

- activator inhibitor in human liver ischemia and reperfusion. *J Hepatol* 2000; 33: 407-14.
- Sano K, Makuuchi M, Takayama T, Sugawara Y, Imamura H, Kawarasaki H. Technical dilemma in living donor or split-liver transplant. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1208-9.
- Hui AM, Makuuchi M, Takayama T, Sano K, Kubota K, Harihara Y, Matsunami H. Left hemihepatectomy in living donors with a thick middle hepatic vein draining the caudal half of the right liver. *Transplantation* 2000; 69: 1499-501.
- Takayama T, Makuuchi M, Kubota K, Sano K, Harihara Y, Kawarasaki H. Living-related transplantation of left liver plus caudate lobe. *J Am Coll Surg* 2000; 190: 635-8.
- Hasegawa K, Makuuchi M, Kubota K, Takayama T, Watanabe M. Reconstruction of small and fragile bile ducts without mucosa-to-mucosa anastomosis. *Arch Surg* 2000; 135: 596-9.
- Kubota K, Makuuchi M, Takayama T, Harihara Y, Watanabe M, Sano K, Hasegawa K, Kawarasaki H. Successful hepatic vein reconstruction in 42 consecutive living related liver transplantations. *Surgery* 2000; 128: 48-53.
- Kita Y, Harihara Y, Hirata M, Sano K, Kubota K, Takayama T, Makuuchi M, Chiba S, Suenaga M. Splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura after living-related liver transplantation. *Transplantation* 2000; 70: 553-5.
- Kubota K, Makuuchi M, Takayama T, Harihara Y, Hasegawa K, Aoki T, Asato H, Kawarasaki H. Simple test on the back table for justifying single hepatic-arterial reconstruction in living related liver transplantation. *Transplantation* 2000; 70: 696-7.
- Hirata M, Harihara Y, Hisatomi S, Miura Y, Yoshino H, Mizuta K, Ito M, Sano K, Taniai N, Kusaka K, Kita Y, Kawarasaki H, Kubota K, Takayama T, Makuuchi M. A case of esophageal variceal rupture following acute portal vein thrombosis three days after living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2266-2268.
- Taniai N, Harihara Y, Kita Y, Hirata M, Sano K, Kubota K, Takayama T, Kawarasaki H, Makuuchi M, Yoshida H, Akimaru K, Tajiri T, Onda M. Rupture of newly developed esophageal varices after adult-to-adult living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32:2264-2265.
- Taniai N, Harihara Y, Kita Y, Hirata M, Sano K, Kusaka K, Kubota K, Takayama T, Kawarasaki H, Makuuchi M, Yoshida H, Akimaru K, Tajiri T, Onda M. Persistent pleural and peritoneal fluid discharge after adult-to-adult living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2213-2214.
- Hirata M, Harihara Y, Hisatomi S, Miura Y, Yoshino H, Mizuta K, Ito M, Sano K, Taniai N, Kusaka K, Kita Y, Kawarasaki H, Kubota K, Takayama T, Hashizume K, Makuuchi M. Living-related liver transplantation for patients with primary biliary cirrhosis. *Transplant Proc* 2000; 32: 2208-2209.
- Kita Y, Harihara Y, Hirata M, Kusaka K, Sano K, Ito M, Yoshino H, Kubota K, Nakao A, Kawarasaki H, Takayama T, Maekawa K, Makuuchi M. Factors influencing persistent hyperbilirubinemia following adult-to-adult living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2193-2194.
- Kita Y, Harihara Y, Hirata M, Kusaka K, Sano K, Mori M, Ito M, Yoshino H, Nakao A, Takizawa H, Hirai H, Kubota K, Takayama T, Kawarasaki H, Maekawa K, Makuuchi M. Adult-to-adult living-related liver transplantation for hepatitis B-related cirrhosis in Japan: two case reports. *Transplant Proc* 2000; 32: 2189-2192.
- Taniai N, Harihara Y, Kita Y, Akune T, Tanaka K, Hirata M, Sano K, Kusaka K, Kubota K, Takayama T, Kawarasaki H, Makuuchi M, Yoshida H, Akimaru K, Tajiri T, Onda M. Pretransplant evaluation of bone mineral density in adult patients with end-stage cholestatic liver disease. *Transplant Proc* 2000; 32: 2187-2188.
- Harihara Y, Sano K, Makuuchi M, Kawarasaki H, Takayama T, Kubota K, Ito M, Mizuta K, Yoshino H, Hirata M, Kita Y, Hisatomi S, Kusaka K, Miura Y, Hashizume K. Correlation between graft size and necessary tacrolimus dose after living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2166-2167.
- Harihara Y, Sano K, Makuuchi M, Kawarasaki H, Takayama T, Kubota K, Ito M, Mizuta K, Yoshino H, Hirata M, Kita Y, Hisatomi S, Kusaka K, Miura Y, Hashizume K. Influence of donor age on the graft function after living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2164-2165.
- Harihara Y, Makuuchi M, Kawarasaki H, Takayama T, Kubota K, Ito M, Mizuta K, Yoshino H, Hirata M, Kita Y, Sano K, Hisatomi S, Kusaka K, Miura Y, Taniai N, Asato H, Nakatsuka T, Hashizume K. Living-related liver

- transplantation in adults compared with children. *Transplant Proc* 2000; 32: 2160-2161.
- Fukunishi I, Kita Y, Wakabayashi T, Fukuhara S, Harihara Y, Takayama T, Kubota K, Kawarasaki H, Makuuchi M. Health status survey of adult patients undergoing living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2149-2151.
- Hirata M, Harihara Y, Kita Y, Hisatomi S, Miura Y, Yoshino H, Mizuta K, Ito M, Sano K, Kusaka K, Kawarasaki H, Kubota K, Takayama T, Hashizume K, Makuuchi M. Impact of HLA matching in living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2108-2109.
- Harihara Y, Makuuchi M, Kawasaki S, Hashikura Y, Kawarasaki H, Takayama T, Kubota K, Ito M, Mizuta K, Yoshino H, Hirata M, Kita Y, Sano K, Hisatomi S, Kusaka K, Hashizume K. Influence of HLA compatibility on living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32: 2107.
- Guo L, Harihara Y, Hirata M, Kita Y, Sano K, Kusaka K, Hisatomi S, Miura Y, Makuuchi M. Role of natural killer cells in allograft rejection. *Transplant Proc*. 2000; 32: 2089-2090.
2. 学会発表
- 菅原寧彦、窪田敬一、小倉勤、江角浩安、井上和人、高山忠利、幕内雅敏 肝阻血再還流障害におけるプロスタグランジンE1の効果 日本外科学会 東京 2000/4/12-14
- 針原康、幕内雅敏、河原崎秀雄、高山忠利、窪田敬一、平田勝、菅原寧彦、橋都浩平 生体部分肝移植の現状と今後の適応拡大 日本外科学会 東京 2000/4/12-14
- 針原康、幕内雅敏、高山忠利、窪田敬一、平田勝、今村宏、菅原寧彦、佐野圭二、久富伸哉、堂脇昌一、加藤正人 急性肝不全に対する生体部分肝移植 日本肝胆膵外科学会 名古屋 2000/5/17-19
- 菅原寧彦、久富伸哉、北村敏郎、水田耕一、河原崎秀雄、今村宏、針原康、高山忠利、橋都浩平、幕内雅敏 生体部分肝移植における乳酸値の検討 日本肝移植研究会 京都 2000/7/14-15
- 久富伸哉、菅原寧彦 PBCの肝移植 第26回川崎リバーカンファランス 川崎 2000/6/24
- 今村宏、幕内雅敏、高山忠利、菅原寧彦、窪田敬一、針原康 肝切離の工夫 日本消化器外科学会 宮崎 2000/7/20-22
- 菅原寧彦、井上和人、窪田敬一、高山忠利、幕内雅敏 肝阻血再還流障害におけるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1の誘導 日本消化器外科学会 宮崎 2000/7/20-22
- 針原康、幕内雅敏、高山忠利、窪田敬一、平田勝、菅原寧彦、久富伸哉、堂脇昌一、加藤正人、河原崎秀雄、橋都浩平 生体部分肝移植における門脈再建—門脈血栓症とその対策について 日本消化器外科学会 宮崎 2000/7/20-22
- 平田勝、針原康、久富伸哉、三浦泰朗、佐野圭二、菅原寧彦、日下浩二、窪田敬一、高山忠利、幕内雅敏 生体部分肝移植後の消化管出血 日本消化器外科学会 宮崎 2000/7/20-22
- 吉野浩之、河原崎秀雄、水田耕一、橋都浩平、菅原寧彦、今村宏、高山忠利、幕内雅敏 劇症肝不全 Wilson病に対する生体肝移植における銅代謝の検討 日本移植学会 岐阜 2000/10/11-13
- 菅原寧彦、幕内雅敏、今村宏、河原崎秀雄 生体部分肝移植成人例の検討—小児との比較 日本移植学会 岐阜 2000/10/11-13
- 水田耕一、河原崎秀雄、吉野浩之、橋都浩平、菅原寧彦、今村宏、高山忠利、幕内雅敏 肝移植患者における免疫抑制剤変更 (conversion) の検討 日本移植学会 岐阜 2000/10/11-13
- 平田勝、針原康、菅原寧彦、佐野圭二、水田耕一、河原崎秀雄、橋都浩平、幕内雅敏、柴田洋一 生体部分肝移植における抗HLAの推移 日本移植学会 岐阜 2000/10/11-13
- 菅原寧彦、幕内雅敏 ビデオシンポジウム-生体部分肝移植における血行再建 日本血管学会関東甲信越地方会 東京 2000/11/25
- 佐野圭二、幕内雅敏、前間篤、菅原寧彦、今村宏、高山忠利、松波英寿 シンポジウム-肝静脈再建は必要か? 日本血管学会関東甲信越地方会 東京 2000/11/25
- Sugawara Y. Perioperative intensive care in adult to adult LDLT. First Korea-Japan Joint Symposium on Liver Transplantation. Kyoto 2000/7/16
- Sugawara Y, Makuuchi M. Limitations of adult LRLT. 10th WORLD CONGRESS Rome 2000/10/17-20
- Sugawara Y, Makuuchi M. Blood lactate levels in LRLT. 10th WORLD CONGRESS Rome 2000/10/17-20
- Sakamoto Y, Sugawara Y, Nakatsuka T, Harihara Y, Takayama T, Kawarasaki H, Makuuchi M. Rescue of liver grafts from hepatic artery occlusion in living-related liver transplantation. 10th WORLD CONGRESS Rome 2000/10/17-20

