

growth factor-beta 1 transcription. *J Med Virol* 2004; 72: 52-9.

- 2) Omata M, Yoshida H. Prevention and treatment of hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2004; 10: S111-4.
- 3) Yoshida H, Tateishi R, Arakawa Y, Sata M, Fujiyama S, Nishiguchi S, Ishibashi H, Yamada G, Yokosuka O, Shiratori Y, Omata M. Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2004; 53: 425-30.
- 4) Wang Y, Kato N, Hoshida Y, Otsuka M, Taniguchi H, Moriyama M, Shiina S, Kawabe T, Ito YM, Omata M. UDP-glucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma in Japanese patients with hepatitis C virus infection. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2441-6.
- 5) Tanaka Y, Kanai F, Kawakami T, Tateishi K, Ijichi H, Kawabe T, Arakawa Y, Kawakami T, Nishimura T, Shirakata Y, Koike K, Omata M. Interaction of the hepatitis B virus X protein (HBx) with heat shock protein 60 enhances HBx-mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318: 461-9.
- 6) Shao R-X, Hoshida Y, Otsuka M, Kato N, Tateishi R, Teratani T, Shiina S, Taniguchi H, Moriyama M, Kawabe T, Omata M. Hepatic gene expression profiles associated with fibrosis progression and hepatocarcinogenesis in hepatitis C patients. *World J Gastroenterol* 2004 (in press).

2. 学会発表  
なし

H. 知的財産の出願・登録状況  
なし

# 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

## 重症型アルコール性肝炎の全国調査

研究協力者 石井 裕正 慶應義塾大学 名誉教授

### 研究要旨：

【背景】重症型アルコール性肝炎 (Severe alcoholic hepatitis: SAH) 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。われわれは、近年 SAH の全国調査を行い、SAH 症例が増加し傾向にあり、また依然として予後不良であることを報告した。

【目的・方法】今回、その追跡調査として、日本消化器病学会認定施設、関連施設に 2003 年度に退院した SAH 患者について同様のアンケートを行い、特に、ステロイド、血漿交換、白血球除去療法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】12 例の SAH 患者が報告され、そのうち 8 例が生存しており、生存率は 66.6% と著明に改善した。感染症や消化管出血合併例で死亡例が多く、このような例では血漿交換、血液濾過透析や白血球除去療法などの集学的治療を早期から行う必要がある。生存例では 8 例中 6 例に何らかの集学的治療がなされていた。死亡例 4 例のうち 3 例はプロトロンビン時間が 30% 以下にもかかわらず血漿交換を施行されておらず、プロトロンビン時間延長例では血漿交換が有効であり、早期からの導入が必要であることが示唆された。白血球高値例には白血球除去療法、腎不全（クレアチニン高値）例には血液持続濾過透析が有効である可能性が示唆された。

### A. 研究目的

重症型アルコール性肝炎 (Severe alcoholic hepatitis: SAH) 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病態を示すものである。プロトロンビン時間 (PT) は 50% 以下で著しい多核白血球増加を示し、病理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。劇症肝炎においては、血漿交換 (PE) など人工肝補助がほぼ全例で実施されており、また亜急性型では生体部分肝移植の増加が顕著である。これら集学的治療により劇症肝炎患者の予後は向上している。劇症肝炎同様予後不良である SAH への対応も急務と考えられるが、予後の改善には早期発見と早期の治療開始が不可欠である。われわれは、近年 SAH の全国調査を行い、SAH 症例が増加し傾向にあり、また依然として予後不良であることを報告した。しかし、いまだに一般の臨床医や内科医においては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少なくない。また、その進展機序については不明な点が多く、そのため、標準的な治療法もまだ確立されていない。

今回、その追跡調査として、日本消化器病学会認定施設、関連施設に 2003 年度に退院した SAH につ

いて同様のアンケートを行い、特に、ステロイド、血漿交換、白血球除去療法 (GCAP) 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。

### B. 研究方法

全国の日本消化器病学会認定施設、関連施設併せて 1080 施設に対して平成 15 年度 (平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月) に退院した SAH 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臨床データを比較解析し、統計学的に検討した。また、ステロイド、PE、GCAP などの治療効果についても、生存例と死亡例で治療法別に有意差の検討を行った。生存例と死亡例における身体所見、合併症などの有無、治療法による効果などの相異については乗二乗検定を用いて有意差を検討した。P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありとした。

### C. 研究結果

#### 1. アンケート回答率と症例数

郵送対象施設数 1080 施設に対して、回答のあった施設は 33 施設で、回答率は約 3.1% であった。重症型アルコール性肝炎を経験した施設は 11 施設で、13 症例の臨床データが寄せられた。そのうち 1 例は重度のアルコール性肝炎であった

が、肝萎縮を認めたため解析対象から除外し、解析可能な症例は 12 例であった。生存例が 8 例で、死亡例が 4 例で、生存率は 66.7%と著明に改善した。

## 2. 年齢、男女比、飲酒様式と理学所見

SAH 患者の生存例、死亡例、それぞれの患者背景では、死亡例の平均年齢が 54 歳と生存例の 47 歳に対して有意に高かった。また性差については、男性 9 例、女性 3 例で、女性の比率が 25%であった。男性 9 例中 3 例 (33%) が死亡、女性 3 例中 1 例 (33%) が死亡と有意差は認めなかった。

飲酒歴 (総飲酒量、直前飲酒量) については、ほとんどの例で 1 日 5 合以上摂取されており有意差を認めなかったが、死亡例では十分な飲酒歴を聴取できない症例が多かった。身体所見でも、発熱、腹水、頰脈などの退薬症候群の症状出現頻度は、生存例と死亡例両群で有意差を認めなかった。血液データでは、ウイルスマーカー陽性者はいなかった。

## 3. 血液検査所見

SAH 診断時の血液検査所見では、後述するように PE などの集学的治療の有無により、その生存率が大きく修飾されたことと、症例が少なくばらつきが多かったために、いずれの項目も有意差は認めなかった。しかし、白血球数 (WBC) やクレアチニン (Cr) 値は死亡例で多い傾向にあった。

前回、SAH 診断時の血液検査値で有意差のあった PT、赤血球数 (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) を行って求めた、 $\text{死亡予測率}(\%) = 150 - 1.81 \times \text{PT} - 0.168 \times \text{RBC} + 0.001 \times \text{WBC}$  にあてはめても、その後の治療により予後が修飾され、一定の傾向は得られなかった。しかし、集学的治療なしでの生存例 2 例の予測死亡率は、50%以下と低かった。

しかし、診断後 5 日目の値を比較すると、PT の回復しない例が死亡例に多かった。診断後 5 日目の回復度、つまり診断後 5 日目の値と診断時との差で比較しても、PT の回復しない例が死亡例に多かった。診断後 5 日目の WBC が低下しない例が死亡例に多かった。また、診断後 5 日目の総ビリルビン (TB) 値の増加している例が死亡例に多かった。

## 4. 合併症と治療法

合併症の有無から比較すると、SAH 患者の死亡例では、生存例より感染症と消化管出血の合併が有意に多かった。治療に関しては、肝移植例が 1 例あり、PE、血液 (濾過) 透析、抗凝固療法、GCAP、副腎皮質ステロイド投与などの施行率が上昇していた。生存例では PE の施行率が 63%であったが、死亡例では PE の施行例がな

かった。

死亡例のうち 2 例は、GCAP は施行されているものの PT20%台でも PE は施行されていなかった。

## D. 考察

SAH 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。前回の検討では、SAH 患者 86 例中生存例が 28 例 (33.6%) で、死亡例が 58 例 (66.4%) ときわめて予後不良な疾患と考えられた。今回の検討では、生存例が 8 例で、死亡例が 4 例で、生存率は 66.7%と著明に改善した。PE、血液 (濾過) 透析、GCAP、副腎皮質ステロイド投与のいずれが施行された症例は、12 例中 9 例に達し、こうした集学的治療の施行率の上昇が、生存率の改善に関与していることが推察される。

SAH 患者の生存例、死亡例、それぞれの年齢では、死亡例の平均年齢が 54 歳と生存例の 47 歳に対して有意に高かった。この結果は、比較的若年者での集学的治療の有効性を示唆している可能性がある。また性差については、男性 9 例、女性 3 例で、女性の比率が 25%あり、アルコール性肝硬変の女性の比率がおおよそ 10%程度であることと比較しても、SAH は女性に発症しやすいことが示唆される。予後への性差の影響は今後の検討では認めなかった。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傾向を示しており、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。平成 2 年から 4 年の高田班の集計時は SAH の女性の割合はすでに高かったものの 19%であったことを考えると、今後、特に女性の大酒家に対する節酒指導が重要となり、SAH 罹患の際には特に注意を要すると考えられた。

一方、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考えられる。身体所見でも、発熱、頰脈、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。

