

厚生労働省特定疾患

門脈血行異常症調査研究班
平成十三年度研究報告書

平成14年3月

班長 杉町圭蔵

序 文

昭和50年、厚生省特定疾患「特発性門脈圧亢進症」調査研究班が発足した（班長：杉浦光雄）。その後、肝外門脈閉塞症（EHO）、バッドキアリ症候群（BCS）が加わって、「門脈血行異常症」調査研究班として再編成され、奥田、亀田、小幡、二川各班長に引き継がれ、今日に至っている。この間、多くの班員、研究者の努力により、これら疾患の病因、病態、病理、疫学、診断、治療、予後などについて精力的に研究が推進され、わが国における患者数、新規患者発生の現況が明らかにされた。昭和62年（1987年）には特発性門脈圧亢進症（IPH）、EHO、平成2年（1990年）にはBCSの診断の手引きが作成され、平成2年（1990年）には治療指針も作成された。しかし、長年の努力にも拘らず、これら疾患の原因は現在も尚、明らかでなく、治療にしても原因療法に至らず、対症療法に留まっているのが現状である。本研究班が杉町のもとに再編、継続された平成8年から平成10年までの3年間、3疾患の原因解明は、分子生物学的解析や遺伝子解析を新たに行うことで、新たな展開を迎えた。また、平成10年度には、BCSが治療研究対象疾患に採択され、患者にとって大きな福音となった。

本年度は、この3年間の「門脈血行異常症」調査研究班の活動成果が認められ、新たな3年間の研究計画の最終年度となったわけであるが、各班員ともこれまでの研究を踏まえ、さらに進んだ発表及び議論をして頂くことができた。IPHの病因に関する基礎的研究では動物モデルの作成のためアデノウイルスを用いたCTGFの遺伝子導入が検討された。EHOではEHO動物モデルによる海綿状脈管増生像と血管新生因子発現との関係を検討し、アンチトロンビン欠損マウスによる門脈血栓と先天的血栓傾向との関連性を解析した。BCSでは、国際間比較としてカナダのBCSの病理形態を本邦のものと比較するとともに、本邦・ネパールのBCSのLeiden mutationについて解析した。そして、診断と治療については、従来の基準を2年余にわたる討議を経て見直し、平成12年12月の班会議において「門脈血行異常症の診断と治療(2001年)」として新基準を設定することができた。

全国患者登録及び検体保存センターは今年5年目を迎えるが、IPH 95例、EHO 48例、BCS 36例の計179例の登録と検体の保存を完了し、さらに登録症例を増やしつつある。これにより、さらなる研究の進展と治療への貢献が期待される。

今年度も、ここに研究成果をとりまとめることができ、わずかでも各疾患の病因、病態の解明に貢献することができたと確信している。最後に、厚生労働省保健医療局疾病対策課のご指導、ご支援に厚く御礼申し上げるとともに本研究班の班員、研究協力者の先生方、ならびに関係諸氏に深く感謝する。

平成14年3月

厚生労働省特定疾患
「門脈血行異常症」調査研究班
班 長 杉 町 圭 蔵

厚生労働省 特定疾患
門脈血行異常症 平成13年度研究報告書

目 次

序 文

I 総括研究報告	班長 杉 町 圭 藏 ……	1
II 分担研究報告		
A. 病理・病因・疫学		
IPH肝における血管増殖・新生因子発現の検討	金沢大学大学院形態機能病理学 中 沼 安 二 ……	5
Budd-Chiari症候群の病因に関する検討	九州大学大学院災害救急医学 橋 爪 誠 ……	8
カナダのBudd-Chiari症候群	久留米大学医学部病理学教室 鹿 毛 政 義 ……	11
アンチトロンビン欠損マウスおよびプロテインS欠乏症に関する研究	国立名古屋病院 齋 藤 英 彦 ……	14
B. 実験・病態・遺伝子解析		
ヒト由来マクロファージ細胞株へのhemoxygenase-1遺伝子導入の効果	慶應義塾大学医学部医化学 末 松 誠 ……	16
IPH動物モデルの作成 (CTGF遺伝子導入マウスによる検討)	大阪市立大学大学院核医学 塩 見 進 ……	18
In vivo microscopyによる胃粘膜微小循環の解析	大分医科大学第一外科 北 野 正 剛 ……	21
肝外門脈閉塞症モデルにおける血管新生因子の検討	長崎大学医学部第二外科 兼 松 隆 之 ……	24
門脈圧亢進症胃粘膜におけるeNOS活性化のsignal mechanismの解明	九州大学大学院消化器・総合外科 杉 町 圭 藏 ……	26
C. 全国調査		
門脈血行異常症3疾患の転帰に及ぼす診断時所見および各種治療の影響 —全国疫学調査より—	大阪市立大学大学院公衆衛生学 廣 田 良 夫 ……	29
全国検体保存センターの現状	九州大学大学院消化器・総合外科 杉 町 圭 藏 ……	32

D. 治 療

Budd-Chiari症候群に対する肝移植の経験

長崎大学医学部第二外科 兼 松 隆 之 …… 34

異なった経過を示したBudd-Chiari症候群の3例

順天堂大学医学部第二外科 二 川 俊 二 …… 35

IPH症例に対する選択的シャント術 — 予後不良例の検討 —

北海道大学大学院腫瘍外科 加 藤 紘 之 …… 38

Ⅲ その 他

平成13年度門脈血行異常症班会議総会プログラム …… 43

平成13年度門脈血行異常症調査研究班名簿 …… 45

I 総括研究報告

総括研究報告

班長 杉町圭藏 (九州大学大学院消化器・総合外科)

I. 研究目的

本研究班の研究目的は、原因不明で門脈血行動態の異常を来す特発性門脈圧亢進症 (IPH)、肝外門脈閉塞症 (EHO)、バッドキアリ症候群 (BCS)、などを対象疾患として、これらの疾患の病因および病態の追求とともに、患者発生状況、その予後などが国における実態を正確に把握し、予後の向上のために治療上の問題点を明らかにするところにある。