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

肝移植の基礎的研究

研究協力者 田中 紘一 京都大学医学部附属病院長

研究要旨：提供者の安全性を最大限に維持しながらintend-to-treatの前向き臨床研究を行うことで、末期肝疾患患者における必要移植肝重量を明らかにした。これに基づいて自己肝温存術式、右葉生体肝移植術式を確立し、成人肝移植における安全性を向上させた。

A. 研究目的

本邦における肝移植医療が、当面生体肝を中心とせざるを得ない状況、さらに脳死肝移植臓器提供の不足から、より多くの移植肝を分割して使用せざるを得ない状況を踏まえ、肝移植以外に有効な治療手段のない肝疾患の移植治療に必要な至適肝重量を明らかにする。

B. 研究方法

分担研究者の施設において生体肝移植を受けた症例を対象に、移植前の肝病態と全身状態に基づいて、移植肝重量の多寡が移植後の肝細胞傷害・代謝機能・蛋白合成能に及ぼす影響と、合併症ならびに移植肝及び患者の予後に及ぼす影響を解析する。その結果に基づいて、提供者の安全性を維持しながら移植治療成績をより向上させる治療様式を明らかにする。

（倫理面への配慮）生体肝移植においては、臓器提供者が自発的な意志をもつ家族に限られるという選択範囲を考慮し、提供者の安全に留意しながら最大重量の移植肝の使用を行い、あくまでもその時点の知見において最大の治療効果を上げることを目的としたintend-to-treat臨床研究である。

C. 研究結果

待機的に移植手術を受けた症例でも、体重の1.0%未満の低重量肝を移植された場合には、移植後逸脱酵素に表れる肝細胞傷害が有意に強く、ビリルビン代謝能も低下した。これらの移植肝を受けた症例では、同時に腹腔内出血や消化管穿孔などの外科的合併症の頻度も有意に高くなり、結果として、体重比1.0-3.0%の移植肝を受けた症例(93%)と比べて移植後1年累積生着率が有意に低下していた（体重比0.8%未満で58%、0.8-1.0%で76%）。一方、過重量移植肝を受けた症例でも生着率の低下する傾向がみられた（3.0-5.0%で83%、5.0%以上で75%）が、有意差には至らなかった。一方、移植前に集中治療管理を要するような重症症例では、体重の1.0%以下の低重量移植肝の影響がより強く現れた。

これらの結果を基に、相対的に自己肝機能の残存している症例を中心に、低重量移植肝の再生までの‘橋渡し’を目的とした自己肝温存（補助的）同所性生体肝移植を行った。この術式は、初期の減黄能・蛋白合成

能の改善、外科的合併症の減少、感染免疫能の改善などの効果をもたらし、生着率の上昇につながった。しかし、移植前残存肝機能の乏しい進行肝不全症例では生着率の改善が認められず、また再発を懸念される疾患ではその適応が制限された。そこで、それまでの主流であった提供者の左側肝を用いる術式に加えて右葉を用いる術式を開発し、提供者の安全を維持しながらより大きな重量の移植肝を得ることが可能になった。

D. 考察

当該研究期間の症例は依然小児症例が多く、成人例に限った解析がまだ不十分である。また、成人例のなかでも、患者年齢と提供者年齢の影響についても今後の詳細な解析が待たれる。特に、移植肝の必要重量という観点から見た場合、これまでの末期肝疾患の重症度分類とは異なる、代謝的負荷から見た重症度分類（これには移植肝において大きな負荷となる感染性合併症なども含まれる）が必要となり、これは今後本邦において限られた移植の機会の中で最大の治療効果を上げるために、さらに移植適応時期の決定のために是非必要なものである。同時に、肝脂肪浸潤などの健常者に潜在する異常の検知とその影響の解析も将来の課題である。

E. 結論

一般に、患者体重の1.0%に満たない低重量移植肝では、肝細胞の傷害が強く、蛋白合成能・代謝能の回復が遅延して移植後の生着率は不良となる。しかし、患者の病態によってはさらに大きな移植肝重量が必要となり、一方で必要重量の小さい病態も存在する。これらを移植肝重量のみならずその質と潜在傷害、患者側の年齢・病態との関係から詳細に明らかにし、提供者の安全を最大限に維持しながらより安全性の高い生体肝移植システムを作ることが今後の課題である。

発表論文

- ・田中紘一 他、マイクロメリズムと臓器移植、免疫Immunology Frontier, 10 (2), 35-39, 2000
- ・清水 健 他、肝全摘・生体肝移植によって長期寛解を維持している肝芽腫再発例、日本小児外科学会雑誌、104 (4), 463-466, 2000
- ・田中紘一 他、生体部分肝移植の周術期Critical

- Care, 集中治療, 12 (8), 873-880, 2000
- 丸澤宏之 他、B型肝炎ウイルス感染と肝移植、肝胆膵、41 (1), 45-50, 2000
 - 荻野英朗 他、非A非B非C型劇症肝炎(亜急性型)にして生体肝移植を施行した後に再生不良性貧血を発症した1例、第21回犬山シンポジウム、102-103, 2000
 - 田中紘一、小児肝臓ならびに小腸移植、日本医師会雑誌、124 (5), 686-687, 2000
 - 尾池文隆 他、生体肝移植患者、感染と抗菌薬、Infection and Antimicrobials, 3 (3), 265-268, 2000
 - 笠原群生 他、移植医療の現状と将来、ブレインナーシング、16 (4), 16-22, 2000
 - 小林謙之 他、成人に対する生体肝移植、右葉グラフトを中心に、手術、54 (9), 1183-1191, 2000
 - 伊藤 亨 他、肝の術中超音波検査、外科治療、83 (5), 559-564, 2000
 - 田中紘一、消化器now Q&A、消化器now、NO11, 6, 2000
 - 江川裕人 他、ABO血液型不適合生体肝移植における免疫抑制療法、日本臨床免疫学会会誌、23, 635, 2000
 - 田中紘一、わが国における肝移植の現状と展望、日本消化器病学会雑誌、98 (1), 8-14, 2001
 - 中村太郎 他、肝移植、オペナーシング、16 (1), 52-60, 2001
 - 阪本靖介 他、小腸移植、総合臨床、50 (1), 80-86, 2001
 - Koichi Tanaka 他、Current status of living donor liver transplantation in adults, Current Opinion in Organ Transplantation, 5 (2), 74-79, 2000
 - Satoshi Kaihara 他、Long-term follow-up of tissue-engineered intestine after anastomosis to native small bowel, Transplantation, 69 (9), 1927-1932, 2000
 - S Uemoto 他、Living donor liver transplantation, for fulminant hepatic failure, Transplantation, 70 (1), 152-157, 2000
 - T Yosikawa 他、Human Herpesvirus 6 Infection After Living Related Liver Transplantation, Journal of Medical Virology, 62, 52-59, 2000
 - Y.Fujimoto 他、Small bowel transplantation using grafts from living -related donors. Two case reports, Transplant International, 13, suppl 1, s179-s184, 2000
 - Y.Fujimoto 他、Living-Related Small Bowel Transplantation: Two Case Reports, Transplantation Proceedings, 32, 1238, 2000
 - Tohru Yoriuji 他、Living-related liver transplantation for neonatal-onset propionic acidemia, The Journal of Pediatrics, 137, 572-574, 2000
 - Shiro Fujita 他、Hepatic grafts from live donors: donor morbidity for 470 cases of live donation, Transplant International, 13, 333-339, 2000
 - Mayumi Koga 他、CD8+T-Lymphocyte infiltration and apoptosis in furminant epstein-barr virus hepatitis in a previously healthy girl, Pediatric pathology and molecular medicine, 19, 449-454, 2000
 - Satohiro Masuda 他、Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient, CLINICAL PHARMACOLOGY& THERAPEUTICS, 68 (1), 99-103, 2000
 - Koichi Tanaka 他、Living and cadaveric split-liver donation: methods of overcoming a shortage in liver transplantation, Curr opin Organ Transplant, 6, 59-63, 2001
 - M.Yasutomi 他、Liver failure following living donor liver transplantation for fulminant hepatic failure, Transplantation proceedings, 32, 2133, 2000
 - Tetsuya Kiuchi 他、Living donor adult liver transplantation: Status quo in kyoto and perspectives in the New millennium, Acta chir belg, 100, 279-283, 2000
 - Mureo Kasahara 他、Living-related liver transplantation for type citrullinemia using a greate from heterozygote donor, Brief Communications, 71 (1), 157-159, 2001
 - Y Inomata 他、Domino Split -Liver Transplantation from a living donor: case reports of in situ and EX situ splitting, Liver Transplantation, 7 (2), 150-153, 2001
 - Masarru Ihira 他、Correlation between human heroesvirus 6 and 7 infections after living related liver transplantation, Microbiol Immunool, 45 (3), 225-232, 2001
 - T Yoshikawa 他、Comparison of specific Serological assays for deagnosing human herpesvirus 6 infection after liver transplantation, Clinical and diagnostic laboratory, 8 (1), 170-173, 2001
- 国内学会
- 田中紘一、肝臓移植および小腸移植、第97回日本内科学会講演会、京都、4/7, 2000
 - 井口雅文、生体部分肝移植後に難治性大量腹水をきたした1例、第100回日本外科学会総会、東京、4/12, 2000
 - 渡辺隆興、再発多発肝細胞癌に対する生体部分肝移植術後 sandwich adjuvant chemotherapy の経験、第100回日本外科学会総会、4/12, 2000

