

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

Lactoferrinの急性肝不全に対する治療

研究協力者 渡辺 明治 富山医科薬科大学第三内科 教授

研究要旨：Concanavalin A (Con A)誘導肝障害の予防にLactoferrin (Lf) を用い、その有用性とメカニズムについて検討した。Lf 1-2mgをマウスの腹腔内、もしくは尾静脈より投与後、Con A 0.2-1mgを静脈より投与した。Lf の静脈内投与により、血漿ALT上昇、肝壊死とapoptosisは予防され、マウスの致死率も低下した。Lfの腹腔内投与ではCon A肝炎の抑制効果は認められなかった。Lf前投与により、ConA投与後の血清TNF- α 、IFN- γ の上昇は有意に抑制され、末梢血リンパ球中のCD25陽性細胞の増加も軽減させた。また肝臓におけるI κ B α 、リン酸化されたI κ B α の変化を抑制した。

A. 研究目的

Con A 誘導肝障害の予防に Lactoferrin (Lf) 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

Lf 1-2mgを6-10週齢の雌BALB/cマウスの腹腔内、もしくは尾静脈より投与後、Con A 0.2-1mg/bodyを尾静脈より投与した。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するとともに、末梢血リンパ球を採取しflow cytometry (FCM)で活性化マーカーを解析した。同時に肝臓の組織学的変化およびWestern blottingによるI κ B α の変化を解析した。

C. 研究結果

Con Aの尾静脈投与により、24時間以内に急激なALT上昇がみられたが、Lf 2.5mgの経静脈的前投与により、血漿ALT上昇は有意に抑制された(コントロール群：9380 \pm 2174 IU、Lf前投与群：39 \pm 8.2 IU、 $p < 0.01$)。なおLf単独投与による肝障害は認めなかった。Con A大量投与(0.5-1mg)による致死実験では、Lf静脈内前投与によりマウスの致死率も低下した(コントロール群：100%、Lf前投与群：27%)。しかしLfの腹腔内投与群は全例48時間以内に致死し、予防効果を認めなかった。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、Lf前投与で肝内の壊死とapoptosisは抑制された。

また肝臓におけるI κ B α はCon A 投与により有意に減少し、リン酸化されたI κ B α の増加がみられたが、Lf前投与群ではそれらの変化の抑制がみられた。

Lfの経静脈的前投与により、Con A投与3、5時間後の血清TNF- α 、IFN- γ の上昇は有意に抑制された。(TNF- α Con A投与後3時間、コントロール群：727 \pm 64 U、Lf前投与群：131 \pm 21、 $p < 0.01$ 、IFN- γ Con A投与後5時間、コントロール群：754 \pm 41 U、Lf前投与群：417 \pm 64、 $p < 0.02$)。Con Aの投与後3-5時間でマウスの脾重量は約2倍に増加したが、Lf静脈

内前投与群では脾重量は増加せず、Con A肝障害の中心的役割を担うと考えられている末梢血CD25陽性CD4陽性リンパ球数の増加も軽減させた(コントロール群：16%、Lf前投与群：5%)。さらに*in vitro*の系において、脾細胞をCon Aで刺激することによって観察される細胞増殖、TNF- α 、IFN- γ の産生は、Lf前処置によって抑制された。

D. 考察

Lfの静脈内投与で、血中のエンドトキシンもしくはCon AをLfが直接中和することにより、免疫細胞の活性化を抑制し、肝庇護作用を持つものと想定される。肝障害の予防に、ヒトリコンビナントLfは臨床応用が可能な候補であり、重要であると考えられる。

E. 結論

Lfを静脈内に前投与することにより、Con A投与後の肝障害は予防され、致死率も有意に改善した。

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

劇症化の予知と治療
 -HBVキャリアの急性発症を中心に-

研究協力者 与芝 真 昭和大学藤が丘病院消化器内科 教授

研究要旨：我々の今回の検討から劇症肝炎は重症肝炎の時期に劇症化の予知が可能であり、重症肝炎の時期に劇症化を予知して早期に原疾患治療を開始すれば、劇症化を阻止し得るか劇症化しても極めて高率に救命し得る可能性が示された。更に我々の予知式はプロトロンビン時間が40%以下に低下する以前に、劇症化の予測が可能で早期治療に有用であることが示された。

共同研究者
 井上和明
 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 助教授
 山田雅哉
 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 助手
 渡邊綱正
 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 助手

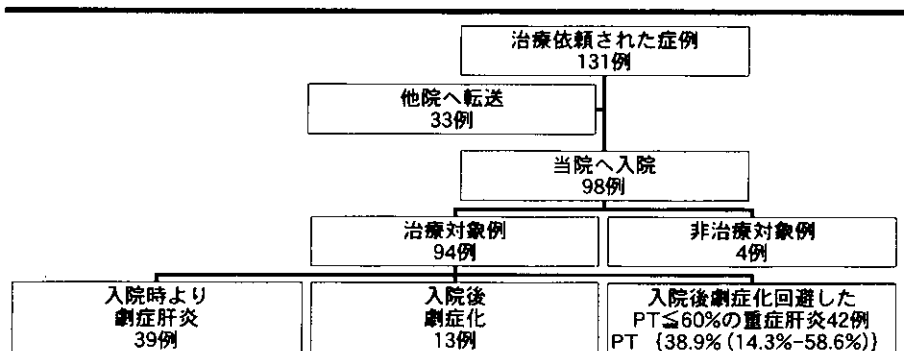
会問題化しており、過去6年間に我々の施設に治療依頼のあった症例を対象に劇症化予知と重症肝炎治療の実態を報告する。

B. 研究方法

1996年から2001年までの過去6年間に昭和大学藤が丘病院に治療依頼のあったPT60%以下の重症肝炎131例のうち当院へ入院して治療を行った、94例を対象とした(図1)。原疾患治療の開始基準は以下の通りである。1)人工肝補助療法(血漿交換+血液濾過透析)は脳症の存在が疑われた場合に開始した。2)抗ウイルス療法はウイルス増殖の持続が想定される場合に開始した。HBV carrierに対してはインターフェロンβ(IFNβ)とラミブジンを(3TC)用い、その他にはIFNβの投与を行った。3)免疫抑制剤の投与は劇症化が予想される場合にメチルプレドニゾロンのパルス投与とサイクロスポリンAの持続投与を行った。

A. 研究目的

我々は既に平成9年の本班会議より、劇症化の予知は可能であり、予知した時点から適切な原疾患治療を行えば、劇症化を阻止し得るかたとえ劇症化しても高率に救命し得る可能性を繰り返し報告してきた。一方、我々の作成した予知式は感度は高いが特異度が低いとの批判があり、他に2つ特異度の高い予知式が提案された。しかし、特異度が高い予知式で予知しても直ちに劇症化し、早期治療により患者を救命する本来の目的にそぐわない事を既に平成 年度の本班会議で指摘した。本年度は劇症化の予知と早期治療が既に社



入院後劇症化を回避した42例の内訳
 予知式陽性

40% ≤ PT ≤ 60% 19例 12/19
 40% < PT 23例 18/23 P=0.46

図1. 治療依頼症例の内訳

(倫理面への配慮)

上記治療は患者及びその近親者に十分な説明を行い、インフォームドコンセントをとってから行った。劇症化したケースでは肝移植も治療の選択肢であることを原則として患者の近親者に説明した。

C. 研究結果

1) 治療依頼症例の治療成績

過去6年間の治療依頼症例131例のうち当院へ入院したのが98例で、他院へ転送されたのが33例であった。98例中治療対象症例となったのは94例であり、治療対象とならなかった4例は入院時に脳ヘルニアによる不可逆的神経障害とショックを併発した2例とカリニ肺炎によるARDSの2例である。94例のうち入院時より劇症肝炎が39例で、入院後に劇症化したものが13例であった。劇症肝炎急性型の救命率は14/17(81.4%)で、亜急性型の救命率は24/35(68.6%)であった(表1)。劇症化を予知し原疾患治療開始後に劇症化した13例は全例救命された。入院後治療により劇症化を回避した症例は42例(全例救命)であり、PTが40-60%の症例で予知式陽性となったものが12/19(63.2%)で、PT 40%以下で予知式が陽性となったものが18/23(78.3%)であった(P=0.46)(表2)。

表1. 劇症肝炎の原因別年次推移

	96	97	98	99	00	01	救命率
A	1	0	1	4	0	1	7/7(100%)
B	3	5	0	1	1	1	8/11(73%)
HBV carrier	3	3	2	3	1	5	10/17(58.8%)
C	0	0	0	1	0	0	1/1(100%)
NANBNC	1	0	2	1	2	2	6/8(75%)
AIH	0	0	0	0	0	0	0
Drug	2	0	2	0	3	1	6/8(75%)
合計	10	8	7	10	7	10	38/52(73.1%)

急性型の救命率14/17(82.3%)、亜急性型24/35(68.6%)
劇症化を予知し治療開始後に劇症化した13例は全例救命

表2. 重症肝炎の年次別推移

原因	年	96	97	98	99	00	01	予知式陽性率	救命率
A		1	1	0	0	1	0	1/3	3/3
B		1	0	2	1	0	2	3/6	6/6
HBV carrier		1	4	2	5	3	5	14/20	20/20
C		0	1	1	0	0	1	3/3	3/3
NANBNC		1	0	1	2	1	1	6/6	6/6
AIH		0	1	0	0	1	1	2/3	3/3
Drug		0	0	0	0	0	1	1/1	1/1
合計		4	7	6	8	6	11	30/42 71.4%	42/42 100%

