

200400825A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

門脈血行異常症に関する調査研究

平成十六年度 総括・分担研究報告書

平成 17 年 3 月

班 長 橋 爪 誠

厚生労働科学研究費補助金

門脈血行異常症に関する調査研究
平成十六年度 総括・分担研究報告書

平成 17 年 3 月

班 長 橋 爪 誠

序 文

昭和59年、厚生省特定疾患「門脈血行異常症」調査研究班が編成された。これは、昭和50年以來、厚生省特定疾患「特発性門脈圧亢進症」調査研究班が検討を行っていた特発性門脈圧亢進症（IPH）に、肝外門脈閉塞症（EHO）およびバッドキアリ症候群（BCS）を対象疾患として加え、再編成されたものである。

当研究班は亀田治男（昭和59～63年）、小幡裕（平成元～3年）、二川俊二（平成4～7年）、杉町圭蔵（平成8～13年）、橋爪誠（平成14年～）の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た。特にIPHでは、肝硬変症との差異およびIPH特有の門脈血行動態が明らかになり、病因に関しては、末梢リンパ球 Autologous mixed lymphocyte reaction (AMLR) の低下、脾内リンパ球T細胞サブセットの変化など、自己免疫異常を示唆する病態が明らかになってきた。そしてその後、3疾患の病因病態の解明は、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。マイクロアレイなどの最先端の分子生物学的手法を使い、IPHには Connective tissue growth factor (CTGF) が過剰発現し、Heme oxygenase-1 (HO-1) の発現が低下していることを発見した。また、ネパール、カナダにおけるBCSの検討を行い、国際間比較もなされた。一方、社会的には、平成10年度に、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り、平成12年12月には「門脈血行異常症の診断と治療（2001年）」を新基準として設定することができたのである。

未だ門脈血行異常症3疾患の病因は不明であるが、IPHにおける免疫異常や血管増殖因子の関与、BCS、EHOにおける凝固線溶系の異常と遺伝子異常が次第に明らかと成りつつある。さらに分子生物学的、遺伝子学的アプローチを続けることでさらなる原因解明ができるものと期待される。そして、これらの原因解明を、臨床の場で診断・治療に応用することが今後課題である。

本年度も、分子生物学的手法を駆使した基礎的なものから臨床研究まで幅広い研究がなされた。基礎的分野では、肝臓のリモデリング機構に関与するHIF-1のメカニズム、IPHにおけるeNOS、ET-1の発現、EHO、BCSの血液凝固亢進状態に対するPAI-1の役割などが検討された。一方、臨床分野では、門脈血行異常症に対する内視鏡的治療の再検討、BCSにおける手術成績・肝癌の検討など、診断や治療に関する多数の検討が行われた。今後、当研究班で作成された新基準「門脈血行異常症の診断と治療（2001年）」の妥当性の検討も必要になってくると思われる。

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ます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17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 橋 爪 誠

厚生労働省 特定疾患
門脈血行異常症 平成16年度研究報告書

目 次

序 文

I 総括研究報告 班長 橋 爪 誠 …… 1

II 分担研究報告

〔病因・病態〕

1. 特発性門脈圧亢進症における頭部 MRI 淡蒼球高信号所見の検討
千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学 松 谷 正 一 …… 8

2. 拘束ストレス負荷マウスにおける血栓傾向と PAI-1の発現
独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 齋 藤 英 彦 …… 11

3. 肝線維化進展に対する遺伝子プロファイルによる解析
大阪市立大学大学院医学研究科核医学 塩 見 進 …… 14

4. 肝臓特異的な低酸素感受性転写制御因子 hypoxia inducible factor-1 α
欠損マウスの確立と肝再生能に関する解析
慶應義塾大学医学部医化学教室 末 松 誠 …… 17

5. 門脈血栓症における門脈血行動態の検討
— 静脈瘤血行路におよぼす影響について —
千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学 松 谷 正 一 …… 20

6. 孤立性胃静脈瘤症例における超音波造影剤を用いた肝血行動態変化の検討
東京医科大学内科学第四講座 森 安 史 典 …… 23

7. 門脈血行異常症における脾の役割
— 脾における Endothelin-1、TGF- β 、TNF- α の発現についての検討 —
九州大学大学院医学研究院災害・救急医学 橋 爪 誠 …… 26

8. IPH における免疫異常
昭和大学医学部第二内科(消化器内科) 井 廻 道 夫 …… 29

〔病 理〕

1. 沖縄の Budd-Chiari 症候群の肝病理形態
久留米大学医学部病理学教室 鹿 毛 政 義 …… 32

2. IPH の病態形成における NOS の関与
— 脾での iNOS, eNOS の発現を中心に —
金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学 中 沼 安 二 …… 35

3. 門脈圧亢進症における脾病理組織 — リンパ路に着目した組織学的変化 —
久留米大学医学部病理学教室 鹿 毛 政 義 …… 38

4. 特発性門脈圧亢進症剖検症例の死因：IPH 剖検例全国調査から
— リンパ路に着目した組織学的変化 —
金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学 中 沼 安 二 …… 41

