

表2. ラミブジン投与開始6ヶ月後における抗ウイルス効果

投与前のウイルス指標		症例数	投与6ヶ月後までの指標				
			HBV-DNA ¹		HBe 抗原		
高ウイルス量	HBe 抗原 (+)	11	感度以下または R 法で 10 ⁴ 未満	R	2 例	陽性	2 例
				T	5 例	陽性	4 例
				P	2 例	SN	1 例
			陽性 (低下)	T	2 例	SC	1 例
HBe 抗体 (+)	4	感度以下または R 法で 10 ⁴ 未満	R	1 例	—		
			T	1 例			
			P	2 例			
判定不能	1	感度以下	T	1 例	SC	1 例	
低ウイルス量	HBe 抗原 (+)	11	感度以下	T	10 例	SC	3 例
						SN	2 例
	HBe 抗体 (+)	7	感度以下	T	3 例	—	
不明	1	感度以下	T	1 例	SC	1 例	

¹T: TMA法, P: b-DNAプローベ法, M: モニター法, R: real-time PCR法

2) 6ヶ月後の予後調査

治療開始6ヶ月まで経過を追えた35例では、3例で副作用(しびれ、頭痛、血清アミラーゼ上昇)が認められたが、全例ラミブジン投与を継続中である。これらのうち32例では、TMA法、モニター法ないしb-DNAプローベ法の何れかで血清HBV-DNAが検出感度以下またはreal-time PCR法で10⁴ copy/mL未満まで低下した(表2)。また、HBe抗原陽性22例中8例でその陰性化またはHBe抗体陽性化が生じた。6ヶ月の時点で検出感度以下にならなかったのは3例(どれもTMA法)で、その内訳はHBe抗原陽性・高ウイルス量が2例、HBe抗原陽性・低ウイルス量が1例であった。

ラミブジン開始時の血清ALT値と血清HBV-DNAが検出感度以下になるまでの期間との関連を検討した。治療開始時には血清ALT値が300 IU/L以下に低下していた17例中13例はウイルス量が低値で、これらのうち8例(47.1%)は1ヶ月以内に血清HBV-DNAが検出感度以下になった。また、血清ALT値が1,000 IU/L以上で治療を開始した症例は高ウイルス量が9例、低ウイルス量が8例であったが、1ヶ月以内に検出感度以下になった症例が計7例(41.1%)存在した。一方、血清ALT値が300~1,000IU/mLで開始した31症例では、1ヶ月以内に検出感度以下になったのは10例(32.3%)であった。特に300~500 IU/mLの症例は18例中12例が高ウイルス量であり、検出感度以下になるのに長期間を要した。

なお、血清HBV-DNAが検出感度以下になるまでの期間には、副腎皮質ステロイド併用の有無が影響を与えていなかった。

D. 考察と結語

B型慢性肝疾患の急性増悪例は、劇症肝炎ないし急性肝炎重症型の範疇には加えられないが、無症候性キャリアからの増悪例では対象数が限られるため、肝予備能が良好な慢性肝炎から発症した症例にも範囲を広げて調査を開始した。ラミブジン開始1ヶ月後または退院時の短期予後が解析可能であったのは70例であるが、プロトロンビン時間40%以下、血清総ビリルビン濃度15 mg/dL以上を満たす肝不全が高度な症例では6例が死亡しており、早期の治療開始が重要と考えられた。

投与開始6ヶ月後の予後は35例で評価可能であり、全例で血清HBV-DNA量の低下が見られた。特に、32例ではTMA法、モニター法ないしb-DNAプローベ法の何れかで血清HBV-DNAが検出感度以下またはreal-time PCR法で10⁴ copy/mL未満まで低下していた。また、HBe抗原陽性22例中8例でその陰性化またはHBe抗体陽性化が認められた。今回の検討では、肝炎活動性が高度な症例を対象にしているが、一般のB型慢性肝炎に比してラミブジンの抗ウイルス効果は良好である可能性がある。また、血清HBV-DNAが検出感度以下になるまでの期間は、HBe抗体陽性例及び投与前ウイルス量が低値の症例で短い傾向が認められ

た。また、血清ALT値がピークを過ぎて低下している時期にはウイルス量が少ない症例が多く、検出感度以下になるまでの期間が短かった。一方、血清ALT値が1,000 IU/L以上と高値の時期に治療を開始した場合も、短期間で血清HBV-DNAが検出感度以下になる傾向が見られた。

以上より、B型肝炎の劇症化の阻止には早期のラミブジン治療が重要であり、適切な時期に治療が開始されれば良好な抗ウイルス効果が得られると推定された。今回の検討では、12ヶ月以上経過を越えた症例は7例に過ぎず、ラミブジン投与中のYMDD変異の出現とその肝機能に及ぼす影響および本薬投与を中断した際のHBV再出現及び肝炎再燃の有無に関しては、今後の経過観察が必要である。

E. 参考文献

- 1) 藤原研司, 持田 智, 松井 淳, 劇症肝炎, 遅発性肝不全 (LOHF: late onset hepatic failure) の全国集計 (1998年), 厚生省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11年度報告書, pp.59-62, 2000.
- 2) 藤原研司, 持田 智, 松井 淳, 劇症肝炎, 遅発性肝不全の全国集計 (1999年), 厚生労働省特定疾患対策事業「難治性の肝疾患に関する研究班」平成12年度報告書, pp24-31, 2001.
- 3) 藤原研司, 持田 智, 松井 淳, 劇症肝炎, 遅発性肝不全の全国集計 (2000年), 厚生労働省特定疾患対策事業「難治性の肝疾患に関する研究班」平成13年度報告書, 印刷中, 2002

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

広汎肝壊死と肝再生不全の成立機序

分担研究者 藤原 研司 埼玉医科大学第三内科 主任教授

研究要旨：劇症肝炎は、広汎肝壊死および肝再生不全を特徴とする。我々は、広汎肝壊死の成立にはKupffer細胞や肝macrophageの活性化及びmacrophageの肝浸潤が重要であり、その過程でosteopontin (Osp) が関与することを見出した。そこで、肝病態の成立における本因子の意義を明確にするため、Osp transgenicマウスを作成した。3系統得られたtransgenicマウスの中で、1系統で肝の濃度が生理的にOsp発現が高度である腎の約2倍高値であった。血漿Osp濃度は対照に比してtransgenicが有意に高値で、特に肝の発現が高度であった系統は著明高値を呈した。本マウスの血漿cytokine濃度は対照と差異が認められなかったが、Osp濃度に関してはSLEを自然発症するMRLマウスと同程度高値であり、今後、免疫異常に起因した肝病態を発症する可能性がある。また、肝壊死、線維化、発癌などの研究に際して、Ospの意義を明らかにする有用なモデルであると考えられた。一方、劇症肝炎の肝再生時には類洞構造も再構築されるため、その形成機構を解明する必要がある。我々は、部分切除肝の類洞構造の再生過程でAngiopoietin・TIE受容体系が関与する可能性を見出した。そこで、障害肝の再生におけるAngiopoietin・TIE受容体系の意義を明らかにするため、四塩化炭素ラット障害肝におけるこれら遺伝子の発現動態と発現細胞を検討した。正常肝より単離した肝構成細胞では、TIE-2 mRNAの発現は星細胞と類洞内皮細胞に認められた。一方、Angiopoietin-1及び2のmRNA発現は星細胞、類洞内皮細胞のみならずKupffer細胞にも観察された。四塩化炭素を投与するとAngiopoietin-1のmRNA発現は1日後には10倍増強し、7日後には一旦消失したが、14日目には正常肝と同等の発現が観察された。一方、Angiopoietin-2のmRNA発現も1日後には出現し、これは2日目まで持続した後に消失した。なお、四塩化炭素投与1～2日後に単離した活性化macrophage及び星細胞は、正常肝由来のKupffer細胞や星細胞より両AngiopoietinのmRNA発現が高度であった。一方、TIE-2のmRNA発現はAngiopoietin-2と同様に1日後から出現し、2日目まで持続した後に消失した。この時期に単離した活性化星細胞は、TIE-2 mRNAを発現していた。TIE-2 mRNAは7日後に発現が再度観察され、その後消失した。以上より、肝では星細胞及び類洞内皮細胞がAngiopoietin-1, 2とTIE-2のmRNAを発現しており、これら細胞の機能は両Angiopoietinによりautocrineないしparacrine的に調節されていると考えられた。また、四塩化炭素障害肝では血管内皮細胞や類洞内皮細胞の増殖する時期に、両AngiopoietinないしTIE-2 mRNA発現が増強しており、これらを介する系が、星細胞との相互作用の基に、類洞の毛細血管化や再構築の過程を調節していると推定された。

KEYWORD：劇症肝炎、広汎肝壊死、肝再生、Osteopontin、Osteopontintransgenicマウス、Angiopoietin、TIE-2

共同研究者

持田 智	埼玉医科大学	第三内科	助教授
松井 淳	埼玉医科大学	第三内科	講座助手
稲生 実枝	埼玉医科大学	第三内科	講座助手
木村 博之	埼玉医科大学	第三内科	大学院
名越 澄子	埼玉医科大学	第三内科	講師

A. 研究目的

劇症肝炎は、組織学的に広汎肝壊死を特徴とする。我々は、ラットモデルにおける検討から、広汎肝壊死の成立にはKupffer細胞や肝macrophageの活性化とともに、macrophageの肝浸潤が重要であり、これらが類洞内皮細胞障害および類洞内凝固を来し、肝微小循環障害の原因になることを明らかにした。Macrophage遊走を促進するchemokineとしては

