

型で13例 (56.5%) , LOHFで3例 (75.0%) 含まれていた。また、急性型の6例 (27.3%) 及びLOHFの5例 (50.0%) は、肝性脳症出現後5日以内に死亡した。しかし、この2項目に該当しない症例が、急性型には10例 (45.5%) , 亜急性型には9例 (39.1%) 認められ、これらでは移植適応を検討しなかった理由は明らかでなかった。

肝移植適応ガイドラインによって肝性脳症出現時に死亡と予測された症例のうち、7例は5日以内に死亡して、再評価ができなかった。これらを死亡予測例とした場合におけるガイドラインの正診率は、急性型79.1%、亜急性型90.5%、LOHF 89.9%であった。一方、再評価のできなかつた症例を除いた場合の正診率は、急性型78.0%、亜急性型90.0%、LOHF 83.3%であり、いずれの場合でも急性型では低率であった。

D. 考 察

1998年の全国調査は、岩手医科大学(佐藤俊一教授)による前年の調査度4)と同一の医療機関を対象とした。登録された劇症肝炎症例は、97年が104例、98年が93例であり、症例数はほぼ不変であった。一方、LOHFは93~97年に計35例が登録されているが、今回は1年間で11例の登録があり、増加している可能性がある。1999年以降の動向が注目される。

今回の調査結果で注目されるのは、HBVキャリアないし基礎疾患を有する症例の頻度が高かったことである。劇症肝炎におけるHBVキャリアの頻度は、83~87年は7.9%、88~92年は9.0%、93~97年は13.6%であり⁴⁾、また、今回の検討では22.5%と高率であったことを考慮すると、年々増加する傾向にあると言えよう。また基礎疾患を有する率は、93~97年は急性型18.8%、亜急性型21.2%、LOHF 29.4%であり⁴⁾、98年の症例では特に亜急性型とLOHFにおいて約2倍に増加していた。これに伴ない薬剤歴を有する症例も多く、劇症肝炎、LOHFの背景には変化が認められる。基礎疾患や薬剤が免疫系やウイルス増殖に影響を及ぼし、劇症化に繋がる可能性を検討する必要がある。また、今回集計した劇症肝炎症例からは、従来に比して予後が向上する兆しが認められている。肝移植非実施例における救命率は急性型51.1%、亜急性型25.6%であり、劇症肝炎全体では39.1%に昇っていた。93~97年の報告ではそれぞれ43.5%、12.2%、27.1%であり⁴⁾、特に亜急性型における予後の改善が認められる。しかし、LOHFの予後は相変わらず不良で、肝移植非実施例は全例が死亡した。

成因はB型と非A非B型がそれぞれ約40%と高率で、両者で全体の81.7%を占めていた。93~97年の症例ではIgM-HBc抗体陽性B型が26.6%、同抗体陰性B型が12.9%であり⁴⁾、B型全体の頻度には差異が認められない。しかし、今回の検討ではIgM-HBc抗体が陽性であった29例のうち6例がキャリアであったことから、B型を感染様式別に分類したところ、急性感染例が23例、キャリアの急性増悪例が18例、判定不能が3例であった。薬剤性には2例のキャリアが認め

られ、また、非A非B型にも血清HBV-DNA陽性でキャリアの疑われる症例が2例存在した。これらは、キャリア発症例である可能性が否定できず、B型には急性感染例とキャリア例がほぼ同数存在すると見なすことができる。なお、急性感染例は急性型、キャリア例は亜急性型またはLOHFを呈する頻度が高かったが、これはIgM-HBc抗体陽性、陰性で分類した従来の報告と変わりなかった⁴⁾。非A非B型は従来の報告の通り⁴⁾、亜急性型とLOHFに多く認められた。この中にはC型と考えられる症例が4例含まれており、うち2例が死亡した。C型の急性肝疾患は重症化しないとの見解が一般化しているだけに、これら症例の存在は注目に値する。また、自己免疫性肝炎ないし成人性スティル病が成因と考えられる症例も7例認められた。これら症例の病型は大部分が亜急性であり、全例で副腎皮質ステロイドによる治療が行われたが、1例を除き死亡した。予後不良なこの病型につき、更に検討を重ねる必要がある。なお、成因と予後との関連では、全例救命できたA型を除くと、各成因間で差異が認められなかったことが注目される。いずれの成因であっても病型が急性型の場合は予後が良好、亜急性型やLOHFでは不良であった。

昏睡Ⅱ度出現時の身体所見、画像検査所見、血液検査所見に関しては、従来の報告と同様の成績が得られた⁴⁾。但し、今回は救命例と死亡例との比較も行ったが、腹水、頰脈、下腿浮腫、肝萎縮の頻度及び血清hHGF濃度につき、両者間で有意差が認められた。これらの指標は予後の予測に際して有用である可能性があり、今後の検討を要する。また、合併症の頻度や合併症数と予後の関連に関しても、従来の報告と変わりなかった。

内科的治療法では、副腎皮質ステロイド、インターフェロン及びサイクロスポリンAを用いる頻度が93~97年に比較して増加する一方で、GI療法と特殊組成アミノ酸は減少する傾向が認められた⁴⁾。血漿交換ないし血液濾過透析などの肝補助療法は、約90%の症例で実施されており、内科的集学療法の中心に位置している。新たな治療法としてはHBV感染に対してlamivudineが投与されるようになったことが注目に値する。特に、キャリア症例では30.4%で投与されており、HBV DNA量の減少から有効とされる症例が認められた。しかし、投与後短期に死亡して有効性を評価できなかった症例も多く、急性肝疾患に対して本剤投与を開始する時期に関しては、今後の検討が必要と考えられた。また、劇症化する1ヶ月前より投与を開始したが、無効で死亡した症例も見られ、耐性ウイルスの関与についても検討する必要がある。なお、Lamivudineの使用で救命できた症例は、亜急性型では1例に過ぎなかった。今回の劇症肝炎は特に亜急性型における予後が向上していたが、これに関わる治療要因については、更なる検討が必要であろう。

内科的集学治療による劇症肝炎の予後は向上する兆しがあるが、未だに60%以上が死の転帰をとる。また、LOHFは内科治療では救命困難であり、これら難

治性症例に対しては肝移植の適応を考慮せざるを得ない。しかし、今回集計した症例では、肝移植を施行したのは6例に過ぎなかった。今回の検討では、肝臓病専門医が治療法として肝移植の適応をどの程度検討しているのか、その実態に関する調査も行った。その結果、LOHFでは63.3%と高率に肝移植の適応が検討されていることが判明した。亜急性型で検討されたのは38.3%であるが、肝移植適応が検討されなかった症例の56.5%が60歳以上の高齢者であることを考慮すると、肝移植可能症例における検討頻度は高いと推定される。一方、急性型では頻度は低率で、特に死亡例では9.1%で検討されているに過ぎなかった。

急性型では肝性脳症が出現した後に短期間で死亡する症例が多く、肝移植の適応を検討する時間的余裕がないものと推定される。また、LOHFでは肝性脳症出現前より肝移植の適応を検討している症例が多く、脳症出現後は短期間に死亡する頻度が高かった。このため、適応決定に際して日本急性肝不全研究会のガイドラインは有用性が乏しく、脳症が出現した時点で移植適応を判断しても、実施するのは困難と考えられた。一方、亜急性型では、肝移植適応を検討したが実施に至らなかった症例が9例認められ、その理由としては「家族の同意が得られなかった」ないしは「適切なドナーが存在しなかった」が大部分をしめていた。

以上のように、亜急性型に関しては、肝移植も視野に入れた治療選択が、肝臓専門医の間で一般的になっている現状が覗かれる。本病型ではガイドラインの正診率も90%以上と高く、肝性脳症が出現した時点で適応を考慮すれば、移植可能例には十分な対応が可能であろう。一方、急性型とLOHFに関しては、現状のガイドラインでは肝移植の適応決定が困難な場合があると考えられた。急性型では脳症出現5日後の再評価を待たず、出現時に死亡と予測された症例では直ちに肝移植の準備を開始する必要がある。また、急性型におけるガイドラインの正診率は80%以下と低く、この向上を目指した修正も今後の課題となる。LOHFでは肝性脳症出現以前に利用できる新たなガイドラインの作成が必須と考えられた。

E. 結 語

1998年に集計した劇症肝炎、LOHF症例を前年までの集計結果と比較すると、HBVキャリアや基礎疾患を有する症例が多くなる傾向が認められた。一方、劇症肝炎における救命率は向上しており、特に亜急性型は従来に比して良好な成績であった。成因に関しては、B型と非A非B型が何れも40%以上を占めていること、B型における急性感染例とキャリア発症例の頻度は1:1であることが明らかになった。また、非A非B型には自己免疫性肝炎例が含まれている可能性が注目された。肝移植はまだ少数例で実施されているに過ぎない。その普及に努めるとともに、急性型およびLOHFに有用性の高い適応基準を作成することが重要と考えられた。