本研究班は、昭和50年以降厚生省特定疾患として検討されてきたIPH以外に、EHO、BCSなどを含み、昭和59年に発足した。しかし、長年の班員の努力にもかかわらず、未だその病因は不明である。そのため、平成8年度より、班長をはじめとして班員および研究協力者を組み替え、近年の分子生物学的アプローチと遺伝子学的アプローチに重点を置き、これらの疾患の解明を行うこととした。

II. 研究成果

【病理・病因】

中沼らは、血管内腔面積の変化が血流量の変化に相関していることに注目し、IPHの肝動脈枝、門脈枝の内腔面積を組織計測的に検討した。また、血管増殖因子産生に重要な役割を果たすとされる活性化マクロファージと肥満細胞について浸潤細胞数と分布を免疫組織学的に検討した。アルコール性肝硬変では正常肝に比して門脈内腔面積が減少していたが、代償的に肝動脈内腔面積が増加していた。一方IPHでは門脈内腔面積の著明な減少にもかかわらず、肝動脈内腔面積の増加が認められず、肝動脈による血流代償不全状態にあると考えられた。また、活性化マクロファージ、肥満細胞はアルコール性肝

硬変では正常肝に比べ有意に増加していたが、IPHでは変化なかった。これらIPHの血管新生・増殖因子の産生不全、機能不全がA-Pシャント形成を抑制し、血流代償不全をきたしている可能性があると考えられた。

橋爪らは、日本におけるBCSについて凝固因子とその遺伝子異常について検討した。アンチトロンビンⅢ、プロテインC、プロテインS、プラスミノゲンは肝硬変症例、BCS症例において有意差を認めなかったが、抗カルジオリピン抗体はBCS症例にて有意に高値例を認め、日本におけるBCSに対する抗リン脂質抗体症候群の関与が示唆された。また、欧米におけるBCSの病因としていわれているFactorVのLeiden mutationの検討を、本邦及び国外調査としてネパールのBCS症例について行なったが、両国の症例ともLeiden mutationは認められず、欧米とは異なる成因があるものと考えられた。

鹿毛らは、カナダ・トロント大学病理学教室 Wanless教授の協力を得て、BCS15例の肝移植時摘出肝の病理形態を検討した。カナダの症例は本邦と基本像は同じであり、種々段階のうっ血性肝病変のスペクトラムが観察される点も一致する。ただし、カナダの症例では大再生結節が15例中8例に認められ、本邦の17例中1例と比べ、旺盛な肝再生性変化が目立った。

齋藤らは、アンチトロンビン欠損マウスによる実験、そしてプロテインS欠乏症患者の遺伝子解析により、門脈血栓と先天的血栓傾向との関連性を解析した。アンチトロンビン欠損マウスは完全欠損マウス、及び部分欠損マウスをgene targeting法にて作成した。アンチトロンビン完全欠損マウスでは胎生16.5日までに100%が死亡した。死因は全身皮下出血で、心筋と肝臓の類洞に著明なフィブリン沈着を認

めたが、門脈には全く血栓は認められず、アンチトロンビンと門脈血栓との関連性は指摘できなかった。また、12例のプロテインS欠乏症の遺伝子解析をおこなったところ、そのうち2例にナンセンス変異(Gln238Term, Lys298Term)、2例にミスセンス変異(Asp202Asn, Leu298Pro)が認められた。今回同定した2例のミスセンス変異は全く新しいもので、このうちAsp202Asnのミスセンス変異をもつ症例では門脈・上腸間膜静脈血栓症が認められ、関連性が示唆された。

【実験・病態・遺伝子解析】

末松らは、IPHで著明に発現低下するHO-1の発現変化の病態生理学的意義を明らかにする目的でヒト由来マクロファージ細胞株であるU937を用いてHO-1のstabel transfectantを作成し、そのphenotype変化をtranscriptome analysisをもとにした網羅的解析により検討した。HO-1の発現増加を起こした細胞株ではelastase-1、leukotriene B4 synthaseなどのmRNAの増加、あるいは接着分子CD11a/CD18の発現量の低下あるいはCTGF発現低下などの変化が起きることが明らかになった。U937はHO-1導入によりPMAによりCD11/CD18を介して起こるhomotypic aggregationがほぼ完全に阻害された。従ってCD11a/CD18の低下はmRNAのみならず蛋白レベルでも証明され且つ機能的にも意味のある現象であることが証明された。

塩見らは、IPH動物モデル作成のためアデノウイルスを用いたCTGFの遺伝子導入を検討した。コスミドベクターのE1領域にCTGFのmRNAから作成したcDNAを導入し、E1領域を制限酵素で切断し欠かさせたDNA-TPCと293細胞にco-transfectにより導入した。

北野らは、門脈亢進症性胃症(PHG)を原因としていわれている胃壁の微小循環異常を解析するため、In Vivo Microscopeを用いて胃粘膜微小血管内血流を測定しPHGにおける微小循環異常の血行動態を検討した。血管内の赤血球移動速度は動脈・静脈ともに門亢症ラット群(PHT群)、sham operation群(SO群)間に有意差はなかったが、血管径はPHT群の方が有

意に拡張しており、その結果血管内血流量は動、静脈ともにPHT群で有意に増加、微小循環は亢進し、いわゆるactive congestionの状態と考えられた。

兼松らは、EHOモデルによる海綿状脈管増生像と血管新生因子発現との関係を免疫組織学的に検討した。エンドトキシンを経門脈的に区域門脈枝内に投与し門脈血栓を作製するこのモデルではエンドトキシン注入後72時間以内にEHOに類似した海綿状脈管構造の著明な増生を認め、これは7日目にかけて減少した。また、血管新生因子であるVEGFの発現はエンドトキシン注入48時間後に最も高度に発現し、海綿状脈管・門脈・中心静脈・動脈等の内皮のみならず、類洞内皮や類洞壁細胞にも出現しており、このVEGFの強力な発現が海綿状脈管増生に大きく関与しえるものと推測された。

杉町らは、門亢症ラット胃粘膜におけるeNOS活性化のシグナリングメカニズムについて検討した。対照群に比べ、門亢症胃粘膜ではPI3-K、Aktの活性化が有意に増加しており、さらにリン酸化されたAktに結合しているeNOSも有意に増加していた。また、PI3-Kのリン酸化、Aktの活性化およびeNOSのリン酸化は、抗TNF- α 抗体により対照群のレベルへと低下した。以上より、門亢症胃粘膜におけるhyperdynamic circulationのメカニズムとして、TNF- α によりPI3-K/Aktが活性化されeNOSのSer1177のリン酸化が増加し、NOが過剰産生されることが考えられた。