MCP-1やMIP-1 α が知られているが、我々は肝浸潤に関与する因子としてOsteopontinに注目した。OsteopontinはRGD配列を有する細胞外matrixであるが、分泌型糖蛋白としてmacrophage浸潤を誘導するなど、chemokineとしても作用する。更に、本因子はリンパ球を活性化するcytokineとしてEta-1とも呼ばれるが、最近Th1系免疫応答の開始に際して必須の因子であることが判明した。劇症肝炎の発症にはTh1系の免疫応答が関与していることからOsteopontinはchemokine及びcytokineとして、急性肝不全の病態成立に関与している可能性を想定した。そこでIL-18やIFN- γ などのTh1 cytokineを介してKupffer細胞や肝macrophageが活性化し、macrophageの肝浸潤も高度にされる*P.acnes*の加熱死菌を投与したラット急性肝不全モデルでOsteopontinの発現動態を検

討したところ、単離した活性化肝macrophageに高度の発現が観察された。また、ヒト劇症肝炎、特に急性型における血中濃度は急性肝炎や劇症肝炎亜急性型よりも著明に高値であった。更に劇症肝炎症例の剖検肝を用いて、Osteopontinの発現を免疫組織学的に検討すると、肝壊死巣の浸潤macrophageに高度な染色性が観察された。また、我々はOsteopontin遺伝子のalleleの異なるマウスを用いた実験系で、*P.acnes*死菌投与後の肝macrophage浸潤には、各種chemokineの中でOsteopontinが最も重要であることを証明している。従って、ヒト劇症肝炎、特に急性型における広汎肝壊死の成立にもOsteopontinが重要な役割を担っていると推定された。以上を背景に、Osteopontin transgenicマウスを作成し、肝病態の成立におけるOsteopontinの意義をより明確にすることを一つの目的とした。

一方、劇症肝炎では肝再生不全が病態の特徴であるが、その機序は不明である。劇症肝炎では、肝細胞のみならず、類洞内皮細胞も顕著に障害されるため、再生肝が機能するためには、その増殖が生じて類洞が再構築され、肝循環が円滑に保たれることが重要である。我々は、部分切除肝において、類洞が再構築される過程でAngiopoietin・TIE受容体系が関与する可能性を見出した。即ち、70%部分切除ラット肝における肝構成細胞の増殖とVEGF、Angiopoietin及びその受容体TIE2発現の推移を検討したところ、Angiopoietin-1のmRNA発現は肝部分切除後早期から亢進し、類洞の再構築が生じる168時間後にはAngiopoietin-2やTIE-2の発現も高度になった。一般の血管ではAngiopoietin-1が内皮細胞のpericyteである平滑筋細胞の増殖や内皮細胞の裏打ちに、Angiopoietin-2が内皮細胞の平滑筋細胞からのdrop-offに関与するとされていることを考慮すると、70%部分切除ラット肝の再生においては、類洞内皮細胞が増殖して類洞が再構築される時期に、両AngiopoietinとTIE受容体系の発現が亢進し、これにより類洞内皮細胞のpericyteである星細胞の、類洞内皮細胞からのdrop-offと裏打ちが進行していると推定した。そこで、障害肝の再生におけるAngiopoietin・TIE受容体系の意義を明らかにするため、四塩化炭素ラット障害肝におけるこれら遺伝子の発現動態と発現細胞を検討した。

B. 研究方法

1. マウスOsteopontinの全長cDNAをcloningし、これをhuman serum amyloid P component (hSAP) promoterを有する発現vector (PLG1-hSAP) に挿入した。これをB6マウスの受精卵にmicroinjectionし、仮親の卵管に移植した。出生したマウスOsteopontin-DNAの遺伝子配列からprimerを設定、尾から抽出したDNAでPCRを行った。Osteopontin-DNAが検出された系統をB6と掛合せ、ヘテロのF1 transgenicマウスを作成した。

2. F344ラットの肝をコラゲナーゼで灌流し、メトリザマイド比重遠心法やelutriation・rotor法によ

り、各種肝構成細胞を単離した。これらからRNAを抽出し、ラットのAngiopoietin-1、-2及びTIE-2遺伝子配列に基づいて設定した各種primerを用いてRT-PCRを施行した。次に、F344ラットに四塩化炭素1.0 mL/kgを経口投与した後、経時的に肝を摘出、肝のhomogenateからRNAを抽出しcompetitorを用いたRT-PCRにより、各因子のmRNA発現を半定量的に評価した。

C. 研究結果

1. 3系統のヘテロのF1 transgenicマウスを得た。Osteopontin transgenicマウスの3系統はヘテロを掛合せF4まで継代している。各臓器のhomogenateでOsteopontin濃度をELISAにより測定したところ、transgenicマウスのうち1系統で肝の濃度が50~70 ng/g liverと、生理的にOsteopontin発現が高度である腎の約2倍と高値であった。血漿Osteopontin濃度 (ng/mL: 平均 [最低~最大]) は対照の2,687 [1,525~4,000] に比してtransgenicマウスは7,098 [2,360~22,750]と有意に高値であり、特に肝の発現が高度であった系統は何れも10,000以上と著明な高値を示した。Th1系のcytokineであるIFN- γ 及びTNF- α 、Th2系であるIL-10の血漿濃度は、両マウスで差異が見られなかった。F1はまもなく生後1年になるが、外見的な異常は認められない。また、F3の肝を摘出し病理組織検索を行ったが、3ヶ月までは異常所見は観察されていない。

2. 正常肝より単離した肝構成細胞では、TIE-2 mRNAの発現は星細胞と類洞内皮細胞に認められた。一方、Angiopoietin-1及び2のmRNA発現は星細胞、類洞内皮細胞のみならずKupffer細胞にも観察された。四塩化炭素を投与するとAngiopoietin-1のmRNA発現は1日後には10倍増強し、7日後には一旦消失したが、14日目には正常肝と同等の発現が観察された。一方、Angiopoietin-2のmRNA発現も1日後には出現し、これは2日目まで持続した後に消失した。なお、四塩化炭素投与1~2日後に単離した活性化macrophage及び星細胞は、正常肝由来のKupffer細胞や星細胞より両AngiopoietinのmRNA発現が高度であった。一方、TIE-2のmRNA発現はAngiopoietin-2と同様に1日後から出現し、2日目まで持続した後に消失した。この時期に単離した活性化星細胞はTIE-2 mRNAを発現していた。TIE-2 mRNAは7日後に発現が再度観察され、その後消失した。

D. 考察

1. 肝細胞に特異的なhSAP promoterを用いることで、肝にOsteopontin蛋白を過剰発現しているtransgenicマウスを作成した。本マウスの血漿cytokine濃度は対照と差異がないが、Osteopontin濃度に関してはSLEを自然発症するMRLマウスと同程度高値であり、今後、免疫異常に起因した肝病態を発症する可能性がある。また、肝壊死のみならず線維化、発癌などの研究に際して、OsteopontinやTh1免

疫応答の意義を明らかにするためにも、有用なモデルであると考えられた。

2. 四塩化炭素障害肝では投与1~2日目においては、壊死巣で活性化したmacrophage及び星細胞がVEGFのみならずPDGFやFGF-IIを産生し、血管内皮細胞が増殖する。これら細胞は、更に、Angiopoietin-1及び-2の発現も増強しており、一方、活性化星細胞はTIE-2を発現していることから、これが血管内皮細胞とともに毛細血管を構築する過程を促進すると推定された。一方、壊死巣が吸収された後は肝細胞が増殖し、これがVEGFを産生すると類洞内皮細胞が増殖、類洞が再構築される。7日目がこれに相当するが、この時期にはTIE-2の mRNA発現も再び明らかとなり、障害肝の類洞再構築でも部分切除肝と同様にAngiopoietin・TIE受容体系が関与している可能性があると考えられた。

E. 結論

1. 肝にOsteopontin蛋白を過剰発現しているtransgenicマウスを作成した。

2. 肝では星細胞及び類洞内皮細胞がAngiopoietin-1, 2とTIE-2のmRNAを発現しており、これら細胞の機能は両Angiopoietinによりautocrineないしparacrine的に調節されていると考えられた。四塩化炭素障害肝では血管内皮細胞及び類洞内皮細胞の増殖する時期に、両AngiopoietinTIE-2のmRNA発現が増強しており、これらを介する系が星細胞との相互作用の基に、類洞の毛細血管化や再構築の過程を調節していると推定された。

厚生省特定疾患対策研究事業「難治性の肝疾患に関する研究」班 分担研究報告書

急性肝炎重症型の劇症化予知に関するprospective study

研究協力者 鈴木 一幸 岩手医科大学第一内科教授

研究要旨：〔目的〕急性肝炎重症型の段階で劇症化を予知し、早期治療による劇症化予防あるいは救命率向上が可能かを検討する。〔方法〕全国アンケート調査によりプロトロンビン時間(PT)40%以下の段階で患者を登録し、研究班式、与芝式により劇症化を予知したのちプロスペクティブに転帰を観察した。〔結果〕1.急性肝炎重症型の約30%が劇症化し、劇症化例の60%はPT40%から3日以内に昏睡が発現した。2.予知式のsensitivity, specificityは研究班式でそれぞれ51.9%, 90.4%、与芝式では81.6%, 39.3%であった。研究班式での予測劇症化確率により20%以下、20-80%、80%以上の3群に分類すると、観察劇症化率はそれぞれ16.1%、44.8%、68.8%であった。3.昏睡発現前の治療法では、より重症例に施行するという傾向がみられ、劇症化予防、救命率改善に寄与する治療法は明らかにできなかった。〔結論〕急性肝炎重症型の約30%が劇症化することが判明した。劇症化の予知には研究班式が有用であるがsensitivityを上げる改良が必要と考えられた。治療の有効性の検討には無作為化比較対照試験が必要と考えられた。

