

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）

難治性の肝疾患に関する調査研究

平成 16 年度 ^{総括・分担} 研究報告書

平成 17（2005）年 4 月

主任研究者 戸田 剛太郎

序

本研究班が研究対象としてウイルス性肝疾患を除く難治性の肝疾患を取り上げることになったのは平成4年からである。平成7年には難治性の肝炎調査研究班から難治性の肝疾患調査研究班と名称変更された。私が本研究班の主任研究者となって6年目となる。本研究班では自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、劇症肝炎を主要な研究対象として取り上げてきたが、昨年から原発性硬化性胆管炎、小児の自己免疫性肝炎も研究対象に加えた。

自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変いずれも病因、発症機序が不明の疾患である。劇症肝炎については病因は明かであるが、何故劇症化するのか、発症機序が不明である。病因、発症機序の解明されれば予防手段の開発が可能となる。しかし、病因、発症機序の解明には基礎的研究が必須である。一方において、病因、発症機序が不明であっても患者が存在するからには、診断し、治療する必要がある。このような観点から、病因、発症機序解明のための基礎的研究と的確な診断・治療指針の提示のための臨床的研究という二つのアプローチを通じて難治性の肝疾患克服を目指してきた。しかし、病因、発症機序解明にはまだ多くの問題が残されている。しかし、自己免疫性肝炎についてはモデルマウスが作成され、今後の展開が期待される。一方、診断・治療については目覚ましい成果が得られたと考えている。自己免疫性肝炎では診断困難例について診断指針を示すことができた。また、多重ロジスティックモデル、遺伝子発現プロファイル、プロテインチップ解析からは自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変は明確に区別される病態であることを示唆する結果が得られた。このような意味では両者のオーバーラップは稀な病態であるといえるが、この問題については今後も研究を継続する必要がある。また、原発性胆汁性肝硬変については、その発症には分子擬態の関与を示唆する研究、また、ベザフィブラートの有効性を確認することができた。劇症肝炎については成因別の診断指針が示され、自己免疫機序による劇症肝炎が注目を集めた。治療については、肝移植導入により救命率は向上しているが、ドナー肝の深刻である。したがって、肝移植に依存しない治療法の実現が必要であり、劇症化阻止も重要な課題である。そのためには劇症化の機序解明が緊急の課題である。

この6年間、ウイルス性肝障害が世間の注目を浴びるなか、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、劇症肝炎という比較的稀な疾患の克服のために御協力をいただいた、分担研究者、研究協力者の方々、また、研究遂行のために多大の御協力をいただいた東京慈恵会医科大学研究支援課の諸姉、また、研究遂行のために多大のご援助をいただいた厚生労働省に深甚の感謝を表す次第である。

平成17年3月

主任研究者 戸田 剛太郎

目 次

はじめに 東京慈恵会医科大学 戸田 剛太郎

I. 総括研究報告		
難治性の肝疾患に関する調査研究	東京慈恵会医科大学 戸田剛太郎	1
II. 分担研究総括報告		
1. 自己免疫性肝炎に関する研究	東京慈恵会医科大学 戸田剛太郎	5
2. 原発性胆汁性肝硬変に関する研究	高知大学大学院医学系研究科消化器病態学 大西 三朗	7
3. 劇症肝炎に関する研究	埼玉医科大学消化器・肝臓内科 藤原 研司	9
III. 分担研究報告		
III-1. 全国疫学調査		
4. (1) 自己免疫性肝炎におけるウルソデオキシコール酸の有効性に関するランダム化比較試験		11
(2) PBCに対するベザフィブラートの治療効果に関する無作為化2群比較他施設オープン試験	東京慈恵会医科大学 戸田剛太郎	18
5. 小児自己免疫性肝炎の全国調査	筑波大学大学院人間総合科学研究科病態制御医学専攻小児科学分野 松井 陽	22
6. 原発性硬化性胆管炎の全国調査	帝京大学医学部内科 滝川 一	27
III-2. 自己免疫性肝炎		
7. 自己免疫性肝疾患における補助刺激分子の動態	東京慈恵会医科大学 戸田剛太郎	31
8. CpG DNA による肝抗原に対する免疫寛容の破綻	福島県立医科大学医学部第2内科 佐藤由紀夫	33

9. 自己免疫性肝疾患類似 GVHR 肝病変の肝病理組織学的検討—遺伝子発現の面から—	35
筑波大学大学院人間総合科学研究科病態制御医学専攻消化器病態学分野専攻	
田中 直見	
10. Con A 誘発マウス肝炎モデルを用いた免疫学的肝細胞障害の発症と治療法の検討	37
旭川医科大学内科学第二講座 中村 公英	
11. 劇症型自己免疫性肝炎の臨床的特徴	41
岡山大学大学院消化器・肝臓・感染症内科学 白鳥 康史	
12. ヒト血清における蛋白質発現の比較—AIH, PBC、境界病変を対象として—	43
大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科 西口 修平	
13. 首都圏の自己免疫性肝炎における HLA DRB1 の検討	45
東京厚生年金病院内科 池田 有成	
14. 自己免疫性肝炎における制御性 T 細胞の役割	48
愛知医科大学消化器内科 各務 伸一	
15. 小児期発症の自己免疫性肝炎に対するステロイドパルス療法	50
国際医療福祉大学附属熱海病院小児科 藤澤 知雄	
16. 1) 自己免疫性肝炎の病態—遺伝子多型と発現蛋白の解析	51
2) 自己免疫性肝炎の長期予後	52
信州大学医学部内科 清澤 研道	
17. 組織学的変化から見た自己免疫性肝炎の長期予後	54
虎の門病院内科 熊田 博光	
18. 自己免疫性肝炎におけるステロイド中断後の予後に及ぼす因子の解析	57
神奈川歯科大学附属病院内科 森實 敏夫	
19. 国立病院機構における自己免疫性肝炎治療と予後について	61
国立相模原病院地域医療・研修部 渡部 幸夫	