【全国疫学調査】

廣田らは、門脈血行異常症全国疫学調査2次調査票より、診断時と比較した最終観察時の状況に及ぼす各所見の影響を性、年齢、観察期間で調整したProportional Odds Modelを用いて検討した。その結果、特にEHOにおいては、黄疸やICG遅延の見られた症例は予後が悪い傾向が見られた。また、治療法互いの影響を考慮した各治療法の転帰に及ぼす影響は、3疾患とも直達術と内視鏡治療は転帰が良く、IPHにおける薬剤治療は転帰が悪い傾向が見られた。

【全国患者登録および検体保存センターの現況】

門脈血行異常症であるIPH、EHO、BCSの3疾患は、全国的に症例数が限られているため、これら3疾患の病因や病態の解明をおこなうには、調査対象症例の確保が必要である。全国検体保存センターおよび患者登録センターを設置し、全国より広く検体を集め、症例を登録することで、3疾患の病因や病態に必要な検体の確保を行うため研究班では、門脈血行異常症患者(IPH、EHO、BCS)に関して全国患者登録及び検体の保存センターを設立した。現在までに研究協力を依頼した施設は666施設、研究協力に同意した施設は258施設(内訳：174大学、病院84施設)であった。実際に登録症例のあった施設は167(25%)施設、さらに検体提供のあった施設は59(9%)施設であった。平成14年3月31日現在、IPH95例、EHO48例、BCS36例の検体の登録を完了した。全血検体よりDNAを抽出し、血漿および血清は凍結保存した。遺伝子解析を行うにあたり、その研究の結果が様々な倫理的・法的・社会的問題を十分考慮しなければならない。そのため平成13年3月29日付けで告示された文部科学省・厚生労働省・経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に定められた手続きを遵守することが求められている。現在、九州大学大学院医学系研究院の遺伝子解析倫理審査委員会に「門脈血行異常症の遺伝子異常に関する調査研究」の審査を申請し、審議を委ねているところである。

【症 例】

兼松らは、カテーテル治療の適応外とされた、下大静脈完全閉塞と進行肝硬変を合併したBCSに対して、静脈バイパス下の一次的下大静脈血栓除去・静脈形成ならびに生体肝移植を行い、有用な結果が得られた一例を報告した。

二川らは、異なった経過を示したBCSの3例を治療方針の検討も含めて報告した。杉浦分類Ⅰ型のBCSに対しては膜様閉塞部用手穿破術や直達手術などの外科的手術、またはPTAによる狭窄部拡張を行うことで肝の鬱血が解除されれば良好な予後が期待できると思われた。杉浦分類Ⅱ型に対しては、鬱血性肝硬変から肝癌の発生の危険性を考えると、より積極的な外科的手術を試みる必要があり、将来的には肝移植の適応も考慮されるべきであると考えられた。杉浦分類Ⅳ型は通常の内科的治療は困難であり、肝移植の絶対適応と考えられた。

加藤らは、選択的シャント術(DSRS)を施行したIPH16例のうち、予後不良例について、その病態、予後不良因子などを検討した。予後不良例は5例であり、門脈血流不全(門脈血栓形成)例、シャント不全(吻合部狭窄、腎静脈血流不全)例、脾機能亢進遷延(脾動脈破裂)例に分類できた。これらはIPH特有の脾機能亢進、血栓形成傾向や他のいくつかの要因が関与していると考えられた。

II 分担研究報告

IPH肝における血管増殖・新生因子発現の検討

金沢大学大学院形態機能病理学
中沼 安二

共同研究者
金沢大学大学院形態機能病理学
常山 幸一

はじめに

肝臓では門脈血流量の減少がarterio-portal(A-P)シャントや肝動脈枝の拡張・増加に起因する肝動脈血流量の増加によって代償されることが知られている(1)。IPHは前類洞性の門脈圧亢進によって特徴付けられる疾患であり門脈硬化や門脈枝の閉塞が特徴的であるが、肝動脈の形態や血流量の変化については未だ十分な検討がなされていない。我々は血管内腔面積の変化が血流量の変化に相関していることに注目し(2)、剖検肝、及び外科的切除肝組織を用いて肝動脈枝、門脈枝の内腔面積を組織計測的に検討した。さらに血管増殖因子の産生に重要な役割を果たすとされる活性化マクロファージと肥満細胞について、その浸潤細胞数と分布を免疫組織化学的に検討した。

対象と方法

剖検、及び外科的切除にて得られたIPH20症例を対象とし、アルコール性肝線維症/肝硬変20症例、正常肝20症例を対照とした。各標本に抗CD31抗体(DAKO, Denmark)と抗 α -smooth muscle actin(SMA)抗体(DAKO)による二重免疫染色を施行し、CD31陽性脈管を α -SMA陽性の平滑筋が厚く取り囲むものを肝動脈枝、CD31陽性陽性脈管を α -SMA陽性平滑筋が薄く取り囲むものを門脈枝と分類した。各管腔の内腔面積はMHイメージを用いて数値化し、門脈域全体の面積で補正した値を肝動脈インデックス、門脈インデックスとして算出した。

門脈域における活性化マクロファージの分布は抗CD68抗体(DAKO)を、肥満細胞の分布は抗トリプターゼ抗体(DAKO)を用いて検討した。染色はEnvision法(DAKO)を用いて行い、DABで発色後、光学顕微鏡で観察した。

結 果

1. 門脈枝、肝動脈枝の組織計測的検討

IPHの門脈インデックスは 1.6 ± 0.2 でありアルコール性肝線維症/肝硬変の 9.1 ± 1.8 、正常肝の 32.0 ± 1.7 に比し有意に減少していた。肝動脈インデックスはアルコール性肝線維症/肝硬変では 5.1 ± 0.4 と正常肝(2.3 ± 0.2)より有意に増加していたが、IPHでは 2.8 ± 0.4 と正常肝と同程度であり、代償性の増加は認められなかった。