〔全国調査・疫学〕

1. 特発性門脈圧亢進症の記述疫学

大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学 廣田良夫 …… 46

2. 全国検体保存センターの現況

九州大学大学院医学研究院災害・救急医学 橋爪誠 …… 50

〔臨床〕

1. 肝移植を行った門脈瘤を有する C 型肝硬変の 1 例

長崎大学大学院医歯薬総合研究科移植・消化器外科 兼松隆之 …… 54

2. C 型肝硬変症に対する生体肝移植により食道静脈瘤が軽快した 1 例

— 静脈瘤血流速度の観点から —

順天堂大学肝胆膵外科 川崎誠治 …… 57

3. 脾肺固着術後長期観察した Budd-Chiari 症候群の 1 例

大分大学医学部腫瘍病態制御講座第 1 外科 北野正剛 …… 60

4. Budd-Chiari 症候群に対する外科治療

琉球大学医学部機能制御外科学 古謝景春 …… 62

5. 門脈循環動態からみた肝硬変における主要合併症の自然経過

大阪市立大学大学院医学研究科核医学 塩見進 …… 64

6. 孤立性胃静脈瘤治療例の長期予後の検討

— 経静脈的塞栓術と EIS の比較 —

東京医科大学内科学第四講座 森安史典 …… 68

7. 門脈血行異常症に対する内視鏡的治療：班内アンケート調査の結果について

大分大学医学部腫瘍病態制御講座第一外科 北野正剛 …… 70

8. 脾臓摘出術後の門脈血栓症の病態および治療についての検討

九州大学大学院医学研究院消化器・総合外科 前原喜彦 …… 73

9. 術後に門脈狭窄を生じた胆道破裂の 1 小児例

長崎大学大学院医歯薬総合研究科移植・消化器外科 兼松隆之 …… 77

Ⅲ その他

平成16年度門脈血行異常症班会議総会プログラム …… 79

門脈血行異常症の診断と治療（2001年） …… 82

平成16年度門脈血行異常症調査研究班名簿 …… 90

I 総括研究報告

総括研究報告

班長 橋爪 誠 (九州大学大学院災害・救急医学)

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) 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治療上の問題点を明らかにし、予後の向上を目指すところにある。

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。そこで、最新の研究手技を用いた分子生物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

【病因・病態】

松谷らは、肝性脳症や慢性肝不全を伴う肝硬変 (LC) 患者での報告がなされている頭部 MRI-T1 強調画像における淡蒼球高信号所見に関し、IPH 患者での検討を行った。頭部 MRIT1 強調像から淡蒼球と前頭葉白質の信号強度を測定し、その比を Pallidal Index (PI) として定量化し淡蒼球信号強度の指標とした。IPH、LC における PI は非肝疾患群に比べ高値を示した。また、IPH は LC に比べ高い傾向が見られた。また、肝外短絡率と PI 値は相関が認められ、IPH では LC に比べより高い相関が認められた。頭部 MRI 淡蒼球高信号所見は、今後、門脈大循環短絡の新たな定量的指標として臨床応用が可能と考えられた。

齋藤らは、後天性血液凝固亢進状態により門脈血

行異常症が引き起こされるかを動物モデルにより検討した。ストレスが後天性血液凝固亢進状態を引き起こすことが最近注目されているため、拘束ストレス法を利用し、ストレスによる血栓形成における線溶阻害因子 plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) の発現変化について解析を行った。若年マウスでは、拘束ストレス負荷後、血中 PAI-1 抗原量はストレス負荷前に比べ著明に上昇し、組織での PAI-1 mRNA 発現量も顕著に増加した。また、老齢マウスでは PAI-1 の発現増加は若年マウスに比べより著明であった。また、組織において微小血栓の存在を検索したところ、若年マウスではまったく血栓の沈着を認めなかったが、老齢マウスではほぼ全例に脂肪組織の微小血管内や腎糸球体の毛細血管内に微小血栓の沈着を認めた。しかし、門脈などの大静脈には血栓は認められなかった。以上より、ストレスにより誘発される血栓症/血栓傾向には、組織における PAI-1 の発現増強が強く関与していると考えられ、その反応は加齢依存的に増大することが示された。しかし、このマウスモデルにおいては門脈に血栓をつくることは出来ず、血管壁の傷害などの他の要因が複合的に重なることが必要だと考えられた。

塩見らは、肝線維化の原因遺伝子を解明するため、遺伝子発現プロファイルによる解析を行った。DMN を使用した肝線維化モデルにおいて、1週間ごとに採取した肝より RNA を抽出し、affimetrix の装置とチップ (ラット遺伝子 RG-U34A) を用い、gene chip 測定 (8,000 遺伝子) を行った。4日目、7日目、14日目、21日目、28日目の遺伝子発現のパターンは多様な増減を示し、これら遺伝子群において、特に有意の変動を示す遺伝子および血中ヒアルロン酸、肝ハイドロキシプロリンと有意の相関を示