血液データでは、肝炎ウイルスマーカー陽性者を認めず、肝炎ウイルスは予後には有意な影響を与えていない。また、この結果は、肝炎ウイルス患者での節酒または断酒指導が行き届いてきたことを反映する結果とも考えられる。さらに、血小板数には有意差を認めず、死亡例の血小板数平均値も 15 万以上であった。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除外されており、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。また、

末期肝硬変が疑われる肝萎縮例は今回の検討からは除外した。

SAH 診断時の血液検査所見では、後述するように PE などの集学的治療の有無により、その生存率が大きく修飾されたことと、症例が少なくばらつきが多かったために、いずれの項目も有意差は認めなかった。しかし、WBC や Cr 値は死亡例で多い傾向にあり、WBC 高値例には GCAP、腎不全 (Cr 高値) 例には血液持続濾過透析が有効である可能性が示唆された。

前回、SAH 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) を行って求めた、死亡予測率 (%) =  $150 - 1.81x PT - 0.168 x RBC + 0.001 x WBC$  にあてはめても、その後の治療により予後が修飾され、一定の傾向は得られなかった。しかし、集学的治療なしでの生存例は、予測死亡率は 50% 以下と低かった。このように、PT が比較的延長していない例や白血球が比較的上昇していない例では、集学的治療の有無によらず予後はよいと考えられる。

診断後 5 日目の値を比較すると、PT の回復しない例が死亡例に多かった。診断後 5 日目の回復度、つまり診断後 5 日目の値と診断時との差で比較しても、PT の回復しない例が死亡例に多かった。生存例では 8 例中 5 例で PE が行われており、死亡例では 1 例もなく、この影響があると思われた。診断後 5 日目の WBC が低下しない例が死亡例に多く、やはり、WBC の上昇が SAH の進展に関与し、予後に影響していることが示唆される。アルコール性肝障害の進展には、WBC の関与、特に WBC の肝類洞、終末肝静脈枝への膠着が関与していることが報告されている。

また、診断後 5 日目の TB 値の増加している例が死亡例に多かった。Maddrey らの提唱した Discriminant Function (DF) は、 $DF = 4.6xPT(sec) + TB(mg/dl)$  で表され、Maddrey らはこの値が 93 をこえる例でステロイドの有効性を示した。しかし、現在では PT を秒で示すことの意義が疑問視され、標準試薬との比較により INR や % で表示されるようになり、DF の定量性が薄れている。しかし、前述の通り診断 5 日目で PT が延長してくる例や TB 値の増加してくる例では予後が悪く、PT が延長してくる例や TB 値の増加してくる例には、早期からの集学的治療が推奨されるべきと考えられる。

合併症の有無から比較すると、SAH 患者の死亡例では、生存例より感染症と消化管出血の合併が有意に多かった。治療に関しては、肝移植例が 1 例あり、PE、血液 (濾過) 透析、抗凝固療法、副腎皮質ステロイド投与などの施行率が上昇していた。生存例では PE の施行率が 63% であったが、死亡例では PE の施行例がなかった。

死亡例のうち 2 例は、GCAP が施行されているものの PT20% 台でも PE は施行されていなかった。感

染症や消化管出血合併例で死亡例が多く、このような例でも PE、血液濾過透析や GCAP などの集学的治療を早期から行う必要がある。生存例では 8 例中 6 例に何らかの集学的治療がなされていた。死亡例 4 例のうち 3 例は PT が 30% 以下にもかかわらず PE を施行されておらず、PT 延長例では PE が有効である。PT 延長例では、早期からの PE の導入が必要であり、WBC 高値例には GCAP が有効である可能性が示唆された。

しかし、PE、血液濾過透析や GCAP などの集学的治療施行例でも PT、WBC の回復しない例があり、このような例に死亡例が多いことから、劇症肝炎亜急性型のように生体部分肝移植などの治療も念頭に置く必要がある。今回の検討で、PE、血液濾過透析や GCAP などの集学的治療により軽快しない SAH 患者に対して、初めて生体肝移植が報告された。

副腎皮質ホルモン (ステロイド) の投与は、SAH の治療として最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。脳浮腫があるなど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。また、ステロイドの投与は、短期的な生存率の上昇は認めるが、長期的生存率には影響を与えないというのがコンセンサスと考えられる。今回の検討でも、死亡例にステロイド使用例が多く、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も示唆されたが、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慎重に行う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。

前回 GCAP を施行し救命された例が 2 例報告されたが、今回は 12 例中 5 例 (生存例 8 例中で 3 例、死亡例 4 例中で 2 例) で施行されていた。死亡例 2 例は、GCAP が施行されているものの PT20% 台でも PE は施行されていなかった。生存例で GCAP の施行された 3 例のうち 2 例は PE も同時に施行されていたが、1 例は GCAP のみで救命しえた。その 1 例は PT が 40% 以上あった。アルコール性肝障害の進展には、WBC の関与、特に WBC の肝類洞、終末肝静脈枝への膠着が関与していることが報告されている。

GCAP は、PE よりコストが低いいため、PT が比較的保たれている例では、WBC の肝への膠着を抑制するため、GCAP が第一選択になると考えられる。

## E. 結論

集学的治療の施行率が上昇し、2003 年度の SAH 患者の予後は飛躍的に改善した。生存例では、感染症、消化管出血、敗血症(DIC)などの合併例が少なく、早期より治療が開始されたことが示唆される。PT 延長例には PE、Cr 上昇例には血液持続濾過透析、WBC 高値例には GCAP が推奨され、これらに反応のない例では生体肝移植も視野に入れる必要がある。今回の結果をもとに、私案ではあるが SAH の治療指針改定案を以下にまとめた。

### 重症型アルコール性肝炎治療指針 (改定案)

抗潰瘍薬、抗生剤の投与や抗凝固療法など、消化管潰瘍、感染症、DIC に対する積極的な予防対策 (発症例では治療) が必要である。クレアチニン上昇例では、血液 (濾過) 透析を積極的に行う。ステロイドの投与は合併症に注意し慎重に行う。適宜、抗凝固療法、エンドトキシン吸着療法などを行う。可能な限り、血漿交換や白血球除去療法が施行可能な病院への転院が望ましい。

死亡予測率 (%) =  $150 - 1.81 \times \text{PT} - 0.168 \times \text{RBC} + 0.001 \times \text{WBC}$  で 50% 以上の症例には血漿交換が推奨される。末梢血で WBC が  $15,000/\text{mm}^3$  以上の例でも、白血球除去療法が推奨される。

PT 30% 以下の例、血小板が減少する例、総ビリルビン値が上昇する例や、DIC、消化管出血などの合併症を認める例では、死亡予測式の値にかかわらず、血漿交換が推奨される。

今後、さらに症例を集積し、SAH の臨床像を掌握し、進展機序をさらに解明していく必要がある。また、今後は全国的な研究班を設け、集学的治療についてプロスペクティブな研究を行い、それを元にした治療指針を作成することが必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Horie Y, Yamagishi Y, Kajihara M, Kato S, Ishii H. National Survey of Hepatocellular Carcinoma in Heavy Drinkers in Japan. *Alcohol Clin Exp Res* 27 (Suppl): 32S-36S, 2003
- 2) Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara M, Konishi M, Ebinuma H, Saito H, Kato S, Yokoyama A, Maruyama K, Ishii H. Hepatocellular carcinoma in heavy drinkers with negative markers for viral hepatitis. *Hepatol Res.* 28: 177-183, 2004.
- 3) Horie Y, Ishii H. Severe Alcoholic Hepatitis in Japan -Prognosis and Therapy- *Alcohol Clin*

*Exp Res* 28 (Suppl): (in press) 2003

- 4) 森 朱夏、堀江義則、山岸由幸、加藤眞三、石井裕正、山田、木綿子、泉谷幹子、鎌田浩史、永田博司、日比紀文、三上修治. 白血球除去療法を施行し救命しえた若年女性の重症型アルコール性肝炎の 1 例 *アルコールと医学生物学* (東洋書店、東京) 24; 114-119, 2004.
  - 5) 堀江義則、石井裕正. 重症型アルコール性肝炎の全国調査-予後と治療指針について- *アルコールと医学生物学* (東洋書店、東京) 24; 120-126, 2004.
  - 6) 石井 裕正、堀江 義則、冨田 謙吾、山岸 由幸. アルコール性肝障害に関する最近の知見 *日本消化器病学会雑誌* 100: 1187-1197, 2003.
  - 7) 堀江 義則、山岸 由幸、石井 裕正. わが国のアルコール性肝障害の動向と肝炎ウイルスの関与 *日本アルコール・薬物医学会雑誌* 38: 403-414, 2003.
  - 8) 堀江義則、石井裕正、日比紀文 わが国のアルコール性肝障害の現状についての検討 *日本アルコール・薬物医学会雑誌* 39: 505-510, 2004.
- ### 2. 学会発表
- 1) The 12th Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism. Heidelberg, Germany 2004.9 Symposium: Alcoholic Liver Disease: From Pathophysiology to Therapy. Severe alcoholic hepatitis in Japan -Prognosis and Treatment-. Y. Horie, H. Ishii (*Alcohol and Alcoholism*., 2004)
  - 2) The 12th Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism. Heidelberg, Germany 2004.9 Severe alcoholic hepatitis in Japan -Prognosis and Treatment-. Y. Horie, H. Ishii
  - 3) 第 40 回日本肝臓学会総会 2004.6 浦安 重症型アルコール性肝炎の全国調査 堀江義則 石井裕正
  - 4) 第 12 回アルコールと健康研究会 2004.8. 山梨 アルコール発癌性に関する研究 横山頭、堀江義則、石井裕正
  - 5) 第 39 回日本アルコール・薬物医学会総会 2004.9. 東京 わが国のアルコール性肝障害の現状についての検討 堀江義則、石井裕正
  - 6) 第 8 回日本肝臓学会大会 2004.10 福岡 わが国のアルコール性肝障害の現状 堀江義則、石井裕正、日比紀文