共同研究者

滝川康裕 岩手医科大学第一内科 講師
遠藤龍人 岩手医科大学第一内科 助手

A. 研究目的

劇症肝炎の救命率は、未だに40%台と低迷している(1)。一方、急性肝炎重症型(プロトロンビン時間(PT)40%以下、肝性脳症II度以内)から劇症肝炎へと移行する例があることから、この段階で劇症化を予知し、早期に集中治療を開始することにより劇症化を阻止あるいは予後を改善させる可能性がある。この観点から研究班として劇症化予知に関する研究を行うにあたり、当時日本で提唱されていた唯一の予知式である与芝式(2)の検証および新たな予知式作成を目的として、1997年9月に急性肝炎重症型の登録システムが開始された。このシステムにより劇症化予知に関するprospective studyを行い、併せて早期治療の評価を試みた。

B. 研究方法

岩手医科大学第一内科を事務局として、日本消化器病学会および日本肝臓学会の評議員の所属する全国の313施設に急性肝炎重症型の症例登録を依頼した。PTが40%を下回った(PT<40%)時点で、臨床データを登録し予後評価をした後、追跡調査により予知式(与芝式、平成10年度の難治性の肝疾患調査研究班が作成した式(3):以下、研究班予知式、表1)の有用性をprospectiveに評価した。さらに、劇症化(肝性昏睡II度以上発現)以前に施行された治療法の劇症化阻止効果および救命への寄与を検討した。

表 1. 急性肝炎重症型の劇症化予測式

与芝の式

$$\lambda = \text{logit}(p) = -0.89 + 1.74 \times \text{成 因} + 0.056 \times \text{T.Bil. (mg/dl)} - 0.041 \times \text{ChE (IU/L)}$$

成 因： HAV または HBV (初感染) : 1, その他 : 2

研究班の予測式

$$\lambda = \text{logit}(p) = -2.7469 + 0.0914 \times \text{年 齢 (才)} + 0.1255 \times \text{T.Bil. (mg/dl)} - 0.1534 \times \text{PT (%)}$$

$$\text{劇症化確率}(p) = 1 / (1 + e^{-\lambda})$$

C. 研究結果

1. 症例数および劇症化率、劇症化の時期

1997年9月から2001年12月まで登録された221症例中、転帰の登録された167例を対象とした。劇症化したのは52例(31.1%)で、PT<40%時点で昏睡0度の125例からは27例21.6%、昏睡I度の42例からは59.5%が劇症化した。劇症化例の昏睡発現時期は、PT<40%時点から2日以内が41.5%、3日以内が59.5%であった(図1)。劇症化例の内訳は急性型20例(38.5%)、亜急性型32例(61.5%)で救命率はそれぞれ55.0%、18.8%であった。

2. 予知式の有用性

研究班予知式は1997年9月から1998年12月までの67例のデータを基に作成されているので、評価は今回対象とした全症例167例と1999年以降の100例に分けて検討した(表2)。いずれの対象においても、研究班予知式はsensitivityは低いがspecificityが高い、与芝式はsensitivityは高いがspecificityが低いという特徴がみられたが、validityとaccuracyのいずれも研究班式が優れていた。各予測式の予測劇症化確率の分布を図2,3に示す。研究班予知式では高いspecificityを反映して、非劇症化例は予測劇症化確率の低い領域に集中した。一方、劇症化例は予測劇症化確率60%台をピークとした緩やかな分布を示し、20%以下の領域にも15例が分布した。与芝式では劇症化例、非劇症化例ともに同様な分布を示し、劇症化例が非劇症化例を上回ったのは予測劇症化確率60%台のみであった。劇症化例のうち研究班予知式で予測劇症化確率20%以下を示した15例を他の37例と比較した(表3)。これら15例は若年で、血清総ビリルビンが低く、発症後間もない症例に多い傾向があった。

全症例を対象として、肝炎の成因など新しい変数も含めて多重ロジスティックモデルによる逐次変数選択を行ったが、研究班式を上回る対数尤度、判別率を有する判別式は得られなかった。

3. 各予知式における予測劇症化確率と観察劇症化率および内科的救命率

予知式により予測された劇症化確率と実際に観察された劇症化率、内科的な救命率との関連を表4に示した。研究班式においては予測と観察劇症化率がほぼ一致し、したがって予測劇症化確率は内科的救命率にもよく反映された。これに対し与芝式による予測は観察劇症化率と一致しなかった。

4. 特殊治療法による劇症化阻止、救命率改善の可能性

昏睡発現前の各種治療法について施行例と非施行例の劇症化率を比較した(表5)。対象症例は昏睡非発現例115例に対し昏睡発現した全症例52例(計167例)、PT40%以下から2日以降に昏睡発現した例36例(計151例)、PT40%時点で昏睡度0度から昏睡発現した27例(計142例)の3種類に設定して比較した。いずれの対象においても、治療施行例の方が劇症化率が高い傾向を示した。特に、ステロイド、血漿交換、濾過透析、インターフェロンにおいてこの傾向が強かった。同様に、内科的救命率についてみると(表6)、治療施行例の方がやはり救命率が低い傾向を示した。

各種治療法の施行例と非施行例の背景因子を比較すると、全体として施行例の方が予測劇症化確率が高い、アルブミンが低い、T.Bil.が高い、PTが低い傾向が得られた(データ省略)。

図1. 劇症化例におけるPT40%以下から昏睡発現までの日数

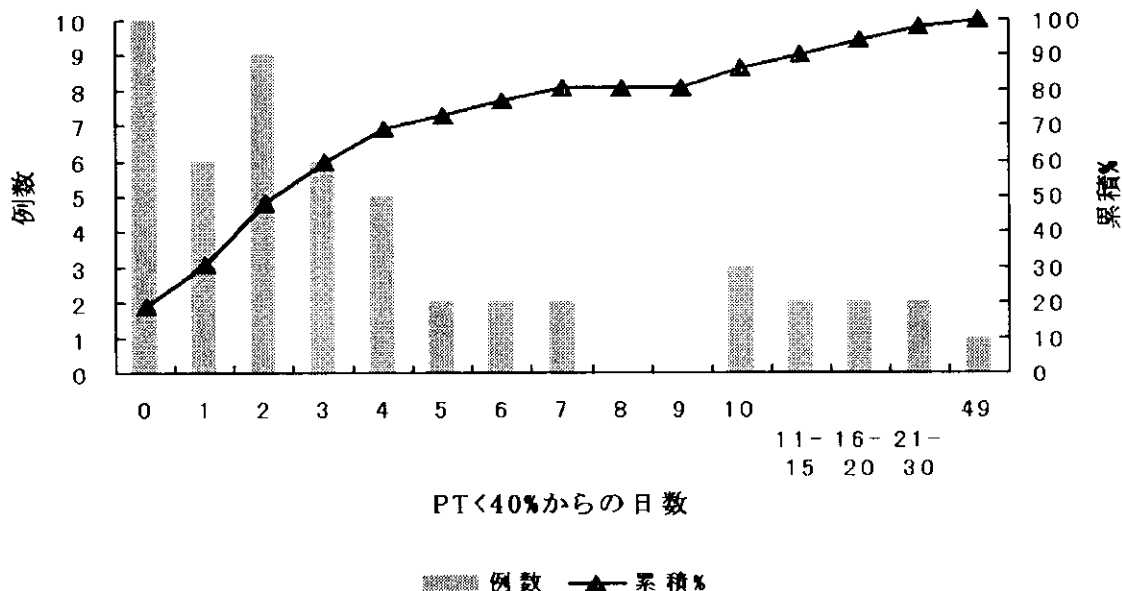


表 2. 劇症化予測式の有用性

	Sensitivity	Specificity	Validity	Accuracy
全症例 167 例				
研究班式	51.9	90.4	42.3	78.4
与芝式	81.6	39.3	20.9	52.2
1999 年以後 100 例				
研究班式	42.4	89.6	32.0	74.0
与芝式	78.1	39.1	17.2	52.1