す60遺伝子を選択した。

末松らは、肝実質細胞内酸素濃度応答機構の破綻が臓器としての肝臓のリモデリング機構に如何なる影響を及ぼしうるのかを解析するために、肝実質細胞特異的な HIF-1 α 遺伝子欠損マウス (HIFDFAlbCre) を用いて肝再生応答における HIF-1 の生物学的意義について検討を行った。HIFDFAlbCre における70%肝切除後の肝再生過程はコントロール群と比較して有意に遅延すること、またこの遅延効果は肝実質細胞の細胞増殖反応の減少を伴っていることが明らかになった。これらの結果より、HIF-1は肝再生過程の重要な制御因子として機能していることが示された。

松谷らは、門脈血栓症の形成部位や範囲が静脈瘤への供血路の血流にどのような負荷を与えているかについて検討を行なった。門脈血栓合併例では、非合併例に比べて、左胃静脈径が増大していた。また、血栓合併例においては、門脈一次分枝閉塞例や門脈の半周以上を血栓が占拠した例が、血栓が半周以下の例に比べて、左胃静脈径の増大傾向がみられた。左胃静脈の血流速度は、門脈血栓の合併の有無で有意な差は見られなかったが、門脈血栓例において、門脈1次分枝の閉塞例や門脈での半周以上の血栓占拠例が、血栓が半周以下の例に比べて、左胃静脈血流速度が高値となる傾向が見られた。中等度以上の食道静脈瘤を有する門脈圧亢進症例で血栓の部位や程度と左胃静脈血行動態との関係を見ると、血栓範囲がある程度をこえると、左胃静脈径や血流速度が増加し、食道静脈瘤への血流負荷が生じてくると考えられ、門脈血栓の範囲の判定が、食道静脈瘤への対処を決める上で、重要と考えられた。

森安らは、肝血流動態を経時的に視認できる超音波造影剤 (レボビスト) を用い、静脈瘤を有する症例の治療前後における肝の循環動態の変化について、肝静脈到達時間を測定することにより検討した。肝硬変例及び特発性門脈圧亢進症例では正常例と比較してレボビストの門脈から肝静脈到達までの時間が短縮していた。食道静脈瘤治療前後では肝静脈到達時間に変化がなかったが、胃・十二指腸静脈瘤に対する経静脈的塞栓術後にはレボビストの門脈から肝

静脈到達までの時間が延長し、ICG15分値が改善した。肝硬変においては肝内シャントなどの影響によって肝静脈到達時間が短縮するものと考えられているが、肝硬変症例の門脈大循環短絡を閉鎖させることは、短期的には肝予備能を改善させ、肝内の微小循環を正常に近づける効果を有するものと考えられた。

橋爪らは、門脈血行異常症における脾臓の役割を肝脾相関の観点から検討した。ラット肝硬変モデルの脾臓では非肝硬変の脾臓に比べ、TGF- β 1の高発現が認められた。また、肝硬変完成後、脾摘群は非脾摘群に比べ有意に肝線維化改善傾向が認められ、肝再生の増加も認められた。これらに対する脾臓の関与を明らかにするために、門脈血中の TGF- β 1濃度を測定したところ、脾摘群が非脾摘群に比べ低下しており、脾臓由来の TGF β 1が肝線維化を促進し、肝再生を抑制している可能性が示唆された。ヒト肝硬変症の脾臓による検討では、TNF- α 、ET-1、TGF- β の mRNA の発現が正常の脾臓に比べ亢進しており、同様の機序が推測された。

井廻らは、IPH における Treg の関与をはじめ、Th1/Th2バランス、Th1および Th2タイプの各種サイトカインに関する検討を加え、免疫学的側面から病態を考察した。IPH では、何らかの要因による hyperimmunity の結果、活性化された脾内 Th1 type の CD4細胞が増加し、さらに IFN- γ 、TNF- α の放出が促進し、肝血管内皮細胞上に発現増強された HLA-DR 分子や ICAM-1、VCAM-1などの接着分子を攻撃することにより門脈の炎症、潰れが発症し、脾腫や門脈圧亢進を発症すると推測された。また、免疫調節において、サイトカイン産生パターンの違いによって分類される Th1/Th2バランスの制御機構が破綻すると、Th1への偏向により自己免疫疾患が、Th2への偏向によりアレルギー疾患が発症することがいわれている。IPH では、末梢血および脾内リンパ球のサイトカイン産生パターンによる検討から、Th2への偏向が抑制され、結果的に Th1 優位となることが明らかとなってきた。一方正常固体において、自己反応性 T細胞は、様々の制御を受けている。特に CD4⁺ CD25⁺ T細胞 (Treg) は、Th1/Th2バランスに深く関与してお