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

<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。

愛染橋病院内科、飯田市立病院、岩手県立宮古病院、浦生町病院、永寿総合病院消化器科、NTT 東日

本関東病院、大分医療センター、大阪府立成人病センター、大阪大学消化器内科、加古川市民病院、久留米大学病院第2内科、慶應義塾大学病院消化器内科、国立がんセンター東病院、三次地区医療センター、滋賀医科大学、昭和大学病院第2内科、立川総合病院、千葉大学消化器内科、東京都老人医療センター、東京慈恵会医科大学第三病院、東北厚生年金病院、富山医薬大学第3内科、取手共同病院、長崎医療センター、長野県立木曽病院、日本医科大学多摩永山病院消化器科、弘前大学第一内科、広島逡信病院内科、福岡県立消化器医療センター、三重大学医学部第三内科、宮崎社会保険病院、柳橋病院消化器内科（アイウエオ順）

# 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

### 劇症肝炎に対する組み換え型ヒト HGF の臨床応用

研究協力者 坪内 博仁 宮崎大学医学部第二内科 教授

**研究要旨：**劇症肝炎および遅発性肝不全に対する組み換え型ヒト HGF の臨床試験を目的として、その非臨床試験（安全性試験）を行った。急性毒性試験では致死量  $>40.0\text{mg/kg}$  で、特に問題となる所見はみられなかった。2 週間反復投与毒性および 2 週間回復試験では、可逆性の蛋白尿が認められたが、尿中微量アルブミン測定でモニタリング可能であり、腎機能障害をきたす個体はみられなかった。一方、増殖因子である HGF の発癌性を否定することは困難であるため、組み換え型ヒト HGF の臨床試験は当初から予後不良の劇症肝炎および遅発性肝不全患者を対象とし、リスク・ベネフィットの観点から十分なインフォームドコンセントを行う必要があると考えられた。

#### 共同研究者

井戸章雄	京都大学医学部附属病院 探索医療センター	助教授
金 一徳	京都大学医学部附属病院 探索医療センター	助手
森内昭博	京都大学医学部附属病院 探索医療センター	助手
宇都浩文	宮崎大学医学部 内科学第二講座	講師
蓮池 悟	宮崎大学医学部 内科学第二講座	助手
沼田政嗣	宮崎大学医学部 内科学第二講座	助手

#### A. 研究目的

劇症肝炎および遅発性肝不全は急激に起こる肝の広範性壊死に基づいて意識障害（肝性昏睡）を主徴とする急性肝不全症状を呈する疾患で、2002 年の劇症肝炎の全国調査では内科的治療（肝移植非実施例）の救命率は急性型 57.1%、亜急性型 23.3%、遅発性肝不全 0.0%と未だ予後不良の疾患である。一方、肝移植を実施した劇症肝炎および遅発性肝不全の救命率は急性型 63.6%、亜急性型 76.2%、遅発性肝不全 75.0%と良好である。従って、救命が困難と考えられる症例では早期に肝移植を前提とした治療体制をとることが救命につながる事が考えられる。しかし、劇症肝炎および遅発性肝不全の 75%以上の症例で肝移植の適応が検討されているにも関わらず、その実施率は 28.3%であり、多くの症例が内科的治療で対処されている。しかし、生存率を改善する特異的な内科的治療法は未だ確立されていないのが現状である。

肝細胞増因子（hepatocyte growth factor: HGF）は肝細胞の増殖を強力に促進する増殖因子で、部分肝切除や肝障害モデルの肝再生を促進するのみならず、致死的な急性肝不全モデルにおいては肝細胞のアポトーシスを抑制してその生存率を改善する。このような HGF の生理作用から、HGF は劇症肝炎に対し

て、肝再生促進作用のみならず抗アポトーシス作用を介した病態進展阻止作用を発揮し、その予後を向上させることが期待される。そこで劇症肝炎および遅発性肝不全患者を対象とした組み換え型ヒト HGF の臨床試験を目的としてその非臨床試験（安全性試験）を行なったので報告する。

#### B. 研究方法

1. 単回投与毒性試験：BALB/c マウスに組み換え型ヒト HGF (0、4.0、40.0 mg/kg)を単回静脈内投与し、14 日間一般状態を観察した後に屠殺、剖検および病理組織学的検討を行った。
2. ラット 2 週間反復投与毒性及び 2 週間回復試験：Wistar ラットに組み換え型ヒト HGF (0.4、1.0、4.0 mg/kg/day)を 2 週間反復静脈内投与した後 2 週間休薬した。HGF 投与 14 日目および 28 日目（休薬後 14 日目）に屠殺し、血液生化学検査および病理学的検査を行った。
3. 発癌性試験：コリン欠乏アミノ酸置換（CDAA）食飼育ラットに、飼育 13 週から HGF (0、0.1、0.5 mg/kg)を 2 週間静注+2 週間休薬を 1 クールとして 9 クール行い、飼育 60 週に屠殺し肝前癌病変および肝発癌に及ぼす影響を検討した。

#### C. 研究結果

1. 単回投与毒性試験：HGF を最大 40 mg/kg まで投与したが死亡する個体はみられなかった。一般状態では 0 mg/kg (溶媒のみ)投与群で側臥位、朦朧状態を呈した個体が一匹みられたが、HGF 投与群では特に変化を認めなかった。剖検では HGF 投与群に雌の子宮が水腫様に腫大した個体のみみられ、病理組織学的には卵胞の増加および子宮・膣の上皮増殖がみられたが、これらは病的な所見ではなく、正常な発情期にみられる変化と考えられた。
2. ラット 2 週間反復投与毒性及び 2 週間回復試験：

観察期間中、死亡する個体はみられなかった。肝重量は HGF 投与群において有意に増加したが、腎重量に変化はみられなかった。血液生化学検査では HGF 投与中血清アルブミン、総コレステロールが増加したが、休薬によって減少した。HGF 投与群において尿中微量アルブミンが投与 4 日目から増加し、その後用量依存性に蛋白尿が出現した。HGF 休薬後、尿中微量アルブミン、蛋白尿は回復傾向を示した。いずれの個体においても尿素窒素およびクレアチニンには変化を認めなかった。

3. 発癌性試験：肝前癌病変と考えられている GST-P 陽性巣は全ての個体に発生したが、その発生数および大きさは HGF 投与群および非投与群で差を認めなかった。発癌率は、HGF 非投与群 57%、HGF 投与群 (0.1 mg/kg) 44%、(0.5 mg/kg) 23%と、HGF 投与群で低下する傾向を示したが、統計学的有意差はみられなかった。

#### D. 考案

組み換え型ヒト HGF の臨床応用は当初から劇症肝炎および遅発性肝不全患者を対象とした第 I・II 相臨床試験として行うべく準備を進めている。従って、「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」ガイドラインに基づいて安全性試験を行った。

急性毒性試験では致死量 >40.0 mg/kg で、HGF 投与によって雌の発情期が持続的に惹起された可能性は否定できない。しかし、他の回復静脈内投与試験では雌生殖器に変化を認めなかったことから偶発的に発情期の個体が多かった可能性も考えられる。一方、組み換え型ヒト HGF の一般毒性では可逆性の蛋白尿が認められた。腎機能障害をきたす個体はみられないが、その回復性を確認するために 2 週間回復投与毒性および 2 週間回復性試験を行った。HGF の休薬によって蛋白尿は回復傾向を示し、腎臓の病理学的所見も可逆性の変化にとどまっていると考えられた。また、蛋白尿の出現前に尿中微量アルブミンが増加することから、尿中微量アルブミンが腎毒性のモニタリングマーカーとなることが考えられた。

これまで、臨床用量の HGF では発癌を促進する結果は得られていない。しかし、増殖因子である HGF による発癌性の可能性を完全に否定することは困難である。従って、組み換え型ヒト HGF 投与による発癌促進の可能性はあるというスタンスで、生命予後不良な劇症肝炎および遅発性肝不全に対する臨床応用に際しては、そのリスク・ベネフィットの観点から十分なインフォームドコンセントを行うことが重要と考えられた。

#### E. 結論

組み換え型ヒト HGF の急性毒性試験では特に臨床応用時に問題となる所見はみられなかった。HGF の回復投与試験では可逆性の蛋白尿がみられたが、

腎障害をきたす個体はなく尿中微量アルブミンでモニタリング可能であった。一方、HGF の発癌性を完全に否定することは困難であるため、臨床試験の際には十分なインフォームドコンセントを行うことが重要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Onaga M, Ido A, Hasuike S, et al. Enhanced expression of growth factors and imbalance between hepatocyte proliferation and apoptosis in the livers of rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Hepatol Res* 28, 94-101, 2004.
- 2) Ido A, Moriuchi A, Kim II, et al. Pharmacokinetic study of recombinant human hepatocyte growth factor administered in a bolus intravenously or via portal vein. *Hepatol Res* 30, 175-181, 2004.
- 3) Hasuike S, Ido A, Uto H, et al. Hepatocyte growth factor accelerates the proliferation and differentiation of hepatic oval cells in a 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy model in rats. *J Gastroenterol Hepatol* (in press).