2. 活性化マクロファージの門脈域での分布

正常肝では1門脈域あたり 4.0 ± 0.9 個のマクロファージが主に胆管周囲性に認められた。アルコール性肝線維症/肝硬変では 11.9 ± 1.9 個と増加しており、門脈域内にびまん性に分布していた。IPHでは 3.7 ± 0.6 個と正常肝とほぼ同程度であり、分布も胆管周囲性であった(図1)。

3. 肥満細胞の門脈域での分布

正常肝では1門脈あたり 5.5 ± 1.7 個の肥満細胞が主に胆管周囲性に認められた。アルコール性肝線維症/肝硬変では 19.4 ± 3.8 個と増加しており、門脈域内にびまん性に分布していた。IPHでは 5.5 ± 1.7 個と正常肝とほぼ同程度であり胆管周囲性に分布していた(図2)。

考察・結論

アルコール性肝線維症／肝硬変では正常肝に比して門脈内腔面積が減少していたが、代償的に肝動脈内腔面積が増加していた。一方IPHでは門脈内腔面積の著明な減少にもかかわらず、肝動脈内腔面積は増加が認められず、肝動脈による血流代償不全状態にあると考えられた。IPHにおける肝動脈血流代償不全の原因としては、いくつかの可能性が考えられる。我々は前回、IPH胆管周囲にCTGF産生細胞が浸潤し、胆管周囲の密な膠原増生を誘導している可能性を報告した(3)。IPHに特徴的な胆管周囲の密な膠原線維増生は胆管周囲血管叢の拡大を妨げ、A-Pシャント形成を抑制している可能性が考えられる。第二にIPHにおける血管新生・増生因子の産生不全、機能不全が考えられる。我々の検討ではアルコール性肝線維症／肝硬変の門脈域にはマクロファージ、肥満細胞のいずれも正常肝に比して有意に増加していたが、IPHでは正常肝と数、分布ともに変化が認められなかった。IPHでは活性化マクロファージや肥満細胞の門脈域への遊走が障害されていると考えられ、これら炎症細胞の遊走を制御する因子の発現異常が示唆される。従来より、門脈域の血管内皮や胆管上皮には種々の接着因子やサイトカイン、ケモカインが発現することが知られている(4)。IPHではこれら分子の発現に何らかの異常がある可

能性が考えられ、免疫学的見地からの更なる病態解析が重要であると考えられた。

参考文献

- 1) Koda W, Harada K, Tsuneyama K, et al. Evidence of the participation of peribiliary mast cells in regulation of the peribiliary vascular plexus along the intrahepatic biliary tree. *Lab Invest* 2000;80:1007-17
- 2) Oikawa H, Masuda T, Sato S, et al. Changes in lymph vessels and portal veins in the portal tract of patients with idiopathic portal hypertension: a morphometric study. *Hepatology* 1998 ; 27: 1607-1610.
- 3) 中沼安二、常山幸一:IPH線維化におけるCTGF, MMP-2, MMP-9 の発現パターン:線維増生/分解のバランスを中心に厚生労働省特定疾患門脈血行異常症調査研究班 平成13年度研究報告書2001:5-8
- 4) Tsuneyama K, Harada K, Yasoshima M, et al. Monocyte chemotactic protein-1, -2, and -3 are distinctively expressed in portal tracts and granulomata in primary biliary cirrhosis: implications for pathogenesis. *J Pathol* 2001;193:102-9

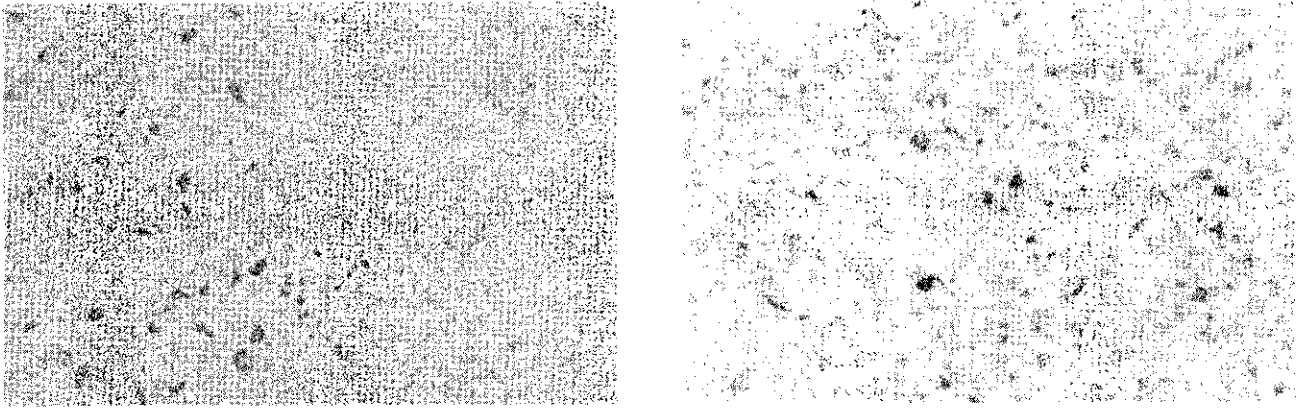


図1 門脈域における活性化マクロファージの分布

左) IPH。類洞には多数の活性化マクロファージが見られるが、門脈域には胆管周囲に数個見られるのみ。
 右) アルコール性肝線維症／肝硬変。類洞内及び門脈域に多数の活性化マクロファージが見られる。

