환보다 낮았다. HCC종괴내의 HBcAg 발현에 관한 연구결과들을 보면 본 연구에서와 같이 거의 발현하지 않는다는 주장^{2,6,20)}과 종괴주변보다는 낮은 빈도일지라도 HBcAg이 발현한다는 주장^{4,16,21)}이 있다. 조직내 HBsAg의 발현에 있어서도 비슷한 현상을 볼 수 있다. 즉 만성 HBV 간질환에서는 HBsAg이 95% 전후의 높은 빈도를 보이고 HCC의 종괴주변 간조직도 비슷한 발현빈도를 나타내지만^{4,20)} 종괴내에서는

대개 본 연구의 50%보다도 낮게 보고되어 있다^{3,4,6)}. 그러므로 분명한 것은 HBsAg이나 HBcAg을 함유한 세포들 모두 간경변증을 포함한 만성 HBV 간질환들보다 HCC종괴내에 훨씬 적다는 사실이다.

이러한 사실의 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았지만 다음과 같은 두가지 가능성을 상정할 수 있다. 첫째는 HBV-DNA가 간세포핵에 삽입되어 바이러스의 유전자 재조합이 일어난 결과로서¹³⁾ HBV-DNA의 삽입이 HCC의 발생에 선행한다는 가설이며²⁰⁻²²⁾, 둘째는 HCC 발생과정 중 HBV 항원 특히 HBcAg을 함유한 세포들이 숙주의 면역기전에 의해 점차적으로 제거되고 항원성이 표현되지 않는 세포들의 선택과 클론성 증식과정이 반복된 결과일 가능성이 있다. 둘째 가설에 의하면 HBV-DNA의 간세포핵내 삽입이 필수적이 아니며 암세포에도 HBV가 복제형(replicative form)으로 존재할 수 있다²¹⁾. 또한 이에 의하면 HCC종괴내에 HBV 항원을 함유한 세포가 존재할 경우에는 집단으로 분포하며, 진행된 HCC에서는 바이러스 유전자가 삽입되어 있으면서도 HBsAg이나 HBcAg이 전혀 발현되지 않을 수 있다⁴⁾. 본 연구결과 종괴내 HBsAg 함유세포들이 집단으로 분포한 점과 조직학적 분화가 나쁜 예들에서 종괴내 HBsAg의 발현빈도가 더 낮았던 점, 그리고 종괴가 클수록 HBcAg의 발현빈도가 감소한다는 Hsu등⁴⁾의 결과와 HCC내에는 HBsAg도 거의 없을 수 있다는 Nazarewicz등⁶⁾의 보고는 이를 뒷받침하는 소견들이라 할 수 있다. 그러나 이 가설에 의하더라도 궁극적으로 HBsAg과 HBcAg을 생성하지 못하는 세포들만 남기 위해서는 HBV-DNA의 삽입과 반복적인 바이러스 유전자의 재조합(gene rearrangement)이 일어나야 한다¹²⁻¹⁴⁾.

HBV-DNA가 간세포의 핵에 삽입된 후 바이러스 유전자의 재조합에 의해¹³⁾ HBsAg mRNA가 생성되지 못하면 혈청 HBsAg이 음성으로 나타날 것이며, 따라서 혈청 HBsAg이 음성인 HCC라도 HBV와 무관하다고 단정할 수 없다는 것이 최근의 분자생물학적인 연구결과이다¹²⁻¹⁴⁾. 그러나 본 연구의 경우 혈청 HBsAg이 음성인 예에서는 HCC종괴 뿐 아니라 종괴 주변 간조직에서도 HBsAg이나 HBcAg이 전혀 발현되지 않았기 때문에 HBV와 무관하게 발생하였을 가능성을 배제할 수 없다.