図2. 昏睡発現の有無からみた研究班式予測劇症化確率の分布

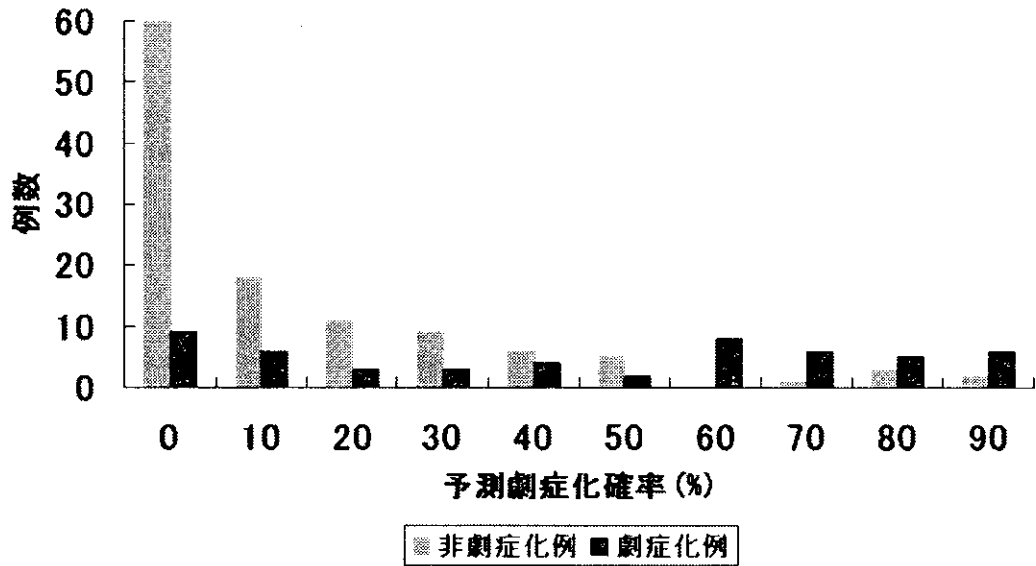


図3 昏睡発現の有無からみた与芝式予測劇症化確率の分布

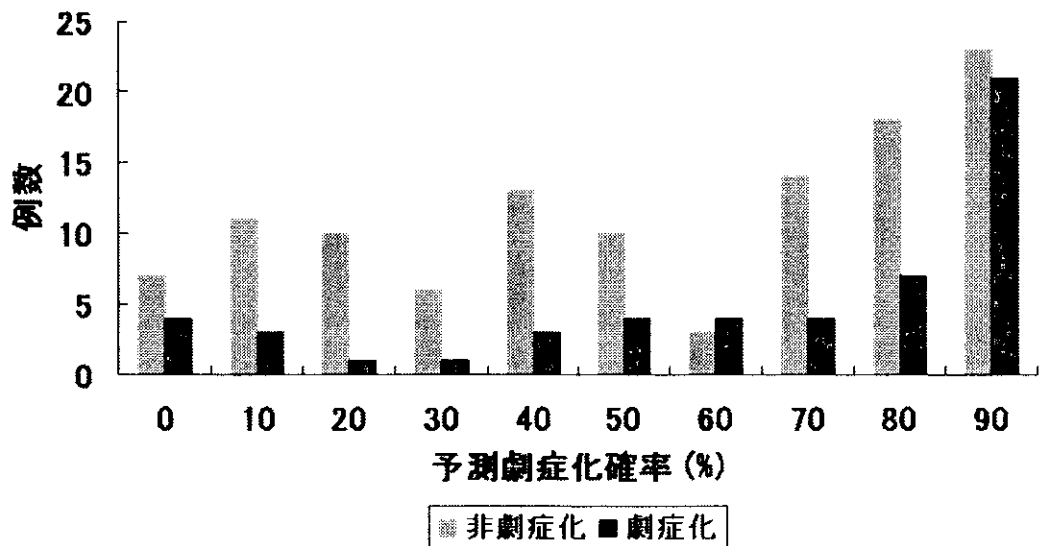


表 3. 予測劇症化確率が 20%以下で劇症化した 15 例の臨床的特徴

予測劇症化確率 (n)	<20% (15)	20%< (37)	p
年齢	28 [23-46]	60 [53-64]	<0.001
T.Bil.	7.1 [4.3-12.3]	17.7 [9.5-22.5]	<0.01
PT	27.2 ± 7.8	24.2 ± 8.6	0.17
発症-PT<40%期間	4 [2-17]	12 [5-19]	0.16
成因			
HAV	2	0	
HBV	6	7	
HBV carrier	2	11	
HCV	0	1	
nA-E	4	14	
Drug	1	4	

表 4. 劇症化予測確率と劇症化率および内科的救命率との関連

予測劇症化確率	< 20%	20-80%	80% <
劇症化率			
研究班式	16.1 (15 / 93)	44.8 (26 / 58)	68.8 (11 / 16)
与芝式	21.1 (4 / 19)	23.3 (17 / 73)	40.6 (28 / 69)
内科的救命率			
研究班式	91.4 (85 / 93)	63.8 (37 / 58)	43.8 (7 / 16)
与芝式	100 (19 / 19)	83.6 (61 / 73)	66.7 (46 / 69)

表 5. 治療法と劇症化確率との関連

	全症例		PT40%以下-昏睡 > 2日		昏睡 0 度症例	
	劇症化率 (施行/非施行)	p	劇症化率 (施行/非施行)	p	劇症化率 (施行/非施行)	p
特殊組成アミノ酸	39.4/29.1	0.295	31.0/22.1	0.336	26.1/20.6	0.580
グルカゴン・インスリン療法	29.6/32.9	0.738	23.0/25.0	0.849	21.2/22.4	1.00
抗凝固療法	29.6/34.5	0.599	22.4/24.9	0.552	18.5/27.3	0.265
ステロイド	38.7/25.6	0.092	32.4/17.3	0.036	30.8/15.5	0.050
血漿交換	46.5/25.8	0.014	39.5/18.6	0.015	34.5/17.7	0.071
濾過透析	65.4/24.8	<0.01	60.9/17.2	<0.01	46.2/18.8	0.34
インターフェロン	62.5/27.8	<0.01	60.0/19.9	<0.01	63.6/17.5	<0.01
サイクロスポリン A	50.0/29.5	0.286	50.0/21.4	0.054	50.0/20.2	0.114
プロスタグランディン	28.9/31.7	0.843	25.0/23.9	1.00	19.2/21.9	1.00
ラミブジン	43.5/42.6	1.00	35.0/32.5	1.00	35.7/32.4	1.00

施行例の劇症化率 / 非施行例の劇症化率、p

表 6. 治療と内科的救命率との関連

	全症例		PT40%以下-昏睡 > 2日		昏睡 0 度症例	
	救命率 (施行/非施行)	p	救命率 (施行/非施行)	p	救命率 (施行/非施行)	p
特殊組成アミノ酸	15.4/38.5	0.203	0.00/33.3	0.096	0.00/38.1	0.010
グルカゴン・インスリン療法	25.0/39.3	0.548	5.9/42.1	0.040	14.3/46.2	0.179
抗凝固療法	21.9/50.0	0.108	9.1/50.0	0.022	13.3/50.0	0.100
ステロイド	31.0/34.0	0.717	27.3/21.4	0.724	37.5/18.2	0.556
血漿交換	20.0/40.6	0.299	13.3/33.3	0.392	20.0/35.3	0.300
濾過透析	11.8/42.9	0.077	7.1/36.4	0.142	16.7/33.3	0.468
インターフェロン	40.0/31.0	0.787	33.3/22.2	0.793	28.6/30.0	0.720
サイクロスポリン A	20.0/34.8	0.619	20.0/26.7	0.685	33.3/29.2	0.872
プロスタグランジン	0.00/42.5	0.020	0.00/33.3	0.096	0.00/38.1	0.177
ラミブジン	40.0/65.0	0.296	28.6/15.4	0.282	40.0/27.3	0.043

施行例の救命率 / 非施行例の救命率、

D. 考察

急性肝炎重症型の約30%が劇症化することが判明した。劇症化例の昏睡発現時期は、PTが40%以下を示した時点から3日以内が約60%を占めたことより、劇症化を予知して早期に治療を開始するという観点からは、現在のPT40%時点での判定はやや遅い可能性も考えられた。一方、PTが40%以下に低下した症例でも約70%は劇症化しないということも事実であり、判定の時期に関しては今後さらに検討が必要と考えられた。

研究班式(3)、与芝式(2)ともにPT40%以下の時点での臨床データを基に作成された予知式であるにもかかわらず、全国から登録された症例をプロスペクティブに検討した結果、この2つの式の有用性に大きな違いがみられた。与芝式の問題点はsensitivityが極端に高い点にある。これは与芝式作成の対象となった急性肝炎重症型の劇症化率が75%であり(2)、全国集計(30%)とはかけ離れて高いためと考えられる。従って、式の不一致の原因は与芝式の対象例が全国集計サンプルの母集団とは異なる母集団からの抽出例であるか、または昏睡発現の判定基準が全国症例と異なるかのいずれかと考えられる。いずれにしろ、与芝式を全国集計の母集団に適用すると48%誤判定するという結果であり、改良が必要と考えられた。

研究班式の問題点はsensitivityの低さである。これは劇症化する例を劇症化しないと誤判定する可能性が高いことを意味しており、早期予測、早期治療開始による劇症化予防という目的から考えると重大な欠点といわざるを得ない。今回の検討で、成因も含めた式の見直しを行ったが現在の研究班式を上回る有用性をもつ式は得られなかったことより、現在用いられている検査値、背景因子などの要素だけでは予知に限界があると考えられた。また、先に述べたように、PT40%以下の時点という判定時期の問題も含め、予知方法のさらなる改良が今後の重要な課題と考えられた。

今回のプロスペクティブスタディーでは治療法の評価も行った。しかし、劇症化予防、最終的な救命率の

向上に寄与する治療法は確認できなかった。その大きな要因として、治療法の選択が無作為化されておらず、より重症な例に治療するという大きなバイアスが存在したという点にある。有意差を得るのに必要な標本数を検討すると、劇症化率30%を10%にまで引き下げる治療法では約40例で十分であるが、劇症化率20%にまでしか改善しない治療法では約300例が必要である。5年間で集計された症例数と現行治療法の効果を考慮すると、治療法を絞ったうえで、全国レベルでの比較対照試験が必要と考えられた。

E. 結論

1. 急性肝炎重症型の約30%が劇症化し、劇症化例の60%はPT40%から3日以内に昏睡が発現した。
2. 予知式のsensitivity, specificityは研究班式でそれぞれ51.9%, 90.4%、与芝式では81.6%, 39.3%であった。
3. 劇症化の判定時期も含めた予知法の改良が必要と考えられた。
4. 治療法の効果判定には全国レベルでの無作為化比較対照試験が必要と考えられた。