り、その異常が自己免疫疾患の発症に関与すると考えられ、IPHにおけるTregの関与が示唆された。

【病 理】

鹿毛らは、Budd-Chiari症候群(BCS)と肝細胞癌との関連について臨床病理学的検討を行い、沖縄の肝細胞癌合併BCS症例を検討した。BCSに肝細胞癌が合併することはよく知られているが、その合併頻度は、報告者により大きく異なる。今回検討した琉球大学のBCSの肝細胞癌合併率は24%と高率であり、ウイルス肝炎と同様にBCSは肝細胞癌の高危険因子であることが改めて示された。また、BCSに対する根治術により、うっ血が解除されても肝細胞癌の発生が見られる症例があり、肝硬変の前段階のうっ血性肝線維症の状態からも発癌している症例もあった。さらに、肝細胞癌合併BCSの非癌部には、肝細胞のdysplasiaが目立った。dysplasiaは、慢性ウイルス性肝炎に通常みられる所見であり、現在前癌病変とは考えられていないが、肝細胞癌の非癌部に高率に出現する変化である。すでに報告したようにカナダの肝細胞癌合併BCSの非癌部肝組織にも旺盛な肝細胞再生とともにdysplasiaも目立った。肝細胞の再生変化やdysplasiaについての病理学的検討は、BCSの発癌機序の解明に手掛りを与える可能性があると考えられた。

中沼らは、IPH症例の脾臓を用い、一酸化窒素(NO)合成を介して強力な血管拡張作用を示すiNOSとeNOS、ならびに代表的な血管収縮因子であるエンドセリン-1(ET-1)の発現を検討した。IPH脾におけるiNOSの発現は脾洞内皮にびまん性かつ高度にみられたのに対し、LC症例の脾洞内皮におけるiNOSの発現強度は明らかに弱く、対照脾ではiNOSの発現はみられない、もしくは極めて弱いという結果であった。eNOSの陽性所見も脾洞内皮に認められたが、特にIPHでその発現の程度が強く、検討した3群における染色態度はiNOSと概ね同様の傾向を示した。IPHでは脾洞内皮におけるNOSの発現亢進によるNOの産生が亢進した結果、脾洞が拡張し脾腫が生じ、さらに脾で産生さ

れたNOが脾静脈から門脈血へと流出し、脾静脈とたいレベルの門脈を拡張させることが推測された。IPHの門脈圧亢進には、肝内門脈血管抵抗の増加に加えて、脾臓もNOの産生亢進を介して病態形成に積極的に関与している可能性が示唆された。

鹿毛らは、肝硬変症脾においてリンパ路(管)、リンパ球の移動・流出像に関連した病理組織学的変化の有無を検討した。肝硬変症脾では、脾柱末梢の帯状裂開部で、線維化とともにD2-40陽性リンパ管の新生がみられた。同部は洞増生に関連し動脈系組織の融解性変化が生じていると考えられ場所である。これらのことから動脈系組織の融解・変性とともにリンパ路(流)に変化が生じ、洞新生のみならずリンパ管新生と増生が同時に生じている可能性が考えられた。すなわち肝硬変症脾では、perivenous lymphaticsよりもperiarterial lymphaticsを介すリンパ路に何らかの変化が生じている可能性が推察された。

中沼らは、全国より収集したIPH剖検症例と当教室で経験した剖検症例を用いてIPHの死因を検討した。症例の収集を行い、自験例をあわせてIPH65症例について、その死因の検討を行った。死因としては、感染症(肺炎、敗血症)が18例(27%)と最も多くみられた。従来、多くのIPH症例の死因とされていた食道・胃静脈瘤破裂は、10例(16%)と大きな割合を占めていたが、肝性脳症、肝腎症候群を含む肝不全による死亡も、10例(16%)と同数認められた。また、小腸出血性梗塞による死亡も5例(8%)あり、IPHの病態自体に関連する死因が半数を占めた。IPHは肝疾患としての予後は良好とされており、食道静脈瘤破裂等への対症療法が治療の主体となっている。しかし、IPH症例において、肉眼的、組織学的に肝硬変には至らないが、臨床的に肝機能の低下があり、肝不全が死因となる例が多数存在することは、肝疾患としてのIPHの予後を考える点で重要であると考えられた。

【全国調査・疫学】

廣田らは、1998年の1年間に受療したIPH患者報告を得た施設に対し、個人調査票を送付し症例毎の個人情報収集した上で、最終的にIPH169例を二次調査の対象として解析を行った。1998年の1年間の受療患者数は920人と推計され、推定発症年齢は男女とも40～50歳代にピークを認めた。IPHの77%に食道静脈瘤の合併を認め、79%に他覚所見としての脾腫を認めた。診断時画像所見では脾腫大はIPHの84%に認め、肝の萎縮・変形は40%、肝腫大は15%、門脈血栓は6%に認めた。診断後に行われた治療は、50%が内視鏡的治療を受け、34%が直達手術を受けた。現在の状況は、治癒はIPHの6%に認め、改善は46%、不変は38%、悪化は8%、死亡は1%に認めた。

【全国検体保存センターの現状】

門脈血行異常症調査研究班の調査対象であるIPH、EHO、BCSの3疾患は全国的にも症例数が限られているため、病因や病態の解明を行うには調査研究対象となる症例の確保が必要である。そのため、当研究班では平成9年に検体登録制度および検体保存センターを設立し、運営を行ってきた。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(39%)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16年12月31日現在、IPH 98例、EHO 51例、BCS 39例の計188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。