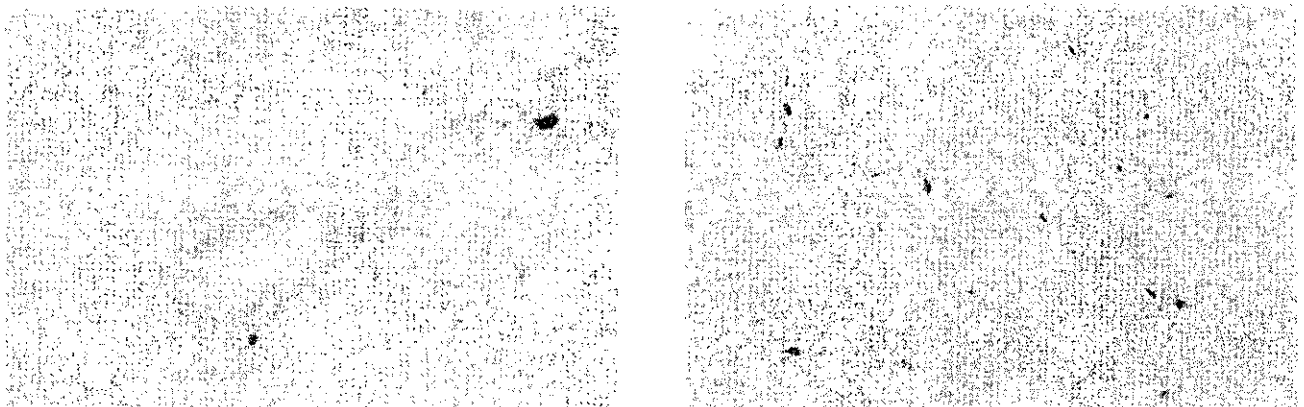


図2 門脈域における肥満細胞の分布

左) IPH。門脈域胆管周囲に数個の肥満細胞が見られる。
 右) アルコール性肝線維症／肝硬変門脈域。門脈域にびまん性に多数の肥満細胞が見られる。

Budd-Chiari 症候群における病因に関する検討

九州大学大学院災害救急医学

橋爪 誠

共同研究者

九州大学大学院災害救急医学

赤星朋比古、後藤 謙和、山口 将平、小西 晃造

九州大学大学院消化器・総合外科

富川 盛雅、起田 桂志

はじめに

バッドキアリ症候群（BCS）において、近年、模様構造や肝静脈起始部の狭窄や閉塞が血栓とその器質化によって説明できることから後天的血栓説がその原因として注目されている。よってBCSの原因として、凝固線溶系に関わる因子に注目し、日本におけるBCSの病因を明らかにするべく以下の研究を行った。

対象と方法

1997年10月から2001年9月までに全国検体保存センターに登録された34例のうち26例において、現在BCSと関連が報告されている凝固線溶系に関連する因子および遺伝子異常について検討した。

1) 現在までBCSの病因として報告されている凝固線溶因子およびその遺伝異常として、プロテインC、プロテインS、プラスミノゲン、アンチトロンビンⅢの欠乏症

2) 血栓性素因としてループスアンチコアグラント、カルジオリピン抗体の上昇をきたす抗リン脂質抗体症候群

3) 遺伝子異常としては、凝固因子である第5因子（Factor V）のcodon506番位のpoint mutation（いわゆるleiden mutation）、およびプロトロンビンの14exon point mutation

結 果

凝固線溶異常では、前回検討時より10症例BCSの検体保存の登録を得たため再検討したが、アンチトロンビンⅢ、プラスミノゲンにおいて有意差はみられなかった。しかしアンチトロンビンⅢは肝硬変にともないBCSより低下傾向を認めた。

プロテインC、Sにおいても肝硬変患者と有意差は認めなかったが、プロテインCにおいてBCSでは著明低値例を認める症例があった。

また、抗リン脂質抗体症候群は、臨床所見にて動静脈血栓をきたす自己免疫性の症候群であるが、BCSの場合、閉塞の原因が静脈血栓であるとすれば抗カルジオリピン抗体あるいはループスアンチコアグラントの高値があれば抗リン脂質抗体症候群といえる。

カルジオリピン抗体高値症例は7例認め、一方肝硬変患者では高値例は1例のみであった。また、カルジオリピン高値例においてさらに、性差、年齢、病型について検討したが、特に特徴的なことは、認めなかった。

遺伝子異常について従来より報告されているLeiden mutationについてわが国およびネパールにおけるBCS症例にて検討したが、mutationは1例も認めなかった。またFactor Vとともに血栓症の基礎疾患として知られているProthrombin geneのmutationについて検討したが、PCR-RFLPの結果、Prothrombin

geneのmutationは認めなかった。

考 察

日本におけるBCSについて凝固因子とその遺伝子異常について検討したがアンチトロンビンⅢ、プロテインC、プロテインS、プラスミノーゲンは肝硬変症例とBCS症例において有意差を認めなかった(図1, 2, 3)。パッドキアリ症候群では、肝硬変を伴っていることが多く、凝固系の異常なのか肝硬変症に伴う凝固系の異常なのかは今後検討する必要があると考えられた。

次に肝硬変では1例(9%)のみにしか抗カルジオリピン抗体高値例を認めなかったが、BCSでは7例(26.6%)に認めた(図4, 5)。日本においては、BCSの成因として抗リン脂質抗体症候群の関与が示唆された。今後BCS症例では、測定すべきと考

えられた。

また今回は、国際間比較のための国外調査としてネパールにおけるBCSの研究調査を行い本邦およびネパールにおいての病型(杉浦分類)およびLeiden mutationを検討したが両国において病型に差はなく、Leiden mutationも認めなかった(図6, 7)。よって本邦とネパールにおけるBCSは欧米とは異なる成因によるものと考えられた。さらに日本において比較的多いとされるProthrombin gene (G20210A)の遺伝子変異を検討したが、この異常は認められなかった。Prothrombin geneについては、検討症例が少ないので今後も引き続き検討する必要がある。

今後、脂質抗体症候群の関与の検討、凝固因子異常底値例の遺伝的検索(血縁患者の検査)と原因遺伝子の解明を続けることで我が国におけるBCSの成因を明らかにするとともに成因別の治療法の確立が可能になるものと期待される。

抗リン脂質抗体症候群

抗リン脂質抗体症候群とは、血中にリン脂質にたいする抗体が証明され、動静脈血栓症、習慣性流産、血小板減少をきたす自己免疫疾患。

抗リン脂質抗体症候群診断基準案 (Harris)

- | | |
|---------|----------------------------------|
| 1. 臨床所見 | 静脈・動脈血栓症、習慣性流産、血小板減少 |
| 2. 検査所見 | IgGカルジオリピン抗体、ループスアンチコアグラント |
| 3. 診 断 | 経過中に臨床所見、検査成績のそれぞれ1項目以上が陽性を示すもの。 |