F. 参考文献

- 1) 石木佳英, 杉原潤一, 内藤智雄, *et al.* 「劇症肝炎における肝移植適応のガイドライン (案)」のアンケート調査結果. 肝臓 73: 760-761, 1996.
- 2) 劇症肝炎の診断基準. A型肝炎, 劇症肝炎: 第12回犬山シンポジウム, 中外医学社, 東京, pp110-230, 1982.
- 3) Gibson AES, O`Grady JG, Ede RJ, *et al.* Late onset hepatic failure: Clinical, serological and histological features. Hepatology 6: 288-294, 1986.
- 4) 佐藤俊一, 鈴木一幸, 滝川康裕. 劇症肝炎及びLOHFの全国調査. 厚生省「難治性の肝疾患調査研究班」平成10年度報告書, pp67-69, 1999.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

血漿オステオポンチン濃度による肝炎劇症化の予知

分担研究者 藤原 研司 埼玉医科大学 第三内科

研究要旨：劇症肝炎に特徴的な広汎肝壊死は、肝に浸潤した活性化マクロファージが肝類洞内凝固を惹起することにより成立する。筆者らは、ラット劇症肝炎モデルにおいて、マクロファージの肝浸潤に際しては、細胞外マトリックスであり、かつケモカインとしても作用するオステオポンチンが重要な役割を果たしている可能性を見出した。本因子の血中濃度はマクロファージの肝への浸潤状況を反映し、それにより劇症化を早期に予知できると想定し、急性肝不全症例でオステオポンチンの血中濃度を測定した。また、肝における発現も免疫組織学的に検討した。〔成績〕急性肝疾患患者における血中オステオポンチン濃度 (ng/mL, 平均±SD) は、急性肝炎605±275, 劇症肝炎3,338±3,167であり、何れも健常人 (304±78), 慢性肝炎 (427±367) に比して有意に高値であった。また、劇症肝炎における血中濃度は、急性肝炎に比して有意に高値であった。劇症肝炎では、急性型における血中濃度は全例3,000以上であったのに対して、亜急性型では感染症を併発し血清CRPが7.7mg/dLと上昇していた1例を除くと2,000以下であり、両群間に有意差を認めた。劇症肝炎剖検肝を免疫染色すると、壊死巣内に浸潤したマクロファージにオステオポンチンの発現が観察された。〔考案と結語〕急性肝疾患では血中オステオポンチン濃度が上昇しており、特に、劇症肝炎急性型でその程度が顕著であった。急性型の病態は亜急性型と異なっており、肝マクロファージの産生するオステオポンチンが更なるマクロファージ浸潤を誘導し、これが広汎肝壊死の要因になっている可能性がある。筆写らは、肝細胞癌症例ではTAE後に血清CRP値上昇に伴ないオステオポンチン濃度も著増することを観察している。従って、血漿オステオポンチン濃度の測定により、感染症を合併していない劇症肝炎急性型の発症を予知できる可能性があると考えられた。

A. 研究目的

劇症肝炎、特に急性型は、病理組織学的には広汎肝壊死を特徴とする。筆写らは動物モデルで、活性化クッパー細胞や肝マクロファージが肝類洞内凝固を惹起すると、これによる微小循環障害が広汎肝壊死の要因になることを証明した¹⁻⁶⁾。従って、肝炎劇症化を阻止するには、クッパー細胞や肝マクロファージの活性化機構とともに、マクロファージが肝へ浸潤する機序を解明することが重要である。

ラット劇症肝炎モデルでは、クッパー細胞や肝マクロファージの活性化はIL-18やIFN- γ などのサイトカインの作用、ないしは腸管からの bacterial translocationに起因して生じる⁷⁻⁹⁾。マクロファージの肝への浸潤機構に関しては十分解明されていなかったが、筆者らはこれに関わる因子としてオステオポンチンに注目した。オステオポンチンはRGD配列を有する細胞外マトリックスであり、腎や骨に発現し、これら臓器におけるカルシウム沈着に関与している。最近、本因子はマクロファージに対してケモカインとしても作用することが明らかになった。従来、肝はオステオポンチンを発現しない臓器であるとされてきたが、筆者らは障害肝では活性化星細胞やマクロファージに発現し、マクロファージの肝浸潤を誘導している可能性を見出した¹⁰⁾。また、マクロファージ浸潤に関与するケモカインとしてはMCP-1やMIP-1aも知られているが、遺伝的にオステオポンチン発現が増強しないマウ

スを用いて検討すると、マクロファージの肝浸潤には本因子が他のケモカインよりも重要な役割を果たしていることが明らかになった¹¹⁾。

オステオポンチンは細胞外マトリックスであるが、分泌型糖蛋白として血中にも放出される。従って、その血中濃度を測定することにより、急性肝疾患症例におけるマクロファージの肝への浸潤状況を評価し、これにより肝炎劇症化を早期に予知できる可能性がある。急性肝不全症例における血中オステオポンチン濃度の意義を明らかにするために、臨床像との関連性及び肝における発現を免疫組織学的に検討した。

B. 対象と方法

対象は急性肝炎9例、劇症肝炎9例（急性型3例、亜急性型6例）。血中オステオポンチン濃度は、ELISAキット (IBL) にて、血漿交換施行前の血漿を用いて測定した。なお、対照として、健常人11例、慢性肝炎患者11でも測定した。劇症肝炎の死亡例では、剖検肝組織を用いて、抗ヒト・オステオポンチン単クローン抗体による免疫組織染色をABC法で行った。

C. 研究成果

1. 血中オステオポンチン濃度

慢性肝炎患者における血漿オステオポンチン濃度 (ng/mL, 平均±SD) は427±367であり、健常人 (304±78) との間に差は見られなかった。しか

し、急性肝疾患患者では血漿濃度が上昇しており、急性肝炎 605 ± 275 、劇症肝炎 $3,338 \pm 3,167$ で、何れも健常人や慢性肝炎患者に比して有意に高値であった。また、劇症肝炎における血漿濃度は、急性肝炎に比して有意に高値であった。

劇症肝炎では、急性型における血漿濃度が全例3,000以上であったのに対して、亜急性型では感染症を併発し、血清CRPが 7.7 mg/dL と上昇していた1例を除くと2,000以下であり、両群間に有意差を認めた(急性型： $5,600 \pm 2,107$ 、亜急性型： 948 ± 453)。亜急性型と急性肝炎の血中濃度には有意差はなかった。

血漿オステオポンチン濃度と各種肝機能成績との関連を検討したところ、プロトロンビン時間との間に有意な負の相関が認められた。血清CRP濃度との間には相関は認められなかった。

2. 免疫組織学的検討

劇症肝炎の剖検肝では、壊死巣内に多数のマクロファージ浸潤が認められた。これらマクロファージにはオステオポンチンの染色性が高度に観察された。星細胞における染色性は軽度であり、肝細胞など他の肝構成細胞は染色されなかった。

D. 考 察

オステオポンチンには分子のほぼ中央部分にトロンビンによる切断部位が存在する。そこで、血中オステオポンチン濃度の測定には血漿を用いて、intactな分子の量を評価した。

血漿オステオポンチン濃度は、急性肝疾患症例、特に劇症肝炎で著しく高値であった。また、劇症肝炎症例の剖検肝では、壊死巣内に多数のマクロファージが浸潤しており、これらはオステオポンチンを高度に発現していることが明らかとなった。筆者らは、慢性肝炎や肝硬変におけるオステオポンチン発現も検討しているが、これら症例では肝壊死巣内のマクロファージ浸潤は軽度で、オステオポンチンの染色もマクロファージや星細胞に軽度認められるに過ぎなかった(未発表)。従って、オステオポンチンの血漿濃度を測定することにより、肝におけるその発現及びマクロファージ浸潤の状況を評価可能であると考えられた。

劇症肝炎の病型では、急性型における血漿オステオポンチン濃度が亜急性型に比して有意に高値であった。劇症肝炎亜急性型と急性肝炎では血漿濃度に差異が認められなかったことから、急性型の病態は他の急性肝疾患と異なっていると推定された。劇症肝炎急性型では、ラット劇症肝炎モデルと同様に、肝マクロファージの産生するオステオポンチンが更なるマクロファージ浸潤を誘導、これが広汎肝壊死の原因になっている可能性がある。

劇症肝炎亜急性型でも、感染症を併発して血清CRP濃度が高値であった症例は、血漿オステオポンチン濃度上昇が高度であった。そこで、急性肝疾患症例全体を対象に、血漿濃度と各種血液検査所見との関

連を検討したところ、プロトロンビン時間とのみ有意な負の相関が認められた。これは、急性型は亜急性型に比して、プロトロンビン時間の延長が高度であることを反映した結果と推測される。一方、血清CRP濃度との間には有意な相関は認められなかったが、対象の中でCRP濃度が上昇していたのは1症例のみであり、関連を評価することは困難であった。しかし、筆者らは肝細胞癌を含む慢性肝疾患症例でも同様の検討を行っており、血漿オステオポンチン濃度と血清CRP濃度との間に有意な相関が認められることを報告している^{1,2)}。また、肝細胞癌症例にTAEを施行すると、血漿オステオポンチン濃度は血清CRP濃度と一致して上昇することも観察している。従って、感染症などを併発して血清CRP濃度が上昇する病態では、肝以外でもオステオポンチンが産生され、血漿濃度が上昇すると推定された。