본 연구에서 HCC종괴내에 HBsAg을 함유한 세포가 존재하면서 HBcAg을 함유한 세포는 발견되지 않았던 것으로 보아 HBcAg함유세포가 HBsAg함유세포보다 숙주의 면역기전에 더 민감한 표적인 것 같다²³⁾. 종괴주변에 간경변증이 있을 때 HBcAg발현율이 더 낮았던 것도 바이러스 유전자의 삽입에 의해 HBcAg발현을 못하는 세포들이 숙주의 면역기전으로부터 벗어나기 용이하고 결과적으로 쉽게 증식하기 때문으로 여겨진다. 이러한 관점에서 볼 때 HCC내에

HBcAg을 발현하는 세포가 존재한다는 것은 숙주면역기전이 불량함을 의미하며, HBcAg을 발현하는 HCC가 더 나쁜 예후를 갖는다는 Hsu등⁴⁾의 견해가 충분한 타당성을 갖는다고 하겠다. 본 연구에서 종괴와 종괴주변의 HBsAg 및 HBcAg 양성율이 수술전 치료를 하지 않는 경우보다 전처치를 한 경우에 다소 높게 나타난 것으로 보아 항원을 함유하지 않은 세포들이 비특이적인 전처치에 좀 더 예민할 가능성이 있으나 그 이유에 관하여는 아직 언급할 단계가 아니다.

혈청 HBsAg이 양성인 HCC환자에서는 혈청 HBeAg양성율과 종괴주변의 HBcAg발현율이 각각 25% 및 27.5%로서 만성 HBV간질환에 비하여 낮고^{17,18)} 비활성 HBV간질환보다도 낮았다¹⁹⁾. 이러한 사실은 HCC가 발생한 경우에는 종괴주변에서도 바이러스의 복제가 적게 일어나고, 괴사와 염증이 적으면서 간세포재생이 활발한 상태에서 HCC가 잘 발생함을 의미한다. 한편 본 연구결과와 같이 혈청 HBeAg 양성율과 조직내 HBcAg발현율이 비슷한 것⁷⁾은 이들이 HBV-DNA의 같은 open reading frame에 존재하고 같은 유전자 부호를 갖는 항원들이기 때문이다²⁴⁾.

HCC종괴와 종괴주변조직의 HBsAg 및 HBcAg발현양상에 관하여는 아직 구체적인 기술이 없다. 저자들은 이들 항원을 함유한 세포들이 집단적으로 나타나는 경우와 산발적으로 나타나는 경우로 나누고, 한편으로는 HBsAg의 발현양상을 cHBsAg과 mHBsAg으로, 그리고 HBcAg의 발현양상을 nHBcAg과 cHBcAg으로 나누어 염색결과를 분석하였다. 그 결과 종괴주변 간조직 뿐 아니라 종괴내에서도 HBV항원들이 집단적으로 분포하고 있었으며, 이는 반복적인 클론선택 및 증식을 의미한다고 생각된다. 이와 관련하여 Esumi등²⁵⁾과 Blum등²⁶⁾은 HCC의 원발병소와 전이병소에 있는 암세포들에서 삽입된 바이러스 유전자의 분자량이나 삽입위치가 모두 동일한 것을 발견한 바 있으며, 이러한 결과는 HCC가 단클론성 증식에 의해 발생한다는 분자생물학적인 증거라고 사료된다.

HBsAg은 간염활성이 낮은 경우에 흔히 cHBsAg 형태로 발현한다¹⁹⁾. 그러므로 본 연구에서 활성 간경변증의 경우를 제외하면 종괴와 종괴주변조직에 발현하는 HBsAg의 대부분이 cHBsAg이었던 것은 비활성 상태 즉 재생기의 간이 HCC발생에 중요한 조건임을 뒷바침하는 소견이라고 생각한다. HBcAg은 처음 세포질내 리보솜에서 비입자형으로 생성된 다음 핵으로 이동하여 입자형으로 바뀌고 다시 세포질로 유리되어 HBsAg과 함께 Dane입자를 형성하기 때문에 세포질에서 HBcAg(cHBcAg)이 발현할 수 있다. 이러한 cHBcAg의 발현도 간세포괴사 및 염증의 활성과 밀접한 관련이 있기 때문에^{19,28-30)} 적어도 종괴주변 간조직이 비활성일 경우에는 nHBcAg형태의 발현이 많을 것으로 예상된다. 그러나 본 연구에서는 종괴주변

조직의 괴사-염증 활성과 관계없이 cHBcAg의 발현율이 높았으며, 그 이유를 규명하기 위하여 좀 더 깊은 연구가 있어야 할 것으로 생각하였다.