F. 参考文献

- 1) 藤原研司、他：劇症肝炎、遅発性肝不全 (LOHF: late onset hepatic failure) の全国集計 (1999年) 厚生労働省 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年度研究報告書. P24,2000.
- 2) 関山和彦、他：劇症化の予知 肝臓 40:168-170,1999.
- 3) 佐藤俊一、他：劇症肝炎および急性肝炎重症型の予後に関するprospective study. 厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班 平成10年度研究報告. P65,1999.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木一幸、遠藤龍人、岩井正勝、他：劇症肝炎診療の進歩 予知は可能か：予知式 肝胆膵 42: 455-460,2001.
- 2) 遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：劇症肝炎の予知と治療 内科 87:1168-1172,2001.
- 3) 鈴木一幸、阿部弘一、宮坂昭生、他：急性肝炎および劇症肝炎におけるHBV genotypeと病態. 犬山シンポジウム記録刊行会編 B型肝炎の新しい展開, アークメディア, 東京, p129-132, 2001.
- 4) 鈴木一幸：劇症肝炎の診断基準：その古今東西 カレントセラピー 19:85,2001.
- 5) 宮坂昭生、岡野継彦、熊谷一郎、他：高齢者C型肝炎の臨床像 日本高齢者消化器医学会誌 3:129-134,2001.
- 6) Kasai, K., Sato, S., Suzuki, K. A novel prostaglandin E receptor subtype agonist, ONO-4819, attenuates acute experimental liver injury in rats. Hepatol Res 21:252-260, 2001.
- 7) Orito, E., Ichida, T., Sakugawa, H., et al. Geographic distribution of hepatitis B Virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. Hepatology 34:590-594,2001.
- 8) 鈴木一幸、阿部弘一、宮坂昭生：劇症化時の治療 医学のあゆみ 200:69-72,2002.

2. 学会発表

- 1) 滝川康裕、鈴木一幸、佐藤彰宏、他：劇症肝炎の肝予備能評価としてのプロトロンビン時間の意義. 第27回日本急性肝不全研究会 5月, 2001年.
- 2) 遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：急性肝炎重症型の予後に関するprospective study. 第3回 肝病態・治療研究会 学術集会 6月, 2001年.
- 3) 滝川康裕、遠藤龍人、鈴木一幸：劇症肝炎急性型に対する血液濾過透析の効果に関する研究. 第5会 日本肝臓学会大会シンポジウム 10月, 2001年.

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

当院における劇症肝炎に対する生体部分肝移植の検討

研究協力者 林 紀夫 大阪大学大学院医学系研究科分子制御治療学 教授

研究要旨：当院において劇症肝炎ワーキング・グループを発足させ、1年間に5症例の劇症肝炎を経験した。全例亜急性型で原因はB型、非A非B非C型、drugが各1例で2例は不明であった。予後予測では全例が“死亡”であり、死亡確率は武藤らの式で79～98%、高橋らの式で95～100%と計算された。5例全例の家族に生体移植の説明を行い、3例から同意が得られた。救命し得たのは、これら移植施行症例3例であった。生体移植の同意が得られなかった2症例には、いずれにも転院後に初めて肝移植の必要性が説明されたが、時間的余裕がない急性肝不全症例では、より早期の重症肝炎の時点で移植医療の可能性を説明しておくことが肝要であると考えられた。また1症例の家族は、経済的な問題から生体移植を断念し、脳死移植の登録を希望した。脳死移植へのわずかな可能性を求めて計25回の血漿交換と連日の持続濾過透析などの集学的治療を施行したが、第45病日、感染症にて死亡した。総医療費1450万円を要し、医療経済的な側面からの移植医療の在り方を考えさせられる症例であった。

共同研究者

平松 直樹 大阪大学病態情報内科学
梅下 浩司 大阪大学病態制御外科学

A. 研究目的

劇症肝炎の患者を救命するためには、血液浄化法など内科的集中治療を行うとともに、肝移植を念頭に置いて診療を進める必要がある。当院では、特殊救急部の救命救急センターへの改組(2000年12月)に伴い、多科連携して診療を行うべく「劇症肝炎ワーキング」を立ち上げ、その後1年間に5症例の劇症肝炎を経験し、3症例に生体部分肝移植を施行したので報告する。

B. 研究方法

大阪大学医学部附属病院に2001年に入院し、当院の劇症肝炎ワーキング・グループにて診断ならびに治療にあたった劇症肝炎5例について解析し、問題点について考察する。予後予測の判定は、①肝移植適応ガイドライン(急性肝不全研究会、1996)、②劇症肝炎分科会の予後予測式(武藤ら、1994)、③高橋らの予後予測式(1994)、④King's College Hospitalの劇症肝炎に対する肝移植適応Criteria(1989)について検討した。

C. 研究結果

1) 5例の劇症肝炎はいずれも他院からの転入院症例で全例亜急性型であった。年齢は14才～56才で男性2例、女性3例であった。原因はB型、非A非B非C型、drugが各1例で2例は不明であった。いずれも臨床的に内科治療による回復が困難と考えられた症例であったが、いずれの予後予測判定法を用いても全てが“死亡”と判定され、死亡確率は武藤らの式で79～98%、高橋らの式で95～100%と計算された(表1)。

	肝移植適応ガイドライン 劇症発症時 5日後	武藤らの式	高橋らの式	King's College Hospital
(例) S.M. 29才 不明/亜急性型	死亡(3)死亡	λ :1.38 80%	RS:3.64 97%	死亡
(例) U.T. 26才 寡毒性疑い/ 亜急性型	死亡(2)死亡	λ :2.03 88%		死亡
(例) M.N. 14才 非A非B非C型/ 亜急性型	死亡(3)死亡	λ :1.34 79%	RS:2.86 95%	死亡
(例) M.K. 51才 不明/亜急性型	死亡(5)死亡	λ :3.78 98%	RS:6.69 100%	死亡
(例) S.K. 56才 B型/亜急性型	死亡(3)死亡	λ :2.33 91%	RS:4.66 99%	死亡

2) 全例に肝補助療法を含む集学的治療を施行したが、いずれにも症状の改善が認められなかったため、転院前より家族が生体肝移植を考慮していた1例を除く4例に脳死移植の説明を行い、うち3例から登録の承諾を得た。生体移植の説明は5例全例に行い、3例から承諾が得られた。生体移植の同意が得られなかった2症例の患者家族にはいずれにも転院後に初めて肝移植の必要性が説明された。このうち1例の家族は、経済的な問題から生体移植を断念し、脳死移植の登録を希望した。救命し得た生存例はいずれも生体肝移植を施行した3例で、移植を施行し得なかった他の2例は死亡した(表2)。

3) 脳死移植の待機例はHBVの急性感染によって発症した56才女性であった。計25回の血漿交換、連日の持続濾過透析、Steroid Pulse療法、lamivudine投与などの集学的治療を施行したが、第45病日、感染症にて死亡した。総医療費は1450万円であった。

表 2. 劇症肝炎症例の転帰

年齢・性	脳死移植	生体移植	転帰
(日) 29歳・女	登録	施行	生存
(月) 26歳・女	—	施行	生存
(火) 14歳・男	登録	施行	生存
(水) 5歳・男	希望せず	希望せず	死亡
(木) 56歳・女	登録	希望せず	死亡

D. 考察

劇症肝炎亜急性型は集中治療を施行しても救命率は20%程度と非常に低く、予後不良である。当院での劇症肝炎ワーキング・グループが関与した過去1年間の劇症肝炎例は、5例全例が亜急性型でいずれの予後判定法においても全て“死亡”であった。この場合、血漿交換をはじめとした人工肝補助療法はあくまで肝移植までのbridge useとして捉えられるべきであり、実際に5例中、救命し得たのは生体部分肝移植が施行できた3例であった。劇症肝炎分科会によると1999年の劇症肝炎例に対する肝移植施行による救命率は81.5%と非常に良好な成績であり、今後、いかにして移植に繋げられるかが課題となるものと考えられる。今回、移植の施行に至った3症例にはいずれにも比較的早期より移植の必要性が説明されていた。慢性肝不全例とは異なり、急性肝不全例では時間的余裕がないため、特に生体移植の同意は得にくい、重症肝炎の時点で移植医療の可能性を説明しておくことが家族からの移植同意には重要であろう。また今回、巨額な個人負担のため生体移植を断念し、脳死移植の登録のみを行った症例を経験した。武藤らの式、高橋らの式のいずれにおいても死亡確率は90%を超えていたが、脳死移植へのわずかな可能性を求めて集中治療を続けた。死亡という結果になったが、45日間の総医療費

1450万円は、信州大学より報告された生体肝移植のドナーとレシピエントの双方に要する平均医療費1350万円を上回るものであり、医療経済的な側面からの移植医療の在り方を考えさせられる症例であった。

E. 結論

劇症肝炎例、特に亜急性型では血液浄化法を中心とした集中治療では十分な救命率は得られない上、高額な医療費が必要となる。欧米のように脳死移植に頼れない本邦の現況においては、生体移植にいかに関与かが救命への鍵を握るものと考えられ、患者や患者の家族からいかに早期から移植医療についてのinformed consentをとるかが大事であり、また将来的には生体移植に対する保険適応の拡大も考慮に入れる必要があるであろう。