E. 結 語

劇症肝炎急性型で血漿オステオポンチン濃度が著しく高値であった。急性型は他の病型の急性肝疾患と異なり、肝マクロファージの産生するオステオポンチンが更なるマクロファージ浸潤を誘導し、これが劇症化の要因になっている可能性がある。オステオポンチン濃度は血清CRPが高値になる病態では非特異的に上昇することから、本因子の濃度を測定することにより、感染症を合併していない劇症肝炎急性型の発症を予知できる可能性があると考えられた。

F. 引用文献

- 1) Mochida S, Ogata I, Ohta Y, et al. In situ evaluation of the stimulatory state of hepatic macrophages based on their ability to produce superoxide anions in rats. *J Pathol* 1989; 158: 67-71.
- 2) Yamada S, Ogata I, Hirata K, et al. Intravascular coagulation in the development of massive hepatic necrosis induced by *Corynebacterium parvum* and endotoxin in rats. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 293-298.
- 3) Mochida S, Ogata I, Hirata K, et al. Provocation of massive hepatic necrosis by endotoxin after partial hepatectomy in rats. *Gastroenterology* 1990; 99: 771-777.
- 4) Arai M, Mochida S, Ohno A, et al. Sinusoidal endothelial cell damage by activated macrophages in rat liver necrosis. *Gastroenterology* 1993; 104: 1466-1471.
- 5) Mochida S, Ohno A, Arai M, et al. Role of adhesion molecules in the development of massive hepatic necrosis in rats. *Hepatology* 1996; 23: 320-328.
- 6) Mochida S, Arai M, Ohno A, et al. Deranged blood coagulation equilibrium as a factor of massive liver necrosis following endotoxin

administration in partially hepatectomized rats. *Hepatology* 29: 1532-1540, 1999.

7) Toshima K, Mochida S, Ishikawa K, *et al.* Contribution of CD14 to endotoxin-induced liver injury may depend on types of macrophage activation in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 246: 731-735, 1998.

8) Mochida S, Ohta Y, Ogata I, *et al.* Gut-derived sub-stances in activation of hepatic macrophages after partial hepatectomy in rats. *J Hepatol* 16: 266-272, 1992.

9) Arai M, Mochida S, Ohno A, *et al.* Selective bowel decontamination of recipients for prevention against liver injury following orthotopic liver transplantation: Evaluation with rat models. *Hepatology* 27: 123-127, 1998.

10) Kawashima R, Mochida S, Matsui A, *et al.* Expression of osteopontin in Kupffer cells and hepatic macrophages and stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication: A possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas. *Biochem Biophys Res Commun* 256: 527-531, 1999.

11) Inao M, Mochida S, Wang YH, *et al.* Osteopontin may play a central role in chemokine network for macrophage migration into injured liver. *Hepatology* 30: 375A, 1999.

12) Matsui A, Mochida S, Higuchi K, *et al.* Usefulness of plasma osteopontin levels as a marker for detection of extrahepatic metastasis in hepatocellular carcinoma patients. *Hepatology* 30: 277A, 1999.

G. 研究発表

〈論文発表〉

1) Kawashima R, Mochida S, Matsui A, *et al.* Expression of osteopontin in Kupffer cells and hepatic macrophages and stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication: A possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas. *Biochem Biophys Res Commun* 256: 527-531, 1999.

2) Mochida S, Arai M, Ohno A, *et al.* Deranged blood coagulation equilibrium as a factor of massive liver necrosis following endotoxin administration in partially hepatectomized rats. *Hepatology* 29: 1532-1540, 1999.

〈学会発表〉

1) Inao M, Mochida S, Wang YH, *et al.* Osteopontin may play a central role in chemokine network for macrophage migration into injured liver. 50th Annual Meeting, American Association for Study of Liver Diseases, Dallas, November, 1999.

2) Matsui A, Mochida S, Higuchi K, *et al.* Usefulness of plasma osteopontin levels as a marker for detection of extrahepatic metastasis in hepatocellular carcinoma patients. 50th annual Meeting, American Association for Study of Liver Diseases, Dallas, November, 1999.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

急性肝炎重症型の予後に関する prospective study

分担研究者 鈴木 一幸 岩手医科大学 第一内科 教授

研究要旨：(1)急性肝炎重症型の劇症化予知式をprospective studyにより評価した。また、登録された集計100例の劇症化率は29%であった。(2)急性肝炎、劇症肝炎例について末梢血末梢血CD4⁺T細胞におけるTh1細胞とTh2細胞のバランスを検討したところ重症化例ほど両者の細胞数が減少していた。しかし、これらの動態は成因ウイルス、臨床経過とは明らかな関連を認めなかった。

A. 研究目的

(1)急性肝炎重症型（プロトロンビン時間40%以下、肝性脳症なし）の劇症化予知式をprospectiveな検討により評価する。(2)劇症肝炎(自験例)の病態解析研究の一環として、末梢血CD4⁺T細胞におけるTh1細胞とTh2細胞のバランスを肝炎の重症化との関連より検討する。

B. 研究方法

(1)急性肝炎重症型の登録システムにより劇症化予測を行い、実際の予後調査から予知式（与芝の式、武藤の式、平成10年度の難治性の肝疾患調査研究班が作成した式）の正当性を評価した。また、劇症化例と非劇症化例について成因、治療法の差異を検討した。

(2)当科で経験した急性肝炎38例（うち重症型4例）および劇症肝炎3例について入院時に採血し、末梢血CD4⁺T細胞におけるTh1細胞数、Th2細胞数およびその比率を測定した。また、一部の例では回復期にも測定し、肝炎の経過に伴う変動を観察した。

C. 研究結果

(1)平成11年度は新たに34例の急性肝炎重症型が登録され、これらの例について平成10年度の難治性の肝疾患調査研究班が作成した式の正当性を評価したところ、感度50%、特異度92%、正診率79%であった。また、平成9年度から集計された総登録100例について検討したところ、与芝の式では感度89%、特異度28%、正診率45%、武藤の式ではそれぞれ85%、71%、75%、平成10年度の難治性の肝疾患調査研究班が作成した式ではそれぞれ62%、92%、83%であった。劇症化29例と非劇症化71例の成因では劇症化例でHAVによるものが少なかったが、他の成因には明らかな差異を認めなかった。治療法の比較では抗凝固療法とプロスタグランジン療法の施行例で劇症化が少ない傾向を認めたが、有意差はなかった。

(2)急性期の末梢血Th1およびTh2細胞数は、劇症肝炎でいずれも急性肝炎に比し有意に減少し、

Th1/Th2比は低下傾向を認めた。成因ウイルス別にはNANBでTh1、Th2細胞数が低値傾向を示したが、HAV、HBVとの間には有意差を認めなかった。急性期と回復期とを比較すると、各細胞数およびTh1/Th2比とも増加する例、不変例あるいは低下例など様々な変動パターンを示し、一定の傾向は認められなかった。なお、Th1/Th2比と血清IL-18との相関は認めなかった。

D. 考察

(1)劇症肝炎の救命率の向上のためには、急性肝炎重症型の正確な劇症化の予知が必要である。これまで、いくつかの予知式が作成されその有用性について報告されているが、各施設での限られた症例での検討結果であり、全国的な症例に当てはめることは困難である。そこで、平成9年度より厚生省難治性の肝疾患調査研究班では症例の登録システムによるprospectiveな検討を開始し、従来の予知式の評価と新たな予知式の作成を試みている。今回、平成11年度に新たに登録された例について検討を行った。結果に示したように、全国集計例では与芝の式の有用性は低く、新たな予知式もさらに改良が必要と考えられる。予知式作成のゴールについて議論が必要であり、今後さらに検討を続けたい。

(2)細胞性免疫機構ことにCD4⁺T細胞におけるTh1細胞とTh2細胞のバランスが肝疾患の発症と病態形成に密接に関連していることが注目され、ウイルス慢性肝炎、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変などで検討されている。しかしながら、急性肝炎や劇症肝炎での検討は少なく、多くは実験的な肝障害モデルでの検討である。今回、臨床例での末梢血CD4⁺T細胞におけるTh1細胞とTh2細胞のバランスを検討した。その結果、急性肝炎の中でもとくに重症化例と劇症肝炎例ではTh1細胞数とTh2細胞数とも通常の経過をたどる急性肝炎例に比し有意に減少していた。しかし、急性期と回復期との変動パターンには一定の傾向が認められず、個々の症例で様々であった。Th1細胞とTh2細胞のバランスの偏位が急性肝炎の重症化に直接関わるものなのか、あるいは宿主のもつ固有の免疫機能を反映しているの

は、肝組織における動態や各種サイトカインとの関連を含めてさらに検討が必要と考えられる。

E. 結 論

(1)急性肝炎重症型の劇症化予測式をprospective studyにより評価した。また全国集計例の劇症化率は29%であった。(2)末梢血CD4⁺T細胞のTh1細胞数、Th2細胞数は重症化例ほど両者の細胞数が低下していたが、これらの動態は成因ウイルス、臨床経過とは明らかな関連性は認めなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 佐藤俊一、鈴木一幸、滝川康裕：劇症肝炎.1. 発生の疫学と診断.日内誌88:626-631,1999.

2) 佐藤俊一、鈴木一幸、滝川康裕：劇症肝炎の病態と治療.日内誌88:1783-1788,1999.

3) 宮坂昭生、鈴木一幸、阿部弘一、他：非A～非G型劇症肝炎におけるTTV-DNA陽性例と陰性例の臨床像と予後の比較検討.日本臨床57:1339-1344,1999.