- ・唐仁原全、生体肝移植における周術期予後予測因子の検討、第100回日本外科学会総会、東京、4/12, 2000
- ・林道 廣、下大静脈狭窄およびTIPSの閉塞を伴ったBudd Chiari症候群への生体部分肝移植、第100回日本外科学会総会、東京、4/14, 2000
- ・藤田士朗、生体ドミノ分割肝移植の経験、第100回日本外科学会総会、東京、4/14, 2000
- ・田中紘一、肝右葉を用いた生体肝移植手術、第100回日本外科学会総会、東京、4/14, 2000
- ・上本伸二、生体肝移植と脳死肝移植の現状と将来の展望、第100回日本外科学会総会、東京、4/14, 2000
- ・高槻光寿、生体肝移植後、免疫抑制剤離脱症例における免疫機構の解析、第100回日本外科学会総会、東京、4/14, 2000
- ・田中紘一、小腸移植の現状、第86回日本消化器病学会総会、新潟市、4/22, 2000
- ・関戸 仁、急性肝不全に対する肝移植の適応と問題点、第12回日本肝胆膵外科学会、名古屋、5/18, 2000
- ・上本伸二、劇症肝不全に対する生体肝移植治療成績、第12回日本肝胆膵外科学会、名古屋、5/18, 2000
- ・佐藤好信、新潟大学における生体肝移植ドナー周術期管理、第12回日本肝胆膵外科学会、名古屋、5/18, 2000
- ・田中紘一、生体肝移植の周術期管理、第48回日本輸血学会総会、神戸、5/25, 2000
- ・尾池文隆、劇症肝不全に対する肝移植の死亡症例の検討、第26回日本急性肝不全研究会、福岡、6/7, 2000
- ・石河隆敏、生体肝移植における胆管胆管吻合術式の検討、第55回日本消化器外科学会総会、宮崎、7/21, 2000
- ・田中紘一、生体肝移植-肝右葉を用いる生体肝移植術の工夫-、第55回日本消化器外科学会総会、宮崎、7/21, 2000
- ・木内哲也、肝移植における拒絶反応 (HGV) とその対策、第42回日本小児血液学会、大阪、9/22, 2000
- ・洲之上昌平、腎不全合併症例に対する肝腎移植、第36回日本移植学会、岐阜、10/12, 2000
- ・上田幹子、肝細胞癌に対する生体肝移植のパイロットスタディーより、第36回日本移植学会、岐阜、10/12, 2000
- ・上本伸二、生体肝移植における免疫抑制剤離脱の試みと症例の検討、第36回日本移植学会、岐阜、10/12, 2000
- ・丸井祐二、VODに対するLRLTの経験、第36回日本移植学会、岐阜、10/12, 2000
- ・林 道廣、生体肝移植におけるmarginal donorの検討、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・貝原 聡、小腸移植における高解像度ズーム内視鏡を用いた拒絶反応のモニタリング、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・安富元彦、右葉ドネーション：ペンローズドレーンをガイドとして用いた肝切離、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・木内哲也、生体肝移植術における胆管-胆管吻合術式の導入、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・金 一徳、生体ドミノ分割肝移植の経験、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・浦上秀次郎、術中テレカンファレンスによる2病院間連携ドミノ肝移植、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・中村太郎、右葉グラフトを用いた生体部分肝移植における脈管形態に関する検討、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・江下恒統、ブタ全小腸同所性移植モデルにおけるタクロリムス含有マイクロスフェアの効果、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・濱名俊泰、成人生体肝移植後GVHDの経験、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・金廣裕道、生体肝移植症例における拒絶反応出現について、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・岡島英明、生体肝移植ドナーの長期経過における問題点及びmarginal donorに対する術前評価と術前管理の新しい試み、第36回日本移植学会、岐阜、10/13, 2000
- ・田中紘一、臓器移植の周術期および長期における諸問題、第27回日本小児栄養、消化器病学会、所沢、10/21, 2000
- ・上田幹子、肝細胞癌に対する生体肝移植の経験、DDW-JAPAN 神戸、神戸 (第4回日本肝臓学会大会)、10/26, 2000
- ・田中紘一、わが国における肝移植の現状と展開、DDW-JAPAN 神戸 (日本消化器病学会)、神戸、10/26, 2000
- ・上本伸二、生体肝移植と脳死肝移植の現状と将来の展望、第28回日本集中治療医学総会、東京、3/9, 2001
- ・田中紘一、Impact of small-for-size graft on graft surgical and postoperative complication in adult living donor liver transplantation、The 9th Keio University International Symposium for Life Science and Medicine、東京、3/24, 2001

国際学会

- ・K Tanaka, Hepatology in the 21st Century:Diagnosis and Therapy, IASL,APASL,JSH Postgraduate Course Title: Donor problems, International Association for the study of the liver, 福岡、日本、6/7, 2000
- ・Y Inomata 他、An analysis of living donor

liver

transplantation for biliary atresia at a single center, World congress of pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition, Boston, USA, 8/5~9, 2000

- K Tanaka, The rationale for adult -to-adult living donor transplantation, XVIII International Congress of the Transplantation Society, Rome, Italy, 8/27-9, 2000
- M Ueda 他, Ten-year experience of Living Related Liver Transplantation for Children in A Single Center, FIRST IPTA MEETING ON PEDIATRIC TRANSPLANTATION, VENICE, ITALY, 8/23-25, 2000
- H Egawa, Surgical innovation 70 living donor liver transplantation utilizing the right lobe, American society of transplantation (AST), Chicago, USA, 5/13~5/17, 2000
- S Uemoto, Analysis of donors for living donor liver transplantation using right lobe, American of society of transplantation, Chicago, USA, 5/13-17, 2000
- Ueda.M 他, Long-term complication in living donor liver transplantation for children, XVII CONGRESS OF ASIAN ASSOCIATION OF PEDIATRIC SURGEONS, 福岡、日本、11/8, 2000
- Uemoto.S 他, Living related small bowel transplantation for children, XVII CONGRESS OF ASIAN ASSOCIATION OF PEDIATRIC SURGEONS, 福岡、日本、11/9, 2000
- K Tanaka, Technical refinements in living related transplantation, 5th Postgraduate Course on Hepatobiliary Surgery, Padua, Italy, 12/1, 2000

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

分子生物学的手法を用いた難治性の肝疾患に対する新治療戦略 （劇症B型肝炎に対する新たな薬剤の開発）

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 教授

研究要旨：本研究では、難治性の肝疾患である劇症肝炎の新たな治療法の開発を目指して、基礎的検討を行った。本検討において、我々が開発したB型肝炎ウイルスDNAの*in vitro*複製系を用いることにより、B型劇症肝炎に対する新たな薬剤、抗ウイルス薬を7種（ラミブジン、adefovir、entecavir、L-FMAU、L-D4FC、(+)-FTC、(-)-FTC）同定した。これら7種の抗ウイルス薬のうち、entecavir、L-D4FC、L-FMAU、(-)-FTCはラミブジンより強い抗ウイルス活性を有し、また、entecavir、adefovirは報告されているすべてのラミブジン耐性B型肝炎ウイルスに対して有効であった。今後、劇症肝炎や治療抵抗性B型肝炎ウイルス感染の個々の患者に応じて適した抗ウイルス薬の選択が可能となることが期待される。

A. 研究目的

分子生物学手法の広がりとともに、臨床への利用法が広がってきている。本研究では、難治性肝疾患である劇症肝炎の新たな治療法の開発を目指して、分子生物学的手法を用いた基礎的検討を行った。

劇症肝炎の中でも明らかにB型肝炎ウイルスが関与するものはその約4割を占め、劇症肝炎の主たる原因の一つである。特にB型肝炎ウイルスキャリアからの劇症肝炎は、亜急性型の経過をたどることが多く、非常に予後が悪いため、早急にその治療法の開発が望まれる。最近、B型肝炎ウイルスによる劇症肝炎の治療に逆転写酵素阻害剤であるラミブジンが用いられ、その有用性が示されつつあり、新たな治療法として期待されているが、薬剤に対する耐性ウイルスの出現も問題となってきている。本研究では、我々が開発した*in vitro*複製系を用いることにより、B型劇症肝炎に対する新たな治療薬の開発を目指した。

B. 研究方法

HBe抗原陽性患者血清よりB型肝炎ウイルス遺伝子（HBV DNA）全長を増幅、cloningし、肝細胞株に対してこの全長HBV DNAをtransfectionすることによる*in vitro*複製系を確立した。この*in vitro*複製系を用いてB型肝炎ウイルスの複製能力、またラミブジンなど抗ウイルス薬に対する薬剤感受性が検討可能となった。ラミブジン投与がB型肝炎ウイルスによる劇症肝炎に有用であると期待されているが、耐性ウイルスの出現が報告されており、*in vitro*複製系を用いて、ウイルス変異と薬剤耐性に対する検討を行う。すなわち、ラミブジン耐性HBVを人工的に作成し、その複製能力、またラミブジン感受性について検討する。加えて、ラミブジン耐性HBVに対する抗ウイルス療法を*in vitro*複製系を用いて検討、確立する。

C. 研究結果

PCRにて血液中HBV遺伝子3.2kb全長を増幅し、野

生株HBV DNAをクローニング、肝癌細胞株Huh-7細胞にこの全長HBVを導入することによりHBV DNAの複製、増殖する*in vitro*複製系を確立した。PCR site-directed mutagenesisを用いて、今までに報告のある薬剤耐性変異株、L528M変異株、M552V変異株、M552I変異株、L528M/M552V変異株、L528M/M552I変異株を作成し、その複製につき検討した。L528M変異株はほぼ野生株同等の複製能を示したが、M552V変異株、M552I変異株は、その複製能が野生株の10-15%程度と著しく減弱していた。しかしながら、L528M変異がM552V変異株、M552I変異株に加わることにより、複製能は野生株の55-70%と著しく回復していた。また、この系を用いてHBVに対する抗ウイルス薬の薬剤感受性の検討を行った。抗ウイルス薬としては、逆転写酵素阻害剤12種〔ラミブジン、adefovir、entecavir、L-FMAU、L-D4FC、D-D4FC、(-)-FTC、(+)-FTC、(+)-FTC、(-)-carbo-vir、(+)-BCH-189、D-DAPD〕を用いて検討した。野生株に対してはラミブジン、adefovir、entecavir、L-FMAU、L-D4FC、(-)-FTC、(+)-FTCの7種が有効であり、しかもentecavir、L-FMAU、L-D4FC、(-)-FTCはラミブジンよりも強い抗ウイルス活性を示し、将来的にB型劇症肝炎に対する第一選択薬となる可能性がある。また、adefovir、entecavirは、5種のラミブジン耐性株のすべてに対して有効であった。L528M変異が加わることにより、M552V変異体、M552I変異体は、より薬剤に耐性となり、L528M変異はM552V変異株、M552I変異株の複製能を増強するばかりでなく、薬剤耐性をも増強することが明らかとなった。