III-3. 原発性胆汁性肝硬変

20. 原発性胆汁性肝硬変全国調査 (第 25 報)	65
高知大学大学院医学系研究科消化器病態学 大西 三朗	
関西医科大学内科学第三講座 廣原 淳子	

21. 一般住民における抗ミトコンドリア抗体の疫学調査	68
昭和大医学部第二内科	井廻 道夫
22. DNAチップを用いたPBC肝組織における遺伝子発現の検討.....	72
高知大学大学院医学系研究科消化器病態学	大西 三朗
23. 原発性胆汁性肝硬変(PBC)における胆管消失の分子機構:細胞老化制御因子 Bmi-1 を中心に.....	75
金沢大学医学系研究科形態機能病理学	中沼 安二
24. 原発性胆汁性肝硬変における薬物代謝に関わる遺伝子の SNP と臨床経過.....	77
香川大学医学部第三内科	栗山 茂樹
25. 原発性胆汁性肝硬変に検出される抗 p95c 抗体の対応抗原の検索:p97/VCP との同一性.....	80
帝京大学溝口病院第4内科	宮川 浩
26. 胆汁うっ滞におけるコレステロールの動態.....	82
福岡大学医学部第三内科	向坂彰太郎
27. 食道胃静脈瘤が先行出現する原発性胆汁性肝硬変(v-PBC)の臨床像特異性について	84
愛媛大学医学部第三内科	恩地 森一
28. 原発性胆汁性肝硬変における胆管細胞障害とその制御	86
国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター	石橋 大海
29. 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:第六報-QOL 再調査.....	89
国立病院機構九州医療センター消化器科	酒井 浩徳

III-4. 劇症性肝炎

30. (1) 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計(2003年).....	93
(2) 劇症肝炎の肝移植適応ガイドラインの再評価.....	108
埼玉医科大学消化器・肝臓内科	藤原 研司
31. 非 B 非 C 肝癌に関する研究.....	110
東京大学大学院医学系研究科消化器内科	小俣 政男
32. 重症型アルコール性肝炎の全国調査.....	112
慶應義塾大学	石井 裕正
33. (1) 劇症肝炎に対する組み換え型ヒト HGF の臨床応用	117
(2) 迅速簡便な肝細胞増殖因子(HGF)半定量測定キットの有用性	119
宮崎大学医学部第二内科	坪内 博仁

34. 劇症肝炎発症における肝細胞の生と死のメカニズム:NF- κ Bの両面性.....	122
岐阜大学大学院医学研究科医学部腫瘍制御学講座消化器病態学分野 森脇 久隆	
35. 急性肝炎の劇症化予知に関する研究—CT画像による肝容積を加味した検討—	125
岩手医科大学第一内科 鈴木 一幸	
36. HBVキャリアないしB型慢性肝炎重症化の病態と治療	131
昭和大学藤が丘病院消化器内科 与芝 真彰	
37. 自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法の基礎と臨床.....	133
山口大学医学部附属病院病院長、山口大学医学部消化器病態内科学 沖田 極	
38. 劇症肝炎に対する生体部分肝移植.....	137
東京大学大学院医学系研究科臓器形態外科学講座肝胆膵外科、人工臓器・移植外科 幕内 雅敏	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	143
V. 班員名簿	155
VI. 平成16年度総会プログラム	
第一回総会プログラム	157
第二回総会プログラム	161

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

難治性の肝疾患に関する調査研究

主任研究者 戸田剛太郎 東京慈恵会医科大学 客員教授

分担研究者	
大西三朗	高知大学大学院医学系研究科 消化器病態学
藤原研司	埼玉医科大学消化器・肝臓内科
小俣政男	東京大学医学系研究科 器官病態内科学
中沼安二	金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学
幕内雅敏	東京大学大学院医学系研究科 臓器形態外科学

要約

病因、病態の解明については自己免疫性肝障害モデルにおける肝炎の自然寛解が抑制性 T 細胞の活性化であることが示唆され、AIH における肝炎持続の機序の解明が今後の重要な課題である。また、PBC における胆管障害が細胞老化制御機能の低下による再生能低下が関わっている可能性も示唆された。診断については小児 AIH、急性発症 AIH における診断上の問題点が示され、今後の課題となった。また、PBC の新しい診断基準が示されるとともに、症候性 PBC の判定基準の改定がなされた。治療については小児 AIH に対して副作用の少ない治療指針が示された。しかし、副作用の少ない治療薬として期待されたウルソデオキシコール酸の AIH における有用性については登録症例数が少なく明確な結論が得られなかった。PBC に対するベザフィブラートの有用性については、ウルソデオキシコール酸単独療法で十分な効果が得られない症例についてベザフィブラートとの併用により、肝機能検査値の更なる改善効果が得られることが示された。劇症肝炎については、現在次々と開発されている抗ウイルス薬の劇症肝炎への応用に関する研究も進行中である。また、自己骨髄細胞移植療法など将来が期待される治療法の臨床応用に関する報告があった。

本研究班では難治性の肝疾患のうち自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、劇症肝炎をとりあげてきたが、さらに昨年度から小児の自己免疫性肝炎、原発性硬化性胆管炎を新たな研究対象として加えた。いずれも原因不明であり、診断、治療において多くの問題を抱え、根治の困難な疾患である。本調査研究班の目的は、それぞれの疾患の病因、病態の解明を通じて、新たな診断法、治療法を開発するとともに、診断基準、適切な治療を施すための基準を作成し、国民の福利、厚生に資することである。この目的達成のために本調査研究班には自己免疫性肝炎分

科会、原発性胆汁性肝硬変分科会、劇症肝炎分科会の三分科会がある。三分科会それぞれの目標は、自己免疫性肝炎分科会：病因、病態の解明、診断遅延による重症化、病態の進展の阻止、副作用の少ない治療法の開発。