4) 遠藤龍人、岩井正勝、滝川康裕、他：劇症肝炎の予後とその問題点.Modern Physician 19:1231-1233,1999.

5) 岩井正勝、鈴木一幸、遠藤龍人、滝川康裕、加藤章信、佐藤俊一：高齢者劇症肝炎の病態と予後.日本高齢消化器医学会議雑誌1:177-183,1999.

6) 阿部弘一、鈴木一幸、小野寺 誠、他：B型急性肝炎および劇症肝炎における血中HBV-DNAのPre coreおよびCore promoter領域の変異—新しい変異測定キットによる検討.臨床消化器内科14:1807-1810,1999.

2. 学会発表

1) 鈴木一幸：本邦における劇症肝炎の実態.第25回日本急性肝不全研究会宿題報告、6月、1999.

2) 岩井正勝、鈴木一幸、遠藤龍人、他：劇症肝炎の肝移植適応基準の適合性について.第25回日本急性肝不全研究会シンポジウム、6月、1999.

3) 小野寺 誠、渡辺雄輝、葛西和博、他：急性肝炎における末梢血リンパ球Th1-Th2バランスの検討.第35回日本肝臓学会総会、6月、1999.

4) 岩井正勝、佐藤慎一郎、鈴木一幸：劇症肝炎の地域偏在性について.第33回日本肝臓学会西部会、11月、1999.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

HGFによって誘導される転写因子とラットサイクリンD1遺伝子転写調節領域の解析に関する研究

分担研究者 坪内 博仁 宮崎医科大学第二内科 教授

研究要旨：ラットサイクリンD1遺伝子5'上流の-1.5から-2.6kbに転写調節領域が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

HGFや上皮成長因子（EGF）などの増殖因子が細胞内情報伝達系を介してどのような転写因子を誘導するかは未だ不明な点が多い。サイクリンD1遺伝子転写調節領域のクローニングと転写活性を検討し、サイクリンD1遺伝子転写調節領域の解析と肝再生期にHGFによって誘導される転写因子を明らかにする。

B. 研究方法

初代培養ラット肝細胞およびサイクリンD1 mRNA発現の検討：Wister系雄性ラットの肝細胞を単離し、HGFおよびEGFを添加12時間後のサイクリンD1 mRNAの発現をノーザンブロット法にて検討した。

ラットサイクリンD1ジェノミッククローンの単離：ラット線維芽細胞由来ジェノミックDNAライブラリーをラットサイクリンD1 cDNAをプローブにしてスクリーニングし、ラットサイクリンD1遺伝子5'上流領域を含むクローンを単離、その塩基配列を決定した。

レポーター遺伝子の作製：種々の長さのラットサイクリンD1遺伝子5'上流領域をルシフェラーゼ遺伝子上流に挿入したプラスミドpCD2.6、pCD1.5、pCD1.0、pCD0.6-lucを作製した。

ルシフェラーゼアッセイ：24 wellプレートにラット肝癌細胞株dRLH84を 1×10^5 /wellを播き、24時間後にリポフェクション法を用いてpCD2.6、pCD1.5、pCD1.0、pCD0.6-lucを導入、12時間後にルシフェラーゼ活性を測定した。

C. 研究結果

初代培養ラット肝細胞にHGFを添加すると、添加24時間後にサイクリンD1 mRNAの発現増強が認められた。

単離したラットサイクリンD1遺伝子ジェノミッククローンの塩基配列を決定したところ、エクソン3から5'上流約5 kbが含まれていた。

既に遺伝子バンクに登録されているヒトクローンとの相同性検索で、80%以上の相同性を認める27から179bpの領域が11箇所認められた。

ラット肝癌細胞dRLH84におけるラットサイクリンD1遺伝子5'上流の転写活性は-2.6から-1.5kb間に認められた。

D. 考察

c-MetやEGFの細胞内情報伝達系において、Ras-MAPK系が重要であることは既に報告されているが、我々はHGFとEGFがRasの活性化とMAPK活性を相加的に増加させることを確認している。本研究ではさらにHGFによるRas/MAPKの活性化がサイクリンD1 mRNAの発現増強につながることを明らかにし、ラットサイクリンD1遺伝子5'上流領域の転写活性の解析を行った。最近、Tetsuらは大腸癌細胞においてβカテニン/TCF複合体やRasの遺伝子変異がヒトサイクリンD1遺伝子5'上流-0.8 kbの転写活性を増大させることを報告したが、我々のラット肝癌細胞を用いた検討では-1.5から-2.6 kbに転写活性が認められた。この領域の解析は未だ報告がなく、HGFや他の増殖因子（EGFなど）に誘導される転写因子の結合領域が存在する可能性が考えられる。

E. 結論

HGFによりサイクリンD1 mRNAの発現増強が認められる。ラットサイクリンD1遺伝子5'上流の-1.5から-2.6kbに強い転写活性が認められ、この領域にHGFや他の増殖因子（EGFなど）に誘導される転写因子の結合領域が存在する可能性が考えられた。

F. 研究発表

1. 投稿準備中
2. 学会発表予定

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業） 分担研究報告書

Th1/Th2バランスから見た劇症肝炎の病態（臨床的検討）

分担研究者 沖田 極 山口大学医学部第一内科 教授

研究要旨：劇症肝炎におけるTh1/Th2-associated cytokine imbalanceが単一リンパ球レベルおよび単一monocyte/macrophageレベルにおいて明らかになった。
Th2サイトカインであるインターロイキン(IL)-10の投与は、免疫学的バランスを是正するという観点からも劇症肝炎に対する新しい治療戦略の一つになり得るものと考えられた。

A. 研究目的

劇症肝炎の病態下では持続する高濃度の炎症性サイトカインの発現が肝細胞障害を進展させ、さらに全身性の炎症反応の著明な亢進、すなわちSIRSと呼ばれる病態を惹起し、多臓器不全(MOF)へと至らしめ、劇症肝炎の予後を不良なものにすると考えられる。我々は、主として炎症性サイトカインの産生に関連するhelper T cell, type 1(Th1)と、主として抗炎症性サイトカインの産生に関連するTh2との免疫学的バランスに着目し、劇症肝炎の病態におけるTh1/Th2-associated cytokine imbalanceの関与について、細胞内サイトカイン測定法という新しい手法を用いて、単一リンパ球レベルさらには単一monocyte/macrophageレベルにおいて明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象患者は劇症肝炎が急性型3例、亜急性型2例の合計5例で、原因はいずれもHBV感染によるものであり、転帰は4例が死亡で1例が生存例であった。コントロールとして急性肝障害6例および健常人6例についても同様の解析を行った。原則として当科入院時に採血を行い、Th1(IFN- γ およびIL-2)産生能を見るためにPMA25ng/mlおよびIonomycin1 μ g/mlで、Th2であるIL-10産生能を見るためにはConcavalin A5 μ g/mlでリンパ球を刺激した。産生されたサイトカインの分泌を阻害するためにBre-feldinを10 μ g/ml添加後incubationした。その後PerCP標識抗CD3抗体によりTリンパ球を染色し、赤血球を溶血させさらにリンパ球細胞膜を浸透圧溶液にて処理した。引き続き抗人IFN- γ 、IL-2、IL-10の各蛍光標識抗体を加え、細胞内に存在する目的サイトカインと結合させた。最後にフローサイトメトリーを用いて各陽性率を算出し各群間で比較した。さらにIL-10に関してはmonocyte/macrophageにおいても、劇症肝炎2例(急性型生存例1例および急性型死亡例1例)および急性肝障害1例の計3例について陽性率を解析した。

劇症肝炎患者については本人(意識清明時)および家族に研究内容を十分に説明し承諾を得た。また急性肝障害患者および健常人についても研究内容について十分なインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

1. 単一リンパ球レベルにおけるTh1サイトカインの比較：IFN- γ 陽性率は劇症肝炎(34.2 \pm 3.6%)および急性肝障害(43.8 \pm 8.4%)は健常人(19.6 \pm 2.9%)に比して著明に亢進していた。IL-2も劇症肝炎(27.5 \pm 7.0%)および急性肝障害(29.0 \pm 5.6%)は健常人(18.3 \pm 1.4%)に比して著明に亢進していた。

2. 単一リンパ球レベルにおけるTh2サイトカインの比較：IL-10陽性率は劇症肝炎(1.2 \pm 0.4%)、急性肝障害(3.1 \pm 1.2%)であり低値ではあるが、急性肝障害においてやや高くなる傾向を認めた。

3. 単一monocyte/macrophageレベルにおけるIL-10の比較：劇症肝炎(6.2 \pm 1.1%)、急性肝障害(8.3%)でありIL-10産生に関してはmonocyte/macrophageの方がリンパ球よりも高値であり、また急性肝障害の方が劇症肝炎よりも高値であった。

D. 考察

炎症性(Th1)サイトカインであるIFN- γ およびIL-2は共に単一リンパ球レベルにおいても劇症肝炎・急性肝障害において亢進していることが判明した。これに対し抗炎症性(Th2)サイトカインであるIL-10は単一リンパ球レベルさらには単一monocyte/macrophageレベルにおいて劇症肝炎の方が急性肝障害に比して低値を呈したことは、劇症肝炎におけるIL-10の産生不全の関与を示唆する結果と考えられた。