##### 2. 学会発表

- 1) 井戸章雄、森内昭博、坪内博仁. 難治性の消化器疾患に対する肝細胞増殖因子(HGF)の臨床応用. 第 90 回日本消化器病学会総会 2004 年 4 月 22 日
- 2) 沼田政嗣、井戸章雄、坪内博仁. 傷害粘膜の再生修復を目的とした肝細胞増殖因子(HGF)を用いた新規治療法の開発. 第 46 回日本消化器病学会大会 2004 年 10 月 21 日
- 3) 沼田政嗣、井戸章雄、坪内佳子ら. TNBS 腸炎モデルにおける肝細胞増殖因子の傷害粘膜修復促進作用の検討. 第 46 回日本消化器病学会大会 2004 年 10 月 21 日
- 4) 井戸章雄、蓮池悟、坪内博仁. 肝再生を目的とした肝細胞増殖因子(HGF)を用いた新規治療法の開発. 第 46 回日本消化器病学会大会 2004 年 10 月 21 日 (福岡)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



# 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

### 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

研究協力者 坪内 博仁 宮崎大学医学部第二内科 教授

**研究要旨：**血清の肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 測定は、劇症肝炎患者の早期診断や予後予測に極めて有用である。昨年度は、イムノクロマト法を用いた HGF 半定量測定キットを開発し、ベッドサイドでの HGF 半定量測定が迅速かつ簡便に行えること、劇症肝炎の予知や予後予測に極めて有用な検査法となる可能性があることを報告した。本年度は昨年度に引き続き、HGF 半定量測定を標準 HGF 濃度液の反応の濃淡をもとに、過去の保存血清の HGF 濃度を 5 段階で再評価した。このキットを用いた HGF 濃度の半定量測定結果は ELISA 法による HGF 濃度と相関し、予後予測にも有用である可能性が示唆された。さらに、本年度は班メンバーの協力を得て、全国調査を行うための組織を構築し、急性肝疾患の予後予測における HGF 簡易測定キットの有用性に関する前向き試験を開始した。

#### 共同研究者

宇都浩文 宮崎大学医学部第二内科  
井戸章雄 京都大学医学部附属病院探索医療センター

#### A. 研究目的

血清中の肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor, HGF)濃度測定は劇症肝炎患者の早期診断や予後予測に極めて有用で、ELISA による血清 HGF 測定はすでに保険適応となっている。しかし、血清 HGF 測定はほとんどの施設で外注検査であるため、その測定結果を得るには数日を要し、必ずしも劇症肝炎患者の早期診断や予後予測に貢献していない。昨年度は、イムノクロマト法を用いた HGF 半定量測定キットを開発し、ベッドサイドでの HGF 半定量測定が、迅速で簡便な劇症肝炎の予知や予後予測に極めて有用な検査法となる可能性を報告した。本年度はまず昨年度に引き続き、HGF 半定量測定を標準 HGF 濃度液の反応の濃淡をもとに、過去の保存血清の HGF 濃度を 5 段階で再評価し、その有用性を再検討する。さらに、本年度は他施設の協力を得て、全国的な前向き試験を開始する。

#### B. 研究方法

##### 1. 後ろ向き試験

- HGF 半定量測定キット：本測定キットはイムノクロマト法を用いて作製した(昨年度報告)。HGF 量の増加にしたがって赤色の反応線が濃くなる用に作製されている。
- 測定方法:100  $\mu$ l の血清を試料穴に添加し、反応線の濃淡を 20 分後に判定した。標準 HGF 液として 0ng/ml、0.5、2.0、8.0 の 4 種類の HGF 濃度を用意し、反応線の濃度から判定した。反応線を認めない場合を(-)、反応線が認められ HGF

濃度が 0.5ng/ml 未満、0.5 以上 2.0 未満、2.0 以上 8.0 未満、8.0 以上が予想される場合をそれぞれ(±)、(1+)、(2+)、(3+)と判定した。

- 対象者は昨年度と同じで劇症肝炎、急性肝不全を呈した症例を含めて急性肝炎 49 例 (HAV6 例、HBV19 例、HCV3 例、その他 21 例) と慢性肝炎急性増悪 12 例 (HBV7 例、その他 5 例) で、経時的に測定したのもも含め 77 検体を判定した。

##### 2. 前向き試験

- 全国の登録施設に入院した急性肝障害患者のうち、プロトロンビン時間が 80%以下を呈した患者を対象とした。
- HGF 半定量測定キットの測定をベッドサイドで行い、保存血清で測定した ELISA 法による HGF 濃度との相関を検討した。前向き試験では、標準 HGF 液として 1ng/ml の HGF 濃度を用意し、反応線を認めない場合を陰性、反応線が認められ HGF 濃度が 1ng/ml 未満、1 以上が予想される場合をそれぞれ弱陽性、陽性と判定した。

#### C. 研究結果

##### 1. 後ろ向き試験

- 標準液の HGF 量の増加にしたがって赤色反応線が濃くなることを確認した。患者血清サンプルを用いた検討では、HGF 半定量は ELISA による HGF 濃度と相関した。(表 1 参照)
- 劇症肝炎を含めた急性肝不全例はその他の疾患と比較して、急性肝不全では死亡例は生存例と比較して、それぞれ半定量値が高い症例が多かった(表 2、表 3 参照)。

##### 2. 前向き研究

- 全国調査を行うために埼玉医科大学、および三

菱化学科学技術センターの協力を得て、患者調査の組織を構築した(図1参照)。

(b) 本年度は19症例登録され、HGF簡易測定結果が陽性であった症例がなく、有意な結果は得られていない(表4、表5参照)。

表1. イムノクロマト法とELISA法によるHGF濃度の比較

イムノクロマト法によるHGF半定量	サンプル数	ELISA法によるHGF濃度 (mean±SD, range)
±	2	0.77±0.52(0.40-1.13)
1+ (0.5ng/ml以上と判断)	41	0.73±0.44(0.30-2.10)
2+ (2.0ng/ml以上と判断)	26	2.01±1.21(0.33-5.23)
3+ (8.0ng/ml以上と判断)	8	5.04±1.54(3.10-7.33)

表2. HGF半定量と肝不全の関連性

HGF半定量	急性肝不全 (n=19)	非肝不全 (n=42)
±	0	2
1+ (0.5ng/ml以上と判断)	2	28
2+ (2.0ng/ml以上と判断)	13	11
3+ (8.0ng/ml以上と判断)	4	1

表3. HGF半定量と予後

HGF半定量	死亡 (n=17)	生存 (44)
±	0	2
1+ (0.5ng/ml以上と判断)	1	29
2+ (2.0ng/ml以上と判断)	12	12
3+ (8.0ng/ml以上と判断)	4	1

図1. 急性肝疾患の予後予測におけるHGF簡易測定キットの有用性に関する研究のための組織と患者登録の流れ -全国調査-

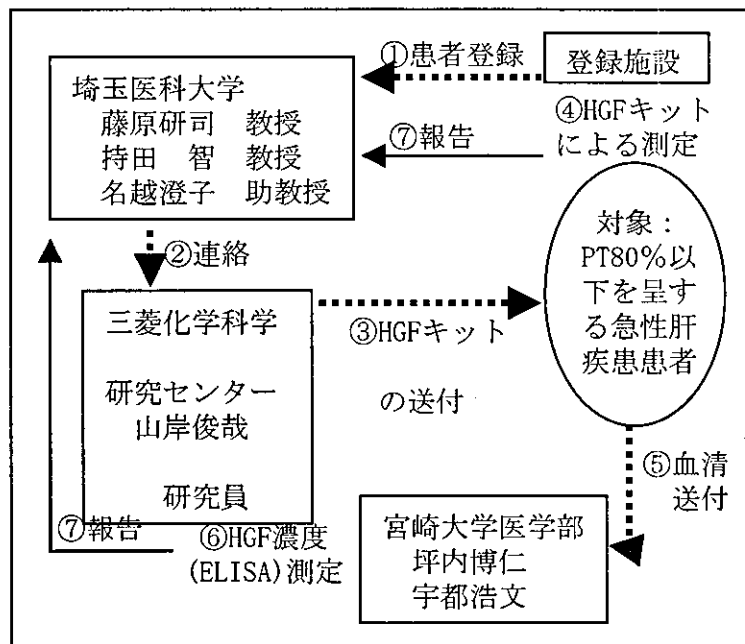


表4. イムノクロマト法とELISA法によるHGF濃度の比較  
-全国調査-

イムノクロマト法によるHGF半定量	症例数	ELISA法によるHGF濃度(平均±SD)
陰性	16	0.92±0.59(0.30-2.18)
弱陽性	3	1.18±0.74(0.59-2.01)
陽性(1ng/ml以上と判定)	0	—