原発性胆汁性肝硬変分科会：病因、病態の解明、肝硬変への進展を阻止する治療法の開発。

劇症肝炎分科会：劇症化機序の解明、劇症化の予知、予防法の開発、肝移植に依存しない治療法の開発。

以下、各分科会の平成 16 年度の成果を述べる。

自己免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis, AIH) 分科会

現在まで、いくつか AIH 動物モデルが作成されてきたが、いずれも自然寛解を示し、ヒトの AIH の正確な再現は困難であった。この理由について、MHC class II の差に由来する GVHR モデルマウスの肝組織より抽出した total RNA を用いたマイクロアレイ解析により制御性 T 細胞 CD25⁺CD4⁺ T 細胞の特異的マーカーである IL-2 receptor α 鎖が発現することが明らかにされ、免疫学的寛容の再誘導が肝病変の改善に関わっていることが示された。新しいモデルマウスとして、calreticulin を CpG DNA と投与することにより肝炎が惹起されることが報告された。calreticulin 抗体は AIH、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 患者の 40~60% に検出されており、自己免疫性肝障害に於いて肝細胞障害に関わっている可能性がある。また、治療法については、免疫学的肝障害モデルである Con A 誘発肝炎モデルマウスを用いて、Fucoidan が Kupffer 細胞に IL-10 産生を誘導し、肝炎抑制効果を示すことが報告された。

小児の AIH の全国調査が行われ、AIH10 例の詳細な解析で、血清 IgG は 1 例を除いて 2g/dl 未満であり、抗核抗体、抗平滑筋抗体いずれも陰性の症例が 1 例あったが、抗核抗体陽性者では、その力価は 160 倍以下であることが報告された。しかし、International AIHgroup の診断基準による scoring では probable 4 例、definite 6 例であり、小児の AIH 診断においても International AIHgroup の診断基準は有用と考えられる。

AIH と PBC のオーバーラップが注目されているが、プロテインチップを用いた解析により AIH 患者と PBC 患者では肝臓における発現蛋白が異なること、プロテインチップを用いて血清蛋白の解析を行い、境界病変はいずれも PBC と判定されたことが報告され、このような意味ではオーバーラップ症候群の診断には慎重でなくてはならない。AIH の急性発症例では発症時に IgG が低値であったり、抗核抗体が

低力価であることがあり、病理学的に AIH と診断されても臨床上 AIH の特徴を備えていないために診断困難な例があることが報告された。

小児においてはステロイドによる成長障害の予防が重要である。この点に関してメチルプレドニゾンパルス療法併用が経口プレドニゾン単独療法よりも肝機能検査の正常化も速やかで、成長障害などの副作用が少ないことが示された。しかし、副作用の少ない治療薬として期待されたウルソデオキシコール酸の成人 AIH における有用性についての臨床研究は登録症例数が少なく明確な結論が得られなかった。

AIH の維持療法における臨床的目標をどこに置くかについて、AST, ALT が基準値範囲に維持された群においてのみ有意の組織学的改善がみられ、AST, ALT を基準値内に維持することが重要であることが報告された。また、日常診療においては維持療法としてのステロイド投与を中断するかどうかの決断をせまられることがしばしばある。維持療法を中断・減量した際の再燃群、非再燃群の間では病期期間、AIH スコアに有意差がみられ、病期期間が短く、AIH スコア (International AIH group の診断基準によるスコア) の低い症例では中断・減量を試みてもよいことが報告された。

原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis, PBC) 分科会

平成 16 年度から、PBC の診断基準を改定し、黄疸、皮膚掻痒感を有する症例のみならず、黄疸、皮膚掻痒感をみとめないが、腹水、肝性脳症あるいは食道静脈瘤を有する症例も症候性 PBC に分類することとした。この改定により、より多くの患者が難病指定の医療費公費負担の支給対象になる。第 6-11 回全国調査における黄疸、皮膚掻痒感がないために無症候性 PBC とされた 3,111 例のうち、診断時に皮膚掻痒感、黄疸は認めないが、腹水、浮腫、肝性脳症、静脈瘤破裂などを認め、新しい臨床病期分類での症候性 PBC に該当する症例が 3% 含まれ、予後が不良である事が報告された。また、新診断基準では ELISA 法によって検出される抗 M2 抗体も抗ミトコンドリア抗体として診断基準に加えることとなった。

PBC に有効であるとする個別報告がなされたベザフィブラート (BF) の試験研究は臨床研究-I (BF 単独療法と UDCA 単独療法の比較)、および臨床研究-II (UDCA 治療後、血清 Alp 値が基準値上限の 1.5 倍以上の症例での BF 併用療法と非併用療法の比較) が行われた。臨床研究-I では BF の明らかな優位性を示す知見は得られなかったが、臨床研究-II では BF 併用療法で肝胆道酵素、IgM 値の更なる改善が認められた。併用投与による重篤な副作用は認められず、PBC の UDCA に対する難治例には、BF 併用が望ましいとの結論が出された。

香川県の検診で一般住民 620 人 (男性 260 人、女性 360 人) について抗ミトコンドリア抗体 (AMA) を測

定し、蛍光抗体法での陽性率は約 0.5% であることが報告された。この陽性率は関東地区の陽性率とほぼ同じである。

PBC 発症に関わる環境因子解析の観点から xenobiotics の代謝酵素シトクローム P450 遺伝子の SNP 解析を行い、CYP2E1 c1/c2 が PBC の重症度との関連性を報告された。PBC 例について、治療前後の DNA マイクロアレイを用いた肝遺伝子発現プロファイルを比較したが、PBC の病態と関連すると考えられるものは認めないことが報告された。PDC-E2 特異的 T cell クローンとヒト培養胆管上皮細胞 (BEC) を用いて、BEC が T 細胞の活性化を抑制することが示された。PBC の障害胆管では老化関連 p16^{INK4a} の発現亢進がみられ、この発現亢進と関連して p16^{INK4a} の発現抑制因子 Bmi-1 発現の低下がみられた。PBC における肝内小型胆管の消失に細胞老化関連遺伝子の発現亢進による再生不良が関わっている可能性が示された。