D. 考察

劇症肝炎として来院した症例の救命率が25/39(64%)であるのに対し、劇症化を予測して、治療を開始した55例では42例で劇症化せずに救命され劇症化

した13例も全例救命されている。これらの事実は早期に劇症化を予知して病態メカニズムに対応した治療を開始すれば、劇症化を阻止し得るか劇症化しても極めて高率に救命可能であることを示している。更に劇症化予知の方法としても我々の予知式は高感度で患者を救命する上で有用であることが、今回改めて確認された。その理由としては我々の予知式はPTの値に影響されることが少なく、鋭敏に肝予備能の低下反映するので早期治療を行う上で有用と考えられる。近年劇症化前に紹介される患者の数が増加しており、早期治療の有効性が一般内科医にも周知のものとなりつつある。

E. 結論

肝炎の劇症化は予知しうる。感度の高い予知式により劇症化を予知し、その時点から適切な原疾患治療を開始すれば劇症化を回避しうるか(42/42)、たとえ劇症化しても極めて高率に救命し得る可能性(13/13)が示された。今後は劇症化を早期に予知し、適切な原疾患治療を早期に開始して患者を救命することが社会からも要求されると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

肝炎の劇症化予知式の評価
渡邊綱正、井上和明、山田雅哉、関山和彦、与芝真
肝臓 2002 (印刷中)
Accurate prediction of fulminant hepatic failure in severe acute viral hepatitis.
Yoshida M, Inoue K, Sekiyama K et al. J Gastroenterol (submitted)

2. 学会発表

肝炎の劇症化予知式の評価
渡邊綱正、井上和明、山田雅哉、関山和彦、与芝真
第27回日本急性肝不全研究会

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（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

ウイルス性肝炎および肝硬変に対する肝移植の検討

分担研究者 川崎 誠治 信州大学第一外科

研究要旨：ウイルス性肝炎および肝硬変のうち、内科的治療に反応しない肝不全状態にある症例に対しては肝移植が唯一の救命手段となりうる。本研究では、これらの疾患に対する肝移植の適応ならびに治療成績向上のための対策について検討した。

A. 研究目的

ウイルス性肝炎および肝硬変症例に対する肝移植の適応ならびに治療成績向上のための対策について検討することを目的とした。

B. 研究方法

対象は信州大学第一外科における生体および脳死肝移植症例171例。このうちウイルス性肝炎および肝硬変は18例であった。これらを対象に適応、術前術後管理、成績を検討した。

C. 研究結果

ウイルス性肝炎および肝硬変の内訳は、B型肝炎ウイルスによる劇症肝炎5例、B型ウイルス性肝硬変4例、C型ウイルス性肝硬変9例であった。13例に生体肝移植を行い、4例にドミノ肝移植を、また劇症肝炎の1例には脳死肝移植を施行した。肝移植の適応は、劇症肝炎例においては、日本急性肝不全研究会が提唱するガイドラインを参考とし、肝硬変例においては、進行する肝不全、肝細胞癌の合併などから検討した。なお合併する肝細胞癌の適応限界については、chemoembolizationなどによって癌のviabilityがコントロールされ、門脈内などに腫瘍塞栓を伴わないものとし、腫瘍の大きさと個数に制限を設けなかった。術後肝炎再発への対策としてB型肝炎例では、HBIGとlamivudineの予防投与を、C型肝炎例では、再発への治療としてribavirin、IFNの投与を行った。追跡期間3-102ヶ月において、C型ウイルス性肝硬変の1例を術後4ヶ月に細菌性肺炎で失ったが、残る17例は生存中である。なお、C型ウイルス性肝硬変例のうちの1例は肝細胞癌の再発を肺に認める癌再発生存例である。

D. 考察

ウイルス性肝炎および肝硬変症例に対する肝移植の成績は比較的良好である。今後さらに肝炎再発への対応を検討していく必要があるとともに、合併する肝細胞癌についても移植後再発を規定する要因を検討し、適応限界についても明らかにしていく必要がある。

E. 結論

ウイルス性肝炎および肝硬変症例に対する肝移植の適応と成績について検討した。

研究発表

1. 論文発表: Hashikura Y, Kawasaki S, et al. Long-term results of living-related donor liver graft transplantation: a single-center analysis of 110 transplants. *Transplantation* 72:95-99, 2001.

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

右後区域グラフトを使用した成人間生体部分肝移植

研究協力者 幕内 雅敏 東京大学肝胆膵外科, 人工臓器移植外科教授

研究要旨：生体部分肝移植においては、左葉では十分なグラフトサイズが確保できないことがある。近年右葉グラフトを用いる試みが為されているが、ドナーの左葉：右葉の比率によっては、ドナーの安全性が十分に確保できない可能性がある。この問題を克服するために、右後区域グラフトを考案し、良好な成績を得た。

A. 研究目的

成人に対する生体部分肝移植は、1994年の初の成功例以来、徐々に症例数が増加し、本邦においては300例以上行われるようになった。欧米では成人のドナーが不足していることから、2人の成人に対する分割肝移植とともに、成人に対する生体肝移植を進めていくことが不可欠となっている。成人例では、いかに十分な重量のグラフトを、ドナーの安全性を失うこと無く、確保するかが問題となっている。

成人生体肝移植においては、世界的には右葉グラフトが主流である。しかし、ドナーの左葉：右葉の比率が右葉グラフトを選択しうるか判断する大きなポイントとなる。ドナーの右葉の比率が70%を超えたものでは、ドナーに不可逆的な高ビリルビン血症を来す可能性があるため、適応外としなくてはならない。このような問題を克服するために、右後区域グラフトを考案し、良好な成績を得たので概説する。

B. 研究対象と方法

左葉+尾状葉グラフトでは十分な体積が確保できず、ドナーのなかで右葉の比率が70%を超えている場合、通常はドナーとなりえない。右後区域の体積が左葉+尾状葉よりも大きく、右後区域で患者の metabolic demand を満たすと考えられる場合に適応とした。

J字切開で開腹、第9肋間で開胸する。動門脈の右前区域枝、左枝を遮断し、main portal fissure にデマルケーションラインをだし、これより5mm 左側を切離ラインとした。動門脈の右前区域枝を遮断しながら肝離断を行った。胆管右後区域枝は術中胆道造影を行って、同定し、肝離断の最後に切離する。

剥離や全肝切除は通常どおり行った。肝静脈の再建では吻合部に緊張がかからないように留意した。右肝静脈を縦軸にそって約1.5cm切開し、V字形のバッチをあてるか、レシピエント肝静脈を形成する必要がある。動門脈の吻合は通常どおり行った。

東京大学では1996年1月より2001年12月までに82例の成人間生体部分肝移植を施行した。このうち10例に右後区域グラフトを移植した。

ドナーは息子4例、配偶者2例、母、甥、いとこ各1例ずつであった。その年齢は23-49才で、体重は45-

82kg (中央値58kg) であった (表2)。

表1 レシピエントの内訳

	年齢・性別	疾患	グラフト/標準 肝容積比 (%)	
			左葉	右 後区域
1	53歳・女	原発性胆汁性肝硬変	31	48
2	48歳・男	C型肝炎肝硬変	27	34
3	51歳・男	原発性胆汁性肝硬変	33	47
4	33歳・女	原発性硬化性胆管炎	24	42
5	47歳・男	原発性胆汁性肝硬変	38	43
6	40歳・男	肝硬変	26	40
7	23歳・女	胆道閉鎖症	36	40
8	33歳・女	劇症肝不全	35	42
9	26歳・男	シトルリン血症	37	46

表2 ドナーの内訳

	年齢・性別	関係	体積比* (%)		
			左葉	右 前区域	右 後区域
1	23歳・男	甥	23	40	36
2	48歳・男	兄	22	44	33
3	47歳・女	妻	27	34	38
4	31歳・女	妹	22	38	39
5	49歳・男	いとこ	29	37	33
6	34歳・男	弟	23	40	36
7	49歳・女	母	29	36	34
8	33歳・男	夫	29	34	36
9	30歳・男	兄	28	37	35

C. 研究結果

ドナーは、いずれも右葉の比率が70%を超えており、右葉切除が困難と考えられた(表2)。左葉では、レシピエントの標準肝容積の24-38%であり、不十分と考えられた(表1)。後区域は、いずれの症例でも左葉より容積が大きくレシピエントの標準肝容積の34-48%であり、有利と判断した。

ドナーに合併症はなかった。手術時間は605-840

分、出血量は427-1100mlで全例、自己血輸血のみで済んでいる。順調に経過し、13-24日で退院した。レシピエントは全例生存した。経過観察期間は4-16ヶ月であった。手術時間は863-1180分、出血量は3447-9367mlであった。肝臓断面からの胆汁瘻は3例に認め、術後7日、40日、55日にドレナージを要した。経過中、急性拒絶反応を4例に認めたが、ステロイドリサイクル療法に良く反応した。

D. 考察

右後区域グラフトを用いて移植を行った症例は、胆汁瘻を33%の症例に認めたものの、全例耐術しており、技術的に大きな問題なく、有効な方法と考えられる。

技術的な問題としては、ドナーの解剖学的問題に留意する。特に動脈と胆管の分岐形態は手術前、あるいは手術中に十分検討する必要がある。すなわち、動脈では、いわゆるA6とA7が別に分岐することがありうるため、この場合、2本再建を余儀なくされる可能性を考えておかななくてはならない。胆管は総肝管より別分岐する場合は特に注意を要さないとされる。しかし、通常分岐、すなわち、右肝管より分岐する場合は、門脈の背側をまわる形になるので、あらかじめ、門脈右後区域枝をテーピングし、腹側にこれを牽引しながら、胆管を処理する必要がある。

E. 結論

生体肝移植成人症例において、右後区域グラフトを用いて、良好な結果を得た。本法は、通常右葉切除が不可能なドナーにおいて、適応可能であるので、生体でのドナープールを増加せしめる有効な手段であると考えられた。

F. 研究発表

1 論文発表

*以下、論文、学会発表はすべて2001年のもの

菅原寧彦、佐野圭二、幕内雅敏. 生体肝移植のトピックス. *GIリサーチ* 2001; 9: 27-32.