表5. HGF半定量と予後 -全国調査-

病型*	症例数	HGF半定量		
		陰性	弱陽性	陽性
劇症肝炎	2(生存のみ)	2	0	0
LOHF	1(死亡のみ)	1	0	0
急性肝炎、その他	14(生存のみ)	12	2	0

\*不明の2名を除く

#### D. 考案

本研究ではイムノクロマト法を用いて HGF 半定量測定キットを開発し、その有用性を検討した。本年度は、保存血清を用いて、HGF 濃度を本法により評価する意義について検討し、その有用性を明らかにした。さらに、前向き試験で HGF 半定量測定キットの有用性を検討するために、全国調査を開始した。今後、症例の蓄積が必要である。

#### E. 結論

我々が開発した迅速簡便な HGF 半定量測定キットは、ベッドサイドで劇症肝炎、急性肝不全の予知や予後予測に有用な検査法となることが期待でき、今後前向き試験で、その有用性を確認したい。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 宇都浩文 他. 急性肝不全における迅速な HGF 半定量測定キットの有用性の検討. 第 40 回日本肝臓学会総会. 平成 16 年 6 月 3 日、4 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 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

## 劇症肝炎発症における肝細胞の生と死のメカニズム：NF- $\kappa$ B の両面性

研究協力者 森脇 久隆 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 教授

**研究要旨：**肝細胞のアポトーシスを制御している重要な転写因子の一つである Nuclear Factor kappaB(NF- $\kappa$ B)の持つ肝障害に対する二面性について研究した。活性化マクロファージにより生じる肝障害モデルにおいて NF- $\kappa$ B を抑制することにより投与後早期では炎症細胞由来のサイトカイン、ケモカインの産生が抑制され炎症反応が軽微であったが、一方後期では肝細胞のアポトーシスが亢進し同時に炎症細胞からのサイトカイン産生が増加し結果として肝障害が増悪していた。これらの知見は NF- $\kappa$ B は炎症細胞のサイトカイン、ケモカインの産生に関与し炎症反応を制御できるが、反対に肝細胞のアポトーシスを増強させ炎症反応の増悪にも寄与しており抗炎症療法の標的としての肝炎に対する抗 NF- $\kappa$ B 治療薬は注意が必要である。

### 共同研究者

永木正仁	岐阜大学医学部第1内科
木村公則	岐阜大学医学部第1内科
芋瀬基明	岐阜大学医学部第1内科

### A. 研究目的

難治性疾患のひとつである劇症肝炎の発症機序には未だ不明な点が多い。機序の原因の一つとして肝細胞のアポトーシスが関与している可能性が示唆されており、我々は主に TNF- $\alpha$ からのシグナルにより肝細胞がアポトーシスを生じるメカニズムを中心に解析してきた。主要な細胞内転写因子である NF- $\kappa$ B は、炎症細胞の cytokine や chemokine などの産生を介して炎症の制御に関与している一方で肝細胞が apoptosis を誘導する刺激に対して NF- $\kappa$ B は抗 apoptosis の作用を有することも報告されている。今回我々は、Tリンパ球ならびに活性化マクロファージによる両肝障害モデルを用いて、炎症制御に重要な働きを担っている NF- $\kappa$ B が、炎症細胞の cytokine、chemokine 産生と肝細胞の apoptosis に対してどのように関与しているか検討した。

### B. 研究方法

1. 免疫抑制作用を有する leflunomide 30 mg/kg を前投与または無投与の BALB/c マウスに concanavarin A (Con A) を尾静脈より静注して、生化学的ならびに組織学的に検討した。また、Gel Shift 法にて NF- $\kappa$ B の活性化を、RNase protection assay にてサイトカイン mRNA の発現を測定した。フローサイトメトリー(FACS)を用いて肝内リンパ球の細胞内サイトカインを測定した。また、肝内リンパ球を分離培養後、Con A および leflunomide を添加し、サイトカイン産生に及ぼす leflunomide の作用機序を検討した。
2. CD40 agonistic antibody ( $\alpha$ CD40)を CB6F1 mice

に投与しマクロファージを活性化することにより肝障害を生じるモデルを用いて、I $\kappa$ B 変異体遺伝子を組み込んだ I $\kappa$ B アデノウイルスベクター (Ad5I $\kappa$ B: NF- $\kappa$ B 活性の阻害)の共存、非共存下で肝障害が軽減されるか検討し、その際の肝臓内への炎症細胞の浸潤数をフローサイトメトリー (FACS) で解析した。また炎症細胞の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生能を FACS で解析した。肝臓を用いて細胞内シグナル伝達をゲルシフトアッセイ、サイトカイン、ケモカインの発現を RNase protection assay を用いて解析した。また、肝細胞のアポトーシスを TUNEL 染色、炎症細胞のアポトーシスを annexinV 染色で検討した。肝障害の発症および肝細胞のアポトーシスにどのサイトカインが関与しているか検討するため抗 IFN- $\gamma$ 、抗 TNF- $\alpha$  抗体を前投与後に Ad5I $\kappa$ B、 $\alpha$ CD40 を投与し肝障害のレベルを検討した。

### C. 研究結果

#### ・leflunomide による肝障害抑制機構の解明

leflunomide の投与によって肝障害の有意な抑制とアポトーシス肝細胞の減少が認められた。血清 TNF- $\alpha$  および IL-2 は Con A 投与1時間後において投与群で有意に低値であり、RNase protection assay の検討でも肝における TNF- $\alpha$  mRNA の発現が投与群で有意に抑制された。肝における NF- $\kappa$ B ならびに p38 MAPK の活性は Con A 投与1時間後にピークを示したが、投与群では両者の活性は抑制された。また FACS の解析より leflunomide の投与により肝内の Tリンパ球からの TNF- $\alpha$  産生の抑制が認められたが、マクロファージからのサイトカイン産生には変化がみられなかった。in vitro の検討では leflunomide は Con A 添加後の NF- $\kappa$ B の活性上昇を抑制した。

### ・転写因子 NF- $\kappa$ B を介した肝障害機構の解明

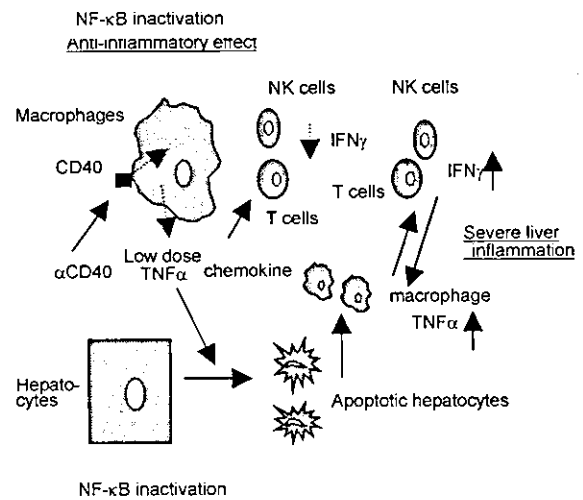
$\alpha$  CD40 投与後 12, 24h において Ad5LacZ 投与群で血清 ALT 値は  $49.7 \pm 6.1$ ,  $215.7 \pm 34.6$ 、一方 Ad5I $\kappa$ B 投与群では  $75.7 \pm 22.5$ ,  $1170 \pm 287.5$  を示し、24h で重篤な肝障害が認められた。肝内リンパ球の解析により投与後 12h では Ad5I $\kappa$ B 投与群で炎症細胞浸潤が抑制されており、また macrophage の TNF- $\alpha$ 、NK cell, T cells の IFN- $\gamma$  産生も抑制されていた。RPA の結果からも Ad5I $\kappa$ B 投与群の肝臓内 cytokine, chemokine mRNA の発現は control と比較し抑制されていた。しかし、24h では肝内 NK cell, T cells の IFN- $\gamma$  産生は Ad5I $\kappa$ B 併用群で亢進しており、RPA でも肝臓内 cytokine, chemokine mRNA の発現は亢進していた。血清 TNF- $\alpha$  も 12h の時点では Ad5I $\kappa$ B 併用群で低下していたが、24h では亢進していた。24h における肝組織の TUNEL 染色より Ad5I $\kappa$ B 投与群で apoptosis 陽性肝細胞が著明に増加していた。また肝臓内の炎症細胞の検討においても Ad5I $\kappa$ B 前投与群で annexin V 陽性のアポトーシスが増加していた。この apoptosis ならびに肝障害は抗 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  抗体投与により完全に抑制された。