早期に食道静脈瘤が出現する PBC 群、掻痒感を伴う PBC 群と比較検討し、前者の予後が不良で発癌例が多く、PBC では食道静脈瘤に対する EVL 単独療法後の再発率が非 PBC より高いことも示された。PBC の一部に検出される microsome 分画の 95-kDa に対する自己抗体の標的分子が p97/Valosine containing protein (VCP) と同一であることが示された。胆汁うつつ滞における血清コレステロールの上昇について、ラット胆管結紮モデルと PBC 患者の肝生検材料を用いて、肝細胞の ABC A1 トランスポーターを介したコレステロールの血管腔への排出増加による可能性が示された。

劇症肝炎分科会

2003 年に発症した劇症肝炎、LOHF (late onset hepatic failure) に関する全国集計を実施され、計 94 例 (劇症肝炎急性型 44 例、亜急性型 38 例、LOHF 12 例) が登録された。成因はウイルス性が 50% を占め、その内訳では B 型 (47%) が最多であった。また、B 型では急性感染例 (32%) がキャリア急性発症例 (11%) より多く、前者は急性型、後者は亜急性型の頻度が高率であった。自己免疫性例は全体の 3% であり、2002 年までに比して低率であった。急性型ではウイルス性が 75% を占めていたが、その大部分は B 型であり、A 型は 2% と例年に比して少なかった。一方、亜急性型ではウイルス性は 32% で、成因不明例が 50% を占めた。肝移植非実施症例における救命率は急性型 52%、亜急性 31%、LOHF 9% であり、成因との関連では特に B 型キャリア発症の予後が不良であるなど、予後に関しては例年と差異は認められなかった。肝移植実施例も含めた救命率は急性型 55%、亜急性型 45%、LOHF 17% であった。

治療については、B 型キャリア例における抗ウイルス療法の体系を確立するために試験研究を継続中である。ラミブジン投与の有用性については、投与開始 3 年後までの成績を回収しており、平成 17 年度中には調査を終了する予定である。ラミブジン治

療を実施したB型慢性肝炎重症化例の肝における遺伝子発現をDNAマイクロアレイによって網羅的に解析し、インターフェロンやサイトカインに関連した遺伝子が変動することが報告された。これら成績を基に、より効果的な抗ウイルス療法の確立に応用することが、今後の課題として求められる。2003年の肝移植実施例では、早期に肝移植を実施する傾向が定着している。しかし、同年の肝移植実施例を対象に肝移植適応ガイドライン（日本急性肝不全研究会、1996年）の有用性を検討すると、2002年までと同様に有用性のがみられた。そこで、前年度の個別研究で報告された岡山大学によるSISRを指標として加えた肝移植指針の有用性が検討され、特に急性型において予後予測の精度が向上する可能性を報告された。劇症肝炎28例に対して肝移植が実施されたが、累積生存率は96%で術後の予後は良好であり、右葉グラフトを利用することで適応が拡大することが報告された。

早期治療開始を目的とした劇症化の予知について、肝容量(LV)と標準肝容量(SLV)の比(LV/SLV)が低率の症例で劇症化する頻度が高いことが報告され、画像検査が劇症肝炎の早期予測に有用であることが示された。HGF測定についてイムノクロマト法を用いた迅速で簡便なHGF測定キットが開発され、ベットサイドで血清HGF濃度を半定量的に評価することが可能となった。現在全国規模で劇症化予知の目的での有用性を評価する検討が進められている。

新規治療法として自己骨髄細胞移植による肝再生療法を肝硬変症例に実施し、血清アルブミン濃度の上昇、ヒアルロン酸濃度の低下が認められたことが報告された。HGFを用いた肝再生療法について、肝移植適応ガイドラインで死亡と予測される劇症肝炎を対象とした医師主導型の治療研究を予定されている。TNF受容体を介する細胞死のシグナルを、NF- κ B、IL-8などとの関連で検討された。

重症型アルコール性肝炎の全国調査で、血液濾過透析および白血球除去療法などの集学的治療を導入することで、予後が向上する可能性が報告された。

総括

病因、病態の解明について、自己免疫性肝障害モデルで観察される肝炎の自然寛解が抑制性T細胞の活性化であることが示唆され、AIHにおける肝炎持続の機序の解明が今後の重要な課題である。また、PBCにおける胆管障害が細胞老化制御機能の低下と関わっている可能性も示唆された。診断については小児AIH、急性発症AIHにおける診断上の問題点が示され、今後の課題となった。また、PBCの新しい診断基準が示されるとともに、症候性PBCの判定基準の改定がなされた。より多くの患者が公費支給の対象となると期待され、患者にとって福音となるであろう。治療については小児AIHに対して副作用の少ない治療指針が示された。しかし、副作用の少

ない治療薬として期待されたウルソデオキシコール酸のAIHにおける有用性については登録症例数が少なく明確な結論が得られなかった。PBCに対するベザフィブラートの有用性については、ウルソデオキシコール酸単独療法で十分な効果が得られない症例についてベザフィブラートとの併用により、肝機能検査値の更なる改善効果が得られることが示された。ベザフィブラート療法はわが国で見出された治療法である。劇症肝炎については肝移植に依存しない治療法の開発が大きな目標であるが、目標達成までにはまだ長い道のりがあるように思われる。しかし、現在、次々と開発されている抗ウイルス薬の劇症肝炎への応用に関する研究も進行中である。また、自己骨髄細胞移植療法など将来が期待される治療法の臨床応用に関する報告があった。