E. 結論

抗炎症作用を発揮する可能性のあるIL-10の投与は、免疫学的バランスを是正する意味においても劇症肝炎に対する新しい治療戦略の一つとなり得る可能性が示唆された。

F. 研究発表

学会発表

萱野幸三、坂口栄樹、坂井田功、沖田 極単一リンパ球レベルから見た劇症肝炎患者におけるTh1Th2-associated cytokine imbalance
第33回日本肝臓学会西部会(1999.12月 於富山)

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

劇症肝炎モデルにおける細胞死のシグナル伝達

分担研究者 林 紀夫 大阪大学大学院分子制御治療学 教授

研究要旨：劇症肝炎は肝細胞死と肝再生を急激に繰り返す病態であるが、今回の検討ではin vivoにおいて肝臓でのFasを介した肝細胞死とInterleuin-1 β (IL-1 β)による制御機構について検討した。Balb/cAマウスにJo2抗体を静注後5時間後にIL-1 β を投与し、肝細胞apoptosisの過程を検討した。IL-1 β の前処置によってマウスの生存率は、IL-1 β の濃度依存性に延長した。またDNAのfragmentation及び血清ALT値もIL-1 β の投与によって抑制された。IL-1 β の投与は肝細胞におけるcaspase-3 like proteaseの活性化は有意に抑制した。さらにIL-1 β によるFasを介したcaspase-3 like proteaseの活性化の抑制は、D-galactosamineと一緒に投与することで消失した。以上の結果より肝再生過程においてはFasレセプター後のシグナル伝達機構が抑制されており、その一部にIL-1 β が関与していることが示された。

A. 研究目的

アポトーシスによる細胞死においては、細胞障害性T細胞より分泌される perforin/granzyme B あるいは Fas システムを介した細胞障害メカニズムが重要な役割を果たしていることが明きらかとなっている。特に肝疾患における肝細胞障害機序の一つとして、Fasを介した肝細胞のアポトーシスの重要性が指摘されている。肝再生過程において誘導される炎症性サイトカインが、Fasを介した肝細胞死においていかなる影響を及ぼすかについてはほとんど明きらかとはなっていない。今回の検討ではFas抗体投与による肝細胞apoptosisによる劇症肝炎モデルを用いてinterleukin 1 β の肝細胞死における役割を検討した。

B. 研究方法

マウスIL-1 β 投与後5時間後にBalb/cAマウスにJo2抗体 (agonistic anti-mouse Fas)を静注し、マウスの生存率、血清ALT値を検討した。肝組織におけるDNAの断片化はELIZAにて定量し、caspase-3 like活性はDEVD-AFCを基質とするfluorometric assayにより定量した。マウス肝細胞膜上のFasの発現はコラゲナーゼ還流法により肝細胞を分散し、PE標識Jo2抗体にて染色後FACSにて解析した。

C. 研究結果

IL-1 β 投与後5時間後にJo2抗体を投与し、その致死的效果を検討した。各群8匹のマウスで検討した。コントロールマウスではJo2抗体投与後早期に全マウスが死亡したのに対して、IL-1 β による前処置はマウスの生存率を濃度依存性に延長し、IL-1 β 500ngの投与を受けたマウスは全例Jo2抗体による致死を免れた。肝細胞のアポトーシスの抑制を確認したところ、IL-1 β の前処置を受けたマウスでは、コントロールマウスに比して、Jo2抗体投与後の血清ALT値、DNANお断片化率も抑制されていることが明きらかとなった。フローサイトメトリーによる検討では肝細胞

膜上のFasレセプターの発現レベルは全く同等であり、IL-1 β の投与と肝細胞のFas抗原の発現との関連は認めなかった。DEVD-AFCを基質とするfluorometric assayによる検討では、Jo2抗体投与前の肝ではpro-caspase-3の発現レベルには差がなかったが、Jo2抗体投与後のcaspase-3の活性化はIL-1 β 投与群のマウスにおいてコントロールマウスの群に比して有意に抑制されていた。

D. 考察

IL-1 β は単核球より作製されるサイトカインで、炎症において多くの機能を果たしている。今回の検討ではFas刺激によって引き起こされるapoptosisは、IL-1 β の前投与によって有意に抑制された。IL-1は炎症のacute-phase reactantsのinducerの一つであり、Fasを介さない組織障害を減弱することが示されている。しかしながら今回の結果はIL-1 β はcaspase-3-like protease活性を抑制した。このことはIL-1 β のFasを介さない肝組織障害の減弱はあまり大きな役割を果たしていないことを示唆していると考えられた。IL-1 β の投与によって肝細胞表面のFas抗原の発現は変化がなかった。Fasの発現していない islet cell や thyrocytesでは、IL-1の刺激でFasの発現を誘導し、Fasの感受性を増大することが示されている。今回の結果は、細胞の種類によってFas systemの反応が多様であることが示された。また肝細胞表面のFas抗原の発現は変化がなかったが、caspase-3の活性化は有意に抑制されていたことから、Fasレセプター以降でcaspase-3より上流のシグナルが肝切除によって抑制されており、このことが肝細胞のアポトーシスを遅延させる要因と考えられた。

E. 結論

以上の結果からIL-1 β の投与は、肝細胞においてFasを介したアポトーシスが抑制されることが明きらかとなった。このことはIL-1 β が肝疾患において肝細胞

のapoptosisのnegative regulatorとして機能していることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Takehara T, Hayashi N, Tatsumi T, et al:
Interleukin
1 β protects mice from Fas-mediated hepatocyte
apoptosis and death. Gastroenterology 1999;117:
661-688.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

多臓器不全を伴う肝障害の進展機序の検討

分担研究者 石井 裕正 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：本邦でも生体小腸部分移植が施行され、腸管の虚血再灌流(I/R)障害が注目されている。また、腸管虚血とそれに続くエンドトキシンの腸管からの流入は、多臓器不全の初期段階と考えられる。今回、我々は、腸管I/R惹起性肝障害の進展における白血球の膠着と、その反応におけるサイトカインや一酸化窒素(NO)の役割を検討した。エタノール(EtOH)は虚血性疾患の修飾因子であり、この系におけるEtOHによる修飾についても検討した。ラット上腸間膜動脈を30分間結紮後再灌流し、60分後まで膠着白血球数、血流のない肝類洞の割合(NPS)を生体顕微鏡下に観察した。血中エンドトキシン(Ex)濃度、tumor necrosis factor- α (TNF)値を測定した。EtOHを胃管より投与し、さらにNOの合成阻害剤またはNO donorを前投与した後、同様の解析を行った。腸管I/RによりNPSの増加と肝類洞内白血球膠着が惹起された。TNF値、Ex濃度の増加も認められた。低用量(1g/kg) EtOH前投与により、腸管I/RによるTNF値の上昇、NPSの増加、白血球膠着は抑制された。NO合成阻害剤は、低用量EtOHによる障害抑制作用を減少させた。高用量EtOH前投与では、腸管I/RによるEx濃度の増加、NPSの増加、白血球膠着は増強された。この障害増強作用は、NO donorにより抑制された。腸管I/Rは、TNF- α などのサイトカイン産生を介し肝微小循環障害を惹起する。低用量EtOHは、TNF- α 産生を低下させ、腸管I/Rによる肝微小循環障害を抑制し、一方、高用量エタノールはEx濃度を上昇させ、腸管I/Rによる肝微小循環障害を増強することが示唆された。これらの肝微小循環の変化に内因性のNOが保護的に作用していることが示唆された。TNF- α などのサイトカインやEx、NOが、アルコール摂取と腸管I/Rによる多臓器不全の進展予防や治療のターゲットになり得ることが示唆された。

A. 研究目的

近年、虚血再灌流障害におけるmediatorとして活性酸素の役割が重要視されてきた。また、虚血再灌流障害は、局所の炎症性細胞の集積に伴い微小循環障害が生じる結果による可能性が示唆されている。本邦でも生体小腸移植が施行され、腸管の虚血再灌流障害が注目されている。また、腸管虚血とそれに続くエンドトキシンの腸管からの流入は、多臓器不全の初期段階と考えられる。実際、腸管虚血再灌流により、腸管のみならず、肝臓、肺などその下流にある臓器が障害を受ける。我々も、腸管虚血再灌流が白血球集積を生じ、低酸素ストレスをもたらすことによって肝微小循環障害を生じることを報告した(Horie Y, et al: Gastroenterology 1996; 111: 666-673. Horie Y, et al: J. Clin. Invest. 1996; 99: 781-788.)。

腸管虚血再灌流障害の進展にはTNF- α など炎症性サイトカインの活性化、腸管粘膜透過性亢進に伴うbacterial translocationとそれに続く腸管由来のエンドトキシンの増加が関与し、肝、脾、肺などを含む多臓器不全を呈することも報告されているが、アルコール性肝障害においてもしばしばエンドトキシン血症が観察される。

アルコール性肝障害ならびに腸管虚血再灌流惹起性肝障害の進展には、ともに酸化的ストレスや腸管由来エンドトキシンの増加、サイトカインなどの炎症性物質の上昇、それに伴う内皮細胞上の接着因子を介した白血球の膠着などが関与することが知られている。動