幕内雅敏. 本邦における肝移植の現状と今後の課題. *今日の移植* 2001; 14: 501-3

菅原寧彦、幕内雅敏. 成人生体肝移植. *医学のあゆみ* 2001; 196: 1016-9.

幕内雅敏、菅原寧彦. 21世紀に期待される医学と医療 II-治療. *移植医療*. *Pharma Medica* 2001; 19: 17-20.

菅原寧彦、水田耕一、幕内雅敏. 肝移植外科におけるウイルス感染症とその対策. *消化器外科* 2001; 24: 227-32.

菅原寧彦、幕内雅敏. 異種移植の研究. *Annual Review 消化器* 2001 36-43.

菅原寧彦、幕内雅敏. 肝移植手術前の管理. *肝胆膵フロンティア* 2001: 62-64.

幕内雅敏、菅原寧彦. 肝移植の現状. *肝胆膵フロンティア* 2001: 1-3.

田中秀明、菅原寧彦、幕内雅敏. 術後合併症とその対応. *肝臓* 2001; 42: 59-62.

久富信哉、菅原寧彦、幕内雅敏. 消化器臓器の移植. *Annual Review 消化器* 2001 141-6.

田中秀明、菅原寧彦、幕内雅敏. 肝移植後の経過と予後- (4) 術後合併症とその対応. *肝臓* 2001; 41: 59-62.

水田耕一、河原崎秀雄、吉野浩之、田辺好英、河野陽一、橋都浩平、菅原寧彦、今村宏、高山忠利、幕内雅敏. 東京大学における免疫抑制剤 conversion の検討. *今日の移植* 2001; 14: 111-2.

菅原寧彦、幕内雅敏. 慢性肝疾患併存患者の周術期管理. *消化器外科* 2001; 24: 947-50.

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. 劇症肝不全型 Wilson 病に対する生体肝移植における銅代謝の検討. *移植* 2001; 35: 165.

新谷隆、菅原寧彦、幕内雅敏. 成人生体肝移植. *小児外科* 2001; 33: 345-347.

菅原寧彦、幕内雅敏. 生体肝移植-成人における適応. *medicina* 2001; 38: 1172-1175.

菅原寧彦、幕内雅敏. 生体肝移植における経済的諸問題. *消化器外科 Nursing* 2001; 6: 39-41.

菅原寧彦、金子順一、大久保貴生、松井郁一、高山忠利、幕内雅敏、縄田真一、須藤幸一、木村理. 再移植に至った劇症肝炎の一例. *今日の移植* 2001; 14: 660.

菅原寧彦、幕内雅敏. 肝移植手術のコツと術後管理. 胆管-胆管吻合. *外科* 2001; 63: 1333-35.

金子順一、菅原寧彦、幕内雅敏. 右後区域グラフトを用いた成人生体肝移植. *外科* 2001; 63: 1292-96.

菅原寧彦、幕内雅敏. 肝臓移植における肝静脈再建手技. *日本外科学会雑誌* 2001; 102: 794-7.

菅原寧彦、幕内雅敏. 成人生体部分肝移植の適応と成績. *臨床消化器内科* 2001; 16: 1731-5.

菅原寧彦、幕内雅敏. 生体部分肝移植におけるドナー手術の手技. *Surgical Frontier* 2001; 8: 361-5.

今村宏、菅原寧彦、幕内雅敏. 肝臓移植. *小児科診療* 2001; 64: 2119-22.

Fukunishi I, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M, Kawarasaki H, Surman OS, Kita Y. "Paradoxical psychiatric syndrome" of the recipient after child-to-parent living-related liver transplantation. *Psychosomatics*. 2001;42:163.

Kita Y, Fukunishi I, Harihara Y, Hirata M, Kubota K, Takayama T, Kawarasaki H, Makuuchi M. Psychiatric disorders in living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 2001; 33: 1350-1.

Hirata M, Harihara Y, Kitamura T, Hisatomi S, Kato M, Dowaki S, Mizuta K, Sugawara Y, Kita Y, Kubota K, Takayama T, Kawarasaki H, Hashizume K, Makuuchi M. The influence

- of donor age to graft volume increase rate in living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 2001; 33: 1416-7.
- Sugawara Y, Makuuchi M, Takayama T, Mizuta K, Kawarasaki H, Imamura H, Hashizume K. Liver transplantation using a right lateral sector graft from a living donor to her granddaughter. *Hepatology*. 2001; 48: 261-3.
- Saiura A, Sata M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M. Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis. *Nat Med*. 2001; 7: 382-3.
- Sugawara Y, Makuuchi M, Takayama T, Imamura H, Dowaki S, Mizuta K, Kawarasaki H, Hashizume K. Small-for-size grafts in living-related liver transplantation. *J Am Coll Surg*. 2001; 192: 510-3.
- Naruse K, Sakai Y, Lei G, Sakamoto Y, Kobayashi T, Puliatti C, Aronica G, Morale W, Leone F, Qiang S, Ming SG, Ming S, Li Z, Chang SJ, Suzuki M, Makuuchi M. Efficacy of nonwoven fabric bioreactor immobilized with porcine hepatocytes for ex vivo xenogeneic perfusion treatment of liver failure in dogs. *Artif Organs* 2001; 25: 273-80.
- Lee S, Park K, Hwang S, Lee Y, Choi D, Kim K, Koh K, Han S, Choi K, Hwang K, Makuuchi M, Sugawara Y, Min P. Congestion of right liver graft in living donor liver transplantation. *Transplantation*. 2001; 71: 812-4.
- Saiura A, Matakai C, Murakami T, Umetani M, Wada Y, Kohro T, Aburatani H, Harihara Y, Hamakubo T, Yamaguchi T, Hasegawa G, Naito M, Makuuchi M, Kodama T. A comparison of gene expression in murine cardiac allografts and isografts by means DNA microarray analysis. *Transplantation*. 2001; 72: 320-9.
- Fukunishi I, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M, Kawarasaki H, Surman OS. Psychiatric disorders before and after living-related transplantation. *Psychosomatics*. 2001; 42: 337-43.
- Kita Y, Harihara Y, Sano K, Hirata M, Kubota K, Takayama T, Ohtomo K, Makuuchi M. Reversible hepatofugal portal flow after liver transplantation using a small-for-size graft from a living donor. *Transpl Int* 2001; 14: 217-22.
- Sugawara Y, Mizuta K, Kawarasaki H, Takayama T, Imamura H, Makuuchi M. Risk factors for acute rejection in pediatric living related liver transplantation: The impact of HLA matching. *Liver Transpl*. 2001; 7: 769-73.
- Sugawara Y, Makuuchi M, Takayama T, Yoshino H, Mizuta K, Kawarasaki H. Liver transplantation from situs inversus to situs inversus. *Liver Transpl*. 2001; 7: 829-30.
- Sugawara Y, Makuuchi M, Takayama T, Imamura H. Living-related liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Transplantation*. 2001; 72: 1087-91.
- Cescon M, Sugawara Y, Kaneko J, Ohtsuka H, Takayama T, Makuuchi M. Restoration of portal vein flow by splenorenal shunt ligation and splenectomy after living-related liver transplantation. *Hepatology*. 2001; 48: 1453-4.