D. 考察

今回開発したHBV DNAの*in vitro*複製系を用いることにより、L528M変異とウイルス複製、薬剤耐性との関わりが明らかとなった。今後出現する可能性のある新たなウイルス変異も、この*in vitro*複製系を用いることにより、その意義を明らかにしうると期待さ

れる。また、B型肝炎ウイルスに対し有効な薬剤7種を同定し、しかもうち4種はラミブジンより強力な抗ウイルス活性を有した。今後、臨床的に用いた場合の毒性の検定などが必要であるが、将来的にB型劇症肝炎の治療薬として用いる可能性があると期待される。また報告されているすべてのラミブジン耐性B型肝炎ウイルスに対し有効な薬剤2種を同定し、今後、ラミブジン治療抵抗性B型肝炎に用いる可能性がある。これら検討により、B型肝炎ウイルス感染の個々の患者に応じて適した抗ウイルス薬の選択が可能となることが期待される。

E. 結論

HBV DNAの*in vitro*複製系を開発し、B型劇症肝炎の新たな治療薬となりうる薬剤を同定した。将来的には、個々の患者に応じて適した抗ウイルス薬の選択が可能となる。

F. 研究発表

学会発表

- 1) 51st Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases
2000/10/28-31 Dallas, TX, USA
Ono-Nita SK, Kato N, Shiratori Y, Yoshida H, Kato J, Goto T, Schinazi RF, Carrilho FJ, Omata M
Influence of B domain mutation (L528M) of the hepatitis B virus polymerase on replication ability and resistance to nucleoside analogues.
- 2) 第86回日本消化器病学会総会
2000/4/20-22, 新潟
シンポジウム 慢性肝炎の新しい治療戦略
Ono-Nita Suzane K, 加藤直也
B型肝炎ウイルスに対する新たな逆転写酵素阻害剤15種のスクリーニング

論文発表

- 1) Ono S, Kato N, Shiratori Y, Kato J, Goto T, Schinazi RF, Carrilho FJ, Omata M. The polymerase L528M mutation cooperates with nucleotide binding-site mutations, increasing hepatitis B virus replication and drug resistance. *J Clin Invest* 2001 (in press).
- 2) Suzane Kioko Ono-Nita, 加藤直也, 白鳥康史, 小俣政男 Lamivudine耐性対策 肝胆膵 2000; 41 (1): 125-129
- 3) 吉田英雄, 加藤直也, Ono-Nita SK, 白鳥康史, 小俣政男 肝移植における合併ウイルス感染対策 -HBV- 肝胆膵 2000; 41: 883-889
- 4) Suzane Kioko Ono-Nita, 加藤直也, 小俣政男 B型肝炎ウイルスに対する新たな抗ウイルス剤の簡便スクリーニング法 第21回犬山シンポジウム 中外医学社 2000; 166-169

G. 知的所有権の取得状況
特になし

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

バイオ人工肝の開発：HNF-4遺伝子導入を応用したスーパー肝細胞の確立

研究協力者 森脇 久隆 岐阜大学医学部第一内科 教授

共同研究者 内木隆文¹⁾、永木正仁¹⁾、小島久典²⁾
¹⁾岐阜大学医学部第一内科
²⁾岐阜国際バイオ研究所

A. 研究目的

バイオ人工肝の開発には長期間、高度の肝細胞特異機能を発現するバイオリアクターの開発が重要である。我々は細胞外マトリックスによる肝細胞分化機能発現作用に注目し種々の細胞外マトリックスを検討した結果、基底膜類似成分で構成されるEHS (Engelbreth-Holm-Swarm) ゲルが最も長期間、肝細胞特異的遺伝子の発現を維持し、さらにその作用は肝特異的転写制御因子であるhepatocyte nuclear factor (HNF)-4並びに-1を介して制御されることを報告してきた。今回、肝細胞特異的転写制御因子であるHNF-4に着目し、非増殖型アデノウイルスベクターを用い、肝細胞に遺伝子導入することにより、高度の肝細胞特異機能を発現するスーパー肝細胞を確立し、バイオ人工肝への応用を目指している。

B. 研究方法

ラットHNF4 cDNAをCOS-TPC法を用い、アデノウイルスに組み込みCAG (cytomegarovirus enhancer+chicken β -actin promotor+rabbit β -globin poly A) プロモーターを導入した非増殖型アデノウイルスベクター(AdCAGHNF4)を作製し、肝腫瘍由来のHepG2、HuH7細胞と肝細胞以外のCOS7、Hela細胞に感染させ、HNF-4を遺伝子導入、強制発現させる系を確立した。HNF-4の発現はノーザンブロット、ウエスタンブロット法にて遺伝子および蛋白レベルで確認した。以上の実験系を用い、 α 1-anti-trypsin、apolipoprotein A1、apolipoprotein C3、glutamine synthetase mRNAの肝細胞特異的遺伝子の発現を検討し、さらにglutamine synthetase機能の効果に関してはアンモニア代謝能を培養液中のアンモニア負荷により測定した。

C. 研究結果

LacZ遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクター(AdCAGLacZ)をウイルスコントロールとし10 m.o.i. (multiplicity of infection) にてほぼすべての細胞に感染、発現させることを確認した。HNF-4遺伝子を導入したHepG2およびHuH7細胞ではHNF-4 mRNAの発現の増加がみられ、ウイルス量依存的にHNF4蛋白の発現の増加が認められた。HNF-4の発

現の増加とともに肝細胞特異的遺伝子である α 1-anti-trypsin、apolipoprotein A1、apolipoprotein C3、glutamine synthetase mRNAの発現の増加が認められた。HNF-4のdeletion mutantを組み込んだアデノウイルスベクターではこれら下流の遺伝子の発現の増加は認められなかった。COS7、Hela細胞など非肝細胞株においては導入されたHNF-4の発現は認められるものの、上記いずれの肝細胞特異的遺伝子の発現は認められなかった。誘導されたglutamine synthetaseにより、培養液中のアンモニアの処理能力の向上が認められた。(図1)

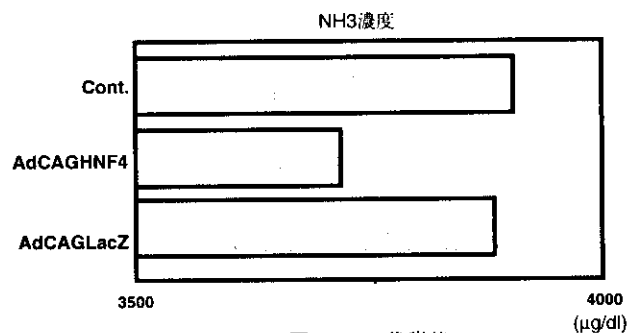


図1 NH3代謝能

D. 考察

HNF-4は1990年に同定されたsteroids receptor familyに属する肝臓に特異的な転写因子として、精力的に研究がなされている。現時点ではそのリガンドを初めとした制御機構は未だ明らかにされていないが、ステロイド、レチノイド、脂質を初めとした各種刺激により活性化され、他の肝特異的な転写因子であるHNF-1、HNF-3等とともに複雑なネットワークを形成し、主に代謝を中心とした各種肝細胞特異的遺伝子を制御していると考えられている。そこで、我々は肝特異的転写因子のなかでは比較的上流に位置すると考えられるHNF-4を遺伝子導入することにより、他の肝細胞特異的転写因子を誘導し、二次的、三次的に肝細胞特異的遺伝子を誘導させることにより、単独の遺伝子導入だけでは得られない複雑かつ多様な肝特異的機能を制御し得るのではないかと考えた。事実、HNF-4遺伝子導入の結果、肝癌由来細胞株においてはglutamine synthetaseを初めとした各種肝特異的遺伝子の誘導が認められた。またHNF-4を遺伝子導入された細胞においては、アンモニアの代謝能の向上が認められ、HNF-4遺伝子を導入することにより多くの肝特異的遺伝子を発現させたスーパー肝細胞の確立への有用性が示唆された。

E. 結論

以上の結果より、HNF-4を導入することにより、肝細胞の肝特異的機能が亢進することが認められ、人工肝における有用性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nagaki M, Sugiyama A, Naiki T, Ohsawa Y, Moriwaki H. Control of cyclin-dependent kinase inhibitors, p21 and p27, and cell cycle progression in rat hepatocytes by extracellular matrix.
J Hepatol 2000, 32: 488,496

Nagaki M, Miki Y, Kim Y,I, Ishiyama H, Hirahata I, Takahashi H, Sugiyama A, Muto Y, Moriwaki H. Development and characterization of a hybrid bioartificial liver using primary hepatocytes entrapped in a basement membrane matrix.
Digest Dis Sci (in press)

Nagaki M, Iwai T, Naiki T, Ohnishi H, Muto Y, Moriwaki H. High levels of serum interleukin,10 and tumor necrosis factor α are associated with fatality in fulminant hepatitis.
J Infect Dis 2000; 182: 1103,1108

Nagaki M, Naiki T, Brenner DA, Osawa Y, Imose M, Hayashi H, Banno Y, Nakashima S, Moriwaki H. Tumor necrosis factor α prevents tumor necrosis factor receptor-mediated mouse hepatocyte apoptosis but not Fas-mediated apoptosis: role of NF- κ B.
Hepatology 2000, 32: 1272-1279

永木正仁、内木隆文、杉山昭彦、大西弘生、武藤泰敏、森脇久隆、金良一、三木敬三郎、石山春生、平原一郎、高橋啓明：転写制御因子 hepatocyte nuclear factor 活性化を応用したバイオ人工肝の開発：肝臓 2000; 41 232-234