物実験モデルにおいて、エタノールは脳、心臓の虚血性臓器障害を抑制するという報告と、小腸などの虚血性臓器障害を増悪させるという報告がある。疫学的には、low risk drinking (いわゆる適正飲酒)が虚血性疾患のリスクを減少させることが報告されている。しかし、臨床的には、アルコール依存症患者の消化管出血や虚血性腸炎の際に肝障害をきたすことがあり、時に劇症肝炎様の重篤な肝障害をきたす。このように、エタノールと腸管虚血再灌流の相互作用については不明の点が多い。

近年、血管作動性物質である一酸化窒素(NO)が、血圧などの変化をもたらさない濃度で腸管虚血再灌流惹起性酸素ストレスや白血球の膠着を抑制し、肝障害の進展を抑制することが報告されてきている。上述の通り、腸管虚血再灌流惹起性肝微小循環障害においても白血球の膠着が重要な働きをしているが、この肝微小循環障害においてNOが関与していることも報告した。

今回、急性エタノール投与ラットを用い、アルコールの腸管虚血再灌流惹起性肝障害に対する影響について検討した。また、その進展に関与していると考えられるNO donorや生成阻害剤を前投与して、NOの役割について肝類洞内の白血球膠着など肝微小循環障害の面や、血中エンドトキシン濃度の増加の一因と考えられる腸管粘膜防御機構の面から検討した。

B. 研究方法

実験動物：Wistar系雄性ラット230-270gを16時間禁食後、実験に供した。

(1)ラットを麻酔後、胃管を挿入し、エタノール(10%; 1g/kg、または、40%; 4g/kg)、またはコントロールとして生理食塩水を投与した。ラット肝左葉をカバーガラスの窓を設けたプレート上に固定した。Rhodamine-6Gにて白血球を蛍光ラベルし、肝表面を倒立型蛍光顕微鏡下に観察し、エタノールまたは生理食塩水投与15分後より撮像した画面をビデオテープに録画した。

また虚血再灌流群は、エタノールあるいは生理食塩水投与15分後よりラットの上腸間膜動脈をポリエチレンチューブにて結紮し腸管を虚血、30分後に虚血を解除し、その後60分間再灌流した。録画したビデオテープより肝類洞における膠着した白血球、ならびに血流のない肝類洞を経時的に計測した。肝類洞内に10秒間以上静止した白血球を膠着白血球と定義した。また蛍光ラベルされた白血球または血小板の通過が肉眼的に認められない類洞を血流のない類洞と定義した。エタノールまたは生理食塩水投与105分後、虚血再灌流群は再灌流後に下大静脈より採血し、血漿 tumor necrosis factor(TNF)- α 値をELISA法にて、血清エンドトキシン濃度をKinetic比色法にて測定した。

(2)ラットを開腹し回盲部を離断後、十二指腸内に留置したカテーテルより小腸を洗浄した。洗浄後回盲部を結紮し、両側腎動静脈を結紮後、高容量エタノール、または生理食塩水を投与した。15分後に fluorescein isothiocyanate(FITC)でラベルしたdエンドトキシン tran (MW; 4000D: FD4, Sigma)を十二指腸内に留置したカテーテルより投与した(20)。虚血再灌流を加える群は、(1)と同様に上腸間膜動脈の30分間虚血、60分間再灌流を施行した。血中FITC 蛍光強度よりFD4濃度を測定し、腸管粘膜透過性を評価した。

(3)さらに、NO合成阻害剤(NG-monomethyl-L-arginine : L-NMMA, Sigma)、またはNO donor (FK 409, Fujisawa) を前投与して同様の解析を行った。

本実験は、慶應義塾大学医学部の動物実験に関する倫理委員会において実験案の承認を受け、すべてのラットの取り扱い、慶應義塾大学医学部動物実験ガイドラインにしたがって行った。

C. 研究結果

高用量(4g/kg)エタノール単独投与では、肝類洞内の白血球膠着が認められたが、腸管虚血再灌流により、より強い白血球膠着が惹起された。低用量(1g/kg)エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による白血球膠着が抑制された。高用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による白血球膠着が増強された。

同様に高用量(4g/kg)エタノール単独投与は、血

流のない肝類洞の割合を増加させるが、腸管虚血再灌流は、より著明に増加させた。低用量(1g/kg)エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による血流のない肝類洞の割合の増加は抑制され、高用量エタノール前投与により、その増加は増強された。

エタノール単独投与は、血漿TNF- α 値に変化を与えなかったが、腸管虚血再灌流により血漿TNF- α 値が有意に増加した。低用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による血漿TNF- α 値の上昇は抑制されたが、高用量エタノール前投与によっては、腸管虚血再灌流による血漿TNF- α 値の上昇は変化を受けなかった。

低用量エタノール単独投与は、血中dエンドトキシン tran濃度に変化を与えなかったが、腸管虚血再灌流により腸管透過性が亢進した。しかし、低用量、ならびに高用量エタノール前投与は共に、腸管虚血再灌流による腸管透過性の亢進に変化を与えなかった。

低用量エタノール単独投与は、血清エンドトキシン値に変化を与えなかったが、高用量エタノール投与ならびに腸管虚血再灌流により血清エンドトキシン値が有意に増加した。腸管虚血再灌流により血清エンドトキシン値は有意に増加した。低用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による血清エンドトキシン値の上昇は変化を受けなかったが、高用量エタノール前投与によって、腸管虚血再灌流による血清エンドトキシン値の上昇は増強された。

低用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による白血球膠着は抑制されたが、NO合成阻害剤(L-NMMA)の前投与により、この低用量エタノール前投与による肝類洞内白血球膠着抑制作用は減少した。また、高用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による白血球膠着は増強されるが、NO donorの前投与により、この高用量エタノール前投与による肝類洞内白血球膠着増強作用は抑制された。

同様に、低用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による血流のない肝類洞の割合の増加は抑制されたが、NO合成阻害剤(L-NMMA)の前投与により、この低用量エタノール前投与による肝微小循環障害抑制作用は減少した。また、高用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による血流のない肝類洞の割合の増加は増強されたが、NO donorの前投与により、この高用量エタノール前投与による肝微小循環障害増強作用は抑制された。

D. 考察

腸管虚血再灌流により、腸管のみならず、肝臓、肺などその下流にある臓器が障害を受ける。特に肝臓においては、白血球の膠着、血流のない肝類洞の割合の増加といった肝微小循環障害とそれに引き続き起こる肝細胞障害(ALT値の上昇)が報告されている。さらに、この肝微小循環障害は、白血球内皮細胞間接着因子の欠損マウスにおいて抑制されており、この反応における接着因子の関与が示唆されている。今回、この腸管虚血再灌流惹起性肝微小循環障害のモデルを用

いて、エタノール投与の腸管虚血再灌流惹起性肝微小循環障害への影響について検討した。

また、虚血再灌流惹起性微小循環障害、特に白血球の膠着において、内因性のNOの減少や不活性化が関与しているとの報告がある。NOは、内皮細胞、マクロファージ、神経細胞、白血球などさまざまな細胞で産生されるが、肝臓においても、肝実質細胞（肝細胞）ならびに非実質細胞（Kupffer細胞、内皮細胞）にて産生される。灌流肝を用いた報告によると、エタノール投与は内因性NO産生を増加させ、エタノール投与による門脈圧上昇を抑制する。このことは、エタノール投与による肝微小循環障害を内因性NOの増加が抑制している可能性を示唆している。実際、内因性NOは白血球一、ならびに血小板一内皮細胞間の接着に関与しており、*in vivo*での肝類洞内炎症性反応において灌流肝モデルよりもより重要な役割を担っていると考えられる。そこで我々は、NOレベルの変化が、エタノール投与による腸管虚血再灌流惹起性肝微小循環障害への影響に変化を及ぼすかどうかについて検討した。

エタノールのNO産生に与える影響についてはいくつかの報告があり、NO産生増強に働くという報告と減少に働くという報告がある。この異なる反応性についてのひとつの説明としては、NO合成酵素（NOS）のタイプ、cNOSとiNOSの違いが挙げられる。腸管虚血再灌流惹起性肝微小循環障害に関与するNOSのタイプについては明らかではないが、iNOSの誘導には数時間必要なことから、今回のモデルではcNOSが関与していると考えられる。低用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による白血球膠着と血流のない肝類洞の割合の増加は抑制されたが、NO合成阻害剤(L-NMMA)の前投与によりこの肝微小循環障害抑制作用は減少した。このことは、低用量エタノール前投与がcNOSを介して内因性NOを増加させ、肝微小循環障害を抑制したことを示唆している。一方、高用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による白血球膠着と血流のない肝類洞の割合の増加が増強されたが、NO donor (FK 409)の前投与によりこの肝微小循環障害増強作用は減少した。このことは、高用量エタノール前投与がcNOSの抑制を介して内因性NOを減少させ、肝微小循環障害を増強したことを示唆している。

アルコール性肝障害において、腸管由来エンドトキシンが重要な働きをしていると考えられている。また、腸管虚血再灌流は、血中エンドトキシン濃度を上昇させることが知られており、腸管虚血再灌流惹起性肝障害においても腸管由来エンドトキシンが重要な働きをしていると考えられる。今回の実験においても、低用量エタノール単独投与は、血清エンドトキシン値に変化を与えなかったが、高用量エタノール投与ならびに腸管虚血再灌流により血清エンドトキシン値が有意に増加した。さらに、高用量エタノール前投与によって、腸管虚血再灌流による血清エンドトキシン値の上昇は増強された。これらのことから、高用量エタ