F. 研究発表

1. 論文発表：
 - 1) Tatsumi T, Takchara T, Kanto T, Miyagi T, Kuzushita N, Sugimoto Y, Jinushi M, Kasahara A, Sasaki Y, Hori M, Hayashi N. Administration of interleukin 12 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines in mouse hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 61:7563-7567,2001
 - 2) Haruna Y, Kanda T, Honda M, Takao T, Hayashi N. Detection of hepatitis C virus in the bile and bile epithelial cells of hepatitis C virus-infected patients. *Hepatology* 33: 977-980,2001
2. 学会発表：なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：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

骨髄性プロトポルフィリン症における急性肝不全と遺伝子異常

研究協力者 坪内 博仁 宮崎医科大学第二内科 教授

研究要旨：急性肝不全を合併した骨髄性プロトポルフィリン症一家系の遺伝子異常を解析した。FECH遺伝子イントロン⁹⁺¹G→Aの点突然変異によるエクソン9欠失がみられたが、発端者では正常アレルからのFECH遺伝子発現がみられずCpGメチル化の関与が考えられた。低発現の正常アレルが肝障害の重症度に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

骨髄性プロトポルフィリン症（EPP）は、ヘム合成の最終酵素であるフェロケラターゼ（FECH）活性低下によって生じる先天性代謝異常症である。致死的な肝不全を合併したEPP一家系の遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

RT-PCR法を用いてFECH遺伝子発現を解析し、その塩基配列を決定した。また、FECH遺伝子5'上流領域の塩基配列およびCpGメチル化を解析した。

C. 研究結果

発端者、母親、妹にFECH遺伝子イントロン⁹⁺¹G→A点突然変異がありエクソン9欠失転写産物が認められた。肝不全で死亡した発端者には父由来の正常転写産物が検出されず、両者に-87bp～-31bp領域のCpG配列のメチル化が検出され、正常アレルからのFECH遺伝子転写障害が示唆された。

D. 考案

本家系ではFECH遺伝子イントロン⁹⁺¹G→Aによるエクソン9欠失がEPPの発症に関与し、5'上流-87bp～-31bpのCpGメチル化による正常アレルからの発現抑制が肝障害の重症度（表現型の差異）に関与した可能性が示唆された。

E. 結論

FECH遺伝子正常アレルからの低発現が肝障害の重症度に関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

第36回 Annual Meeting of European Association for the Study of the Liver
第98回日本内科学会総会
第37回日本肝臓学会総会
第38回日本臨床分子医学会学術集会

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（難治性の肝疾患に関する研究事業） 分担研究報告書

自己骨髄細胞を用いた難治性肝疾患に対する細胞療法の開発

研究協力者 沖田 極 山口大学医学部附属病院長

研究要旨：幹細胞を用いた細胞療法は、新たな臓器再生法として期待できる。肝幹細胞は肝臓のヘリング管および骨髄に存在し、肝、胆管、膵臓、小腸細胞へと分化する。我々は肝不全時の治療として、倫理的にも問題がない自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法（細胞療法）の臨床開発への基盤研究として、第1段階として骨髄細胞からの肝細胞への分化・増殖のGFP (Green fluorescent protein) transgenic miceを用いた in vivo評価モデルの開発に成功したので報告する。

共同研究者

寺井崇二^{1,2)}、坂井田 功²⁾、仁科博史³⁾
¹⁾山口大学医学部生体防御機能学・助手
²⁾山口大学医学部附属病院・第1内科・院内講師
³⁾東京大学大学院・薬学系研究科・助教授

A. 研究目的

骨髄中に肝幹細胞が存在することが注目されている。骨髄細胞を用いた細胞療法は未開発であり、我々は劇症肝炎の新たな治療法としての「自己骨髄細胞を用いた細胞療法（肝臓再生療法）」の臨床開発への基盤研究として、骨髄細胞からの肝細胞への分化・増殖 in vivo評価モデルを開発を行った。

B. 研究方法

GFPトランスジェニックマウスより全骨髄細胞を採取する。次に同種同系のC57BL/6のマウスに対して、尾静脈より骨髄細胞を、 1×10^6 個ずつ投与する。投与するマウスは、肝障害モデル群（CCl4 0.2ml/kg, 週2回4週間投与後）と正常モデル群とし、1週間ごとにGFP陽性細胞の存在の有無を肝臓を摘出し検討した。肝細胞マーカー（Albumin, AFP）、胆管細胞マーカー（CK-7,19）、幹細胞マーカー（c-kit, CD34, Liv）、肝臓特異的な転写因子群（HNF4, HHM）を用い、免疫染色、蛍光二重染色にて骨髄細胞から肝細胞への分化・増殖を評価した。

C. 研究結果

正常群では、GFP陽性細胞の肝臓への遊走はほとんどみられず、肝障害モデル群に投与したモデルで1週間後より肝臓の門脈周囲を中心にGFP陽性細胞を認め、4週間後には、さらにその局在は肝小葉内に広がり、画像解析にて一画面あたり25%まで増加していた。また蛍光二重染色にて、GFP陽性細胞の肝、胆管、幹細胞、転写因子群マーカーの発現を確認した。

D. 考察

肝障害時に著明に、門脈周囲および小葉内にGFP陽

性細胞が増加し肝細胞に分化していたことは、特殊な条件にて、骨髄細胞は肝細胞に分化する可塑性を示す。また過去に知られている肝幹細胞のマーカーを発現しながら分化が進行したことは、我々のモデルは骨髄細胞から肝細胞の分化・増殖を評価できるモデルであると考えられた。

E. 結論

今回我々はGFPトランスジェニックマウスを用いた骨髄細胞から肝細胞への分化評価モデルを世界に先駆け開発した。今後このモデルを用い、劇症肝炎に対する自己骨髄細胞を用いた細胞療法の開発のために、基盤技術、知見を明らかにしていく。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Terai S, Sakaida I, Yamamoto N., Omori, K., Miyamoto, Shinoda K., Thorgeirsson SS., Okita K. A new in vivo model to monitor the differentiation of bone marrow cells into hepatocytes (In submission)
- 2) Terai S, Sakaida I, Okita K et al. Development of new regenerative model: transplanted GFP positive bone marrow cell migrated into damaged area and differentiated into hepatocyte. *Hepatology* 34:4:235A, 2001
- 3) Terai S., Thorgeirsson SS., Okita K. HHM: a dominant inhibitory Helix Loop Helix protein which associated with liver stem cell and liver development. *Growth, Proliferation and Apoptosis in Hepatocyte* (Springer Verlag) 1-9, 2001
- 4) Terai S., Thorgeirsson SS. Human homologue of maid: A dominant inhibitory helix-loop-helix protein associated with liver-specific gene expression. *Hepatology*;32(2):357-66, 2000

学会発表

- 1) Terai S, Sakaida I, Okita K et al Development of new regenerative model: transplanted GFP positive bone marrow cell migrated into damaged area and differentiated into hepatocyte.
2001年度アメリカ肝臓病学会総会プレナリーセッション口頭発表
- 2) 寺井崇二, 山本直樹, 沖田 極
自己肝幹細胞を用いた肝臓再生療法の開発を目指して—GFP transgenic mouseを用いたモデルの開発—
DDW-Japan Work Shop
消化器幹細胞研究のフロンティア

G. 知的所有権の出願・登録状況

- 1) 寺井 崇二, 沖田 極
骨髓細胞の遊走・分化・増殖評価モデル動物およびその利用法
特許出願 特願2001-271240号

厚生科学研究費補助金（難治性肝疾患研究事業）

分担研究報告書

重症型アルコール性肝炎の全国調査

分担協力者 石井 裕正 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：【背景】重症型アルコール性肝炎は、肝性脳症、肺炎、急性腎不全、消化管出血などの合併や、エンドトキシン血症などを伴い、劇症肝炎と同様に予後不良な疾患であるが、その進展機序については不明な点が多く、いまだ標準的な治療法も確立されていない。【目的】今回、重症型アルコール性肝炎患者について、その予後予測因子を解析し、ステロイド、血漿交換などの治療効果について検討した。【方法・対象】全国の日本消化器病学会認定施設、関連施設に重症型アルコール性肝炎患者について劇症肝炎に準じたアンケートを行い、予後予測因子につき生存例と死亡例との間で有意差のある臨床データ（血液検査データ、合併症、飲酒量など）を解析した。また、ステロイド、血漿交換などの治療効果について、生存例と死亡例で有意差があるか検討した。【成績】近年、重症型アルコール性肝炎患者は増加傾向にあり、特に女性の増加が目立った。診断時の血液検査の検討では、プロトロンビン時間(PT)延長例、赤血球数(RBC)減少例、白血球数(WBC)増加例に死亡例が多かった。診断から5日目の血液検査の検討では、PT延長例、WBC増加例、クレアチニン上昇例に死亡例が多かった。合併症では、感染症合併例に死亡例が多く、消化管出血、敗血症合併例でも死亡例が多い傾向にあった。このような例では、感染症に対する予防、治療に加えて、血漿交換、血液濾過透析、抗凝固療法などの集学的治療を早期から行う必要があるが、ステロイド投与は合併症を増悪させて予後を悪化させる可能性も示唆された。【結語】近年、重症型アルコール性肝炎患者は女性を中心に増加傾向にある。PT延長、RBC減少、WBC増加やクレアチニン上昇例、感染症、消化管出血、敗血症合併例で死亡例が多く、このような例では集学的治療を早期から行う必要があるが、ステロイド投与は予後を悪化させる可能性もあり、慎重な投与が必要であることが示唆された。