2. 学会発表

第36回日本肝臓学会総会
2000年6月8日
シンポジウム「肝細胞の分化・増殖とその制御作用」
細胞外マトリックスによる肝細胞分化、増殖制御作用
永木正仁、杉山昭彦、森脇久隆

DDW-Japan 2000. 第4回日本肝臓学会大会
2000年10月22日
シンポジウム「難治性肝疾患への免疫学の挑戦」
劇症肝炎の予後とサイトカインネットワーク
永木正仁、岩井浩子、森脇久隆

第38回日本人工臓器学会総会
2000年9月29日
組み換えアデノウイルスベクターを用いた hepatocyte nuclear factor (HNF)-4遺伝子導入によるスーパー肝細胞の開発
内木隆文、永木正仁、森脇久隆

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

ラジアルフロー型バイオリアクターを用いたバイオ人工肝の開発

主任研究者 戸田剛太郎 東京慈恵会医科大学 消化器肝臓内科 主任教授

研究要旨：重症肝障害患者の治療のためには、人工肝補助療法の発達が必要不可欠である。この中でバイオ人工肝の開発は、肝移植までの患者生命と脳機能維持のため急務である。また、バイオ人工肝臓の応用範囲は広く、創薬や再生医療の分野への寄与も期待されている。分担研究者らは、独自に開発したヒト肝癌細胞株と本邦独自の技術であるラジアルフロー型バイオリアクターを用いて、バイオ人工肝の開発を試みている。研究は、リアクターで培養した細胞機能の解析と機能変化の機序解析から、体外循環システムの開発までおよんでいる。さらに多岐分野の研究者の参加による横断的研究により、欧米のバイオ人工肝の機能を凌駕する人工肝臓を開発する必要がある。

共同研究者

永森 静志

杏林大学医学部薬理学 教授

松浦 知和

東京慈恵会医科大学 臨床検査医学

A. 研究目的

国内での生体肝移植が1000症例を越え、さらに脳死肝移植が10症例に施行された現在、移植対象となる肝不全患者の移植までの管理をどのように行うかが問題となっている。バイオ人工肝は、特に欧米においては肝移植までのブリッジングとして有望な治療法と考えられ、臨床応用が行われている。血液浄化療法が発達し、すでに保健医療での適応が認められている本邦では、バイオ人工肝の開発があえて必要であるかは一定した見解は得られていない。分担研究者らは、独自に樹立した高機能ヒト肝癌細胞株と、日本で開発された充填型バイオリアクターであるラジアルフロー型バイオリアクターを用いてバイオ人工肝の開発を行っている。これらの新技術により、欧米のバイオ人工肝の機能を凌駕し、ブリッジングユースに留まらず、バイオ人工肝の応用拡大をめざすことが本研究の目的である。

B. 研究方法

1) バイオ人工肝の開発過程

バイオ人工肝の開発には、(1)細胞を高密度に培養するための小型バイオリアクターの開発、(2)肝機能を発現した肝細胞株の開発、(3)細胞接着担体やマトリックスの開発、(4)これらの新技術を用いた肝臓組織・臓器の再構築、(5)臨床応用のための体外循環システム開発が必要である。

2) ラジアルフロー型バイオリアクター

ラジアルフロー型バイオリアクターは、細胞を高密度大量培養し、微量活性物質を生産するためにキリンビール基盤技術研究所で開発された担体充填型リアクターである。細胞は充填された径0.6mmの多孔質担

体に高密度に培養されるが、高密度培養による酸素・栄養素の偏向は、培養液を円筒形のリアクターの外側から内側に還流し、内側ほど流速が速くなる事で補正している。

3) 充填担体多孔質ビーズ

細胞を固着・培養するための多孔質ビーズには、ガラスビーズ、セルロースビーズなどがあるが、現在生体適合性のよいハイドロキシアパタイトビーズの開発を行っている。

4) バイオリアクターシステム

リアクターを中心とした培養システムは、バイオリアクター、リザーバーから構成され、リザーバー内で酸素濃度・pHを調整した培養液がポンプによりリアクターに環流する。こうした調整は、コンピューター制御を受けたコントローラーによって自動的に行われる。

5) 株化培養ヒト肝癌細胞

慈恵医大で1980年代に樹立した6株のヒト肝細胞癌株のうち、肝細胞機能を比較的維持している3株の細胞をバイオ人工肝構成細胞として利用し、FLC-4、FLC-5、FLC-7と命名した。これらの細胞は、アルブミン、レチノール結合蛋白などの血漿蛋白質やTPO、EPO、HBEGF、b-FGF、VEGFなどの増殖因子を産生している。また、CYPヒト分子種の発現も認め、薬物代謝能を保持している。HNF-4をはじめとする肝臓特異的転写因子も発現している。

C. 研究結果

1) バイオリアクターで培養した細胞の機能

(1) アンモニア代謝：培養液にアンモニアを不可するとタイムラグはあるが、尿素窒素が上昇し、アンモニア濃度が低下する。尿素回路がアンモニア負荷で回っていることが示唆される。(2) CYP3A：FLC-5細胞ではリアクターで培養した細胞のほうが、CYP3A蛋白量が単層培養細胞より高かった。(3) アルブミンとAFP：FLC細胞をリアクターで培養すると、単層培養に比較して、アルブミン産生は増加しAFPは

低下した。

以上の結果、高密度還流培養下では、ヒト肝癌細胞の機能が正常肝細胞に近似する傾向が示唆された。

2) FLC細胞と不死化類洞内皮細胞、伊東細胞の共培養

肝臓組織の再構築を試みる為、FLC-5細胞と不死化内皮細胞・伊東細胞をバイオリアクターで共培養した。担体に固着したFLC細胞に重層し、培養液が流れる側に伊東細胞と内皮細胞が立体的に3次元培養された。FLC細胞には毛細胆管様構造も認め、tight junction, gap-junctionの発達および胆汁と思われる電子密度の高い物質を観察した。細胞の分化度が共培養によってより進んでいる可能性があった。内皮細胞にも共培養によって、in vivoに類似したsmall poreの再出現を認めた。

3) プタを用いた体外循環システムの開発

バイオ人工肝を肝不全患者に適用するためには体外循環システムの構築と、その安全性の検討、肝不全動物を用いた臨床的検討が必要である。このために、動物から取った血流から血漿分離装置を用いて血漿を分離し、その血漿をバイオ人工肝に還流し、再び動物に戻す系を構築している。細胞への酸素の供給、リアクターの温度管理など、システムの改良が必要である。

D. 考察および結論

バイオ人工肝の応用範囲は、臨床的な応用に止まらず、ウイルス感染研究における抗ウイルス剤の開発、薬物代謝研究や血漿蛋白産生研究を通じた創薬への応用、さらに肝臓にとどまらない再生医学への応用など、広範囲におよぶ。このため、バイオ人工肝の開発は大学医学部の一科で成し遂げられるものではなく、内科・外科・基礎医学分野など多数の科にまたがる横断的な研究参加が必要である。さらには、工学部系の研究者、産業界、官界のサポートも必要である。こうした協力体制ができれば、はじめて欧米のバイオ人工肝を凌駕し、肝不全をはじめとする臨床応用が可能な人工肝臓が開発できると考えられる。

E. 文献

1. 蓮村 哲, 松浦知和, 相崎英樹, 川田雅昭, 清水英佑, 水谷 悟, ほか: ヒト由来肝癌細胞を用いたラジアルフロー型バイオリアクターによるアルブミン大量産生. 人工血液; 5:33-37,1997.
2. M.Kawada, S.Nagamori, H.Aizaki, K.Fukaya, M.Niiy, T.Matsuura, et al.: Massive Culture of Human Liver Cancer Cells in a Newly Developed Radial Flow Bioreactor System: Ultrafine Structure of Functionally Enhanced Hepatocarcinoma Cell Lines. In Vitro Cell. Dev. Biol. 34:109-115,1998.
3. Matsuura T., Kawada M., Hasumura S., Nagamori S., Obata T., Yamaguchi M., et al. High density culture of immortalized liver endothelial cells in the radial-flow bioreactor

in the development of an artificial liver. Int. J. Artif. Organs 1998; 21: 229-234

4. 川田雅昭, 永森静志, 相崎英樹, 松浦知和, 蓮村 哲, 清水英佑: 人工肝補助装置を用いた肝解毒機能の検討. 肝臓 39: 507-508,1998.
5. 政木隆博, 松浦知和, 蓮村 哲, 永森静志, 川田雅昭: 不死化肝臓内皮細胞と伊東細胞の3次元培養とその微細形態. 日本臨床電子顕微鏡学会誌 31: 122,1998.
6. Murakami K, Sakukawa R, Ikeda T, Matsuura T, Hasumura S, Nagamori S, et al. Invasiveness of hepatocellular carcinoma cell lines: contribution of membrane-type 1 matrix metalloproteinase. Neoplasia 1999; 1(5):424-430.
7. 永森静志, 川田雅昭, 松浦知和, 蓮村 哲: 人工臓器(人工肝臓)(渡辺明治編, 臨床アルブミン学, iv 治療, 検査への応用), メディカルレビュー社, :265-272,1999.
8. 細川正清, 篠原洋子, 塚田英子, 田中陽子, 川田雅昭, 松浦知和, ほか: 薬物代謝研究におけるヒト肝由来細胞の有用性. 組織培養研究 18:245-252,1999.
9. 村上孝司, 山田雄次, 済木育夫, 松浦知和, 蓮村 哲, 永森静志: 株化肝細胞の遺伝子発現. 組織培養研究 18:221-228,1999.
10. Murakami K, Matsuura T, Hasumura S, Nagamori S, Yamada Y, Saiki I. Involvement of insulin-like growth factor binding protein-3 in the retinoic acid receptor-alpha-mediated inhibition of hepatocellular carcinoma cell proliferation. Cancer Lett. 2000; 151(1): 63-70.
11. Nagamori S, Hasumura S, Matsuura T, Aizaki H, Kawada M. Developments in bioartificial liver research: concepts, performance, and applications. J Gastroenterol. 2000; 35(7): 493-503.