ノール前投与が血中エンドトキシン濃度を上昇させ、肝微小循環障害を増強したことが示唆される。高用量エタノール前投与により腸管透過性には変化がないことから、高用量エタノール前投与による肝微小循環障害の増強は、主に肝臓におけるエンドトキシンの処理能力の低下が原因と考えられた。この高用量エタノール前投与による肝微小循環障害は、さらに肝機能を低下させ、その後の実質細胞（肝細胞）壊死を惹起する可能性が示唆される。

低用量エタノール前投与により、腸管虚血再灌流による血中TNF- α 値の上昇は抑制されが、血清エンドトキシン値には変化を与えなかった。このことは、低用量エタノール前投与がエンドトキシンによるTNF- α 産生を低下させ、肝微小循環障害を抑制したことを示唆している。エンドトキシン刺激によるKupffer細胞のTNF- α 産生は、*in vitro*においてエタノール前投与により低下することが知られており、*in vivo*の系における今回の結果を支持するものと考えられる。一方、高用量エタノール前投与では腸管虚血再灌流による血中TNF- α 値の上昇は変化をうけなかったが、これは高用量エタノール前投与による血清エンドトキシン値の増加とマクロファージのTNF- α 産生能の低下が相殺された可能性も考えられる。しかし、高用量エタノール急性投与単独では、腸管虚血再灌流単独と異なり血中TNF- α 値の上昇を認めず、エタノール投与、腸管虚血再灌流はいずれも酸素ストレスを介した肝微小循環障害が惹起されるが、腸管虚血再灌流とエタノール投与の場合とでは、その発生機序において異なる機序も存在することも考えられた。他の機序のひとつとして、エタノール投与時にはチトクロームP450 2E1によるエタノール代謝における活性酸素産生が報告されており、アルコール投与による肝微小循環障害にはアルコールの代謝過程に伴う酸素ストレスの関与が考えられる。NOは、血管内で速やかに活性酸素と反応することが知られており、高用量エタノール投与による活性酸素産生が内因性NOの消費にともなう枯渇を招き、肝微小循環障害を増悪させた可能性も示唆された。

E. 結論

エタノール投与は、エンドトキシン、TNF- α 、NOレベルを介して腸管虚血再灌流による肝微小循環障害に対し、濃度依存性に抑制と増強という二面的に働くことが示唆された。適正飲酒時や、慢性の大量飲酒におけるエタノールの虚血再灌流による微小循環障害への影響については、まだまだ解決しなければならない問題は多いが、今回の実験より、臨床的にもエタノール投与が肝微小循環障害に対し濃度依存性に、そしてエンドトキシン、TNF- α 、NOレベルを介して影響している可能性が示唆された。アルコール依存症患者の消化管出血や虚血性腸炎の際の肝障害や多臓器不全には、こうしたエンドトキシン、TNF- α 、内因性NOレベルの変化が関与していることも示唆され、今後臨床的な検討が必要と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

山岸由幸、堀江義則、梶原幹生、玉井博修、横山裕一、加藤眞三、石井裕正. 腸管虚血再灌流惹起性肝障害に対する高用量エタノールの影響. アルコールと医学生物学. 1999; 19, 37-41.

2. 学会発表

・Horie Y, Yamagishi Y, Kajihara M, Kimura H, Kato S, and Ishii H. Ethanol modulates hepatic microvascular dysfunction produced by gut ischemia/reperfusion in rats via nitric oxide. American Association Study for Liver Disease Nov. 1999 in Dallas.

・Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara M, Kato S, and Ishii H. Low dose ethanol prevents hepatic microvascular dysfunction and sequential liver injury elicited by gut ischemia/reperfusion in rats. American Association Study for Liver Disease Nov. 1999 in Dallas.

・堀江 義則、山岸 由幸、加藤 眞三、石井 裕正. 腸管虚血再灌流惹起性肝障害に対するエタノールの影響. 第34回日本アルコール・薬物学会1999年9月. 札幌

・堀江 義則、加藤 眞三、石井 裕正. 腸管虚血再灌流惹起性肝障害に対するエタノールの影響—サイトカインならびに一酸化窒素の役割. 第3回日本肝臓学会大会. 1999年10月. 広島

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

急性肝不全のサイトカイン治療：Concanavalin A (Con A)誘導肝障害における Interleukin (IL) -10による治療効果の検討

分担研究者 渡辺 明治 富山医科薬科大学第3内科 教授

研究要旨：Con A誘導肝障害の治療にIL-10を用い、その有用性とメカニズムについて検討した。Con A 投与後IL-10は3時間後で増加し、その上昇は24時間まで持続した。mrIL -10の投与効果の検討では、投与群では、コントロール群と比較して有意に血漿ALT活性が低下した。また組織学的には、mrIL-10の投与群では肝内の壊死とapoptosisは軽度であった。FCMによる肝内浸潤リンパ球の解析ではFas ligandを持つCD4陽性Th1細胞が mrIL-10の投与群で減少した。

A. 研究目的

Con A誘導肝障害の治療にIL -10を用い、その有用性とメカニズムについて検討した。

B. 研究方法

6-10週齢の雌BALB/cマウスに Con A 1.0 mg / bodyを尾静脈より投与した。mouse recombinant (mr) IL -10は1群：Con A投与1時間前と4時間後に1mg、2群：Con A投与1時間後に1mg、3群：Con A投与1時間後に4mg、4群：Con A投与4時間後に4mgをそれぞれ腹腔内に投与し、血漿中のALT活性、各種サイトカイン濃度をそれぞれDry chemistry法とELISA法にて経時的に測定した。同時に肝臓の組織学的変化およびTUNEL法によるapoptosisの有無を解析した。Con A 投与24時間後に肝臓を摘出し、リンパ球を採取し、flow cytometry(FCM)でその分画を解析した。また、分離したリンパ球を48時間培養し、その上清中のサイトカイン濃度を測定した。

C. 研究結果

血漿ALT活性は Con A 投与後6時間後より上昇し、12時間で最高値に達し、24時間まで高値を維持し、48時間では低下した。IL-10は3時間後で増加し、その上昇は24時間まで持続した。肝内浸潤リンパ球はCD 4 陽性T細胞が大半を占め、その培養上清中に高濃度のTNF- α 、IFN- γ を認めた。またmrIL -10の投与効果の検討では、1群、3、4群では、コントロール群と比較して有意に血漿ALT活性が低下したが、2群では有意な低下は見られなかった。また組織学的には、Con A 投与6時間後より肝では門脈域への炎症細胞浸潤とZone 2 の巣状壊死ならびにapoptosisを認めたが、上記のmrIL-10の投与群では肝内の壊死とapoptosisは軽度であった。FCMによる肝内浸潤リンパ球の解析では Fas ligand を持つCD4陽性Th1細胞がmrIL-10の投与群で減少した。

D. 考察

ConA肝炎の予防並びに沈静化には、炎症性サイトカインの産生を抑制する、またはFasを介するシグナルの経路を遮断しapoptosisを防ぐなどの治療法が有効となる。本研究でも生体内のIL-10が、肝炎の沈静化に重要であることが示唆された。また外因性のIL-10を投与した群では、血漿ALT活性の低下と肝組織障害の軽減が見られたことより、本剤を用いた急性肝炎治療の可能性が示唆された。

E. 結論

mrIL-10の投与によりCon A 肝障害が抑制された。そのメカニズムとして、IL-10が肝内浸潤Th1細胞の活性化を阻害したと考えられた。

F. 研究発表

2. 学会発表

芳尾幸松, 安村敏, 新敷吉成, 樋口清博, 渡辺明治
Concanavalin A 誘導肝障害におけるInterleukin (IL) -10による治療効果の検討
第33回日本肝臓学会西部会 1999, 12 富山

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

B型慢性肝炎急性増悪による急性肝不全におけるラミブジンの効果に関する研究

分担研究者 坪内 博仁 宮崎医科大学第二内科 教授

研究要旨：B型慢性肝炎急性増悪による急性肝不全は劇症肝炎と同様に予後不良であるが、この急性肝不全に対して、ラミブジンは有効であると思われる。

A. 研究目的

B型慢性肝炎急性増悪による急性肝不全は極めて予後不良な病態である。近年、ラミブジンがB型慢性肝炎のウィルス血症と肝機能の改善に有効であることが明らかにされた。そこで我々はB型慢性肝炎急性増悪による急性肝不全におけるラミブジンの効果を明らかにする目的で、当科に入院したB型慢性肝炎の急性増悪による急性肝不全の4例に対してラミブジンを投与し、その治療効果を検討した。

B. 研究方法

1999年の1年間に当科に入院した4例のB型慢性肝炎急性増悪による急性肝不全患者に対し、ラミブジン100～300mg/日を経口投与し、肝機能検査値、血中HGF値、血中HBV DNA量および予後に及ぼす効果を検討した。血中HGF値はELISAで測定し、血中HBV DNA量はTMA法にて測定した。これらの値は入院時より経時的に測定した。症例は4例でいずれも男性であり、年齢は平均46.8歳（24, 46, 55, 59歳）であった。