現在、遺伝子を解析する研究にあたっては、研究の結果が様々な倫理的・法的・社会的問題を招く可能性を十分考慮しなければならず、試料等提供者、その家族や血縁者さらには同じような病気にかかっている他の患者の尊厳を尊重し、人権を守り、利益を保護することが重要である。平成13年3月29日付けで、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」が告示され、この指針に定められた手続きを遵守す

ることが求められるようになった。当研究班に関しては、平成14年3月25日、九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会において「門脈血行異常症の遺伝子異常に関する調査研究(杉町班)」が承認され、平成14年12月26日、大阪市立大学・倫理委員会にても同様に承認を得た。さらに、橋爪班への変更に伴い、平成15年3月25日、九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会において「門脈血行異常に関する調査研究(橋爪班)」が再承認され、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づいた検体保存センターの運営環境を整えていった。

しかし一方で、そのような環境は、新規検体登録状況を厳しくしていることが徐々に分かってきた。実際、平成16年12月31日現在、検体登録数は計188例になったが、新規登録数は年々減少している。その理由として考えられることとして、研究協力施設(検体を提出してくれる施設)での負担が増加してしまうことが挙げられる。検体を使用して研究を行う施設だけではなく、研究協力施設においても、倫理委員会およびそれに準じた委員会の承認が必要になり、書類面での患者への説明および同意書が必要になる。さらに漏洩による提供者の不利益を防ぐため、個人情報は匿名化することとされており、研究協力施設において正式な手続きに従って匿名化を行った上で、検体を登録しないといけないのである。すなわち、せっかく研究協力に同意した施設がその気になっても、以上のような負担の多さのため、日常の臨床業務の忙しさからそれら業務を行うことができず、貴重な症例を前にして検体の採取を断念せざるを得ない場合もでてくる可能性があると考えられる。そのため、今後は、患者の利益・プライバシーを保護しながら、より有効な検体保存センターのシステムを構築していく必要があると考えられる。まずは、各施設の倫理委員会にて申請認可されるようなガイドラインを作成し、各施設の倫理委員会への申請を行い、登録症例のあった施設からの検体提供数の増加を図ることが重要である。

【臨床】

兼松らは、門脈瘤を有するC型肝硬変で肝移植を行った一例を報告した。

川崎らは、C型肝硬変症に対する生体肝移植により食道静脈瘤が軽快したことを血流速度の観点から検討した一例を報告した。当症例では、移植術前の内視鏡所見はLmF2RC(+)で、食道静脈瘤血流速度12cm/secであったが、手術施行3ヶ月後に施行した食道内視鏡検査およびEMDSでは、内視鏡所見では食道静脈瘤はF1RC(-)に軽快し、血流速度は4cm/secに減弱していた。生体肝移植は静脈瘤に対する直接的な治療法ではないが静脈瘤を合併する肝疾患においては静脈瘤に対する治療法の一つと成り得ることが客観的に示された。また移植により変化すると考えられる門脈系の血行動態を解明する上で静脈瘤血流速度測定は重要な要素となると考えられた。

北野らは、脾肺固着術後長期観察した Budd-Chiari 症候群の一例を報告した。脾肺固着術後も長期間の経過を経て肝性脳症が出現することがあり、長期に渡る経過観察が必要であると考えられた。

古謝らは、Budd-Chiari 症候群に対して1979年以来行ってきた後側法アプローチによる直達手術の術式概要およびその遠隔成績を報告した。術後10年、20年の累積生存率は各々85%、70%であり、満足すべきものと考えられた。

塩見らは、^{99m}Tc pertechnetate による経直腸門脈シンチグラフィを用いて算出した Portal Shunt Index (PSI) と、肝細胞癌、肝不全 (Child-Pugh 分類の stage 進行)、静脈瘤出血の経過との関係を検討した。PSI と累積肝細胞癌発症率の間に明らかな統計学的有意差はみられなかったが、PSI 高値群は PSI 低値群に比べ、PSI と Child A から B への累積進行率が有意に高かった。多変量解析 (Cox's regression model) 上の比較においても、Child A から B への累積進行率に関して PSI の高値群は他の因子と比して有意な予後予測因子であった。経直腸門脈シンチは主に下腸間膜静脈が形成する門脈系シャントの程度を反映しており、門脈系シャントの評価が間接的であるという弱点があるが、手

法の簡便さ・非侵襲性の点から、早期肝硬変における潜在的な門脈圧亢進の評価および肝不全の予測に有用であると考えられた。

森安らは、孤立性胃静脈瘤に対し経静脈的塞栓術を施行した症例、すなわち胃静脈瘤を含む側副血行路を完全に塞栓した症例と EIS を施行した症例を比較し、その長期予後について比較検討した。5年累積胃静脈瘤再発率は、経静脈的塞栓術群0%、EIS 群40%で経静脈的塞栓術で有意に低値であった。5年累積食道静脈瘤再発 (増悪) 率は、経静脈的塞栓術群49%、EIS 群68%で両群間に差はなかった。5年累積出血率は、経静脈的塞栓術群5%、EIS 群52%で経静脈的塞栓術で有意に低値であった。5年累積生存率は、経静脈的塞栓術群64%、EIS 群49%で両群間において差はなかった。以上の結果より、胃静脈瘤を含む門脈大循環短絡路を塞栓することにより生存期間内の胃静脈瘤再発、出血は予防できるが、生命予後の改善は得られないと考えられた。