2 学会発表

- 菅原寧彦、幕内雅敏、高山忠利、水田耕一、今村宏、河原崎秀雄、橋都浩平. 完全内臓逆位間での生体部分肝移植. 第16回フサン研究会 東京 2001/1/18.
- 菅原寧彦、幕内雅敏、高山忠利、今村宏、河原崎秀雄、橋都浩平、水田耕一. 後区域グラフトを用いた成人生体部分肝移植 日本外科学会 仙台 2001/4/11-13.
- 小林隆、菅原寧彦、今村宏、高山忠利、幕内雅敏. アムリノンによる肝阻血再灌流障害軽減のメカニズムについて 日本外科学会 仙台 2001/4/11-13.
- 大塚洋幸、菅原寧彦、松井郁一、金子順一、藤岡稔洋、新谷隆、高山忠利、幕内雅敏. 生体部分肝移植後の肝動脈閉塞症の一例 日本肝移植研究会 横浜 2001/5/16-17.
- 菅原寧彦、水田耕一、川原崎秀雄、今村宏、高山忠利、橋詰浩平、幕内雅敏. 生体部分肝移植後におけるsmall for size グラフト 日本肝移植研究会 横浜 2001/5/16-17.
- 菅原寧彦、幕内雅敏、高山忠利、今村宏. 原発性胆汁性肝硬変に対する生体部分肝移植の成績. 日本肝臓学会総会 横浜 2001/5/17-18.
- 佐野圭二、幕内雅敏、前間篤、三木健司、菅原寧彦、今村宏、高山忠利. 中・右肝静脈相互吻合に関する臨床的検討. 臨床解剖研究会 東京 2001/6/30.
- 阪本良弘、高山忠利、中塚貴志、朝戸裕貴、菅原寧彦、佐野圭二、今村宏、川原崎秀雄、幕内雅敏. 副肝動脈を有するドナーを用いた動脈再建の安全性. 臨床解剖研究会 東京2001/6/30.
- 犬塚亮、小林茂俊、森庸祐、児玉浩子、柳川幸重、加治正行、中里豊、元井亨、菅原寧彦、幕内雅敏. ペニシラミン・トリエンチン併用療法が有効で

- あったWilson病の一例－肝移植のタイミングは？－武蔵野小児肝臓病懇話会 東京 2001/7/10.
- 菅原寧彦、今村宏、高山忠利、幕内雅敏. シンポジウム 成人肝移植における成績向上のための工夫. 日本消化器外科学会総会 秋田 2001/7/25-27.
- 菅原寧彦. PBC、PSCに対する肝移植. ランチョンセミナー日本胆道学会総会 東京 2001/10/3-4.
- 菅原寧彦、幕内雅敏. HIV感染C型肝炎に対する成人生体肝移植. シンポジウム 肝炎の治療. 日本エイズ学会学術集会・総会 東京 2001/11/29-12/1.
- 菅原寧彦、幕内雅敏. PBC、PSCに対する肝移植. 特別講演. 第12回湘南オープンカンファレンス 神奈川 2001/12/15.
- 菅原寧彦、幕内雅敏. 後区域グラフトを用いた成人生体肝移植. シンポジウム 日本移植学会総会 東京 2001/12/15-16.
- Fukunishi I, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M, Kawarasaki H, Kita Y, Aikawa A, Hasegawa A. Psychiatric problems in living-related transplantation (I): Incidence rate of psychiatric disorders on the basis of a three-year follow up study. International conference on transplantation in Nagoya 2001. Nagoya 2001/7/22-27.
- Fukunishi I, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M, Kawarasaki H, Kita Y, Aikawa A, Hasegawa A. Psychiatric problems in living-related transplantation (II): Paradoxical psychiatric syndrome (PPS) in recipients of child-to-parent partial liver transplantation. International conference on transplantation in Nagoya 2001. Nagoya 2001/7/22-27.
- Fukunishi I, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M, Kawarasaki H, Kita Y, Aikawa A, Hasegawa A. Psychiatric problems in living-related transplantation (III): Pre-transplant psychological assessment can predict post-transplant psychiatric disorders. International conference on transplantation in Nagoya 2001. Nagoya 2001/7/22-27.
- Fukunishi I, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M, Kawarasaki H, Kita Y, Aikawa A, Hasegawa A. Maladjustment behaviors in pediatric living related liver transplantation. International conference on transplantation in Nagoya 2001. Nagoya 2001/7/22-27.
- Sugawara Y, Makuuchi M. Indication and techniques of right lateral sector graft. Second Korea-Japan Joint Symposium on Liver Transplantation. Seoul, Korea 2001/9/23-24.
- Sugawara Y, Makuuchi M. Living related liver transplantation for primary biliary cirrhosis. 11th WORLD CONGRESS. International Gastro-surgical club. Crete, Greece. 2001/11/1-4.
- Sugawara Y, Makuuchi M. Right lateral sector graft in adult living related liver transplantation. 11th WORLD CONGRESS. International Gastro-surgical club. Crete, Greece. 2001/11/1-4.
- Sugawara Y, Makuuchi M. Caudate lobe lobectomy. 11th WORLD CONGRESS. International Gastro-surgical club. Crete, Greece. 2001/11/1-4.
- Sugawara Y, Makuuchi M. Reconstruction of hepatic vein during extended hepatectomy: indications and possibilities. 11th WORLD CONGRESS. International Gastro-surgical club. Crete, Greece, 2001/11/1-4.

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

「自己免疫性肝疾患に対する肝移植後の再発と “de novo”自己免疫性肝炎に関する研究」

分担研究者：田中 紘一 京都大学大学院医学研究科移植免疫医学講座 教授

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎を中心とした自己免疫性肝疾患の移植後再発について、自験例において検討を行った。観察期間は最長8年と短い、現時点で移植後の原疾患再発が臨床経過に影響を与えるとする証拠は得られなかった。一方、肝移植後の“de novo”自己免疫性肝炎については、諸外国の報告と一致する臨床像が一部に認められ、今後の体系的な前向き研究が必要であることが示唆された。

A. 研究目的

自己免疫性肝炎(AIH)、原発性胆汁性肝硬変(PBC)、原発性硬化性胆管炎(PSC)など、自己免疫疾患としての背景の疑われている疾患においても、内科的治療の継続にも関わらず、あるいはその継続が不可能なために肝不全症状の進行する場合には、肝移植による治療が選択される。しかしながら、肝外の素因の存在することが疑われるこれらの疾患では、肝移植治療後にも移植肝が同じ病因に晒され、移植肝に同様の病態の生じることが懸念され、諸外国における脳死肝移植においてもこういった現象の起こることが示唆されている。

特に本邦においては、生体肝移植が肝移植治療の99%を占め、しかもその大多数は血縁者間の移植であるため、共通の遺伝的素因をもった移植肝の存在によって疾患の再燃が加速される可能性が考えられ、これを明らかにすることは本邦における今後の肝移植医療の発展に欠かせない。本分担研究では、臨床肝移植症例における前向き研究によってこれらを明らかにすることを目的とする。

加えて、近年、諸外国の脳死肝移植症例において、自己免疫疾患に属さない肝疾患によって肝移植を受けた症例に、移植後に新たな自己免疫性肝炎の発生することが示唆されており、本邦の症例においてこれを検証することを目的に追加した。

B. 研究方法

当施設にて肝移植治療を受けた自己免疫性肝疾患症例は、平成13年末までにPBC33例(脳死肝移植1例、1例はautoimmune cholangiopathy疑い)、PSC19例(脳死1例)、AIH 5例(小児1例)であった。

PBC症例は28-67歳で、1例を除いてすべて女性、生体ドナーは親2例、子9例、同胞11例、配偶者9例、ドミノドナー1例であった(年齢19-61歳)。PSC症例は19-50歳で、男女比は8対11、生体ドナーは親12例、子なし、同胞2例、配偶者1例、ドミノドナー3例であった(年齢29-62歳)。AIH症例は14-57歳で、すべて女性、ドナーは親2例、子1例、同胞2例であっ

た(年齢31-55歳)。

PBCの移植後においては、抗ミトコンドリア抗体、抗M2抗体、免疫グロブリン分画の変化などの血清学的指標に加え、肝機能の変化、組織学的所見、さらに他の要因の介入との臨床的鑑別を中心に行った。

PSCについても、組織学的所見を中心に胆道系酵素の変化や外科的胆道合併症の頻度、他の要因による胆道病変との鑑別を中心に行った。

AIHについては、肝移植後のステロイド減量に対する肝機能の変化を中心に、組織学的所見や自己抗体の変化、免疫グロブリン(IgG)の変化を参考に経過観察を行った。

一方、移植後“de novo”自己免疫性肝炎については、移植後の慢性期において肝機能異常を示す症例の中で、組織学的に「形質細胞浸潤の目立つ慢性肝炎(interface hepatitis)像」を示す症例を中心に、免疫グロブリン(IgG)の増加、自己抗体の存在、ステロイドを中心とした治療に対する反応性などを調査し、その経過を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、各疾患の終末像としての肝不全を肝移植によって治療する過程で行われるintend-to-treat studyであり、研究を目的とした新たな治療介入を行うものではなく、倫理面における問題は生じない。

C. 研究結果

1. 自己免疫性肝疾患の移植後再発

PBCの移植後においては、追跡調査できた症例の多くで抗ミトコンドリア抗体や抗M2抗体の遷延や増加がみられ、IgMについても一部に早期から増加の認められる症例があったが、ビリルビン・胆道系酵素・肝逸脱酵素は概して大変安定しており、一部上昇の認められる症例では組織学的に急性・慢性拒絶や薬剤性肝障害を中心とした他の要因が考えられ、それらの治療によって軽快がみられた。ただし、拒絶反応の頻度とその治療抵抗性は他の原疾患より高い傾向があり、tacrolimusを中心としたcalcineurin inhibitorに加え、ステロイド減量の遅れあるいは完全離脱の難しい