A. 研究目的

重症型アルコール性肝炎は、アルコール性肝炎の中で、肝性脳症、肺炎、急性腎不全、消化管出血などの合併や、エンドトキシン血症などを伴い、禁酒しても肝腫大は持続し、多くは1ヶ月以内に死亡するものをさす。プロトロンビン時間は50%以下で著しい多核白血球増加をみる。組織学的には多数のマロリー体の出現と強い肝細胞変性、壊死などがみられるのが特徴であり、劇症肝炎と同様に予後不良な疾患である。近年、本邦のアルコール性肝障害において、この重症型アルコール性肝炎例の増加が認められるため、この疾患への対応が急務と考えられる。この疾患の予後を改善するには、早期発見と早期の治療開始が不可欠であるが、一般の臨床家や内科医においては、まだまだ、この疾患についての認識が少なく、急性肝炎と診断され肝庇護剤などの投与を受け、肝性脳症、肺炎、急性腎不全、消化管出血などの合併症が出現した時点で専門病院に紹介されることが多い。また、その進展機序については不明な点が多く、そのためいまだ標準的な治療法も確立されていない。

今回、全国規模で重症型アルコール性肝炎患者についてのアンケート調査を実施し、その臨床データから予後予測因子を解析し、ステロイド、血漿交換などの治療効果について検討した。

B. 研究方法

全国の日本消化器病学会認定施設、関連施設と当院の関連病因併せて1350施設に対して平成10年から平成12年に入院した重症型アルコール性肝炎患者を含むアルコール性肝障害患者についてアンケートを行った。重症型アルコール性肝炎患者については、劇症肝炎に準じた臨床データ（血液検査データ、合併症、飲酒量など）の追跡調査を実施し、予後予測因子につき生存例と死亡例との間で有意差のある臨床データを解析した。また、ステロイド、血漿交換などの治療効果について、生存例と死亡例で有意差があるか検討した。

C. 研究結果

郵送対象施設数1350施設に対して、回答のあった施設は142施設で、回答率は11%であった。重症型アルコール性肝炎を経験した施設は36施設で、63症例の臨床データが寄せられた。そのうち解析可能な症例は59例で、この59例について検討した。生存例が17例で、死亡例が42例であった。この症例数は、平成2年—4年度文部省科学研究費補助金総合研究(A)アルコール性肝硬変・肝癌の病態と成因に関する総合的(疫学から分子生物まで)研究(高田班)のときの42例を上回るものである。

平成10年から平成12年にかけて重症型アルコール性肝炎患者数は徐々に増加していた。特に女性の増加

が特徴的であった。重症型アルコール性肝炎患者の生存例、死亡例、それぞれの患者背景では、女性で死亡例が多い傾向にあったが、有意差は認めなかった。年齢、総飲酒量、直前飲酒量についても有意差を認めなかった。身体所見でも、発熱、意識障害、黄疸、腹水の頻度は、生存例と死亡例で有意な差を認めなかった。死亡例で頰脈を呈する症例が多い傾向にあった。血液データでは、ウイルスマーカー陽性者は59例中8例で、生存例と死亡例で有意な差を認めなかった。

重症型アルコール性肝炎診断時のプロトロンビン時(PT)延長例、赤血球数(RBC)減少例、白血球数(WBC)増加例に死亡例が多かった。血清総ビリルビン値や腎機能(クレアチニン:Cr)も死亡例で高値を示したが、ばらつきが多く有意差は認めなかった。肝逸脱酵素は有意差はないものの、むしろ生存例で高値を示した。臨床診断による肝硬変の合併率は生存例(35%)、死亡例(48%)で有意差はなく、実際、血小板数にも有意差を認めなかった。

重症型アルコール性肝炎診断時の血液検査値で有意差のあったPT、RBC、WBCについて、死亡例を死亡予測率100%、生存例を0%として多変量解析(重回帰分析: Multiple Regression)を行うと、

死亡予測率(%)

$$=145-1.4 \times \text{PT}-0.167 \times \text{RBC}+0.00105 \times \text{WBC}$$

という式が得られ、カットオフ値を50%とすると、特異性は83.7%だが感受性は97.6%で、正診率も84.7%となる。また、誤診率を下げるために重症型アルコール性肝炎診断5日目の血液検査値で有意差のあったPT、WBC、Crについて、同様の多変量解析を行うと、

死亡予測率(%)

$$=77-1.1 \times \text{PT}+0.00125 \times \text{WBC}+5.5 \times \text{Cr}$$

という式が得られ、カットオフ値を50%とすると、特異性は87.2%だが感受性は97.1%で、正診率も88.5%となる。

合併症の見地から比較すると、重症型アルコール性肝炎患者の死亡例では、生存例より感染症の合併が有意に多く、消化管出血と敗血症(DIC)の合併が多い傾向を示した。血漿交換、血液(濾過)透析などの治療は、予後に影響を与えず、むしろステロイド投与群に死亡例が多い傾向にあった。

D. 考察

重症型アルコール性肝炎は、劇症肝炎と同様に予後不良な疾患である。この疾患の予後を改善するには、早期発見と早期の治療開始が不可欠であるが、一般の臨床家や内科医においては、まだまだ、この疾患についての認識が少なく、急性肝炎と診断され肝庇護剤などの投与を受け、肝性脳症、肺炎、急性腎不全、消化管出血などの合併症が出現した時点で専門病院に紹介され、血液浄化療法など施行されても予後不良のことが多い。今回の検討でも、重症型アルコール性肝炎患者59例中生存例が17例で、死亡例が42例と予後不良な疾患と考えられた。

平成10年から平成12年にかけて重症型アルコール

性肝炎患者数は徐々に増加し、特に女性の増加が特徴的であった。今回の解析の結果では、重症型アルコール性肝炎患者の生存例、死亡例、患者背景では、女性で有意差はないものの死亡例が多い傾向にあった。女性は男性と比べ比較的少量の飲酒でアルコール性の肝障害に進展し、また、重症化しやすいことが知られている。近年、先進諸国の中で我が国だけが成人一人当りの飲酒量が増加しており、この原因として女性の社会進出に伴う飲酒機会の増加や、女性を中心としたワイン、カクテル、発泡酒ブームが関与していると推察される。実際、近年の重症型アルコール性肝炎患者増加は、そのほとんどが女性患者数の増加によっており、2000年度には重症型アルコール性肝炎患者のうち32%が女性であった。今後、特に女性の大酒家に対する節酒指導が重要となり、重症型アルコール性肝炎罹患の際には特に注意を要すると考えられた。

一方、年齢、総飲酒量、直前飲酒量については有意差を認めなかった。これは正確な飲酒量の把握が難しく、死亡例では同居している家族のいないことや意識障害から飲酒量について十分に把握できない例が多かったことによる可能性もある。身体所見でも、発熱、意識障害、黄疸、腹水の頻度は、生存例と死亡例両群において高率に認められ、有意な差を認めなかった。死亡例で頰脈を呈する症例が多い傾向にあった。これは、死亡例でRBCの低下例が多いことを反映していると考えられた。

血液データでは、ウイルスマーカー陽性者は59例中8例で、生存例と死亡例で有意な差を認めず、肝炎ウイルスは予後には有意な影響を与えていないと考えられた。また、臨床診断による肝硬変の合併率は生存例(35%)、死亡例(48%)で有意差はなく、実際、血小板数にも有意差を認めず、死亡例の血小板数平均値も14万以上あった。このことから、文部省科学研究費補助金総合研究(高田班)にあるように、末期肝硬変は今回の症例からは適切に除外され、肝硬変の有無は予後には有意な影響を与えていないと考えられた。

重症型アルコール性肝炎診断時のPT延長例、RBC減少例、WBC増加例に死亡例が多かった。血清総ビリルビン値や腎機能も死亡例で高値を示したが、ばらつきが多く有意差は認めなかった。肝逸脱酵素は有意差はないものの、むしろ生存例で高値を示した。このことから、肝予備能(PT)が重要であり、かならずしも肝細胞障害の程度が予後に影響しないことが示唆される。重症型アルコール性肝炎診断5日目の血液検査で、死亡例で生存例より腎機能(クレアチニン)の悪化を認めた。診断時は有意差がなかったことから、その後腎機能が悪化したものと考えられる。腎機能悪化例では積極的に血液(濾過)透析を導入すべきと考えられる。

重症型アルコール性肝炎診断時の血液検査値で有意差のあったPT、RBC、WBCについて、死亡例を死亡予測率100%、生存例を0%として多変量解析(重回帰分析: Multiple Regression)を行うと、

死亡予測率(%)

$=145-1.4 \times \text{PT}-0.167 \times \text{RBC}+0.00105 \times \text{WBC}$
という式が得られ、カットオフ値を50%とすると、特異性は83.7%だが感受性は97.6%で、正診率も84.7%となる。また、誤診率を下げるために重症型アルコール性肝炎診断5日目の血液検査値で有意差のあったPT、WBC、Crについて、同様の多変量解析を行うと、

死亡予測率(%)

$=77-1.1 \times \text{PT}+0.00125 \times \text{WBC}+5.5 \times \text{Cr}$

という式が得られ、カットオフ値を50%とすると、特異性は87.2%だが感受性は97.1%で、正診率も88.5%となる。このような例では、感染症に対する予防、治療に加えて、早期から血漿交換、血液濾過透析、抗凝固療法などの集学的治療を早期から行う必要があると考えられる。

合併症の見地から比較すると、重症型アルコール性肝炎患者の死亡例では、生存例より感染症の合併が有意に多く、消化管出血と敗血症(DIC)の合併が多い傾向を示した。血漿交換、血液(濾過)透析などの治療は、予後に影響を与えず、むしろステロイド投与群に死亡例が多い傾向にあった。このことから、上述の式で死亡予測率が50%を越える例に加え、合併症を有する例も、感染症に対する予防・治療に加えて、血漿交換、血液濾過透析、抗凝固療法などの集学的治療を早期から行う必要がある。