図 1

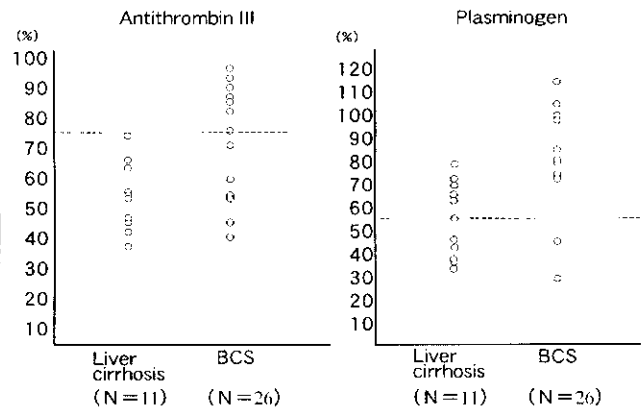


図 2

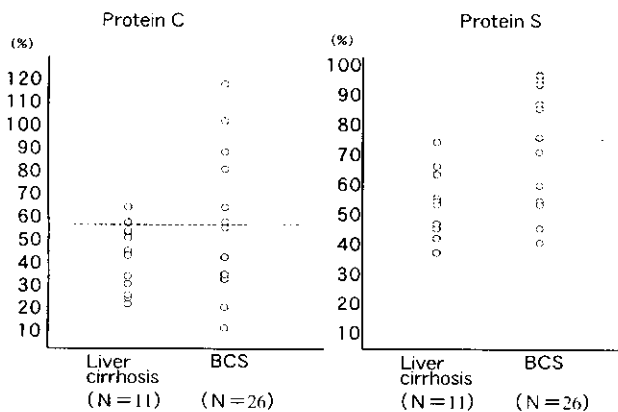


図 3

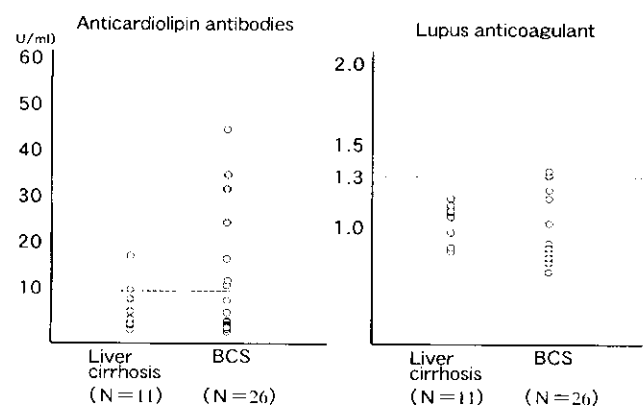


図 4

抗カルジオリピン抗体高値を認めた
7症例

CASE	ACA	出生地	肝機能	下大静脈	肝静脈	静脈瘤
1. 70M	11.9	愛媛県	Child B	閉塞	開存	F1 (E)
2. 27F	49.4	大阪府	Child B	狭窄	閉塞	F1 (E & G)
3. 57M	23.5	愛媛県	Child B	狭窄	開存	F2 (E)
4. 69F	46.1	秋田県	Child A	閉塞	開存	—
5. 43F	30.1	宮崎県	Child A	狭窄	一部閉塞	F2 (E)
6. 74F	19.5	愛媛県	Child A	閉塞	一部閉塞	—
7. 50M	36.9	大阪府	Child A	閉塞	開存	F1 (E)

図 5

日本およびネパールBCS症例の比較

	日本人BCS	ネパールBCS	p値
年齢	54.8±17.5	44.7±12.6	0.0475
性(男/女)	10:9	11:10	>0.99
病型 (杉浦分類)			
I	8	12	0.784
II	3	4	>0.99
III	5	1	0.186
IV	3	1	0.357
不明	0	4	

図 6

Leiden mutation

Codon 506 (Arg 506 Gln)	Arg/Arg	Arg/Gln
BCS (n=19 Japan)	19 (100%)	0 (0%)
BCS (n=21 Nepal)	21 (100%)	0 (0%)
Control (n=131)	131 (100%)	0 (0%)

図 7

カナダのBudd-Chiari症候群

久留米大学医学部病理学教室
鹿毛 政義

はじめに

カナダのトロント大学病理学教室のWanless教授の協力を得て、Budd-Chiari症候群15例の肝移植時摘出肝の病理形態を検討した。

対象と方法

症例は、Wanless教授がBudd-Chiari症候群の肝硬変の形成機序に関する研究で対象としたものである(Hepatology, 1998; 27: 488)。症例の主な臨床病理所見を表1に示す。Budd-Chiari症候群の原因については、真性多血症が1例、経口避妊薬の服用歴は5例であり、残りの症例は特発性であった。

結 果

Budd-Chiari症候群肝病理形態の主な所見について記載する。

1. うっ血性病変の病理形態

1) 急性うっ血肝、うっ血性肝線維症、肝小葉の逆転(reversed lobulation)を経て、肝硬変にいたる種々の段階のうっ血性肝病変が観察された。初期の肝硬変の再生結節の大きさは、比較的小さく均一であった。2) 高度の急性うっ血肝の症例では、venoocclusivediseaseに類似した肝内肝静脈の系統的な血栓性閉塞が目立ち、中心帯領域の出血・壊死が著しかった。3) 広範な肝実質壊死脱落(extinction)を呈する症例があり、門脈域・中心静脈間の異常近接像が観察された。このような症例では、肝静脈の血栓性閉塞のみならず肝内門脈枝にも血栓が観察された。extinctionの形成機序には、うっ血に加え門脈