III-5. 試 験 研 究

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

「難治性の肝疾患に関する研究班」

平成12年度個別研究報告書

自己免疫性肝炎に対するUDCA治療の臨床試験 初期療法

主任研究員 戸田 剛太郎 東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科 主任教授

研究要旨：自己免疫性肝炎の初期療法にたいし、ウルソデオキシコール酸（UDCA）が有効か否かを明らかにするため、短期投与試験（ランダム化対照試験）と長期投与試験（非比較試験）の2相試験を計画した。未治療の自己免疫性肝炎（国際自己免疫性肝炎グループの診断基準にもとづき、確診および疑診例）を対象とし、短期投与試験はUDCA 600mg/日あるいは偽薬を8週間投与し、投与開始後8週の時点での血清AST値が正常であることを一次エンドポイントとして評価する。長期投与試験は短期投与試験をプロトコール通りに終了した例にUDCA 600mg/日を投与し48週後の血清AST値が正常を一次エンドポイントとして評価する。

分担研究者

柴田 実¹⁾、森實敏夫²⁾、錢谷幹男³⁾、縣 俊彦⁴⁾
1) 昭和大学医学部第二内科、2) 神奈川歯科大学
内科、3) 東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科、
4) 東京慈恵会医科大学公衆衛生学

A. 研究目的

自己免疫性肝炎は原因不明の慢性肝疾患であり、わが国におおよそ7,000人の患者が存在する。治療の目標は肝炎を鎮静化させ、肝硬変および肝不全への進展を阻止し、予後を改善することである。治療薬剤にはプレドニゾロンなどの免疫抑制薬が用いられており、80%の患者で血清ALT値が正常化する^{1,2)}。通常はプレドニゾロン30mg/日で治療を開始し、効果が認められたら漸減し1～2ヶ月後より10mg/日の維持療法とする。しかし、プレドニゾロンの漸減を行うと50～86%の患者で肝炎の再燃が認められ、多くの例が終生免疫抑制薬を服用することになる³⁾。

プレドニゾロンの副作用としては満月様顔貌、肥満、多毛症などが80%に認められ、重篤な副作用として骨減少症、骨粗鬆症、脊椎圧迫骨折、糖尿病、白内障、情動不安、精神障害、高血圧、易感染性、筋症などが認められ、プレドニゾロン投与量10mg/日でも骨減少症を合併する⁴⁾。プレドニゾロン投与量を10mg/日未満にすればプレドニゾロンに関連した副作用は減少するとされている⁵⁾。

プレドニゾロン投与量を減少させるのに有用な薬剤はアザチオプリンの併用である。アザチオプリンを併用することでプレドニゾロン投与量をおおよそ半減することができ、プレドニゾロンに関連した副作用の発生頻度を低下させる。しかし、アザチオプリンには胆汁うっ滞性肝障害、悪心、嘔吐、発疹、血球減少などの副作用があり、プレドニゾロン投与量を減少しうる別の併用薬の開発が望まれており、ウルソデオキシコール酸(UDCA)はその候補とされている。

最近、プレドニゾロン療法の効果が不十分な自己免

疫性肝炎37例に対してプレドニゾロンとUDCA併用(21例)とプレドニゾロンと偽薬併用(16例)の無作為化比較試験が行われ、UDCA併用群の方が治療6ヶ月後の血清AST値および血清ALP値の改善率が有意に高値であったとの報告がある⁶⁾。

先行研究で良好な成績が報告されたため、わが国では自己免疫性肝炎のおおよそ10%がUDCA療法で治療されている⁷⁾。平成9年度の厚生省の調査報告では、自己免疫性肝炎の78.9%にプレドニゾロン療法が実際され有効率が86.8%、11.5%にUDCA療法が行われ有効率が80.5%と報告されており、後ろ向き研究ではプレドニゾロンとUDCAの有効率に差がみられなかった⁸⁾。しかし先行研究および後ろ向き研究の成績は選択バイアスの影響が大きく、UDCAの有用性を評価するためには、無作為化比較試験による検討が必要と考えられる^{9,10)}。今回、我々は肝障害が軽度と判断される自己免疫性肝炎に対するUDCA療法の短期間の有用性を偽薬投与を対照とした無作為比較試験で検討し、UDCA投与例における長期効果を非比較試験で検討する。本臨床試験により自己免疫性肝炎に対するUDCA療法の有用性が明らかになると考えられる。

B. 研究方法

1) 対象および研究デザイン

対象選択基準：自己免疫性肝炎（試験開始時あるいは診断時に新国際診断基準スコアが10-15の疑診例および16以上の確診例）のうち、次の条件を満たす患者を対象とする。

- 1) 血清AST値が基準値上限の5倍未満でかつ基準値上限を超える者
- 2) T-Bil 3mg/dl未満
- 3) プロトンピン時間70%以上
- 4) 肝障害に由来すると考えられる自覚症状を認めないか、軽度である
- 5) 年齢：同意取得時において20歳以上70歳未満
- 6) 性別：不問
- 7) 原則として試験開始1年以内に肝生検が実施され

ている

- 8) 本人から同意を得ることが可能な患者
除外基準：下記の何れかの項目に該当する患者は、本研究の対象とはしない。
 - 1) 妊婦、妊娠している可能性のある患者、又は授乳中の患者
 - 2) 重篤な合併症を有する患者、特に心、骨髄、腎、肺機能が十分に保たれていない患者
 - 3) 試験薬投与に際して危険性があると考えられるアレルギー素因があり、臨床試験の対象として不適当と判断された患者
 - 4) うつ傾向のある患者、精神疾患を有する患者
 - 5) UDCAで重篤な副作用もしくは過敏症の既往のある患者
 - 6) HBs抗原陽性、HCV抗体陽性（HBsAgおよびHCV抗体は登録開始前48週以内に確認すること）、常習飲酒家、常習飲酒家とは1日日本酒換算3合以上の飲酒を毎日5年以上続けるものとする。
 - 7) 治療開始12週間以内に実施された画像検査(腹部超音波検査、腹部CT検査など)で肝硬変または肝細胞癌の合併が確認された患者
 - 8) 腹水、肝性脳症、食道静脈瘤破裂の既往を有する患者
 - 9) 肝生検で肝硬変と診断された患者
 - 10) 臨床試験の薬効評価及び安全性評価に影響を及ぼすと考えられる以下の薬剤が治療薬投与開始前4週以内に投与された患者
 - 11) グルココルチコステロイド（全身投与）、他の免疫抑制薬、小柴胡湯、グリチルリチンを主成分とする注射用製剤（強力ネオミノファーゲンCなど）
 - 12) 臨床試験開始前6ヶ月以内に試験薬(UDCA)の投与を受けたことのある患者
 - 13) その他、主治医が本研究の対象として不適当と認めた患者。

患者には文書及び口頭で説明し文書で同意を得る。
以上の条件を満たす患者に以下の2相試験を行なう。

短期投与試験：無作為化比較試験

URSO 600mg/日あるいは偽薬を、分3、食後投与、8週間。

一次エンドポイントは8週間後にAST値が正常であることとする。この条件を満たした例を有効例とし、それ以外を無効例とする。各群の中に占める有効例の割合をカイ二乗検定で比較する。

長期投与試験：非比較試験

短期投与試験をプロトコール通りに終了し、短期投与試験終了時にASTが基準値上限の5倍未満（基準値上限以下を含む）の例を対象とする。URSO600mg/日、分3、食後投与、48週間。

一次エンドポイントは48後の血清AST値が正常で

あることとする。この条件を満たした例を有効例とし、治療開始時の各因子を説明変数とし、ロジスティック回帰分析により、UDCA療法有効に関連する因子を検討する。

登録はセンター方式とし、ホームページあるいはFaxで登録する。

2) サンプルサイズおよび統計学的解析

サンプルサイズは、最大許容差を10%、Powerを0.80 (β エラー0.2)、 α エラーを0.20 (One-sided, Continuity correctionあり)、有効率(8週後AST正常化率)を自己免疫性肝炎の確診例がUDCA群40%、偽薬群10%として計算すると各群32例、疑診例がUDCA群60%、偽薬群20%として計算すると各群23例で、各群計55例ずつ計110例必要となった。なお、各設定値は米食品医薬品局 (FDA) が設定した生物学的同等性 (bioequivalence) 試験の80/20のルールに従った¹¹。

C. 研究結果

現時点では参加施設の登録を行っている段階であり、開始されていないため、結果は得られていない。

D. 考察

UDCAはケノデオキシコール酸の7 β 水酸化エピマー（光学異性体）であり、肝機能異常を改善する作用を有している^{12,13,14}。現在、UDCAは原発性胆汁性肝硬変の標準的治療薬として広く認められており¹⁵、慢性ウイルス肝炎に対する有用性も報告されている^{16,17}。¹⁸。パイロット研究では自己免疫性肝炎に対するUDCA療法の有用性が示されている。Mimaらはプレドニゾロン療法で寛解導入が不成功であった自己免疫性肝炎4例にウルソデオキシコール酸 (UDCA) 600mg/日を併用投与し、血清ALT値の正常化およびプレドニゾロン投与量の減量が行えたと報告した¹⁹。Nakamuraらは自己免疫性肝炎8例にUDCA 600mg/日の単独治療を行い、8例中7例(87.5%)で血清ALT値が正常化したと報告した²⁰。海外からもUDCA療法で自覚症状に乏しい軽症の自己免疫性肝炎の肝機能が改善したと報告されている²¹。UDCAの作用機序としては胆汁酸排泄亢進作用（利胆作用）、肝細胞保護作用および免疫調節作用などが考えられている^{14,22}。実験的にはUDCAは肝臓から有害な胆汁酸を排除し²³、肝細胞膜に対する有害胆汁酸の傷害作用を緩衝し²⁴、肝細胞表面のHLAクラスI抗原の表出を減少させ²⁵、免疫グロブリン産生を抑制し²⁶、インターロイキン(IL)-2、IL-4およびインターフェロン- γ の産生を抑制し、リンパ球機能を改善し²⁷、窒素酸化物の誘導を抑制し²⁸、ミトコンドリア機能を改善しアポトーシスによる細胞死を抑制する^{29,30}。自己免疫性肝炎は遺伝的素因を有する個人が何らかの環境因子に暴露することが契機となり、肝細胞抗原に対する自己免疫異常が発現され、肝炎が発症すると推定されており²、UDCAに