결 론

외과적으로 절제한 HCC 47예를 대상으로 종괴와 종괴주변 간조직에서 HBsAg과 HBcAg의 발현빈도 및 발현양상을 면역조직화학적으로 검색하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 첫째, 혈청 HBsAg은 40예(85.1%)에서 양성이고, 음성인 7예에서는 종괴 뿐 아니라 종괴주변에서도 HBsAg과 HBcAg이 모두 음성이었다. 둘째, 혈청 HBsAg 양성인 HCC환자에서 종괴주변 간조직의 HBsAg 및 HBcAg 발현빈도는 각각 95.0% 및 27.5%였고 종괴내 HBsAg 발현빈도는 50.0%였으며 종괴내에서 HBcAg이 발현된 예는 없었다. 셋째, 수술전 치료를 한 경우에 조직내 HBsAg 및 HBcAg 발현율이 더 높은 경향을 보였다. 넷째, 암세포의 분화가 나쁜 경우(Edmondson grade IV)에 종괴내 HBsAg함유세포의 출현율이 낮았으며($p < 0.05$), 주변조직에서는 간경변증이 있을 때 HBcAg 함유세포의 출현율이 더 낮았다. 다섯째, 종괴와 종괴주변의 HBsAg 및 HBcAg 함유세포들은 대개 집단을 이루고 있었다. 이상의 결과로 보아 HCC의 발생 및 진행과정에서 HBcAg을 함유하지 않은 클론이 선택되는 것으로 여겨지며, 이와 같이 HBcAg을 함유하지 않은 클론이 선택되는 것은 HBcAg 함유세포가 면역기전의 표적이기 때문으로 추정된다.

참 고 문 헌

- 1) Edmondson HA, Peters RL. *Liver*. In: Kissane JH, ed. *Anderson's pathology*, 8th ed. St. Louis: CV Mosby Co, 1985; 1191-2.
- 2) Hirohashi S, Shimosato Y, Ino Y, Kishi K. *Distribution of hepatitis B surface and core antigen in human liver cell carcinoma and surrounding nontumorous liver*. *J Natl Cancer Inst* 1982; 69: 565-8.
- 3) Hsu HC, Lin WSJ, Tsai MJ. *Hepatitis-B surface antigen and hepatocellular carcinoma in Taiwan*. *Cancer* 1983; 52: 1825-32.
- 4) Hsu HC, Wu TT, Sheu JC, Wu CY, Chiou TJ, Lee CS, Chen DS. *Biologic significance of the detection of HBsAg and HBcAg in liver and tumor from 204 HBsAg-positive patients with primary hepatocellular carcinoma*. *Hepatology* 1989; 9: 747-50.
- 5) Ilardi CF, Ying YY, Ackerman LV, Elias JM. *Hepatitis B surface antigen and hepatocellular carcinoma in the People's Republic of China*. *Cancer* 1980; 46: 1612-6.