血流低下による虚血の関与も示唆された。

2. 肝再生性変化の病理形態

症例により程度の差はあったが、旺盛な肝細胞再生が観察された。1) 直径0.5mmを越える大再生結節が15例中8例にみられた。2) 再生結節の形成は、必ずしも線維化の進展とは関連せず、線維化の乏しいうっ血性肝線維症にも境界明瞭な再生結節が散見された。3) 再生結節の中には、肝細胞の腺房様配列、細胞密度の上昇、胆汁のうっ滞、異型を呈する症例があった。4) 限局性結節性過形成(FNH)様の過形成結節が観察された。(図1、2) 結節の中央には線維性瘢痕が存在し、この部には肝動脈の拡張、門脈の消失、軽度ながら細胆管の増生を認めた。5) 結節性再生性過形成(NRH)様所見を呈する症例があった。この所見は、線維化のないうっ血肝、線維化の乏しいうっ血性肝線維症に観察された。早期の肝細胞癌に観察されるnodule in noduleの組織像を呈する再生結節もあった。これは再生状態の異なる2つの肝細胞集団であり、肝細胞癌にみられる構造ならびに細胞異型を欠いていた。

3. 肝細胞癌合併例の非癌部病変

1例に中等度分化の索状型肝細胞癌の合併がみられた。非癌部は、肝細胞の再生が目立つうっ血性肝線維症であり、線維化の程度は軽く、肝硬変ではなかった。ウイルス肝炎を示唆する組織変化はなかった。

考 察

カナダのBudd-Chiari症候群の肝病理形態は、本邦のそれと基本像は同じであり、種々の段階のうっ血性肝病変のスペクトラムが観察される点も一致する。ただし、カナダの症例では、旺盛な肝再生性変

化が目立った。大再生結節が15例中8例に認められたが、本邦のBudd-Chiari症候群剖検症例の検討では、17例中1例にのみ観察された。FNH様の過形成結節は、その組織像から、肝内血行異常を基盤として形成された病変と推察される。つまり、うっ血による肝実質の傷害・脱落に加えて、門脈枝の閉塞による門脈血流の減少に対し、代償性に生じた局所の肝動脈血流の増加が過形成を惹起した可能性がある。その成因として、肝細胞の増生や肝内血管の血栓形成と関連深い経口避妊薬などの薬剤の関与も考えられるが、薬剤と過形成結節形成との関係は明らかではなかった。

Budd-Chiari症候群は肝細胞癌の合併頻度が高いことが知られているが、癌発生の機序は不明である。肝細胞癌の成因について肝炎ウイルスの関与を考慮すべきとの報告はある。しかし、持続したうっ血が肝細胞の壊死と再生により細胞回転の上昇を招く結果、発癌物質に対する肝細胞の感受性を高めるのではないかと推測もなされている。非癌部の病理組織像は、肝癌の背景因子を推定する上で手掛かりを与えてくれる。今回の1例にみられた肝細胞癌合併例の非癌部肝組織は、典型的なうっ血性肝線維症であり、しかも、血清HBsAgとHCV抗体はともに陰性であった。うっ血肝単独でも、発癌の要因と成りう

る可能性を示唆した症例と考えられた。

結 語

カナダのBudd-Chiari症候群は、うっ血性肝病変に加え旺盛な肝再生を呈し、その形態は多様であった。

文 献

1. Tanaka M, Wanless I. Pathology of the liver in Budd-Chiari syndrome: Portal vein thrombosis and the histogenesis of veno-centric cirrhosis, veno-portal cirrhosis, and large regenerative nodule. *Hepatology*. 27; 488-496, 1998
2. Okuda H, Yamagata H, Obata H, et al. Epidemiological and clinical features of Budd-Chiari syndrome in Japan. *J Hepatology* 22; 1-9, 1995
3. Kage M, Arakawa M, Kojiro M, et al. Histopathology of membranous obstruction of the inferior vena cava in the Budd-Chiari syndrome. *Gastroenterology* 102; 2081-2090, 1992

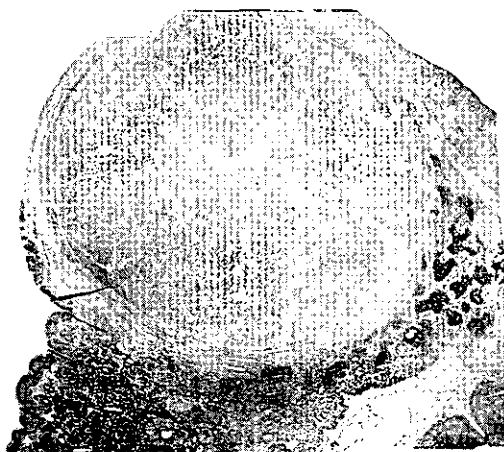


図1. Budd-Chiari症候群の剖検例にみられた大きなFNH様所見。背景はうっ血肝。(HE, ルーペ像)

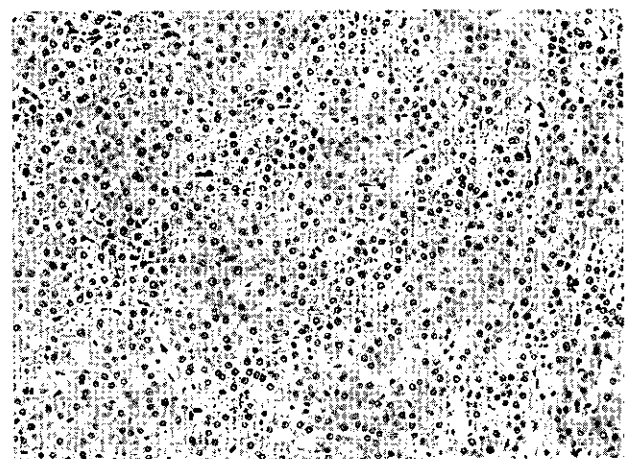


図2. 図1の過形成結節の組織像。肝細胞索の肥厚と細胞密度の増加がみられる。(HE, X100)

表 1. カナダのBudd-Chiari症候群の主な臨床所見。

症例	性別	診断時 年齢	移植時 年齢	腹水	静脈瘤出血歴	静脈瘤
1	F		25	3	+	
2	M	30	51		+	
3	F	44	44	3	(-)	(-)
4	F	23	30	3	+	+
5	F	19	19	2	(-)	?
6	F	18	19			
7	F	16	19	1	++	+
8	F		38	1-2	+	+
9	F		27			
10	M	40	50	1	(-)	
11	F	41	43	3	(-)	
12	M	35	35	3	(-)	
13	F	28	29	3	(-)	+
14	F	44	45	2	(-)	
15	M	36	36	1	(-)	