副腎皮質ホルモン(ステロイド)の投与は、重症型アルコール性肝炎のちりょうとしてもっとも試みられている治療ではあるが、その有用性についてはいまだ議論のあるところである。その有用性について多くの研究があるが、投与量、期間、方法および対象の重症度が一定しておらず、その効果については賛否両論あるが、脳浮腫があるなどある一定の条件を満たす群で生命予後の改善を認め、それ以外では有効でないという報告が多い。今回の検討ではステロイド投与は合併症(感染症、消化管出血)を増悪させて予後を悪化させる可能性が示唆されたが、ステロイド投与群で死亡例の多くは発症からしばらくして改善傾向がないために投与されている例であり、感染症や消化管出血を伴っている例も含まれていた。感染症、消化管出血例ではステロイド投与は控えるべきであると考えられた。しかし、ステロイド投与は、エンドトキシン血症から生じるサイトカインを中心とした重症化のネットワークを最初の段階で断つ有効な手段であり、抗生剤でコントロールできない重症感染症や消化管出血例を除いては発症早期に短期間使用するべきと考えられ、今後プロスペクティブな研究を通じて治療指針を決定する必要がある。ただ、感染症、消化管出血を認めない例でも抗生剤や制酸剤の同時投与などの合併症予防対策を講じて慎重に投与するべきと考えられた。

E. 結論

近年、重症型アルコール性肝炎患者は女性を中心に増加傾向にある。PT延長、RBC減少、WBC増加やクレアチニン上昇例、感染症、消化管出血、敗血症合併例で死亡例が多く、このような例では集学的治療を早

期から行う必要があるが、ステロイド投与は予後を悪化させる可能性もあり、慎重な投与が必要であることが示唆された。

今後、さらに症例を集積し、重症型アルコール性肝炎の臨床像を掌握し、進展機序をより解明して、できるかぎり正確な定義と治療方針を作成し、広く一般に知らせることが必要である。また、集学的治療についてプロスペクティブな研究を通じて治療指針を決定する必要がある。

F. 謝辞

今回のアンケート調査にご協力いただいた下記施設に深謝いたします。

相澤病院、愛知医科大学第1内科、秋田大学第1内科、旭川医科大学第2内科、旭川医科大学第3内科、飯山赤十字病院、石川病院、市川クリニック、市立札幌病院、市立備前病院、稲沢市民病院、岩手医科大学附属病院、岩手県立宮古病院、愛媛大学第3内科、大分赤十字病院、大阪市立総合医療センター、大阪市大第3内科、大阪社会医療センター、大阪大学病態制御外科、太田西ノ内病院、大田原赤十字病院、大手前病院、岡山市立せのお病院、小郡第一総合病院、鬼石町病院、尾道病院、鹿児島大学第2内科、金沢医科大学消化器内科、金沢大学がん研究所内科、亀谷内科クリニック、川崎医科大学、川崎市立川崎病院、関西医科大学第3内科、関東中央病院、北里研究所病院、北里大学東病院、岐阜市民病院、岐阜大学第1内科、九州大学第1内科、九大災害救急医学、京都桂病院、京都大学消化器内科、京都通信病院、京都府立第三内科、杏林大学第3内科、釧路労災病院、群馬大学第1内科、県立広島病院、厚生連広島総合病院、厚生連広島総合病院、高知医科大学第1内科、公立横手病院、国際医療福祉病院、小倉記念病院、国立大竹病院、国立病院長崎医療センター、国立療養所久里浜病院、国立療養所中信松本病院、国立療養所久里浜病院、済生会有田病院、済生会宇都宮病院、済生会中央病院、済生会新潟第2病院、済生会福岡総合病院、榊原病院、相模台病院、札幌東徳洲会病院、自衛隊中央病院、自治医科大学、下関厚生病院、下関厚生病院、社会保険田川病院、順天堂大学、消化器医療センター朝倉病院、昭和大学豊洲病院、信州大学第2内科、新日鉄広畑病院、聖マリアンナ医科大学西部病院、聖路加看護大学、清和医院、瀬戸内海病院、仙台厚生病院、高村病院、田川病院、立川共済病院、玉置病院、長寿医療研究センター、土谷総合病院、手稲溪仁会病院、同愛記念病院、東海病院、東京医科歯科大学附属病院、東京医療センター、東京厚生年金病院、東京慈恵会医科大学、東京女子医科大学、東京専売病院、東京通信病院、同好会病院、東京大学医学部附属病院、東部地域病院、東邦大学大森第2内科、東北大学消化器外科、東北大学消化器病態分野、遠軽病院、鳥取大学第2内科、富山医薬大学第3内科、都立広尾病院、長崎医療センター、中谷病院、長野県立木曽病院、名古屋大学

第2外科、新潟大学第3内科、日本医科大学附属病院、日本鋼管病院、野上病院、浜松医科大学第2内科、浜松医療センター、浜松赤十字病院、兵庫大学総合内科学講座、弘前大学第一内科、広島通信病院、広瀬町立病院、福井医科大学第2内科、藤井寺市民病院、藤田胃腸科病院、牧方市民病院、松下記念病院、三越総合検診センター、緑市民病院、南多摩病院、宮本病院、六日市病院、名鉄病院、焼津市立病院、山形大学第2内科、横須賀共済病院、横浜新緑病院、与謝の海病院 (アイウエオ順)

G. 研究発表

1. 論文発表

堀江 義則、山岸 由幸、加藤 眞三、石井 裕正: アルコール関連障害のリスク因子に関する最近のトピック—肝微小循環障害からの検討. アルコールと医学生物学 東洋書店. 東京 20: 20-28, 2000.

玉井博修、堀江義則、加藤眞三、大木英二、横山裕一、石井裕正. アルコール性肝炎の新しい動物実験モデル: 経口エンドトキシン投与による慢性エタノール投与ラット肝障害への影響. アルコールと医学生物学 東洋書店. 東京 21: 92-98, 2001.

Tamai H, Kato S, Horie Y, Ohki E, Yokoyama H, Ishii H. Effect of acute ethanol administration on the intestinal absorption of endotoxin in rats.

Alcohol Clin Exp Res 24: 390-394, 2000

Horie Y, Kato S, Ohki E, Tamai H, Yamagishi Y, Ishii H. Hepatic microvascular dysfunction in endotoxemic rats after acute ethanol administration. Alcohol Clin Exp Res 24: 691-698, 2000

Horie Y, Kimura H, Kato S, Ohki E, Tamai H, Yamagishi Y, Ishii H. Role of nitric oxide in endotoxin-induced hepatic microvascular dysfunction in rats chronically fed ethanol.

Alcohol Clin Exp Res 24: 845-851, 2000

Horie Y, Ishii H. Liver dysfunction elicited by gut ischemia-reperfusion. Pathophysiology 8:11-20, 2001

Y Yamagishi, Y Horie, M Kajihara, H Tamai, S

Kato, H Ishii. Ethanol modulates gut

ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats.

Am J Physiol 2002 (In Press).

2. 学会発表

ラット腸管虚血再灌流惹起性肝障害モデルにおける慢性エタノール投与の影響. 堀江義則、山岸由幸、玉井博修、梶原幹生、小西正洋、加藤眞三、石井裕正. 第37回日本肝臓学会総会. 5/2001. 横浜.

重症型アルコール性肝炎における予後予測因子と治療法についての検討 (シンポジウム). 堀江 義則、加藤 眞三、石井 裕正. 第5回日本肝臓学会大会. 10/2001. 京都.

Ethanol modulates hepatic microvascular

dysfunction produced by gut ischemia/reperfusion in rats via nitric oxide. Y Horie, Y Yamagishi, M Kajihara, H Kimura, S Kato, H Ishii. The 50th American Association for the Study of Liver Disease. 11/99. Dallas, TX, USA.

Ethanol modulates gut ischemia/reperfusion-induced hepatic microvascular dysfunction associated liver injury in rats. Yamagishi Y, Horie Y, Kato S, Kajihara M, Tamai H, and Ishii H. Digestive Disease Week 2000, American Gastroenterological Association 5/2000. San Diego, CA, USA.

Chronic ethanol consumption modulates hepatic microvascular dysfunction produced by gut ischemia/reperfusion. Y Horie, Y Yamagishi, M Kajihara, S Kato, H Ishii. The 2000 Meeting of International Association for the Study of Liver 6/2000. Fukuoka, Japan.

Ethanol modulates hepatic microvascular dysfunction elicited by gut ischemia/reperfusion. Y Horie, Y Yamagishi, M Kajihara, S Kato, H Ishii. The 10th Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism 7/2000. Yokohama, Japan.

Role of Intercellular Adhesion Molecule-1 in Chronic Ethanol Consumption-Enhanced Liver Injury after Gut Ischemia/Reperfusion in Rats. Y. Horie, Y. Yamagishi, M. Kajihara, H. Tamai, S. Kato, D.N. Granger, and H. Ishii Digestive Disease Week 2001, American Gastroenterological Association 5/2001. Atlanta, GA, USA.

Chronic ethanol consumption modulates liver injury produced by gut Ischemia/reperfusion. Y. Horie, H. Tamai, Y. Yamagishi, M. Kajihara, S. Kato, and H. Ishii. The 52th American Association for the Study of Liver Disease. 11/2001. Dallas, TX, USA.