- 6) Nazarewicz T, Krawczynski K, Slusarczyk J, Nowoslawski A. *Cellular localization of hepatitis B virus antigen in patients with hepatocellular carcinoma coexisting with liver cirrhosis. J Infect Dis* 1977; 135: 298-302.
- 7) Suzuki K, Uchida T, Horiuchi R, Shikata T. *Localization of hepatitis B surface and core antigens in human hepatocellular carcinoma by immunoperoxidase methods. Cancer* 1985; 56: 321-7.
- 8) 박영년, 한은경, 박찬일. 한국인 간세포암종의 육안 형태학적 분류. *대한병리학회지* 1991; 25: 83-92.
- 9) 김성은, 백대근, 도창호, 송근암, 양웅석, 허윤, 문한규, 유방현. 원발성 간세포암의 자연병력 및 예후에 관한 연구. *대한소화기병학회잡지* 1988; 20: 363-70.
- 10) 이진호, 김용태, 정영화, 정현재, 이효석, 윤용범, 송인성, 김정룡. 간암의 크기와 혈청 α -fetoprotein치 및 초음파 밀도와의 상호관계. *대한소화기병학회잡지* 1988; 20: 679-84.
- 11) Kiyosawa K, Akahane Y, Nagata A, Furuta S. *Hepatocellular carcinoma after Non-A, Non-B posttransfusion hepatitis. Am J Gastroenterol* 1984; 79: 777-81.
- 12) Tabor E. *Hepatocellular carcinoma: Possible etiologies in patients without serologic evidence of hepatitis B virus infection. J Med Virol* 1989; 27: 1-6.
- 13) Lai MY, Chen PJ, Yang PM, Sheu JC, Sung JL, Chen DS. *Identification and characterization of intrahepatic hepatitis B virus DNA in HBsAg-seronegative patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Taiwan. Hepatology* 1990; 12: 575-81.
- 14) Paterlini P, Gerken E, Nakajima S, Terre A, D'Errico W, Grigioni B, Nalpas D, France D, Wands J, Kew M, Pist E, Tiollaris P, Brechot C. *Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancer from patients negative for hepatitis surface antigen. N Engl J Med* 1990; 323: 80-5.
- 15) Edmondson HA, Steiner PE. *Primary carcinoma of the liver: A study of 100 cases among 48,900 necropsies. Cancer* 1954; 7: 462-503.
- 16) 김상표, 김찬환, 이상숙, 정재홍. 간조직내 B형 간염표지자의 검색. *대한병리학회지* 1988; 22: 404-14.
- 17) 이해경, 김상호. 만성 B형 간염에서 간세포내 HBcAg에 대한 면역조직화학적 연구. *대한병리학회지* 1989; 23: 287-91.
- 18) 이해경, 이광민, 정동규, 이용용. 만성 B형 간염에서 간세포내 HBcAg에 관한 연구 II. *대한병리학회지* 1992; 26: 355-9.
- 19) 안희정, 김경호, 박영년, 김호근, 박찬일. 비활성 HBsAg보유자의 간조직내 HBcAg 및 HBsAg발현양상. *대한병리학회지* 1990; 24: 120-7.
- 20) Thung SN, Gerber MA, Sarno E, Popper E. *Distribution of five antigens in hepatocellular carcinoma. Lab Invest* 1979; 41: 101-5.
- 21) Fowler MJF, Greenfield C, Chu CM, Karayiannis P, Dunk A, Lok ASF, Lai CL, Yeoh EK, Monjardino JP, Wankya BM, Thomas HC. *Integration of HBV-DNA may not be a prerequisite for the maintenance of the state of malignant transformation: An analysis of 110 liver biopsies. J Hepatol* 1986; 2: 218-29.
- 22) Weimer T, Fernholz D, Wan DF. *Gene expression in hepadna virus infected livers and primary liver carcinoma (Abstract). Cold Spring Harbor Symp* 1986; 92.
- 23) Mondelli M, Vergani GM, Alberti A, Vergani D, Portmann B, Eddleston ALWF, Williams R. *Specificity of T lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in chronic hepatitis B virus infection: evidence that T cells are directed against HBV core antigen expressed on hepatocytes. J Immunol* 1982; 129: 2773-8.
- 24) Slusarczyk J, Hess G, Meyer KH. *Association of hepatitis Be antigen(HBeAg) with the core of the hepatitis B virus(HBcAg). Liver* 1985; 5: 48-54.
- 25) Esumi M, Aritaka T, Arai M, Suzuki K, Tanikawa K, Mizuo H, Mima T, Shikata T. *Clonal origin of human hepatoma determined by integration of hepatitis B virus DNA. Cancer Res* 1986; 46: 5767-71.
- 26) Blum HE, Offensperger WB, Walter E, Offensperger S, Wahl A, Zeschnigk C, Gerok W. *Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus infection: molecular evidence for monoclonal origin and expansion of malignantly transformed hepatocytes. J Cancer Res Clin Oncol* 1987; 113: 466-72.
- 27) Yamada G, Nakane PK. *Hepatitis B core and surface antigens in liver tissue. Lab Invest* 1977; 36: 649-58.
- 28) Iwai M, Kashiwadani M, Okuno T, Takino T, Iyata Y. *Immunocytochemical investigation of hepatitis B virus-associated antigens in cases of liver cirrhosis and HBsAg antigenemia and their relationship to development of hepatocellular carcinoma. Histochem J* 1988; 20: 283-9.
- 29) Sansonno DE, Fiore G, Bufano G, Manghisi OG. *Cytoplasmic localization of hepatitis B core antigen in hepatitis B virus infected liver. J Immunol Method* 1988; 109: 245-52.
- 30) Franca STM, Kiyosawa K, Imai Y, Sodeyama T, Nakano Y, Nakamura M, Furuta S. *Change of intrahepatic expression of hepatitis B core antigen during the clinical course of type B chronic hepatitis. Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 454-60.