北野らは、各施設へのアンケート調査を行い、門脈血行異常症に対する内視鏡治療の治療成績の再検討を行った。IPH、EHO、BCS に対する内視鏡的治療後の食道静脈瘤5年累積非出血率は、それぞれ100%、100%、88%であり、10年累積非出血率はそれぞれ100%、94%、88%であった。以上より、門脈血行異常症例の食道静脈瘤に対する内視鏡的治療は、静脈瘤出血を十分にコントロール可能であると考えられた。

前原らは、脾臓摘出後の門脈血栓について検討した。門脈血栓は脾臓摘出術後のどの時期にも起こりえる合併症であり、門脈血栓形成の危険因子として、術前因子では術前予測脾体積、術中因子では脾重量、術後因子では血小板数 (術後2週間) が挙げられた。また、術後門脈血流が著明に減少している症例では門脈血栓ができやすいことが示唆された。また、門脈血栓に対する治療として血栓形成後の速やかな薬物療法が有用と考えられた。

兼松らは、新生児期の胆道破裂および術後の反復性胆管炎が門脈狭小化に影響を及ぼしたと思われた一例を報告した。

II 分担研究報告

〔病因・病態〕

特発性門脈圧亢進症における頭部MRI淡蒼球高信号所見の検討

千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学
松谷正一

共同研究者
千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学
福沢 健、丸山紀史、吉住博明、小林 哲、奥川英博

はじめに

頭部MRI-T1強調画像における淡蒼球を中心とした高信号所見は、肝性脳症や慢性肝不全を伴う肝硬変(LC)患者での報告以来様々な検討がなされてきた^{1) 2)}。また剖検例での検討などから脳へのMnの沈着がこの高信号所見の成因であるとする説が有力であり³⁾、肝性脳症の精神神経症状とMnの神経毒性との関連も指摘されている。しかし非硬変性門脈圧亢進症における本所見の報告は少なく、特発性門脈圧亢進症(IPH)における本所見の意義は明らかでない。そこでIPH患者における頭部MRI-淡蒼球高信号所見の意義と成因について検討した。

対象と方法

IPH16例、LC42例(C型36例、B型2例、非B非C型4例)を対象とした。LCはChild分類ではA13例、B15例、C14例であった。また肝疾患や頭蓋内病変のない15例の頭部MRI所見を対照とした。頭部MRIT1強調像をオフラインで画像処理ソフトNIHImageにとりこみ淡蒼球と前頭葉白質の信号強度を測定し、その比をPallidal Index (PI)として定量化し淡蒼球信号強度の指標とした。門脈血行動態の検討は超音波ドプラにて行い、門脈大循環短絡路と門脈幹の血流量を測定し、肝外短絡率(短絡路血流量/門脈幹血流量+短絡路血流量)を算出した。血液検査では総ビリルビン、プロトロンビン時間、血中アンモニア、血中Mn濃度を測定した。顕性脳症を認めない13例では潜在性脳症の検索を目的として、Number Connection

Test (NCT)、WAISの積木試験、符号試験、Mini Mental State Examination (MMSE)、Wisconsin Card Sorting Test (WCST)による定量的検査を行った。

結果

1. IPHにおける頭部MRI淡層球高信号所見

IPHにおける Pallidal Index (PI)は平均1.34 (1.18~1.53)、LCでは平均1.27 (1.05~1.5)であり、非肝疾患群(平均1.09, 1.02~1.19)にくらべ高値を示した。またIPHはLCにくらべより高い傾向がみられた($p = 0.060$)。

2. 頭部MRI淡層球高信号所見と肝重症度および肝性脳症との関連(図1, 2)

LCでのPIはChildA1.26、B1.29、C1.26であり、肝重症度からみたPI値の差はみられなかった。総ビリルビン値、プロトロンビン時間とPI値との相関も認めなかった。またLCでは顕性脳症ならびに潜在性脳症の有無でPI値の差は認めなかった。

3. 頭部MRI淡層球高信号所見と門脈大循環短絡路との関連(図3, 4)

肝外短絡率とPI値は相関が認められた($r = 0.546$)。IPHでは $r = 0.733$ とLCに比べより高い相関が認められた。また、同程度の肝外短絡率ではIPHの方がLCにくらべて、より高いPIを呈した。血中Mn濃度($r = 0.550$)は血中アンモニア値($r = 0.344$)にくらべてPI値とより高い相関を示した。また、同程度の血中Mn濃度ではIPHの方がLCにくらべて、より高い信号値を示す傾向がみられた。