以上、研究班として、特に治療面において一定の成果があったように思う。

II. 分担研究総括報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

自己免疫性肝炎に関する研究

主任研究者 戸田剛太郎 東京慈恵会医科大学 客員教授

要約

GVHR モデルマウスにおける肝病変改善について、制御性 T 細胞 CD25⁺CD4⁺T 細胞が関わっていることを明らかにされた。Con A 誘発肝炎モデルマウスにおいて Fucoidan が IL-10 産生を誘導し、肝炎抑制効果を示すことが報告された。マウスに calreticulin を CpG DNA と投与すると calreticulin 抗体産生誘導とともに肝炎が惹起されることが報告された。

小児の自己免疫性肝炎 (AIH) の全国調査が行われた。AIH10 例の解析では 2 例の死亡例があった。血清 IgG は 1 例を除いて 2g/dl 未満であり、抗核抗体、抗平滑筋抗体いずれも陰性の症例が 1 例あったが、抗核抗体陽性者では、その力価は 160 倍以下であった。小児の AIH 治療に関してメチルプレドニゾンパルス療法併用が経口プレドニゾン単独療法よりも肝機能検査の正常化も速やかで、成長障害などの副作用が少ないことが示された。

診断困難であった AIH と PBC の境界病変における、プロテインチップを用いて血清蛋白の解析の診断的有用性が検討され、境界病変はいずれも PBC と判定された。AIH の急性発症例 11 例のうち発症時に AIH と診断されたのは 4 例に過ぎなかった。この理由としては組織学的に AIH と診断されても IgG が低値であったり、抗核抗体が低力価であることがあり、臨床上 AIH の特徴を備えていないことが原因であったとしている。AIH 治療の臨床的目標としては AST, ALT を基準値内に維持することが必要である。維持療法としてのステロイド投与中断について、病期期間が短く、AIH スコアの低い症例では中断・減量を試みてもよいことが示された。

動物モデルを用いた研究：田中直見協同研究者は従来より MHC class II の差に由来する GVHR モデルマウスにおける肝病変を用いて免疫性肝障害に関する研究を報告している。肝炎は GVHR 導入後 2 週目にピークに達した後、8 週目には改善傾向を示し、肝線維化に至ることはない。このメカニズムについて、肝組織より抽出した total RNA をもちいたマイクロアレイにより制御性 T 細胞 CD25⁺CD4⁺T 細胞の特異的マーカーである IL-2 receptor α 鎖が GVHR マウスで 2 週目より発現することを示し、免疫学的寛容の再誘導が肝病変の改善に関わっていることを明らかにした。田中公英協同研究者は従来より Con A 誘発肝炎モデルマウスを用いた研究を報告しているが、今回、Fucoidan が肝組織内 (Kupffer 細胞?) に IL-10 産生を誘導し、肝炎抑制効果を示すことを報告した。臨床応用が期待される。佐藤由紀夫協同研究者は肝

蛋白とともに Th 1 タイプの adjuvant 作用を有する CpG DNA をマウスに投与することにより多くの自己抗体が産生誘導されることを報告し、その一つが calreticulin を標的とする自己抗体であることを示したが、今回、calreticulin を CpG DNA と投与することにより肝炎が惹起されることを報告した。

calreticulin 抗体は自己免疫性肝炎 (AIH)、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 患者の 40~60% に検出されており、自己免疫性肝障害に於いて肝細胞障害に関わっている可能性がある。

臨床研究：清澤研道協同研究者は第 6 染色体短腕 HLA 領域の網羅的マイクロサテライト解析により AIH の疾患感受性遺伝子が HLA DR, DQ 領域のみであることを報告してきたが、今回、プロテインチップを用いた解析により、AIH 患者と PBC 患者では発現蛋白が異なることを報告した。池田有成協同研究者は首都圏の AIH 患者においても DRB1*0405 が高頻度であることを報告した。

西口修平協同研究者はプロテインチップを用いて血清蛋白の解析を行い、診断困難であった AIH と PBC の境界病変における診断的有用性について検討した。AIH と PBC、それぞれの疾患において異なった発現ピークを示す蛋白は 23 個あったが、両者を効率よく区分できる単一蛋白はなく、発現蛋白の組み合わせにより良好な判別が可能となり、その結果、境界病変 10 例はいずれも PBC と判定された。このような意味ではオーバーラップ症候群の診断には慎重でなくてはならない。

松井陽協同研究者、鹿毛政義協同研究者により小児の AIH の全国調査が行われた。AIH10 例の解析では 2 例の死亡例があった。血清 IgG は 1 例を除いて 2g/dl 未満であり、抗核抗体、抗平滑筋抗体いずれも陰性の症例が 1 例あったが、抗核抗体陽性者では、その力価は 160 倍以下であった。しかし、International AIHgroup の診断基準による scoring では probable 4 例、definite 6 例であり、小児の AIH 診断においても International AIHgroup の診断基準は有用と考えられる。白鳥康史協同研究者は劇症型自己免疫性肝炎 11 例の臨床像について検討した。劇症肝炎の約 10% が AIH であり、AIH 例全例が女性で、亜急性型であった。5 例は肝移植なしで生存し、予後判定には診断時の T/D 比、T.Bil の推移が重要であった。熊田博光協同研究者は 42 例の複数回肝生検可能であった 42 例の AIH 症例において、組織学的改善、不変、悪化がそれぞれ 66.7、23.8、9.5% であったことを報告した。また、AIH の急性発症例 11 例の

うち発症時に AIH と診断されたのは 4 例に過ぎなかった。この理由としては組織学的に AIH と診断されても IgG が低値であったり、抗核抗体が低力価であることがあり、臨床上 AIH の特徴を備えていないことが原因であったとしている。