認められる免疫調節作用を中心とした種々の薬利作用は、理論的には自己免疫性肝炎の病態を抑制し有用な治療薬になりえると推定される。UDCAの利点は安全性であり、重篤な副作用が報告されていない³¹。

本研究の結果UDCA療法で血清ASTが改善することが明らかになれば、軽症自己免疫性肝炎に対してUDCA療法による治療が選択可能になると期待される。

E. 結論

自己免疫性肝炎を対象としたランダム化比較試験により、初期治療としてのUDCA療法の有用性が明らかになると考えられる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

文献

- ¹ Czaja AJ: Autoimmune hepatitis. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/diagnosis/management. Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH (eds), 6th ed. P1265-1274, 1998
- ² Krawitt EL: Autoimmune hepatitis. N Engl J Med 334: 897-903, 1996.
- ³ Czaja AJ: Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis. Drugs 57: 49-68, 1999.
- ⁴ Stellan AJ, Davies A, Compston J et al: Bone loss in autoimmune chronic active hepatitis on maintenance corticosteroid therapy. Gastroenterology 89: 1078-1083, 1985.
- ⁵ Czaja AJ: Low-dose corticosteroid therapy after multiple relapses of severe HBsAg-negative chronic active hepatitis. Hepatology 11: 1044-1049, 1990.
- ⁶ Czaja AJ, Carpenter HA, Lindor KD: Ursodeoxycholic acid as adjunctive therapy for problematic type 1 autoimmune hepatitis: a randomized placebo-controlled treatment trial. Hepatology 30: 1381-1386, 1999.
- ⁷ Toda G, Zeniya M, Watanabe F, Imawari M, Kiyosawa K, Nishioka M, Tsuji T, Omata M: Present status of autoimmune hepatitis in Japan—correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. Japanese National Study Group of Autoimmune Hepatitis. J Hepatol 26: 1207-1212, 1997.
- ⁸ 戸田剛太郎, 銭谷幹男, 渡辺文時, 高橋宏樹: 自己免疫性肝炎全国アンケート調査報告. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班平成9年度調査報告, 8 11, 1988.
- ⁹ Czaja AJ: Autoimmune liver diseases. Zakim D, Boyer TD eds, Hepatology: a text book of liver diseases, 3rd ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1259-1292, 1996.
- 10 Heathcote J. Efficacy of ursodeoxycholic acid in Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. J Gastroenterol Hepatol 13: 457-459, 1998.
- ¹¹ Food and Drug Administration: Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-Treatment Crossover Design. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, 1992.
- ¹² Podda M, Ghezzi C, Battezzati PM et al: Ursodeoxycholic acid for chronic liver diseases. J Clin Gastroenterol 10 Suppl 2: S25-31, 1988.
- ¹³ James OF: Ursodeoxycholic acid treatment for chronic cholestatic liver disease. J Hepatol 11: 5-8, 1990.
- ¹⁴ Rubin RA, Kowalski TE, Khandelwal M et al: Ursodiol for hepatobiliary disorders. Ann Intern Med 121: 207-18, 1994.
- ¹⁵ Combes B: Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. Semin Liver Dis 17: 125-128, 1997.
- ¹⁶ Takano S, Ito Y, Yokosuka O et al: A multicenter randomized controlled dose study of ursodeoxycholic acid for chronic hepatitis C. Hepatology 20: 558-564, 1994.
- ¹⁷ Puoti C, Magrini A, Filippi T et al: Effects of ursodeoxycholic acid on serum liver enzymes in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 7: 151-154, 1995.
- ¹⁸ Simko V, Michael S, Prego V: Ursodeoxycholic therapy in chronic liver disease: a meta-analysis in primary biliary cirrhosis and in chronic hepatitis. Am J Gastroenterol 89: 392-398, 1994.
- ¹⁹ Mima S, Sekiya C, Kanagawa H, Uchida T: Ursodeoxycholic acid (UDCA) therapy for autoimmune hepatitis. Int Hepatol Commun 2 (4): 207-212, 1994.

- ²⁰ Nakamura K, Yoneda M, Yokohama S et al: Efficacy of ursodeoxycholic acid in Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 13: 490-495, 1998.
- ²¹ Janowitz P, Kratzer W, Wechsler JG. Positive effect of ursodeoxycholic acid on liver enzymes in autoimmune hepatitis with little activity—a pilot study. *Leber Magen Darm* 26: 310-313, 1996.
- ²² Makino I, Tanaka H: From a choleric to an immunomodulator: historical review of ursodeoxycholic acid as a medicament. *J Gastroenterol Hepatol* 13: 659-664, 1998.
- ²³ Dumont M, Erlinger S, Uchman S: Hypercholeremia induced by ursodeoxycholic acid and 7-ketolithocholic acid in the rat: possible role of bicarbonate transport. *Gastroenterology* 1980 79: 82-89, 1980.
- ²⁴ Heuman DM, Mills AS, McCall J et al: Conjugates of ursodeoxycholate protect against cholestasis and hepatocellular necrosis caused by more hydrophobic bile salts. *In vivo* studies in the rat. *Gastroenterology* 100: 203-211, 1991.
- ²⁵ Calmus Y, Gane P, Rouger P et al: Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis: effect of ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 11: 12-15, 1990.
- ²⁶ Yoshikawa M, Tsujii T, Matsumura K et al: Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune responses. *Hepatology* 16: 358-364, 1992.
- ²⁷ Gianni L, Di Padova F, Zuin M et al: Bile acid-induced inhibition of the lymphoproliferative response to phytohemagglutinin and pokeweed mitogen: an *in vitro* study. *Gastroenterology* 78: 231-235, 1980.
- ²⁸ Hattori Y, Murakami Y, Hattori S et al: Ursodeoxycholic acid inhibits the induction of nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol* 300: 147-150, 1996.
- ²⁹ Rodrigues CM, Fan G, Ma X et al: A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 101: 2790-2799, 1998.
- ³⁰ Rodrigues CM, Ma X, Linehan-Stieers C et al: Ursodeoxycholic acid prevents cytochrome c release in apoptosis by inhibiting mitochondrial membrane depolarization and channel formation. *Cell Death Differ* 6: 842-854, 1999.
- ³¹ Ward A, Brogden RN, Heel RC, Speight TM, Avery GS. Ursodeoxycholic acid: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 27: 95-131, 1984.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

「難治性の肝疾患に関する研究班」

自己免疫性肝炎に対するUDCA治療の臨床試験 維持療法

主任研究者 戸田剛太郎 東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科 主任教授

研究要旨：自己免疫性肝炎の維持療法にたいし、ウルソデオキシコール酸（UDCA）が有効か否かを明らかにするため、ランダム化比較試験を計画した。特に、UDCAを併用することにより、プレドニゾロン投与量を半減できるかどうかを明らかにすることを目的とした。そこで、プレドニゾロン維持療法が実施されている自己免疫性肝炎（国際自己免疫性肝炎グループの診断基準にもとづき、確診および疑診例）で、プレドニゾロン10mg/日で血清ALTが6ヶ月以上正常の症例をランダムにA群プレドニゾロン10mg/日、分1、食後投与、48週間、B群プレドニゾロン5mg/日、分1、および、UDCA 600mg/日、分3、食後投与、48週間に割り付け、投与終了時点で血清ALTが基準値以内にとどまることを一次エンドポイントとして評価する。

分担研究者

森實敏夫¹⁾、柴田 実²⁾、銭谷幹男³⁾、縣 俊彦⁴⁾

1) 神奈川歯科大学内科、2) 昭和大学第二内科、
3) 東京慈恵会医科大学消化器肝臓内科、4) 東京慈恵会医科大学公衆衛生学

A. 研究目的

自己免疫性肝炎は原因不明の慢性肝疾患であり、わが国におおよそ7,000人の患者が存在する。治療の目標は肝炎を鎮静化させ、肝硬変および肝不全への進展を阻止し、予後を改善することである。治療薬剤にはプレドニゾロンなどの免疫抑制薬が用いられており、80%の患者で血清ALT値が正常化する^{1,2)}。通常はプレドニゾロン30mg/日で治療を開始し、効果が認められたら漸減し1～2ヶ月後より10mg/日の維持療法とする。しかし、プレドニゾロンの漸減を行うと50～86%の患者で肝炎の再燃が認められ、多くの例が終生免疫抑制薬を服用することになる³⁾。

プレドニゾロンの副作用としては満月様顔貌、肥満、多毛症などが80%に認められ、重篤な副作用として骨減少症、骨粗鬆症、脊椎圧迫骨折、糖尿病、白内障、情動不安、精神障害、高血圧、易感染性、筋症などが認められ、プレドニゾロン投与量10mg/日でも骨減少症を合併する⁴⁾。プレドニゾロン投与量を10mg/日未満にすればプレドニゾロンに関連した副作用は減少するとされている⁵⁾。

プレドニゾロン投与量を減少させるのに有用な薬剤はアザチオプリンの併用である。アザチオプリンを併用することでプレドニゾロン投与量をおおよそ半減することができ、プレドニゾロンに関連した副作用の発生頻度を低下させる。しかし、アザチオプリンには胆汁うっ滞性肝障害、悪心、嘔吐、発疹、血球減少などの副作用があり、プレドニゾロン投与量を減少しうる別の併用薬の開発が望まれており、ウルソデオキシコール酸（UDCA）はその候補とされている。

最近、プレドニゾロン療法の効果が不十分な自己免

疫性肝炎37例に対してプレドニゾロンとUDCA併用（21例）とプレドニゾロンと偽薬併用（16例）の無作為化比較試験が行われ、UDCA併用群の方が治療6ヶ月後の血清AST値および血清ALP値の改善率が有意に高値であったとの報告がある⁶⁾。