症例が目立ち、リンパ球を標的とした核酸合成阻害剤の併用を必要とする症例が多かった。組織学的に非化膿性類上皮性肉芽腫症(non-suppurative epidermoid granulomatosis: NSEG)の疑われる症例が2例認められたが、いずれも経過を追ううちに細胆管消失型の慢性拒絶(vanishing bile duct syndrome)へと移行し、PBCの再燃との最終結論にいたらなかった。

PSCについては、慢性期に胆道系酵素の上昇例がやや目立つ印象はあったが、他の原疾患の肝移植後の慢性期と比べて明らかな差異がなく、肝移植時の胆道再建方法(肝管空腸吻合あるいは肝管肝管吻合)に起因する軽度の胆管炎やsubclinicalな前拒絶兆候と考えられるものが多かった。海外の症例で報告のある胆道系合併症は、胆道再建部(吻合部)の慢性期狭窄がやや多い印象があったが、他の原疾患の移植後との有意差は認めていない。一部に組織学的に細胆管周囲の線維化像を認める症例があったが、胆道再建部の慢性狭窄による慢性胆管炎を合併しており、PSC再燃との結論に至らなかった。いずれにせよ、放射線学的に肝内胆管の狭窄・数珠状拡張や枯れ枝状硬化像を認めた症例は、血液型不適合移植に伴う胆道病変の症例を除けば認めていない。

AIHで肝移植に至る症例の場合、移植前の大量・長期にわたるステロイドの使用によって、既に潜在・顕在性の細菌・真菌感染を合併している場合が少なくなく、これらを制御しても、移植後早期に感染が再燃する症例が目立った。慢性期においては、胆道系酵素を含めた肝逸脱酵素のやや不安定となる症例が目立ち、ステロイドの減量中止の遅れる症例が多かった。

calcineurin inhibitorについては、特に必要量が多いという印象はない。抗核抗体を中心とした自己抗体や免疫グロブリン(IgG)上昇の遷延する症例もみられたが、組織学的な定型的再燃所見は得られていない。

2. “de novo”自己免疫性肝炎

De novo AIHについては、生体肝移植が開始された当初は認識されていなかったが、移植後慢性期に原因ウイルスの特定できない慢性肝炎様組織像を示す症例が散見されていた。1995年の英国King's college Hospitalからの報告(Lancet 1998; 351: 409)を中心に、移植後de novo AIHの概念が提唱されたことが契機となり、当施設の症例でもこうした視点から検討が始められた。最近、胆道閉鎖症にて移植(移植時年齢7歳)を受け、移植後半年以降からステロイド感受性であるが定型的急性拒絶像と異なる組織像を示す肝機能異常(逸脱酵素がたびたび1000IU/l以上)を繰り返し、移植後4年目に組織学的・臨床的にAIHの診断を受けた女兒が、ステロイドの自己中止を契機に劇症化し、移植後7年目に再移植に至った症例を経験し、その疾患概念と治療に関する危機意識が高まった。

組織学的には、生検にて採取されたすべての門脈域に形質細胞が目立つ著しいリンパ球浸潤を認め、門脈域の線維化と拡大を伴っている一方、胆管は変性や炎症所見に乏しく、一方中心静脈周囲にも同様の炎症細胞浸潤がみられるが、血管内皮炎の所見には乏しいこ

とが特徴である。臨床的には免疫グロブリンやIgGの上昇と自己抗体の出現を伴い、肝機能はしばしばビリルビンの上昇を伴うが、ステロイドによく反応する。組織像に比して臨床的な重症感に乏しいことも特徴的である。ステロイドによる制御が不良である場合には、組織学的にbridging fibrosisと小葉構造の改築が進行し、肝硬変に至る場合もある。こうした状態でも細胆管は比較的良好に保たれている。

これまでに小児肝移植例509例(平成13年末)のなかで4例に移植後de novo AIHを強く疑う症例を認めている。生体肝移植症例における頻度が脳死肝移植と比較して高いということはないと思われるが、全例にわたる統一基準による調査がなされておらず、少なくとも同様の病態が他にも潜在している可能性は残っている。

上記の4例はいずれも胆道閉鎖症に対して生体肝移植を受けた女兒で、移植時年齢は7-15歳、診断は移植後566-1557日に及んでおり、いずれもIgGあるいは免疫グロブリンの中等度上昇を伴っており、抗核抗体が陽性、抗平滑筋抗体は陰性であった。1例の移植肝不全再移植例を除いて、ステロイド及びazathiopurineによって肝機能が制御されている。

D. 考察

PBCおよびPSCに関しては、肝移植後の再発という懸念が医療者側にも強く、また患者自身にもそうした情報が与えられる場合があるが、血清学的な病態の持続は認められるものの、臨床像及び組織像においては再燃を疑わせる所見に乏しい。特に部分肝を用いる生体肝移植では、拒絶反応や薬剤性肝障害に加え、やや難度の高い再建に起因する血管・胆道合併症との鑑別が極めて重要で、こうした要因を丁寧に除外していくと、定型的再燃像とみられる症例は(ほとんど)ないと考えられる。しかしながら、移植後の経過観察は最長例でも8年程度であり、今後症例を重ねた長期にわたる丁寧な観察が必要である。

これらの疾患の移植後においては定型的拒絶の頻度がやや多く、拒絶自体も臨床的に難治化する傾向があり、自己免疫疾患の素因が移植後の同種免疫に如何なる影響を与えているかを解明することは今後の課題である。

一方、AIHに対する肝移植においては、感染免疫という観点から、移植のタイミングとそれに合わせたステロイドなどの減量準備を確実に行うことが重要である。AIHの症例自体が本邦ではまだ少なく、結論を出すには時期早尚であるが、現時点では、移植後の再燃を考慮した免疫抑制療法が必要であると思われる。De novo AIHに関しては、まだ疾患概念自体が新しく、諸外国でも症例の分析が進められているところであり、一方、抗核抗体や抗平滑筋抗体、LKM1抗体以外のminorな自己抗体のスクリーニングが困難なこともあり、今後さらに体系的な前向き臨床研究が是非必要である。

King's College Hospitalからの報告では小児例の

4%に認められたとされ、発症は6-45(中央値24)か月、ASTは58-850(同269)IU/l、IgG値は1720-3440(同2200)mg/dlで、ANA、SMA、LKM1、GPC1などの自己抗体の出現を伴うとされる。組織学的には我々の経験した症例と一致しており、ステロイドとazathiopurineによる適切な治療が行われなければ予後は不良であるとしている。

その後、成人肝移植症例における同様の報告、さらに非定型的de novo AIHについても海外から報告されており、こうした疾患概念の存在を認識していることは、肝移植医療を進めるうえで重要である。

E. 結論

自己免疫性肝疾患による肝不全に対して肝移植を行った場合に、原疾患の再発がその予後に影響を与えらるるに足る証拠は、現時点では充分でない。ただし、AIHについてはややその傾向があり、注意を必要とする。移植後のde novo AIHについては、いまだその疾患概念、臨床的頻度についての情報が不充分であるが、認識を怠ることで移植後の予後が左右される場合があり、留意が必要である。

F. 健康危険情報

自己免疫性肝疾患による肝不全に対する移植治療が行われる場合には、その再発に関するいたずらな懸念を患者に与えることが、疾患治療を大きく妨げる場合があり、注意が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Inomata M, Tanaka K, Uemoto S, et al. Living donor liver transplantation: an 8-year experience with 379 consecutive cases. *Transplantation Proc* 31:381, 1999.
- 2) Kiuchi T, Kasahara M, Uryuhara K, et al. Impact of graft size mismatching on graft prognosis in liver transplantation from living donors *Transplantation* 67:321, 1999.
- 3) Inomata Y, Kiuchi T, Kim, et al. Auxiliary partial orthotopic living donor liver transplantation as an aid for small-for-size grafts in larger recipients, *Transplantation* 67: 1314, 1999.
- 4) Minamiguchi S, Sakurai T, Fujita S, et al. Living related liver transplantation: histopathologic analysis of graft dysfunction in 304 patients. *Human Pathology* 30: 1479, 1999.
- 5) Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K, et al. Right lobe graft in living donor liver transplantation. *Transplantation* 69: 258, 2000.
- 6) Tanaka K, Kobayashi Y, Kiuchi T. Current status of living donor liver transplantation in adults. *Current Opinion in Organ Transplantation* 5: 74-79, 2000.
- 7) Fujita S, Kim I-D, Uryuhara K, et al. Hepatic grafts from live donors: donor morbidity for 470 cases of live donation. *Transplant International* 13: 333, 2000.
- 8) Kiuchi T, Inomata Y, Uemoto S, et al. Evolution of living donor liver transplantation in adults: a single center experience. *Transpl Int* 13(Suppl 1): S134, 2000.
- 9) Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, et al. Analysis of alloreactivity and intragraft cytokine profiles in living donor liver transplant recipients with graft acceptance. *Transplant Immunology* 8: 279, 2001.
- 10) Inomata Y, Tanaka K. Pathogenesis and treatment of bile duct loss after liver transplantation. *J Hepatobil Pancreat Surg* 8: 316, 2001.
- 11) Takakura K, Kiuchi T, Kasahara M, et al. clinical implications of flow cytometry crossmatch with T or B cells in living donor liver transplantation. *Clinical Transplant* 15: 309, 2001.
- 12) Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, et al. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients. *Transplantation* 72: 449-454, 2001.
- 13) 木内哲也、田中紘一. 生体肝移植周術期の諸問題と対策. *日集中医誌*6: 181, 1999.
- 14) 北出浩章、田中紘一. 原発性胆汁性肝硬変の肝移植. *肝胆膵*39: 113-121, 1999.
- 15) 猪股裕紀洋、田中紘一. 生体肝移植治療の変遷. *医学の歩み*190: 1023, 1999.
- 16) 田中紘一、上本伸二. 移植医から内科医へのメッセージ. *Modern Physician* 19: 1293, 1999.
- 17) 児島謙作、竹内孝幸、金岡彦治、他. 肝移植を施行した若年発症の原発性硬化性胆管炎の1例. *日本消化器病学会雑誌*96: 53-58, 1999.
- 18) 猪股裕紀洋、林道廣、上田幹子、他. 生体部分肝移植の治療成績. *外科治療*82: 171-178, 2000.
- 19) 木内哲也、田中紘一. 本邦における肝移植の現状と将来展望. *医学と薬学* 45: 743, 2001.
- 20) 田中紘一、上本伸二、木内哲也、他. 肝移植、*内科*88: 685, 2001.
- 21) 佐々木克哉、尾池文隆、木内哲也、田中紘一. わが国の生体肝移植の現状と治療成績. *Surgery Frontier* 8: 12, 2001.