### D. 考察

免疫抑制作用を有する leflunomide は自己免疫性肝炎類似モデルとされている Con A 肝障害を抑制した。その作用機序は、Con A 投与によりマウス肝内の T リンパ球において誘導される NF- $\kappa$ B の活性を抑制することで、TNF- $\alpha$  の産生が抑制されることによると考えられた。

しかしながら、 $\alpha$  CD40 を用いた肝障害モデルの検討から、NF- $\kappa$ B の肝障害発症機序における両面性が明らかになった。 $\alpha$  CD40 を用いた肝障害モデルにおいて、NF- $\kappa$ B 活性を阻害することにより  $\alpha$  CD40 投与後早期では炎症細胞からのサイトカイン、ケモカイン産生を抑制し、炎症性細胞浸潤の減少など炎症反応を抑制した。しかし後期になると NF- $\kappa$ B 活性の抑制による肝細胞のアポトーシスを助長しこれが起因となり NK cells や T cells からのサイトカイン産生が亢進し、肝障害の増悪が認められた (図 1)。これらの知見は現在慢性関節リウマチをはじめとする炎症性疾患に対して NF- $\kappa$ B 活性を制御する薬剤が使用されているが、肝炎の場合には逆に炎症を増悪する可能性が示唆され注意が必要である。

図 1. 肝細胞の生と死のメカニズム: NF- $\kappa$ B の両面性



### E. 結論

$\alpha$  CD40 による肝障害モデルにおいて NF- $\kappa$ B の抑制は早期において炎症細胞の cytokine, chemokine 産生を抑制し炎症抑制効果が認められるが、後期においては肝細胞の apoptosis を促進し重篤な肝障害を誘導する。これらの知見は、抗炎症薬としての NF- $\kappa$ B の抑制が肝臓においては二面性を持つことを示唆している。

### F. 研究危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Pivotal role of NF-kappa B signaling in anti-CD40-induced liver injury in mice. Kimura K, Nagaki M, Takai S, Moriwaki H. *Hepatology* 2004; 40(5):1180-9
- 2) Leflunomide protects from T-cell-mediated liver injury in mice through inhibition of nuclear factor kappaB. Imose M, Nagaki M, Kimura K, Takai S, Imao M, Naiki T, Osawa Y, Asano T, Hayashi H, Moriwaki H. *Hepatology* 2004;40(5):1160-9.
- 3) Functional activity of human hepatoma cells transfected with adenovirus-mediated hepatocyte nuclear factor (HNF)-4 gene. Naiki T, Nagaki M, Shidoji Y, Kojima H, Moriwaki H. *Cell Transplant* 2004;13:393-403

#### 2. 学会発表

- 1) 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases 2004年11月1日 CD40-activated B cells cause liver inflammation in inbred mice Kimura K, Moriwaki H, Nagaki M, Francis V. Chisari

2) 55th Annual Meeting of the American Association  
for the Study of Liver Diseases 2004年11月1日  
Pivotal role of NF-kappa B signaling in  
anti-CD40-induced liver injury in mice.  
Kimura K, Nagaki M, Takai S, Moriwaki H

G. 知的財産権の出願、登録状況  
なし

# 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

## 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—

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〕 急性肝炎の劇症化予知における CT 計測肝容積の有用性を検討する。

〔方法〕 PT が 80%を下回った時点での CT 画像 (97 例) を全国主要施設から提供を受け、肝容積 (LV) を計測して予測劇症化確率と比較検討した。

〔結果〕 1. CT 計測による LV は男女格差が大きく、標準肝容積 (SLV) による補正が必要であった。2. 非劇症化例の LV/SLV は、100%をピークとする正規分布を示したのに対し、劇症化例では 60%と 100%の 2 つのピークを有する 2 峰性の分布を示した。3. LV/SLV は予測劇症化率と比較的高い相関を示した。4. 予測劇症化確率が 20%付近の症例では LV/SLV 低下例に劇症化例が多く認められた。

〔結論〕 LV/SLV 単独では劇症化予知式を上回る予知情報は示し得なかったが、予測劇症化確率が 20%付近の症例においては LV/SLV による肝萎縮評価が劇症化予知に重要と考えられた。

### 研究協力者

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
佐藤彰宏	岩手医科大学第一内科	助手

(LV/SLV: %)を用いた。最終的に CT 画像の評価が可能だったのは 97 例で、うち劇症化例は 24 例 (25%) であった。

### A. 研究目的

劇症肝炎、遅発性肝不全を急性肝炎の段階で予知し、早期に治療を開始することにより、肝性昏睡発現の阻止あるいは救命率の向上に繋げられる可能性がある。この観点から、研究班では 1997 年から全国の多施設共同で、急性肝炎重症型 (プロトロンビン時間 (PT) 40%以下、肝性脳症 I 度以内) および PT80%以下を示した急性肝炎を対照として劇症化の実態、昏睡発現 (劇症化) 予知の可能性、早期治療の有効性を検討してきた(1-2)。その結果、それぞれの時点での劇症化予知式を作成し、専門施設への搬送基準 (予測劇症化確率 20%) および特殊治療開始基準 (予測劇症化確率 50%) を設定した(2)。

しかし、この基準においても少数ながら、劇症化例を非劇症化と誤判定する例があることから、さらに精度を上げる必要がある。そこで、CT 画像による肝容積の評価を加味した検討を行った。

### B. 研究方法

PT80%以下を初めて確認した時点での劇症化予知式作成の基になった 259 例のデータを提供頂いた全国の 17 施設に対象患者の CT 画像の提供を依頼した。CT 画像より NIH (Scion) image analyzer を用いて肝容積 (LV) を計測した。また、対象患者の身長、体重より Urata らの式(3)を用いて標準肝容積 (SLV) を算出した。肝容積の評価には LV の SLV に対する比率

### C. 研究結果

#### 1. LV, SLV と年齢、性との関連

全対照症例の LV(ml) は男性  $1260 \pm 435$  (平均  $\pm$  標準偏差)、女性  $961 \pm 253$  ml で、女性の平均値は男性の 76%に留まった。これを SLV により補正した LV/SLV (%) は、男性  $102 \pm 32$ 、女性  $89 \pm 23$  と 87%にまで補正された (図 1、表 1)。LV, SLV とともに年齢と弱い有意の相関が認められた(表 1)。

#### 2. 劇症化の有無と LV/SLV

非劇症化例の LV/SLV は 100%をピークとする正規分布を示したが、劇症化例は 60%と 100%の 2 か所にピークを持つ 2 峰性の分布を示した (図 2)。

#### 3. 劇症化予知式の有意変数と LV/SLV との関連。

劇症化予知式に用いられている Prothrombin time (PT:%), Total bilirubin (TB: mg/dl), 年齢 (51 才以上が高危険群)、成因 (HBV carrier, 自己免疫性肝炎、成因不明が高危険群) の 4 つの要因と LV/SLV との関連を検討した。

LV/SLV と PT, TB は比較的高い相関を示し、劇症化例はいずれの要因も悪化した群に分布する傾向を示した (図 3)。

年齢との関連においては、50 才以下の低危険群の中で LV/SLV が低下した例に劇症化例が見られた (図 4)。成因と LV/SLV との間には明らかな関連は認められなかった (図 4)。

#### 4. 予測劇症化確率と LV/SLV との関連

平成 15 年度の報告で作成した劇症化予知式によ

る予測劇症化確率とLV/SLVとの関連を図5に示す。LV/SLVは予測劇症化確率と比較的高い相関を示し、劇症化例は予測劇症化確率の高い領域に分布する傾向を示したが、一方では予測劇症化確率20%付近ですでにLV/SLVが低下している例があり、これらの症例に劇症化が見られた。