治療について、藤澤知雄協同研究者から小児の AIH 治療に関する報告があった。小児においてはステロイドによる成長障害の予防が重要である。この点に関してメチルプレドニゾンパルス療法併用が経口プレドニゾン単独療法よりも肝機能検査の正常化も速やかで、成長障害などの副作用が少ないことが示された。渡部幸夫協同研究者から AIH 治療の臨床的目標をどこに置くかについて報告があった。維持療法において AST, ALT を基準値上限の 2 倍以下に維持すればよいという AASLD practice guidelines がある。渡部らは複数回肝生検が行われた症例について、基準値範囲に維持された群、基準値以上 2 倍以下の群、再燃群に分けて、組織学的所見(線維化、グ鞘炎、Interface hepatitis、小葉炎)の改善について検討したところ、基準値範囲に維持された群においてのみ有意の改善がみられた。したがって、AIH 治療の臨床的目標としては AST, ALT を基準値内に維持することが必要である。また、日常診療においては維持療法としてのステロイド投与を中断するかどうかの決断をせまられることがしばしばある。森實敏夫協同研究者は維持療法としてプレドニゾンが投与され 6 ヶ月以上 AST, ALT が基準値内に維持された症例について、プレドニゾン 2.5mg/日投与中断群、5mg/日から 2.5mg/日投与へ減量群について再燃群、非再燃群の間で臨床像を比較した。中断群、減量群それぞれ 37.5、60%に再燃がみられた。再燃群、非再燃群の間では病悩期間、AIH スコア(International AIH group の診断基準によるスコア)に有意差がみられ、病悩期間が短く、AIH スコアの低い症例では中断・減量を試みてもよい。森實らの病悩期間、AIH スコアを用いた多変量モデルの正診率は 71%であった。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

原発性胆汁性肝硬変に関する研究

分担研究者 大西 三朗 高知大学大学院医学系研究科消化器病態学 教授

原発性胆汁性肝硬変（PBC）分科会の研究課題は①PBCの疫学調査、②病因・病態の解明、これらに基づく、③診断基準の改訂、④新しい治療法の開発である。

平成16年度から、症候性PBCの改訂診断基準（黄疸、皮膚掻痒感に腹水、肝性脳症、食道静脈瘤を加えた）に基づき、より多くの患者が難病指定の医療費公費負担の支給対象になったことは大きな福音である。また、研究班の最終年度に国民の健康福祉への貢献に直結する新しい治療法の開発について試験研究の解析結果を纏めることが出来た。

PBCの新治療法であるベザフィブラート（BF）の試験研究は臨床研究-I（BF単独療法とUDCA単独療法の比較）、および臨床研究-II（UDCA治療後、血清Alp値が基準値上限の1.5倍以上の症例でのBF併用療法と非併用療法の比較）が行われた。臨床研究-IではBF投与群がAlp改善効果は優れ、UDCA投与群が γ -GTP、ALT、AST、IgMの改善効果は優っていた。臨床研究-IIではBF併用療法で肝胆道酵素、IgM値の更なる改善が認められた。併用投与による重篤な副作用は認められず、PBCのUDCAに対する難治例には、BF併用が望ましいとの結論が出された。今後、併用療法の効果を病理組織、および予後の改善について検討が必要である。

疫学調査については平成15年度末に実施した第12回全国調査は「疫学研究に関する倫理指針」（文部科学省・厚生労働省告示第2号、平成14年6月付け）および「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン」（厚生労働省、平成16年12月付け）に則り、平成16年度末に個人情報管理システムの構築を済ませ、解析中である。

大西分担協力者（解析担当；廣原）から、第6-1-1回全国調査における無症候性PBC 3,111例のうち、診断時に皮膚掻痒感、黄疸は認めないが、腹水、浮腫、肝性脳症、静脈瘤破裂などを認め、新しい臨床病期分類での症候性PBCに該当する症例が3%含まれ、予後が不良である事が報告された。酒井研究協力者からは国立病院肝疾患政策医療ネットワークでPBCのQOLの解析方法が示された。

非廻研究協力者からは香川県の検診で一般住民620人（男性260人、女性360人）について抗ミトコンドリア抗体（AMA）を測定し、蛍光抗体法での陽性率は約0.5%であり、過去の検出率（平成12年関東地区、平成15年関西地区）と同程度であり、地域差のないことが報告された。

小俣研究協力者は肝炎ウイルスに起因しない肝細胞癌146例（PBC3例を含む）を対象に臨床データの階層化クラスターリングによる背景因子の解析を行い、若年男性の大量飲酒者、高齢・肥満女性、高齢・中等度飲酒男性、その他の4群に分類されると報告した。

病因・病態については6題の報告がなされた。大西研究分担者からPBC6例について、DNA解析に用いる事に対して同意を得た後、採取した肝組織を用い、治療前後のDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイルを比較し、治療後に発現の増強（cytochrome P450 II E1, aldolase B, haptoglobin 1S）あるいは低下（ α -fetoprotein, cytochrome C oxidase 1）する幾つかの遺伝子が認められたが、PBCの病態と関連すると考えられるものは認めないと報告された。栗山研究協力者からPBCの病態と環境因子の関与の観点から xenobiotics の代謝酵素シトクロームP450遺伝子のSNP解析を行い、CYP2E1 c1/c2がPBCの重症度との関連性を報告した。

石橋研究協力者はPBCの胆管傷害の免疫学的制御法の開発を目指し、PDC-E2特異的T cell クローンとヒト培養胆管上皮細胞（BEC）を用いて、BECの抗原提示細胞およびアクセサリー細胞機能を更に検討し、BECは抑制性補助因子（PD-L1, PD-L2）の発現および、prostaglandin-E2の分泌を介してT細胞の活性化を抑制する事を追加した。中沼研究協力者はPBCにおける肝内小型胆管の消失と細胞老化形質の関連の研究を更に進め、PBCの障害胆管ではBmi-1発現の低下に関連して、老化関連p16^{INK4a}の発現低下を認め、かつマウス培養胆管細胞ではSIRNAによる発現の抑制によりp16^{INK4a}の発現の亢進を認めた事から、PBCの胆管細胞の老化にBmi-1発現低下が関与する可能性を示した。