考 察

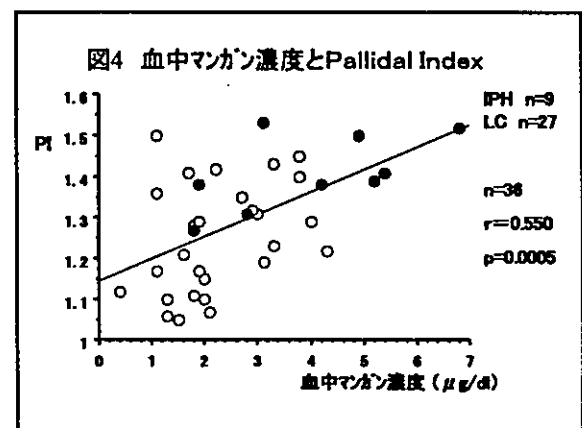
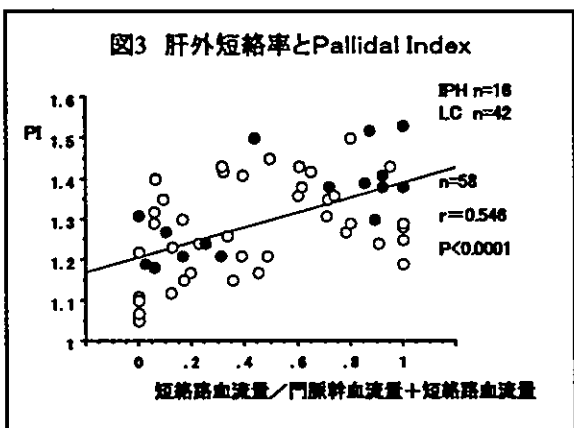
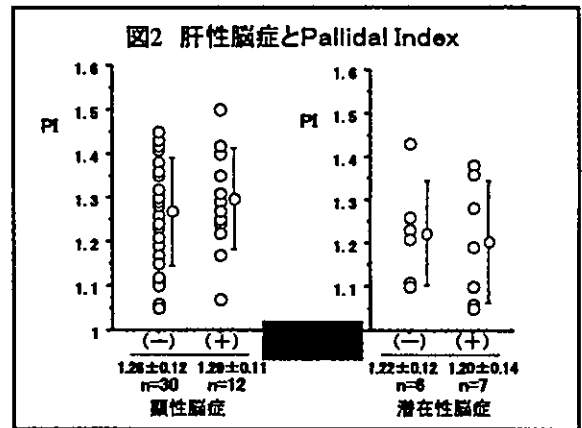
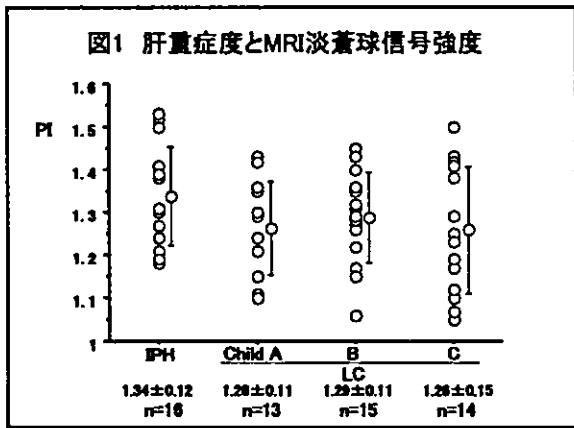
肝不全や肝性脳症を合併する肝硬変患者における頭部MRI所見については、従来よりT1強調画像での淡蒼球高信号所見が報告されている^{1) 2)}。しかしIPHをはじめとする非硬変性門脈血行異常症における本所見の報告は少なく、またその臨床的意義に関しては、不明である。本所見の臨床的意義としては、プロトロンビン時間⁴⁾、ICGクリアランス⁴⁾、血漿アンモニア濃度⁵⁾、ICG15分値、慢性肝疾患の肝病態の進展との相関がある報告と、相関がみられない報告がある^{2) 6)}。今回の検討ではLCに比べ肝機能異常が少ないIPHで、より強い高信号所見を認めたこと、また、LCでの肝重症度と高信号所見には関連を認めなかったことから、この所見は肝重症度と直接関連するものではないと考えられた。また顕性ならびに潜在性肝性脳症と高信号所見との関連も明らかでなかった。門脈血行動態については、高信号所見と門脈大循環短絡路¹⁾や、食道静脈瘤出血の既往との関連が報告されている⁴⁾。今回の検討では高信号所見は肝外短絡率、短絡路血流量と相関が認められたことより、高信号所見は門脈大循環短絡路の発達と密接に関連することが示唆された。特にIPHではLCに比べ強い相関を示し、所見も高度であった。IPHで、より淡蒼球高信号所見が高度に認められた理由は明らかではないが、一般にIPHの方がLCより長い病脳期間をもつと考えられることから本所見には門脈大循環短絡の持続期間等も関与していることが推察された。血中物質としてはMn濃度が高信号所見と最も高い相関を認めたが、消化管から吸収されたMnが門脈大循環短絡路の発達により全身循環に移行するために血中Mn濃度の上昇と脳内Mn濃度をきたし、高信号所見を呈するものと考えられた。肝性脳症の精神神経症状とMnの神経毒性との関連も指摘されているが、高信号を強く呈した例で肝性脳症が高度なことはなかったことから、これらの関係は不明であった。Mnが淡蒼球を中心とする大脳基底核に特異的に沈着する理由は不明であるが、神経学的な異常との関連も含めて、今後の検討が必要と考えられた。頭部MRI淡蒼球高信号所見は、今後、門脈大循環短絡の新たな定量的指標として臨床応用が可能と考えられた。