図1. 急性肝炎における肝容積 (LV)、肝容積 / 標準肝容積比 (LV/SLV)の分布

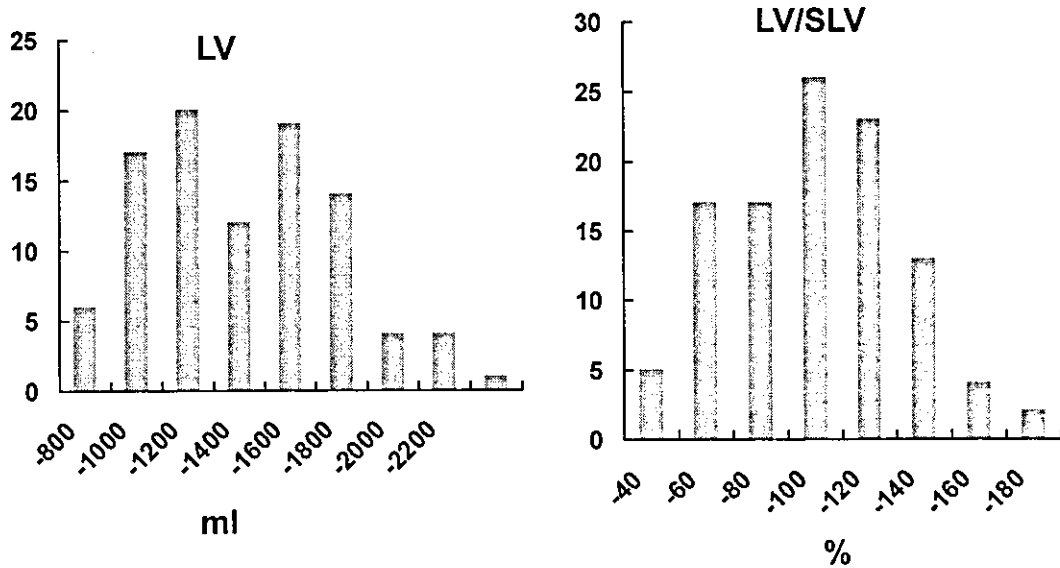


表 1. LV, LV/SLV 比と性別、年齢との関連

	LV (ml)		LV / SLV (%)	
男	1260 ± 435		102 ± 32	
		P<0.001		P<0.001
女	961 ± 253		89 ± 23	
年齢との相関	R= -0.295	P< 0.01	R= -0.299	P< 0.01



図2. 劇症化例、非劇症化例における肝容積およびLV/SLV

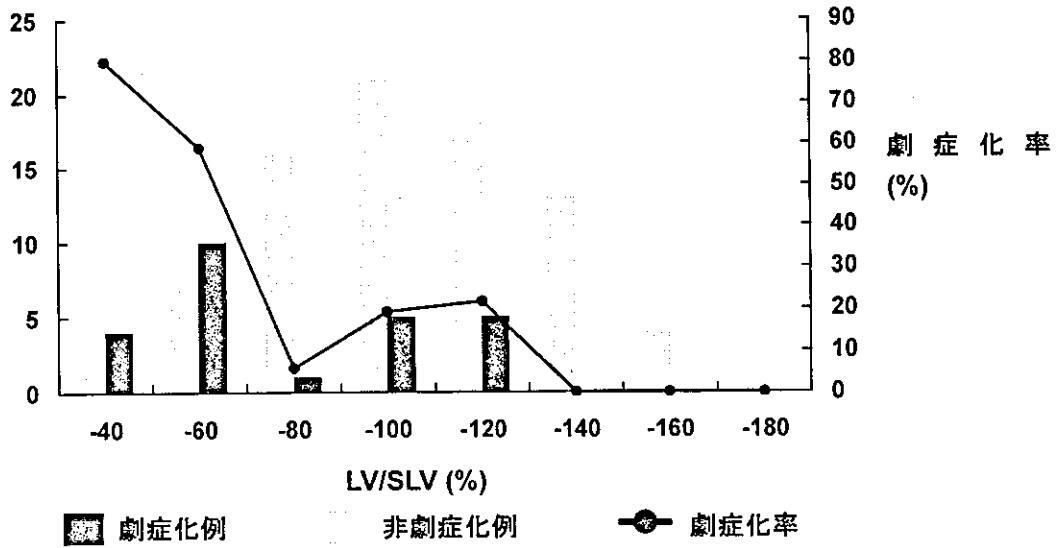


図3. 劇症化の有無によるLV/SLVとPT、T.Bil.との相関

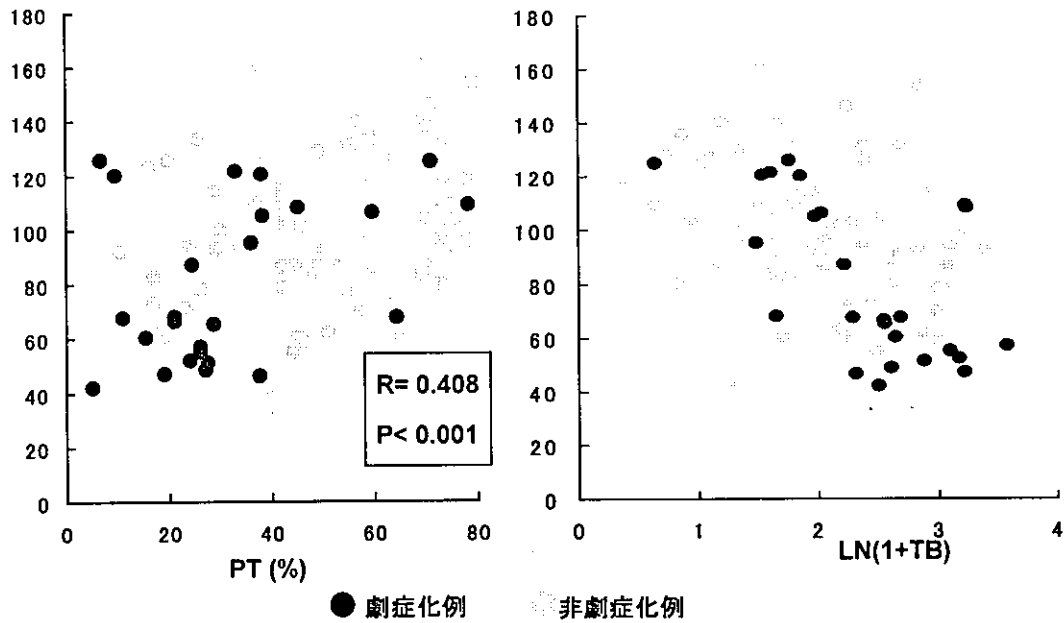


図4. 年齢、成因とLV/SLV, 昏睡発現との関連

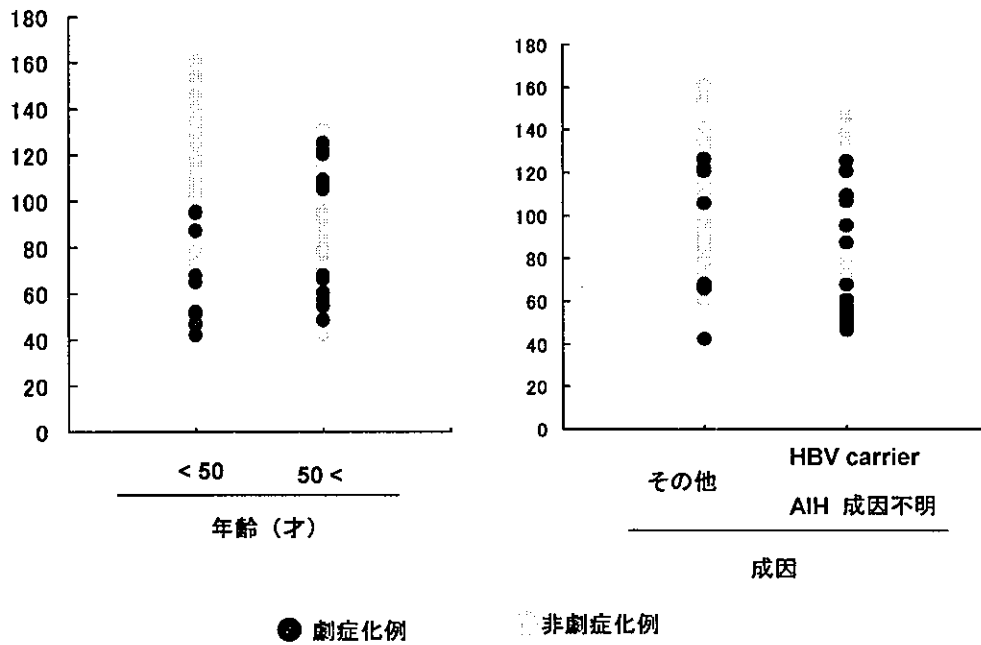
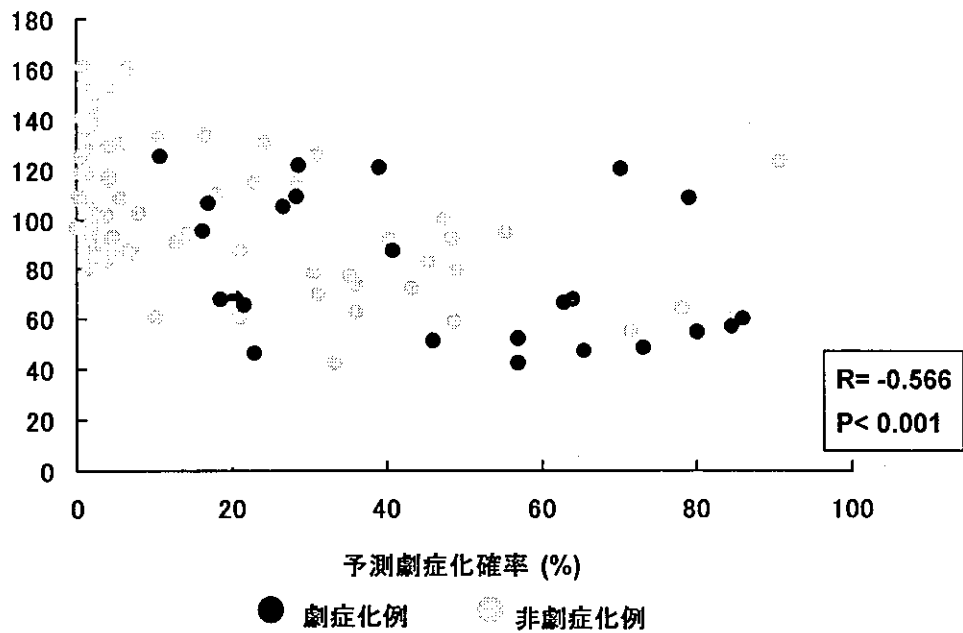