2. 学会発表

- 1) Oike F. Right lobe living donor liver transplantation, *International Liver Transplantation Society, Berlin, Germany, Jul.*

2001.

- 2) Kaihara S. Analysis of biliary complications in right lobe living donor liver transplantation. International Liver Transplantation Society, Berlin, Germany, Jul. 2001.
- 3) Yokoi A. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients, International Liver Transplantation Society, Berlin, Germany, Jul. 2001.
- 4) Hayashi M. Right lobe graft in living donor liver transplantation - a single center experience of 150cases, European Society for Organ Transplantation, Lisbon, Portugal, Oct. 2001.
- 5) Kaihara S. Adult-to-adult living donor liver transplantation. World Congress of Gastroenterology, Bangkok, Thailand, Feb. 2002.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定を含めてなし

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

ハイブリッド型人工肝の開発：HNF-4遺伝子導入を応用したスーパー肝細胞確立の試み

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、永木正仁
岐阜大学医学部第一内科

イを用い、HNF4遺伝子導入後の遺伝子発現プロファイルの検討を行った。

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 HNF-1 を介して制御されることを報告してきた。今回、その転写制御因子HNF-4に着目し、肝細胞に遺伝子導入することで、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することを目的としている。

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 b-actin promotor+rabbit b-globin poly A) プロモーターを持つ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、HNF4を遺伝子導入、強制発現させる系を確立した。プロモーターによる発現効率の差異を検討する目的を含めて、CMVプロモーターをもつ同様のHNF4とアミノ酸にして111アミノ酸を欠失させたdeletion mutantを構造にもつウイルスベクターを作製した。また、CAGプロモーターをもちレポーター遺伝子である大腸菌由来のLacZ遺伝子を含むウイルスベクターを作製し、導入効率の確認およびコントロールウイルスとした。HNF4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-antitrypsin、apolipoprotein A1、apolipoprotein C3、glutamine synthetase等の肝細胞特異的遺伝子の発現をノーザンブロット、ウエスタンブロット法、RT-PCR法にて遺伝子および蛋白レベルで検討し、さらにglutamine synthetase機能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。

さらに、HNF-4の転写制御機構を明らかにするために、約9000種の遺伝子を含むcDNAマイクロアレ

C. 研究結果

初めに肝細胞由来のHepG2、HuH-7細胞と肝細胞以外のCOS7、Hela細胞にアデノウイルスベクターを感染させ、その毒性和感染効率を検討した。アデノウイルスの毒性は10moiでは問題はなかった。またLacZレポーター遺伝子を含んだウイルスAdCAGLacZを用いた検討では、細胞の種類に関わらず、この濃度でほぼすべての細胞に感染しており、目的とする遺伝子を導入しうることが確認された。HNF4遺伝子を導入したHepG2およびHuH7細胞ではノーザンブロット、ウエスタンブロット法にてHNF4 mRNAの発現の増加と、ウイルス量依存的にHNF4蛋白の発現の増加が認められ、アデノウイルスベクターはHNF-4遺伝子導入においても良好な遺伝子発現を誘導し得た。

HNF4の発現の増加とともに肝細胞特異的遺伝子である α 1-antitrypsin、apolipoprotein A1、apolipoprotein C3、glutamine synthetase、biliverudin reductase、cytochrome P450 1A2、2C9、2C19 mRNAの発現の増強が認められた。

HNF4のdeletion mutantを組み込んだアデノウイルスベクターおよびコントロールウイルスにおいては、これら下流の遺伝子の発現の増強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HNF4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。

HuH-7細胞を用いたマイクロアレイ解析では、約9000種の遺伝子を検討し2倍以上の発現の変化を有意なものとした。HNF-4導入により発現の増強が認められた遺伝子が、抑制された遺伝子より多く認められた。タンパク質の機能がわかっているものについて、Adamsらの分類を用い、機能ごとに分類、検討を加えた。この分類は1) 細胞分裂 2) 細胞シグナル 3) 細胞骨格 4) 細胞/組織・防御 5) 遺伝子/蛋白発現 6) 代謝、と大きく6つの分類にわけられ、さらに分類不能群およびESTを含めリスト未収載の遺伝子に分けられる。その分類に従い今回のHNF-4遺伝子導入による遺伝子発現プロファイルを行った。その結果、図1のごとく代謝関連遺伝子の高度な誘導が観察された。特に代謝関連遺伝子はコレステロールや中性脂肪のキャリアタンパクである apolipoprotein A-E までの広範な分画を含む遺伝子や、 β 酸化を誘導する carnitine/acylcarnitine translocaseなど、脂質代謝

に関与する遺伝子の誘導を認めた。

カテゴリー	誘導	抑制
細胞分裂	2	2
細胞シグナル	12	1
細胞骨格	5	4
細胞/組織・防御	12	3
遺伝子/蛋白発現	12	5
代謝	47	1
分類不能	8	4
カテゴリー外	59	15
計	157	35

図1 マイクロアレイ解析

またそれ以外にもphosphoenolpyruvate carboxykinase, fructose-bisphosphataseなどの糖代謝および, tryptophan 2,3-dioxygenaseなどのアミノ酸代謝に主要な遺伝子や, biliverdin reductase, cytochrome P450を初めとした薬物, ビリルビン代謝に関連する遺伝子の誘導も認められた。さらにHNF-1やperoxisome proliferative activated receptor α といった他の代謝関連転写因子を誘導することを認め、このことは、HNF-4は肝臓における代謝関連遺伝子の制御において中心的役割を果たす事が示唆された。また、今回の発現プロファイルの検討にて、代謝関連遺伝子以外にも、cyclin-dependent kinase inhibitor 1A, protein kinase Cといった細胞内伝達や細胞分裂制御遺伝子の誘導も認められた。このことは、HNF-4は肝細胞特異的遺伝子を直接、刺激亢進させるのみならず、細胞内シグナルを動かし肝細胞を分化誘導する因子として働く可能性もあることが考えられた。

マイクロアレイの発現変化の確認と、今回アレイ上にない肝特異的遺伝子の発現を検討するために、RT-PCR解析を施行した。HNF-4遺伝子導入により、phosphoenolpyruvate carboxykinase, biliverdin reductaseおよびUDP-glucuronidaseなどの誘導が認められ、マイクロアレイの結果と同様であり、マイクロアレイの確証とし得た。さらに今回マイクロアレイでは検討できなかったヒトの肝において薬物代謝で主要な役割を果たすcytochromeP450のサブタイプである1A2, 2C9, 2C19などの誘導が認められた。肝特異的転写因子の検討では、マイクロアレイと同様に

PPAR α の誘導が認められたが、逆にHNF3は抑制された。

アンモニア代謝の主要酵素であるグルタミン合成酵素の誘導がHNF-4導入によって認められたため、肝細胞にアンモニアを負荷し、その処理能の検討を行った。HNF-4遺伝子を導入するとHuH7細胞、HepG2細胞ともに培養液中のアンモニア濃度は有意に低下し、誘導されたグルタミン合成酵素により、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2)

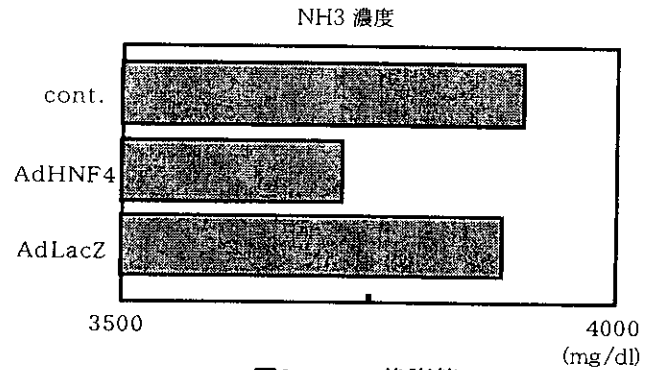


図2 NH3 代謝能

D. 考察

HNF-4は1990年に同定された、steroids receptor super-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HNF1, HNF3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な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中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。

我々の検討では、非増殖型アデノウイルスベクターを用い、どの細胞においても効果的にHNF-4遺伝子が誘導されることを確認した。また非肝細胞株においては、肝特異機能の誘導は認められなかった。ノーザンブロット、ウエスタンブロット、RT-PCR解析において、HNF-4遺伝子導入の結果、肝癌由来細胞株においてはcytochromeP450, 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、肝癌由来細胞株においても肝特異機能が增強することが認められた。またHNF-4遺伝子導入後の肝特異的遺伝子発現プロファイルの検討を目的としてマイクロアレイ解析を行ったが、脂質代謝を中心とした広範囲にわたる代謝関連遺伝子の高度の誘導を認め、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た。

E. 結論

以上の結果より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、ひいては、人工肝への有用性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nagaki M, Miki Y, Naiki T, 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 2001, 46:1046-1056

Osawa Y, Nagaki M, Banno M, Yamada Y, Nozawa Y, Moriwaki H, Nakashima S.