先行研究で良好な成績が報告されたため、わが国では自己免疫性肝炎のおおよそ10%がUDCA療法で治療されている⁷⁾。平成9年度の厚生省の調査報告では、自己免疫性肝炎の78.9%にプレドニゾロン療法が実際され有効率が86.8%、11.5%にUDCA療法が行われ有効率が80.5%と報告されており、後ろ向き研究ではプレドニゾロンとUDCAの有効率に差がみられなかった⁸⁾。しかし先行研究および後ろ向き研究の成績は選択バイアスの影響が大きく、UDCAの有用性を評価するためには、無作為化比較試験による検討が必要と考えられる^{9,10)}。今回、我々はプレドニゾロン療法が著効となりプレドニゾロン10mg/日で維持療法中の自己免疫性肝炎にUDCA600mg/日を併用することで、プレドニゾロン投与量を半減できるかをランダム化比較試験で検討する。本臨床試験により維持療法中の自己免疫性肝炎に対するUDCA併用療法の有用性が明らかになると考えられる。

B. 研究方法

1) 対象および研究デザイン

対象選択基準：プレドニゾロン療法が実施されている自己免疫性肝炎（試験開始時あるいは診断時に新国際診断基準スコアが10-15の疑診例および16以上の確診例）のうち、次の条件を満たす患者を対象とする

- 1) 維持療法のプレドニゾロン投与量が10mg/日
- 2) 血清ALT値が6ヶ月以上正常
- 3) T-Bil 3mg/dl未満
- 4) プロトンピン時間70%以上
- 5) 肝障害に由来すると考えられる自覚症状を認めないか、軽度である

- 6) 年齢：同意取得時において20歳以上70歳未満
- 7) 性別：不問
- 8) 原則として維持療法開始1年以内に肝生検が実施されている
- 9) 本人から同意を得ることが可能な患者
除外基準：次ぎの何れかの項目に該当する患者は、本研究の対象とはしない。
 - 1) 妊婦、妊娠している可能性のある患者、又は授乳中の患者
 - 2) 重篤な合併症を有する患者、特に心、骨髄、腎、肺機能が十分に保たれていない患者
 - 3) 試験薬投与に際して危険性があると考えられるアレルギー素因があり、臨床試験の対象として不適当と判断された患者
 - 4) 抑うつ傾向のある患者、精神疾患を有する患者
 - 5) UDCAで重篤な副作用もしくは過敏症の既往のある患者
 - 6) HBs抗原陽性、HCV抗体陽性、常習飲酒家（HBsAgおよびHCV抗体は登録開始前48週以内に確認すること）、常習飲酒家とは1日日本酒換算3合以上の飲酒を毎日5年以上続けるものとする。
 - 7) 治療開始12週間以内に実施された検査（腹部超音波検査、腹部CT検査など）で肝硬変または肝細胞癌の合併が確認された患者
 - 8) 腹水、肝性脳症、食道静脈瘤破裂の既往を有する患者
 - 9) 肝生検で肝硬変と診断された患者
 - 10) 臨床試験の薬効評価及び安全性評価に影響を及ぼすと考えられる以下の薬剤が治療薬投与開始前4週以内に投与された患者
プレドニゾロン以外の免疫抑制薬、小柴胡湯、グリチルリチンを主成分とする注射用製剤（強力ネオミノファーゲンCなど）
 - 11) 臨床試験開始前6ヶ月以内に試験薬(UDCA)の投与を受けたことのある患者
 - 12) その他主治医が本研究の対象として不適切と判断した患者。

患者には文書及び口頭で説明し文書で同意を得る。

以上の条件を満たす患者をランダム化割付し、次のA群とB群とし、平行2群間比較、非マスク（オープンラベル）、ランダム化比較試験を行なう。

A群 プレドニゾロン10mg/日、分1、食後投与、48週間

B群 プレドニゾロン5mg/日、分1、および、UDCA 600 mg/日、分3、食後投与、48週間
血清AST値を治療開始時から4週間毎に48週間

に測定する。

一次エンドポイントは48週時点の血清AST値が正常であることとする。この条件を満たした例を有効例とし、それ以外を無効例とする。各群の中に占める有効例の割合をカイ二乗検定で比較する。

登録はセンター方式とし、ホームページあるいはFaxで登録する。

2) サンプルサイズおよび統計学的解析

サンプルサイズは、最大許容差を10%、Powerを0.80（ β エラー0.2）、 α エラーを0.20（One-sided、Continuity correctionあり）、有効率（48週後AST正常化率）をA群90%、B群90%と設定して計算すると各群51例ずつ必要となった（表）。さらに、脱落例（肝炎再燃以外の脱落例）を10%位考慮し、最終的に必要なサンプルサイズは各群56例、総数112例とした。なお、各設定値は米食品医薬品局（FDA）が設定した生物学的同等性（bioequivalence）試験の80/20のルールに従った¹¹。

C. 研究結果

現時点では参加施設の登録を行なっている段階であり、開始されていないため、結果は得られていない。

D. 考察

UDCAはケノデオキシコール酸の7 β 水酸化エピマー（光学異性体）であり、肝機能異常を改善する作用を有している^{12,13,14}。現在、UDCAは原発性胆汁性肝硬変の標準的治療薬として広く認められており¹⁵、慢性ウイルス肝炎に対する有用性も報告されている^{16,17,18}。パイロット研究では自己免疫性肝炎に対するUDCA療法の有用性が示されている。Mimaらはプレドニゾロン療法で寛解導入が不成功であった自己免疫性肝炎4例にウルソデオキシコール酸(UDCA)600mg/日を併用投与し、血清ALT値の正常化およびプレドニゾロン投与量の減量が行えたと報告した¹⁹。Nakamuraらは自己免疫性肝炎8例にUDCA 600mg/日の単独治療を行い、8例中7例(87.5%)で血清ALT値が正常化したと報告した²⁰。海外からもUDCA療法で自覚症状に乏しい軽症の自己免疫性肝炎の肝機能が改善したと報告されている²¹。UDCAの作用機序としては胆汁酸排泄亢進作用(利胆作用)、肝細胞保護作用および免疫調節作用などが考えられている^{14,22}。実験的にはUDCAは肝臓から有害な胆汁酸を排除し²³、肝細胞膜に対する有害胆汁酸の傷害作用を緩衝し²⁴、肝細胞表面のHLAクラスI抗原の表出を減少させ²⁵、免疫グロブリン産生を抑制し²⁶、インターロイキン(IL)-2、IL-4およびインターフェロン- γ の産生を抑制し、リンパ球機能を改善し²⁷、窒素酸化物の誘導を抑制し²⁸、ミトコンドリア機能を改善シアポトーシスによる細胞死を抑制する^{29,30}。自己免疫性肝炎は遺伝的素因を有する

個人が何らかの環境因子に暴露することが契機となり、肝細胞抗原に対する自己免疫異常が発現され、肝炎が発症すると推定されており²、UDCAに認められる免疫調節作用を中心とした種々の薬利作用は、理論的には自己免疫性肝炎の病態を抑制し有用な治療薬になりえると推定される。UDCAの利点は安全性であり、重篤な副作用が報告されていない³¹。

本研究の結果UDCAの併用によりプロドニゾロンを半減することが可能であることが明らかになれば、UDCA併用療法によるステロイドによる副作用の軽減が期待される。

E. 結論

自己免疫性肝炎を対象としたランダム化比較試験により、UDCA併用によるステロイド投与量の半減が可能かどうか明らかになると考えられる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

文献

¹Czaja AJ: Autoimmune hepatitis. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/diagnosis/management. Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH (eds), 6th ed. P1265-1274, 1998

²Krawitt EL: Autoimmune hepatitis. N Engl J Med 334: 897-903, 1996.

³Czaja AJ: Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis. Drugs 57: 49-68, 1999.

⁴Stellon AJ, Davies A, Compston J et al: Bone loss in autoimmune chronic active hepatitis on maintenance corticosteroid therapy. Gastroenterology 89: 1078-1083, 1985.

⁵Czaja AJ: Low-dose corticosteroid therapy after multiple relapses of severe HBsAg-negative chronic active hepatitis. Hepatology 11: 1044-1049, 1990.

⁶Czaja AJ, Carpenter HA, Lindor KD: Ursodeoxycholic acid as adjunctive therapy for problematic type 1 autoimmune hepatitis: a randomized placebo-controlled treatment trial. Hepatology 30: 1381-1386, 1999.

⁷Toda G, Zeniya M, Watanabe F, Imawari M, Kiyosawa K, Nishioka M, Tsuji T, Omata M: Present status of autoimmune hepatitis in Japan-correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. Japanese National Study Group of Autoimmune Hepatitis. J Hepatol 26: 1207-1212, 1997.

⁸戸田剛太郎, 銭谷幹男, 渡辺文時, 高橋宏樹: 自己免疫性肝炎全国アンケート調査報告. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班平成9年度調査報告, 8-11, 1988.

⁹Czaja AJ: Autoimmune liver diseases. Zakim D, Boyer TD eds, Hepatology: a text book of liver diseases, 3rd ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1259-1292, 1996.

¹⁰Heathcote J. Efficacy of ursodeoxycholic acid in Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. J Gastroenterol Hepatol 13: 457-459, 1998.

¹¹Food and Drug Administration: Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-Treatment Crossover Design. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, 1992.

¹²Podda M, Ghezzi C, Battezzati PM et al: Ursodeoxycholic acid for chronic liver diseases. J Clin Gastroenterol 10 Suppl 2: S25-31, 1988.

¹³James OF: Ursodeoxycholic acid treatment for chronic cholestatic liver disease. J Hepatol 11: 5-8, 1990.

¹⁴Rubin RA, Kowalski TE, Khandelwal M et al: Ursodiol for hepatobiliary disorders. Ann Intern Med 121: 207-18, 1994.

¹⁵Combes B: Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. Semin Liver Dis 17: 125-128, 1997.

¹⁶Takano S, Ito Y, Yokosuka O et al: A multicenter randomized controlled dose study of ursodeoxycholic acid for chronic hepatitis C. Hepatology 20: 558-564, 1994.

¹⁷Puoti C, Magrini A, Filippi T et al: Effects of ursodeoxycholic acid on serum liver enzymes in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 7: 151-154, 1995.

¹⁸Simko V, Michael S, Prego V: Ursodeoxycholic therapy in chronic liver disease: a meta-analysis in primary biliary cirrhosis and in chronic hepatitis. Am J Gastroenterol 89:392-398, 1994.

¹⁹Mima S, Sekiya C, Kanagawa H, Uchida T: Ursodeoxycholic acid (UDCA) therapy for autoimmune hepatitis. Int Hepatol Commun 2