図5. 予測劇症化確率とLV/SLVとの関連



#### D. 考察

急性肝不全の予後に関し、多数の予知式が提唱されているが(4-6)、その多くで年齢、成因、臨床病型、TB、凝固因子(PT、第V因子など)が採用されている事から、これらの因子が重要な予後因子であることが考えられる。また、平成15年度に報告(2)したように、急性肝炎の劇症化予知においてもこれらの因子が採用されたことから、急性肝炎の重症度の指標としても重要と考えられる。一方、専門施設への搬送基準(予測劇症化確率20%)、特殊治療開始基準(予測劇症化確率50%)の2段階での重症度評価にもかかわらず劇症化を予知できない例があることも事実であり、これらの指標とは異なった要因による予知が必要と考えられた。この観点から、CT画像による肝容積評価の有用性を検討した。

肝容積の評価においては、計測値そのものを用いる方法と、体格による補正を加える方法があるが、健常人の肝容積が体表面積と高い相関を有することから、補正が必要と考えられる。今回の検討でも肝容積実測値は男女で25%程度の較差が見られたが、標準肝容積に対する比を用いることによりこの差は10%程度にまで補正されたことから、肝萎縮の評価に当たってはLV/SLVを用いるべきと考えられた。

非劇症化例におけるLV/SLVが100%をピークとする正規分布を示したのに対し、劇症化例では2峰性を示したことから、PTが初めて80%を下回った時点でのLV/SLVに関し、劇症化例は単一の母集団ではなく、この時点ですでに肝萎縮を来している群と、肝萎縮の認められない群が混在していることが明らかとなった。PTやTBとLV/SLVが比較的高い相関を示したことから、肝萎縮を来した例はPT、TBもすでに低下しており、LV/SLVからこれらの指標を上回る予知情報を得ることは困難と考えられた。

一方、年齢の要因から低危険群とされた50歳以下の群において、LV/SLVが低下した例に高率に劇症化例が見られたことから、比較的若年者で重症度が過小評価されている例をLV/SLV低下により拾い上げる可能性があると考えられた。

予知式による予測劇症化確率とLV/SLVとが比較的高い相関を示したことから、予知式以上の予知情報をLV/SLVから得るのは困難といわざるを得ない。しかし、劇症化例の分布から、搬送基準(予測劇症化確率20%)付近にある症例においてはLV/SLVの低下すなわち肝萎縮が重要な情報を与える症例も認められ、このようないわば境界域にある症例においてはCTによる肝容積計測は予後判定において重要な要素となりうると考えられた。

同時に、先に述べたように肝萎縮を来していない群の重症度を如何に正しく評価するが今後の課題と考えられた。

#### E. 結論

1. CT計測によるLVは男女格差が大きく、SLVによる補正が必要である。

2. LV/SLVは低いほど劇症化率が高いが、正常値を示す例からも劇症化する症例が認められた。
3. LV/SLVは予測劇症化率と比較的高い相関を示した。
4. 特に予測劇症化確率が20%付近の症例ではCTによる肝容積評価が重要と考えられた。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sato S, Suzuki K, Takikawa Y, Endo R, Omata M. Clinical epidemiology of fulminant hepatitis in Japan before the substantial introduction of liver transplantation: an analysis of 1309 cases in a 15-year national survey. *Hepato! Res* 2004;30:155-161.
- 2) Sainokami S, Abe K, Kumagai I, Miyasaka A, Endo R, Takikawa Y, Suzuki K, et al. Epidemiological and clinical study of sporadic acute hepatitis E caused by indigenous strains of hepatitis E virus in Japan compared with acute hepatitis A. *J Gastroenterol* 2004;39:640-648.
- 3) Lin SD, Takikawa Y, Endo R, Suzuki K. Proinflammatory cytokines up-regulate synthesis and secretion of urinary trypsin inhibitor in human hepatoma HepG2 cells. *Hepato! Res* 2004;29:243-248.
- 4) Ushio A, Takikawa Y, Lin SD, Miyamoto Y, Suzuki K. Induction of Bcl-xL is a possible mechanism of anti-apoptotic effect by prostaglandin E2 EP4-receptor agonist in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Hepato! Res* 2004;29:173-179.
- 5) Miyamoto Y, Takikawa Y, De Lin S, Sato S, Suzuki K. Apoptotic hepatocellular carcinoma HepG2 cells accelerate blood coagulation. *Hepato! Res* 2004;29:167-172.
- 6) Sato R, Maesawa C, Fujisawa K, Wada K, Oikawa K, Takikawa Y, Suzuki K, et al. Prevention of critical telomere shortening by oestradiol in human normal hepatic cultured cells and carbon tetrachloride induced rat liver fibrosis. *Gut* 2004;53:1001-1009.
- 7) Lin SD, Endo R, Kuroda H, Kondo K, Miura Y, Takikawa Y, Kato A, Suzuki K. Plasma and urine levels of urinary trypsin inhibitor in patients with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepato! Res* 2004;19:327-332.
- 8) 滝川康裕、遠藤龍人、鈴木一幸：劇症肝炎-肝移植のタイミング。肝疾患 Review 2004。小俣政男(編)。日本メディカルセンター、東京、

p139-142, 2004.

- 9) 滝川康裕、鈴木一幸：B型亜急性肝炎、劇症肝炎の臨床概論。日本臨床 2004;62:253-258.
  - 10) 滝川康裕、片岡晃二郎、遠藤龍人、鈴木一幸：急性肝不全の成因と診断基準に関する検討。消化器科 2004;38:75-81.
  - 11) 遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：劇症肝不全例。救急・集中治療 2004;16:895-904.
  - 12) 遠藤龍人、岩井正勝、滝川康裕、鈴木一幸：劇症肝炎の内科的治療。日本アフェレーシス学会誌 2004;22:151-159.
  - 13) 阿部弘一、熊谷一郎、遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：B型肝炎重症化例の治療。内科 2004;93:471-476.
  - 14) 遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：急性肝不全の栄養療法。BIO Clinica 2004;19:323-328.
2. 学会発表
- 1) 遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：原因不明の肝炎の実態と機序に関する新展開。第90回日本消化器病学会総会パネルディスカッション6「原因不明の急性肝炎および劇症肝炎の実態と病態」2004年4月21日（於仙台市）
  - 2) 佐藤俊一、鈴木一幸、滝川康裕：急性肝炎重症型の病態解析と劇症化予知について。第30回日本急性肝不全研究会。特別企画「日本急性肝不全研究会30年の来し方・行く末」2004年6月2日（於浦安市）
  - 3) 滝川康裕、遠藤龍人、渡辺雄輝、石田 弥、鈴木一幸：明らかな肝性昏睡の発現を見ないまま移植施設に搬送した劇症肝炎亜急性型の一例。第30回日本急性肝不全研究会。2004年6月2日（於浦安市）
  - 4) 熊谷一郎、阿部弘一、鈴木一幸：岩手県におけるE型急性肝炎の実態：その感染経路と重症化に関与する因子の考察。第8回日本肝臓学会大会パネルディスカッション「わが国におけるE型肝炎の実態」2004年10月22日（於福岡市）
  - 5) 妻神重彦、遠藤龍人、鈴木一幸、他：わが国におけるE型急性肝炎の臨床像。第39回日本肝臓学会総会 2004年5月22日（於福岡市）

## H. 知的財産権の登録状況

なし

### 1. 参考文献

- 1) 鈴木一幸、他：急性肝炎重症型の劇症化予知に関する prospective study. 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13年度研究報告書. P104-109, 2002.
- 2) 鈴木一幸、他：急性肝炎の劇症化予知に関する研究. 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15年度研究報告書. P85-89, 2004.
- 3) Urata K et al. Calculation of child and adult standard liver volume for liver transplantation. Hepatology 1995;21:1317-1321.
- 4) Christensen E, et al. Prediction of fatality in fulminant hepatic failure. Scand J Gastroenterol 1984;19:90-96.
- 5) Bernuau J, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in FH B. Hepatology 1986;6:648-651.
- 6) O'Grady JG, et al. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. Gastroenterology 1989;97:439-445