Sphingosine kinase regulates hepatoma cell differentiation: Roles of hepatocyte nuclear factor and retinoid receptor.

Biochem Biophys Res Commun 2001, 286: 673-677

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, 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.

Hepatol 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

永木正仁、杉山昭彦、内木隆文、森脇久隆：細胞外マトリックスによる肝細胞の分化: 肝臓 2001; 42 105-107

2. 学会発表

The 13th World Congress of International Society for Artificial Organs 2001年11月6日

A hybrid bioartificial liver using hepatocytes entrapped in a basement membrane matrix.

Nagaki M, Naiki T, Moriwaki H.

The 13th World Congress of International Society for Artificial Organs 2001年11月6日

Hepatocyte Nuclear Factor 4 gene transfer regulates hepatocyte phenotypic expression.

Naiki T, Nagaki M, Moriwaki H.

第37回日本肝臓学会総会 2001年5月17日

ワークショップ「培養肝細胞を用いた肝疾患の病態解明と治療」

組み換えアデノウイルスベクターによる 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

第5回日本肝臓学会大会 2001年10月17日

プレナリーセッション「組み換えアデノウイルスベクターによる hepatocyte nuclear factor (HNF)-4遺伝子導入による肝特異的転写因子の発現制御」

内木隆文、永木正仁、森脇久隆

第39回日本人工臓器学会総会 2001年11月8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

II-4. 国立病院ネットワーク

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

自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変症に関する国立病院ネットワーク研究

分担研究者 矢野 右人 国立長崎中央病院 病院長

研究要旨：国立病院・療養所肝疾患ネットワークを利用して、全国の国立病院・療養所31施設を対象に、自己免疫性肝炎及び原発性胆汁性肝硬変症症例のアンケート調査を行い、疾患データベースを作成した。このデータベースを活用することにより、臨床経過、肝生検所見、治療効果などの詳細な解析が可能であると思われた。

A. 研究目的

全国の国立病院・療養所における自己免疫性肝疾患の実態を把握し、臨床病態の解析（肝生検組織所見を含む）、治療効果の検討及び予後調査を行う目的で、自己免疫性肝炎(AIH)と原発性胆汁性肝硬変症(PBC)のデータベース構築を試みた。

B. 研究方法

国立病院肝疾患ネットワークを利用して、全国の国立病院・療養所31施設を対象に、調査票を用いたAIH及びPBC症例のアンケート調査を行った。また、非A-C型急性肝炎と診断された症例の中に、発症早期のAIHが混在している可能性があるため、国立病院急性肝炎データベースに登録された非A-C型散発性急性肝炎症例の経過追跡を行い、AIHへの移行の有無を調査した。

（倫理面への配慮）

個人情報外部に漏洩しないように留意した。

C. 研究結果

AIHは、1997年1月から1999年12月の調査期間に297症例（男性31例、女性266例、平均年齢54.6歳）が登録され、確診例が169例（57.5%）、急性型の発症様式を呈したものが127例（50.8%）であった。肝生検施行率は77%であり、肝生検組織所見で肝硬変像を呈したものが27例（12%）、急性肝炎像を呈したものが16例（7%）認められた。

PBCは、1998年1月から1999年12月の調査期間に352症例（男性42例、女性308例、平均年齢59.6歳）が登録された。その中で経過追跡が可能であった症例は182例存在し、平均追跡期間は5.97年、死亡例は6例であった。自己抗体陽性率は、抗核抗体53.1%、抗ミトコンドリア抗体84.5%、抗M2抗体53.1%であった。

国立病院急性肝炎データベースに登録された非A-C型散発性急性肝炎232症例の経過追跡で、7例（3.02%）がAIH（疑診も含む）へ移行したことは前回報告済であるが、初診時の肝生検所見がF0であった4例を長期に追跡した結果、いずれも初診時のAIHスコアは10点未満で、最終観察時点で17点を越えたのは2例のみであった。自己抗体の出現については、4例中3例は

経過中に抗核抗体が陽転化した。

D. 考察

今回登録されたAIH、PBC症例の臨床背景は、本研究班による全国集計結果とほぼ一致していた。よって、さらに詳細な臨床データの集積により、より正確で詳細な病態の解析や治療効果の評価が可能になるものと考えられた。

E. 結論

国立病院・療養所肝疾患ネットワークを利用したAIH及びPBC症例のアンケート調査により、AIH297症例、PBC352症例の疾患データベースを作成しえた。それらを用いて、今後さらに詳細な解析を行う予定である。また、既に作成済である急性肝炎データベースを用いた、発症早期のAIH症例のピックアップが可能であった。

F. 研究危険情報

特になし

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

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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

国立病院・療養所における原発性胆汁性肝硬変症例のデータベース構築：第三報 - QOL調査 -

研究協力者 酒井 浩徳 国立病院九州医療センター 消化器科医長

研究要旨：本研究は、国立病院肝疾患政策医療ネットワーク施設を中心に原発性胆汁性肝硬変症例を対象にデータベースを構築することを目標としている。これまでの三回にわたる調査に基づき基礎的データの登録と統計解析を行った。現在391症例を登録し、266症例に関しては診断時から現時点までの追跡調査を完了、多くの症例は安定した経過をたどるものと考えられた。今回、データベース登録症例を対象としたQOLアンケート調査において、短期間に151症例(登録の41%)の回答を回収することができ、本データベースの有用性が明らかとなった。

A. はじめに

本研究は、国立病院肝疾患政策医療ネットワーク施設を中心とした国立医療施設において原発性胆汁性肝硬変症例を対象とした調査による症例の集積と追跡を行い、さらにはその情報の集積・処理・管理を行なうための作業環境を整え、疫学調査、予後調査、病因解明の一助としての利用を念頭に置いた全国横断的データに時間軸の要素を加えたデータベースの構築を目標としている。さらに構築されたデータベースを基に、原発性胆汁性肝硬変の実態を把握するとともに、個々の症例の追跡調査を行うことにより自然経過を明らかにする事を目的としている。

本年度は、第二回調査と同じ32施設を対象とした三回目の調査を行い、追加登録を行うとともに過去二回の調査により登録された症例については追跡調査を行った。これらのデータベースを基に昨年と同様に原発性胆汁性肝硬変の自然経過について検討した。さらに本年度は本研究の目的である原発性胆汁性肝硬変の実態把握の一つとして、データベースに登録された症例を対象としてQOLに関するアンケート調査を行うことにより、原発性胆汁性肝硬変症例におけるQOLについての検討を加えた。

B. 対象と方法

原発性胆汁性肝硬変を調査対象疾患とし、第一回調査(平成10年4月8日から4月24日までの間に診療した症例)、第二回調査(第一回調査後平成11年12月31日まで新たに診療した症例)に引き続き、平成12年1月1日から12月31日までを調査期間として新たに入院または外来診療を行った症例を対象に第三回調査を行い新規症例を登録した。さらに、第一回および第二回登録症例を対象とした追跡調査を、平成12年12月に最も近い時点での臨床経過および検査成績を記入した追跡調査表を回収することにより行った。調査対象施設は国療西札幌病院、国立仙台病院、国立霞ヶ浦病院、国立西埼玉病院、国立埼玉病院、国立習志野病院、国立国府台病院、国立千葉病院、国立国際医療センター、国療東京病院、国立横浜東病院、国立横浜病院、国立

相模原病院、国立松本病院、国立中信松本病院、国立金沢病院、国立名古屋病院、国立京都病院、国立大阪病院、国立大阪南病院、国立神戸病院、国立岡山病院、国療香川小児病院、国立善通寺病院、国立福山病院、国立呉病院、国立小倉病院、国立九州医療センター、国立佐賀病院、国立大分病院、国立長崎中央病院、国立熊本病院の32施設である。調査方法は過去2回の調査と同様で1症例1登録調査用紙記入方式および年一回追跡調査用紙記入方式を用い、郵送による回収を行った。調査用紙は第二回調査に用いた改良型の調査表とした。各施設より回収した調査用紙をもとに過去に作成したデータベースに追加登録を行うとともに統計解析を行なった。