（倫理面への配慮）

本人および家族に対し、ラミブジンの海外での臨床成績の説明、プライバシーの保護、不利益、危険性の排除、肝移植の適応の可能性も含めて十分なインフォームドコンセントの後、ラミブジンの投与を開始した。

C. 研究結果

4例中3例でラミブジン投与により血中HBV DNAは陰性化した。そのうち2例が生存し、1例は血中HBV DNA量は検出感度以下となったにもかかわらず肝不全が進行し、死亡した。残りの1例は血液悪性腫瘍に対する化学療法後のHBVのreactivationにより発症し、ラミブジンの抗ウィルス効果が発現する前に死亡した。死亡例の入院時の血中HGF値がより高値であった。また生存例では、血中HGF値が正常値近くまで徐々に改善したが、死亡例では血漿交換などを行っても3 ng/ml以上の高値が持続した。

D. 考察

ラミブジン投与により、4例中3例では、血中HBV DNAが著しく減少し、2例ではHGF値の改善を伴って救命し得たことより、B型慢性肝炎の急性増悪によ

る急性肝不全に対してラミブジンは試みられるべき治療法と考えられ、さらに投与時期や投与量などを含め、その治療効果について今後の検討が必要である。またラミブジンによりウィルス学的に改善しても肝不全が進行する症例があり、このような場合にはHGF値などを考慮して肝移植の時期を的確に判断することが望まれる。

E. 結論

B型慢性肝炎の急性増悪による急性肝不全に対してラミブジンは試みられるべき治療法と考えられ、さらに投与時期や投与量など今後の検討が必要である。

F. 研究発表

1. 投稿準備中
2. 学会発表予定

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

B型劇症肝炎急性型の肝移植適応に関する研究

分担研究者 辻 孝夫 岡山大学医学部第一内科 教授

研究要旨：1996年に提案された劇症肝炎の肝移植適応基準のガイドラインでは、脳症発症時点で登録できない場合には肝移植の適応にならない例、脳症が改善されて移植適応から除外されても肝不全が進行する例や5日間の病態把握が待てない症例が存在し、新たな劇症肝炎の肝移植適応基準の作成が必要なことが明らかになった。

分担研究者

| | | |
|-------|----------|-----|
| 東 俊宏 | 岡山大学第一内科 | 助教授 |
| 山本 和秀 | 岡山大学第一内科 | 講師 |
| 下村 宏之 | 岡山大学第一内科 | 助手 |
| 坂口 孝作 | 岡山大学第一内科 | 助手 |
| 田中 紀章 | 岡山大学第一外科 | 教授 |

て肝移植の適応を決定するとき、脳症発症時に登録できなかった症例の場合は、登録は抹消できても登録を行えない点に問題があること。また、脳症の改善に重点を置くと、High flow HDFなどにより意識のみが改善で移植適応から除外されても、肝不全が進行する症例がある。さらには、肝不全の進行が急速で、5日間の経過観察の余裕がない症例が存在することが明らかになった。以上の点より、劇症肝炎の全症例を救命できるような肝移植の適応基準の作成が必要で、登録の条件、移植の時期、再判定のあり方などの再検討が必要である。例えば、年齢と型を重視するのはやめて、肝機能の荒廃の程度や画像上の萎縮の程度を治療中でのダイナミックスを考慮した適応基準や型別適応基準の作成が重要である。

A. 研究目的

B型劇症肝炎急性型で肝移植を経験した2例と移植を考慮しながら実施できなかった1例の経験から、1996年に提唱された肝移植適応基準のガイドラインの正当性を考察した。

B. 研究方法

1996年の移植判定に関与する項目について、3例の経過中の変化を追跡して、肝移植の決定とそれぞれの項目の整合性を検討した。

（倫理面への配慮）

岡山大学附属病院の肝移植適応判定委員会で、移植の適応を決定した後、1例では意識が清明であったため、患者自身と家族に、意識のレベルの低下した2症例については家族に、3回のインフォームドコンセントを行い、同意を得た上で施行した）

C. 研究結果

3例中2例ではII度の肝性脳症出現時に移植登録がなされ、1例では登録にならなかった。しかし、登録にならなかった症例は著明な肝移植を伴う肝不全が進行し、第5病日に移植を施行した。摘出肝重量は523gで、広汎肝細胞壊死の所見であった。一方、登録された2例の内1例はHigh flow HDFにより意識が清明となり、5日間の経過観察終了時には移植の適応から除外されることになるが、肝萎縮と肝機能の荒廃が著明で、移植を施行した。摘出肝重量は440gであった。残りの1例は脳症発症2日目に肝移植を考慮したが、全身状態が極めて不良で肝移植を行えなかった。

D. 考察

今回の経験から、1996年のガイドラインに照らし

E. 結論

生体部分肝移植が普及し、その治療効果が明らかになった現在、劇症肝炎の新たな肝移植適応基準の作成が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

東 俊宏、辻 孝夫：劇症肝炎急性型での生体部分肝移植の経験から。Modern Physician 19: 1315-1317, 1999.

2. 学会発表

東 俊宏：当院における生体部分肝移植例の予後とQOL. 第35回日本肝臓学会総会。

e. 新治療の開発

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

総括研究報告書

新治療の開発分科会総括報告書

分担研究者 小俣 政男 東京大学大学院医学系研究科消化器内科学 教授

本分科会は難治性肝疾患で取り上げられている自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、劇症肝炎などの肝疾患の新たな治療法の開発を基礎的、臨床的に取りまとめることである。下記に1999年度の班会議における新治療法の開発を基礎的、臨床的概要を総括する。

最も進歩の著しい点は、肝移植の医療の現場への導入とその良好な成績が明かにされてきていることである。生体肝移植は脳死移植ドナーの極めて少ない本邦ではすでに医療としての位置づけが得られ、1000例以上におよぶ生体肝移植は日常医療の重要な領域となってきた。また、昨年より脳死肝移植も始まってきている。このような現状の中で、本調査研究班で取り上げている肝疾患患者に対する救命医療とその後のQuality of Life (QOL) 改善としての移植医療の位置づけも認識されてきている。移植医療の進歩は、さらにより安全な医療としての移植の立場を固めてきている。このような移植症例数の増加とともに、これら疾患に対する移植医療への決断の時期、およびそれまでの期間の患者のケア（ブリッジ医療）も重要な問題となってきた。

今回、集計調査から成人劇症肝炎における移植医療がすでに53例施行されており、その成績は原因や急性、亜急性型にかかわらず70-80%救命率が示されていることが明かにされた。この救命率は内科治療による救命率25%（急性型40%、亜急性型15%）に比べて、極めて高いことが明かにされた。また、劇症肝炎の生体肝移植にあたっては、脳死移植ガイドラインよりもより柔軟な判断のもと移植への適用がなされていることが明かにされた。この点に関しては、該当症例の詳しい検討と、劇症肝炎の内科治療の予後予測などを含めた詳細な検討が今後必要と考えられる。また、小児劇症肝炎のなかで乳児劇症肝炎が約半数を占め、B型肝炎が60%を占めていることが明かにされ、さらに、残り40%の非B型乳児劇症肝炎は重症であることが明かにされた。乳児劇症肝炎の問題点として肝性昏睡の評価の困難さ、移植までの人工肝補助療法の問題点が提起され、これらに対する早急な対策が試みられている。

さらに、移植医療の適応拡大も目指して、B型肝炎硬変などに対する移植も試みられており、再感染阻止のためLamivudine, HBIGなどの投与による再感染が阻止されている現状も示されてきている。

当該班における対象疾患である原発性胆汁性肝硬変も移植が究極の治療となっており、成人移植症例の30%以上を占めている現状が明かにされた。これ

らの移植成績も75%以上の生存率を示してきている。しかしながら、移植医療への決断時期に関する問題が提起された。Retrospectiveの症例分析から、現在、これら疾患における移植決断時期が肝病態が重症化した時点の症例が多く、術前の感染症が移植後の生存に重要な意味を有していることが明かにされた。このことは、原発性胆汁性肝硬変症例では病態の進展がみられる場合には早期から移植医療への対応を行なっておくことの重要性が示された。同様なことは、自己免疫性肝炎の劇症型にも見られ、術前の免疫抑制剤の使用による引き起こされる感染症が移植予後を左右する重要因子であることも指摘された。これら肝移植に関するRetrospectiveな検討から、当該疾患における移植医療への決断の時期と移植施行までのブリッジ医療の質が移植後のより高い救命率とQOLを目指すうえで重要であることを示唆している。

新治療開発に関する基礎的検討では、B型肝炎ウイルスに対する各種逆転写酵素阻害剤の治療効果を検討するin vitro測定法の開発と、人工肝臓への道のりの一途としてHNFを導入することにより肝細胞機能を長期にわたり維持する試みも報告された。B型肝炎ウイルスに対する各種逆転写酵素阻害剤の治療効果を検討するin vitro測定法を用いることにより、症例毎に適した治療薬選択の可能性が示された。このような治療法の選択は、B型肝炎関連の肝移植後の再感染阻止やB型肝炎ウイルスの関与する重症および劇症肝炎に対する治療において極めて重要である。