恩地研究協力者は早期に食道静脈瘤が出現するPBC群11例の臨床的特徴を掻痒感を伴うsI-PBC11と比較検討し、前者の予後が不良で発癌例が多い事を報告した。次にPBCでは食道静脈瘤に対するEVL単独療法後の再発率が非PBCより高い事も示した。

宮川研究協力者はPBCの一部に検出されるmicrosome分画の95-kDaに対する自己抗体の標的分子がp97/Valosine containing protein (VCP) と同一であることを、免疫沈降法および nuclear envelope assembly の抑制効果により明らかにした。

向坂研究協力者はラット胆管結紮モデルとPBC患者の肝生検材料を用いて、胆汁うっ滞における血清コレステロールの上昇には肝細胞のABC A1ト

ランスポーターを介したコレステロールの排出増加に依る事を示した。

以上の如く、一定の成果を上げることが出来た。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

劇症肝炎に関する研究

分担研究者 藤原 研司 埼玉医科大学消化器・肝臓内科 教授

全体研究としては 2003 年に発症した劇症肝炎、LOHF の全国調査を実施し、患者背景、成因、臨床所見及び予後に関して解析した。試験研究としては「HBV キャリアの急性増悪例に対する lamivudine 投与の有用性を検討する prospective study」を継続している。分担研究では、「重症型アルコール性肝炎の全国集計」を多施設共同で実施している。また、劇症肝炎の病態、診断、治療に関する基礎的、臨床的検討も分担研究として多数報告された。

1. 劇症肝炎、LOHF の実態(全国調査、分担研究)

2003 年に発症した劇症肝炎、LOHF に関する全国集計を実施し、計 94 例（劇症肝炎急性型 44 例、亜急性型 38 例、LOHF 12 例）が登録された。例年とは異なり、急性型は女性、亜急性型と LOHF は男性が多く、病型による年齢の差異も認められなかった。しかし、亜急性型と LOHF では、例年どおり生活習慣病などの基礎疾患を有する症例が多く、薬物歴は両病型のみならず、急性型においても 40% 以上と高率であった。成因はウイルス性が全体の 50% を占めており、その内訳では B 型（47%）が最多であった。また、B 型では急性感染例（32%）がキャリア例（11%）より多く、前者は急性型、後者は亜急性型の頻度が高率であった。急性型に限定するとウイルス性が 75% を占めていたが、その大部分は B 型であり、A 型は 2% と例年に比して少なかった。一方、亜急性型ではウイルス性は 32% で、成因不明例が 50% で最多であった。自己免疫性例は全体の 3% であり、2002 年までに比して低率であった。肝移植非実施症例における救命率は急性型 52%、亜急性 31%、LOHF 9% であり、成因との関連では特に B 型キャリアの予後が不良であるなど、予後に関しては例年と差異は認められなかった。肝移植実施例は急性型 11 例（25%）、亜急性型 9 例（24%）、LOHF 1 例（8%）であり、これらも含めた救命率は急性型 55%、亜急性型 45%、LOHF 17% であった。

2. 劇症肝炎、LOHF の治療（全国調査、試験研究、分担研究）

2003 年の症例においても、ラミブジンによる抗ウイルス療法と肝移植の実施頻度が増加し、特殊組成アミノ酸製剤と GI 療法は減少するといった、2002 年までの症例で見られた治療に関する動向は変わらなかった。また、成因疾患に対する治療や肝臓保護療法を昏睡出現前から実施する症例の頻度も更に上昇する傾向にある。しかし、肝移植非実施症例におけ

る救命率は B 型キャリア例と自己免疫性例で相変わらず低率であり、その対策が急務と考えられた。

1) ラミブジン

B 型キャリア例における抗ウイルス療法の体系を確立するために試験研究を継続中である。ラミブジン投与例の長期予後、特に、投薬中断、YMDD 変異株や breakthrough hepatitis の出現率などに関する投与開始 3 年後までの成績を回収しており、平成 17 年度中には調査を終了する予定である。また、与芝分担研究員はラミブジン治療を実施した B 型慢性肝炎重症化例を対象に、肝における遺伝子発現を DNA microarray によって網羅的に解析し、インターフェロンやサイトカインに関連した遺伝子の変動することを報告した。これら成績を、より効果的な抗ウイルス療法の確立に応用することが、今後の課題として求められる。

2) 生体部分肝移植

2003 年の肝移植実施例は、昏睡出現から生体部分肝移植を実施するまでの日数が 4 日以内の症例が全体の 62% を占めており、早期に肝移植を実施する傾向が定着している。一方、同年の肝移植実施例を対象に肝移植適応ガイドライン（日本急性肝不全研究会、1996 年）の有用性を検討すると、昏睡出現 5 日後の再評価時における正診率は急性型 73%、亜急性型 65% であり、2002 年までと同様に有用性が低下していた。そこで、藤原分担研究者は、全国調査に登録された症例を対象に、前年度の個別研究で報告された岡山大学による SISR を指標として加えた肝移植指針の有用性を検討し、特に急性型において予後予測の精度が向上する可能性を報告した。また、幕内分担研究員は劇症肝炎 28 例に対して肝移植を実施したが、累積生存率は 96% で術後の予後は良好であり、右葉グラフトを利用することで適応が拡大することを報告した。

3) 新規治療法

沖田分担研究者は自己骨髄細胞移植による肝再生療法を 8 例の肝硬変症例に実施し、血清アルブミン濃度の上昇、ヒアルロン酸濃度の低下が認められたことを報告した。坪内分担研究員は HGF を用いた肝再生療法を確立する目的で、肝移植適応ガイドラインで死亡と予測される劇症肝炎を対象とした医師主導型の治療研究を予定しており、その準備状況を報告した。また、森脇分担研究員は TNF 受容体を介する細胞死のシグナルを、NF- κ B、IL-8 などとの関連で検討している。

3. 肝炎劇症化の予知(分担研究)