QOLに関する調査は本データベースに登録された症例を対象に、通常外来診療時にQOLアンケート調査表の記入を依頼し、回収することにより行った。QOL調査表の記入に要する時間は10分間程度であった。QOLアンケート調査にはMOS Short Form-36 Health Surve (SF-36) 日本語版を用いるとともに、杏林大学第三内科肝疾患QOL調査表を同内科中島 洋先生、川村直弘先生のご厚意により用いた。調査表の解析として、SF-36への回答は8つのサブスケールに、杏林大学第三内科調査表への回答は4つのカテゴリーに分類し、100点満点にスコア化して集計した。調査対象を、全症例および総ビリルビン1.5の上下で層別する事により検討するとともに、文献的に入手出来たウイルス性肝疾患に対する調査結果と比較検討した。

C. 結果

三回の調査により原発性胆汁性肝硬変391症例が登録され、そのうち266症例については診断時からの追跡調査が終了し、追跡期間が20年以上に及ぶ症例も存在する。第一回調査において245症例(平均年齢61.5±10.4歳)、男性28症例、女性217症例、第二回調査において107症例(55.5±11.8歳)、男性14症例、女性91症例が登録された。今回の調査では39症例(60.5±10.3歳)、男性6症例、女性33症例が登録され、性別、年齢ほぼ同様であった。以上の三回の調査の結果

391症例の原発性胆汁性肝硬変が登録され、男性が48症例、女性が341症例と87%が女性の患者であった。平均年齢は59.7±11.5歳(男性61.7±12.9、女性59.4±11.3)であった。このうち追跡調査が完了した症例は266例(平均年齢59.1±11.3)であり、平均追跡期間は5.00年であった。266症例のうち死亡例は13症例であった。転院などによる追跡脱落症例は19症例(7.1%)と少ないことが本データベースの最大の特徴である。全登録症例の診断時の主な臨床検査成績は352症例をまとめた昨年度の報告と大きな変化は認めなかった。追跡全症例のALT/ASTやγ-GTPと総ビリルビンの平均値の経年的変化を検討すると、診断時やや高値であった検査値はウルソの投与開始により翌年には低下、以後長期に渡って同じレベルを保ち、多くの症例は安定した経過をたどることが示されている。診断時の検査成績を用いて病状の進行の予測の可能性を検討するため、5年以上追跡できた症例を対象とし、死亡例および最終追跡検査成績においてビリルビンが上昇している症例(2mg/dl以上)と上昇していない症例の診断時検査成績を比較検討した。総ビリルビン(2.10±3.01 vs 0.85±0.63 mg/dl)、AST、γ-GTP、γ-グロブリン、IgMなどいづれにおいてもビリルビン上昇群が高い傾向にあるが、有意な差は認めなかった。

QOL調査はアンケート法によって行ったが、151症例より回答を得た。このうち回答に不備がある調査表を除き144症例、男性18症例(61.8±14.6歳)、女性126症例(60.8±9.6歳)より得た調査表を解析対象とした。痒みの有無はQOLに大きく影響するため、総ビリルビン1.5mg/dlを用いて、層別し検討した。

痒みに関する調査では 1. 全くない：33.1%(51/151)、2. 時々ある：54.3%(82/151)、3. いつもあるが我慢できる：11.3%(17/151)、4. いつもあり日常生活に支障がある：1.3%(2/151)であった。杏林大学第三内科調査表によるQOL調査において健常対照者のスコアは各カテゴリーで約90点(日常生活は95点以上)である(私信)のに比べ約10点程度低く、しかもビリルビン1.5以上の症例ではさらに低下している(図1)。

この程度のスコアの低下はウイルス性肝疾患における慢性肝炎に相当する。一方、SF-36においては(図2)ビリルビン値による差は明らかではないが、スコアの低下は慢性肝炎あるいはChild Aの肝硬変程度であった。

図1. QOLスコア (杏林大学第三内科調査表)

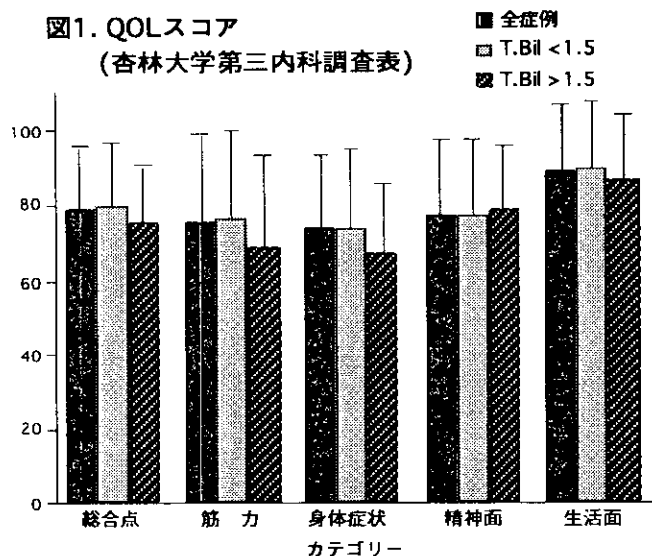
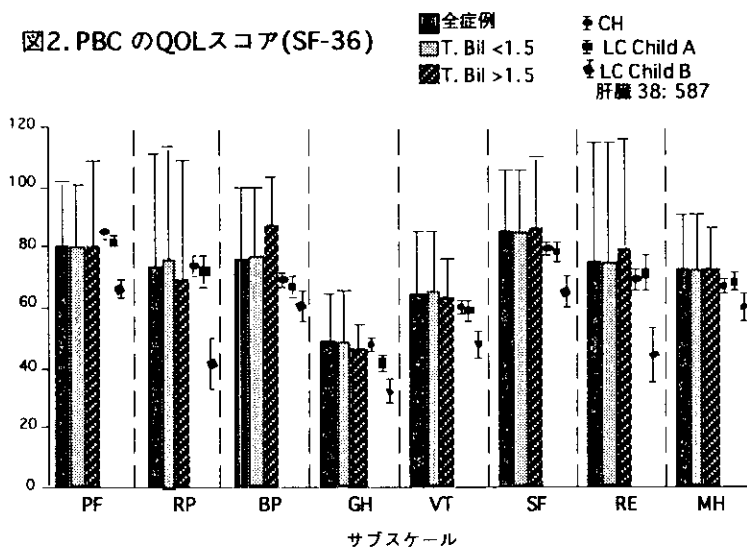


図2. PBCのQOLスコア(SF-36)



D. 考察

本研究において確立を目指した国立医療施設における原発性胆汁性肝硬変のデータベースは、過去二回にわたる調査と研究により基本的構造と基礎的データの調査方法および登録方法などの基本的システムの構築が完了した。本年度はデータベースをさらに充実させるために第三回目の調査を行った。本データベースが信頼性のある有用なものであるためには、今後のデータの充実と漏れのない追跡調査が重要となる。今回の調査において認められるように登録症例数の減少が、今後の大きな問題点である。症例調査用紙による登録とデータベースへの入力という方法では、データベースを維持するために多大な労力を必要とする。その結果として登録症例数の減少とデータベースの縮小をきたし、使用に堪えないデータベースとなる恐れがある。参加施設の地域的偏り、データの信頼性、検査基準値の相違、検査所見の統一化(組織所見など)など、今後改善を要する問題点は多々存在するが、登録およ

び入力方法の改善が急を要する問題である。本年度スタートした国立医療施設間のclosed-networkシステムであるHOSP-NETを利用したL-Net(肝ネット)による登録に早急に移行し、日常診療の場での随時の症例登録を可能とすることが本データベースを維持する最大の方策と考えられる。さらに、現在一部の施設において試行中の検査成績自動集積システムへの参加施設の拡大が、信頼性のあるデータを労力をかけることなく集積するためには不可欠である。

本データベースの最大の特徴は、登録症例が国立医療施設という限られた施設においてclose-follow up中の症例であるということである。その特徴を利用し、長期の追跡の結果詳細な経過の解析、患者のQOLなど身近な問題を検討、新たな診断法・治療法の開発や治験に不可欠な症例の登録などにその目的を設定する事が可能であろう。今回は、本データベースの有用性を確認するためにアンケート法を用いたQOL調査を行った。その結果短期間に151症例(登録症例の41%)の回答を回収することが出来、今後さらにデータベースの充実をはかることにより、数百症例単位の調査が容易に行えることが明らかであり、本データベースの意義が示された。

今回の調査からは、原発性胆汁性肝硬変のQOLはウイルス性慢性肝疾患と大きな差は認めないと考えられるが、その一因としては対象症例にそれ程進行した症例がふくまれないこともあると思われる。しかし痒みに関しては65%に症例が感じており、本疾患の特徴であると考えられるが、QOLには大きな影響はないものと思われた。

E. 結論

国立病院・療養所における原発性胆汁性肝硬変症例のデータベースの基本的構造と基本的システムの構築を完了し、三回にわたる調査に基づき基礎的データの登録を行った。現在391症例を登録し、266症例に関しては診断時から現時点までの追跡調査を終了した。今後さらなる症例の集積と長期の追跡が必要であり、データベースの充実と維持を行っていく必要がある。本年度データベース登録症例を対象にQOLアンケート調査を行い、本データベースの有用性を明らかにした。今後L-Net(肝ネット)による登録に早急に移行し、HOSP-NETを用いた検査成績の自動集積システムを確立した上で、統合的「肝疾患」データベース構築のモデルとしての活用が期待される。