アンチトロンビン欠損マウスおよびプロテインS欠乏症に関する研究

国立名古屋病院
齋藤 英彦

はじめに

Budd-Chiari症候群や門脈血栓症の原因として欧米では先天性血栓傾向(Factor V Leiden, プロテインC欠乏症、プロテインS欠乏症、アンチトロンビン欠乏症など)が注目されている。しかし、我が国にはFactor V Leidenは存在せず、またこれまでの少数例の遺伝子解析では他の先天性血栓傾向との関連は明らかにされていない。しかしプロテインC、Sあるいはアンチトロンビンの欠乏症(ヘテロ接合体)は日本人の一般人口約1000人当たり1人は存在するのでよく調べれば発見できるかもしれない。

我々はgene targeting法によりアンチトロンビンの完全欠損マウス及び部分欠損マウスを作製し門脈血行異常症がおこるか否かを検討した。またこれまで我々は日本人における多くのプロテインS欠乏症の遺伝子異常を同定してきたが、さらに新たな14症例の遺伝子解析をおこなった。

対象と方法

図1の如くアンチトロンビン遺伝子のエクソン2をネオマイシン耐性遺伝子で置換した。プロテインS遺伝子解析は患者の同意をえて末梢血白血球よりDNAを抽出しPCRで増幅後プロテインS遺伝子のすべてのエクソンとエクソン-イントロン境界をシーケンスした。

結果および考察

1. アンチトロンビン欠損マウス

アンチトロンビン(AT)完全欠損マウス(ホモ接合体)は胎生15.5日までに70%が、16.5日までは

100%が死亡し生まれない(1)。これらのマウスでAT遺伝子が欠損していることはPCRおよびサザンブロットで確認され、またRT-PCRおよびウエスタンブロットにてm-RNAと蛋白の発現がないことが明らかである(図2)。完全欠損マウスの死因は胎生期に全身の皮下出血を起こすことである。マウス胎児の組織をHE染色およびフィブリン抗体による免疫染色で調べると、心筋と肝臓の類洞に顕著なフィブリン沈着を認めた。門脈には全く血栓を見なかった。また肺、腎臓などにもフィブリン沈着を認めなかった。従ってアンチトロンビンは特に心および肝の凝固制御に重要であると考えられる。DIC(消耗性血管内凝固)および肝障害のために出血したと思われる。

一方、AT部分欠損マウス(ヘテロ接合体)は図2に示すように血中のアンチトロンビンの活性と抗原量が正常マウス(wild type)の約半分に減少しているが、正常に生まれ外観もwild typeと変わらない。また約2年間の観察期間中に自然に血栓症を発症することはなかった。しかし、エンドトキシンの投与や狭いチューブに拘束するなどのストレスを与えるとwild typeよりも高率に腎臓などに微小血栓を形成した。この場合にも門脈には全く血栓を認めなかった(2)。

2) プロテインS欠乏症の遺伝子解析

12例のプロテインS欠乏症は下肢の深部静脈血栓症や肺梗塞などの血栓症のため遺伝子解析を依頼されたものである。12例中4例に遺伝子異常を同定した(3)。2例はナンセンス変異(Gln238Term, Lys298Term)で、2例はミスセンス変異(Asp202Asn, Leu298Pro)であった。このうちAsp202Asnをもつ症例(仙台市立病院)は門脈・上腸間膜静脈血栓症を呈した。今までに世界中で同定された変異はdatabaseに約100種類登録されているが

(4)、今回同定した2例のミスセンス変異は新しいものであった。Asp202とLeu298は他のほ乳類のプロテインSにおいてもよく保存されているアミノ酸残基であり、蛋白の構造上重要なことが示唆された(3)。今回プロテインS欠乏症の遺伝子異常は12例中4例(33%)に見いだされたのみであるが、従来の報告でも約50%である。この率はプロテインC欠乏症に比較して少ないが、おそらく5'や3'側の非翻訳領域に変異が隠れているのではないかと推定されている。

文 献

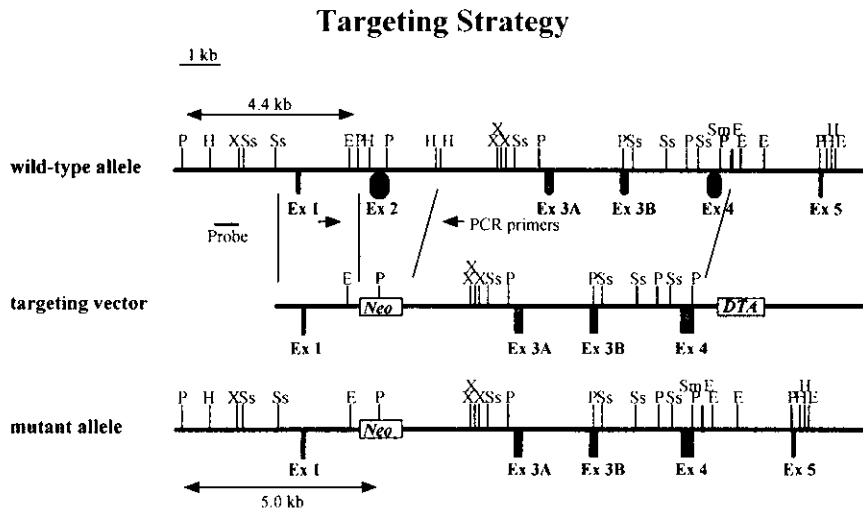
1) Ishiguro K, Kojima T, Kadomatsu K, et al: Complete antithrombin deficiency in mice results in

embryonic lethality. *J Clin Invest* 106:873-878, 2000.

2) Yanada M, Kojima T, Ishiguro K, et al: The impact of antithrombin deficiency in thrombogenesis: LPS and stress-induced thrombus formation in heterozygous antithrombin deficient mice. *Blood* in press.

3) Iwaki T, Matsushita T, Kobayashi T, et al: DNA sequence analysis of protein S deficiency - Identification of four point mutations in twelve Japanese subjects. *Sem Thromb Hemost* 27:155-160, 2001.

4) Gandrille S, Borgel D, Ireland H et al: Protein S deficiency: a database of mutations. *Thromb Haemost* 77:1201-1214, 1997.



AT knock out