鈴木分担研究者は劇症化する症例の早期予知を目指して、プロトロンビン時間 80% 未満の急性肝炎を対象に、CT 検査による肝容量測定の意義を検討した。岩手医科大学では急性肝炎重症型を対象として劇症化予知式を発表しているが、同式で予測劇症化率が 20%程度 of 症例では、肝容量 (LV) と標準肝容量 (SLV) の比 (LV/SLV) が低率 of 症例で劇症化する頻度が高いことを見出しており、画像診断を併用することで劇症肝炎を早期予測することが可能になると推定された。また、坪内分担研究者は免疫クロマト法を用いて迅速で簡便な HGF 測定キットを開発し、ベットサイドで血清 HGF 濃度を半定量的に評価することを可能にした。このキットに関しては、プロトロンビン時間 80% 以下を示す急性肝炎症例を対象に、全国規模で劇症化予知の目的での有用性を評価する検討が進められている。

4. 重症型アルコール性肝炎の全国調査(分担研究)

石井分担研究者は劇症肝炎と病態の類似した重症型アルコール性肝炎の全国集計を実施している。今年度は 2003 年に発症した 12 症例の臨床像を解析し、血液濾過透析および白血球除去療法などの集学的治療を導入することで、予後が向上する可能性を報告した。

Ⅲ. 分 担 研 究 報 告

Ⅲ-1. 全国疫学調査

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

自己免疫性肝炎におけるウルソデオキシコール酸の有効性に関するランダム化比較試験

主任研究者 戸田剛太郎 東京慈恵会医科大学 客員教授

研究要旨：ウルソデオキシコール酸（Ursodeoxycholic Acid, UDCA）の肝障害軽度の自己免疫性肝炎に対する有効性を明らかにするため、2つのランダム化比較試験を施行した。臨床研究Ⅰでは、血清AST値が基準値上限5倍未満の自己免疫性肝炎をUDCA 600mg/日とプラセボの2群にランダム割付を行い、8週後の血清AST正常化をエンドポイントとして治療企図解析を行った。目標症例数110例であったが、約4年間で10症例登録が行われ、UDCA群4例、プラセボ群6例で終了となった。これら症例集積を解析すると、有効率は、UDCA群25%（95%信頼区間0-67%）、プラセボ群33%（95%信頼区間0-71%）でありカイ二乗検定で有意差は認められなかった。また、これら10例の内プロドニゾロン非投与でUDCAあるいはプラセボ投与のみで8週時点で血清AST基準値上限5倍未満の例は、9週以後48週までUDCA600mg/日の投与を行い、48週時点でUDCAのみの投与で血清AST正常化をエンドポイントとしても解析した。48週時点の有効率は50%（95%信頼区間19-81%）であった。臨床研究Ⅱでは、プレドニゾロン(PSL) 10mg/日で血清AST値が6ヶ月以上基準値以内の症例を対象に、PSL10mg/日のA群とPSL5mg/日+UDCA600mg/日のB群にランダム割付し、48週後の血清AST値正常化をエンドポイントとして、治療企図解析を行った。目標症例数112例であったが、同様に19症例が登録された。これらの内訳はA群9例、B群10例であった。有効率は、A群56%（95%信頼区間23-88%）、B群70%（95%信頼区間42-98%）（カイ二乗検定でP=0.317）で有意差は認められなかった。以上から、UDCAが肝障害軽度の自己免疫性肝炎に対して奏効するかどうかについて、明確な結論を得ることはできなかった。ただし、PSL10mg/日で血清ASTが6ヶ月基準値以内の症例に対して、PSL5mg/日+UDCA600mg/日に切り替えることによって、48週後に70%の症例が基準値以内にとどまることから、試みられるべき治療といえる。

共同研究者

森貫敏夫 神奈川歯科附属病院大学内科
柴田 実 NTT東日本関東病院消化器内科
銭谷幹男 東京慈恵会医科大学
消化器・肝臓内科

A. 研究目的

自己免疫性肝炎はステロイド薬あるいは免疫抑制薬の有効率が高く、国際的な標準的治療にはプレドニゾロン単独療法およびプレドニゾロンとアザチオプリン併用療法の2つが存在する。なお、わが国ではアザチオプリンは腎移植における拒絶反応の抑制に投与されており、自己免疫性肝炎に対する適応は認められていない。免疫抑制療法により80%の患者で血清ALT値が正常上限の2倍未満に改善し、肝炎が寛解し、10年生存率が90%に達する。

本研究ではUDCAの自己免疫性肝炎に対する治療効果を明らかにするため、2つの臨床試験を実施した。臨床試験Ⅰとして、「自己免疫性肝炎に対する短期間のUDCA療法に関する二重盲検による無作為化比較試験および長期間のUDCA療法の非比較試験」、臨床試験Ⅱとして、「プレドニゾロン維持療法中の自己免疫性肝炎に対する無作為化比較試験によるUDCA併用療法の検討」を実施した。

B. 研究方法

1) 対象および研究デザイン

臨床試験Ⅰの概略は、次のとおりである。

- Hypothesis:肝障害の程度が軽いと判断される自己免疫性肝炎患者においてUDCA療法は有効である。
- Design: 二重盲検化ランダム化比較試験
- Setting: Multi-center study
- Patient
Inclusion criteria: AIH score 10-15の疑診例および16以上の確診例。無症候もしくは軽度の自覚症状。血清AST値が正常上限の5倍未満。
Exclusion criteria: 血清AST値が正常上限の5倍以上。腹水、肝性脳症、黄疸(T-Bil>3mg/dl)、肝細胞癌合併、重篤な肝外疾患合併、HBsAg陽性、anti-HCV陽性、大酒家、妊婦、免疫抑制剤投与例。
- Intervention: A群 UDCA600mg//日投与、B群プラセボ投与。8週間投与後主要エンドポイントを測定し、その時点で血清AST基準値上限5倍未満の例は以後48週間A、B群ともUDCA600mg/日投与し、副次エンドポイントを測定する。最初の8週間は二重盲検化あり。
- Main outcome measurement:主要エンドポイント