結 語

1. IPH例では頭部MRI淡蒼球高信号所見が高率であり、その程度はLC例より高度であった。
2. 本MRI所見は肝障害度に依存せず門脈大循環短絡の発達に関連して生じていた。
3. IPHで本所見が高度にみられる原因として、病脳期間の長さや、門脈大循環短絡が高度であることが考えられた。

文 献

1. Inoue E, Hori S, Narumi Y, et al: Portal-systemic encephalopathy : presence of basal ganglia lesions with high signal Intensity on MR Images. Radiology 1991; 179:551-555.
2. Brunberg JA, Kanal E, Hirsch W, et al: Chronic acquired hepatic failure: MR Imaging of the brain at 1.5T. AJNR 1991; 12: 909-914.
3. Krieger D, Krieger S, Jansen O, et al: Manganese and chronic hepatic encephalopathy. Lancet 1995; 346: 270-274.
4. Pujor A, Pujor J, Grause F, et al: Hyperintense globus pallidus on T1-weighted MRI In cirrhotic patients is associated with severity of liver failure. Neurology 1993; 43: 65-69.
5. Kulisevsky J, Pujor J, Junque C, et al: MRI pallidal hyperintensity and brain atrophy in cirrhotic patients: Two different MRI patterns of clinical deterioration? Neurology 1993; 43: 2570-2573.
6. Nolte W, Wirtfang J, Schindler C, et al: Bright basal ganglia In T1-weighted magnetic resonance Images are frequent In patients with portal vein thrombosis without liver cirrhosis and not suggestive of hepatic encephalopathy. J Hepatol 1998; 29: 443-449.



拘束ストレス負荷マウスにおける血栓傾向とPAI-1の発現

独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター
齋藤英彦

共同研究者
名古屋大学病院輸血部
山本晃士

はじめに

我々はBudd-Chiari症候群を始めとする門脈血行異常症の成因を先天性あるいは後天性血液凝固亢進状態の視点から解明することを目指してきた。これまでの研究により、先天性血栓傾向(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)は日本人においては門脈血行異常症の主たる成因ではないことを明らかにした。また、アンチトロンビン欠損マウス(ノックアウトマウス)の作成と解析から動物モデルにおいてもアンチトロンビン欠乏症は原因とはならないことを示した。本年度は後天性血液凝固亢進状態により門脈血行異常症が引き起こされるかを動物モデルにより検討した。

ストレスが後天性血液凝固亢進状態を引き起こすことが最近注目されている。我々は、生体におけるストレス反応(主として心因性ストレス)を解析するモデルとして以前より用いられてきた拘束ストレス法を利用し、ストレスによる血栓形成における線溶阻害因子plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)の発現変化について解析を行った。また、若年マウスと老齢マウスを用いて同様の解析を行い、ストレス誘発性の血栓傾向およびPAI-1発現変化に及ぼす加齢の影響についても検討した。

PAI-1は血栓形成部位においてプラスミノゲン・アクチベーター(t-PA, u-PA)を即時的に阻害し、プラスミンの生成を抑制してフィブリン血栓を安定化させる線溶阻害因子である。同時にPAI-1はプラスミン生成を阻害する結果、細胞外マトリックスの溶解を抑制して血管壁への沈着を促し、心血管病変の進展に寄与している。血管壁に沈着したフィブリンおよびマトリックス成分は血管腔を

狭小化させ、それがまた新たな血栓形成を引き起こすという悪循環を招くと考えられる。また血栓形成部位では活性化血小板からもPAI-1が放出されるが、このPAI-1は可逆的にフィブリンに結合し、フィブリン周囲に濃縮された形で存在してt-PAの活性を中和していると考えられる。このようにPAI-1は血栓形成ひいては血栓症発症にとってきわめて重要な線溶制御因子であり、生体内でのPAI-1発現増加は心筋梗塞や四肢深部静脈血栓症の発症に深く関わっていると同時に、微小血栓を基盤とした種々の病理変化も促進すると考えられている。

対象と方法・結果

マウスを50 ml用チューブ内に一定時間(2時間~最長20時間)閉じ込めて(飲水のみ可)拘束し心因性ストレスを負荷した後、血漿と主要臓器を採取した。肝臓、腎臓、副腎、心臓、肺、脳、大動脈、脂肪組織の各臓器より組織RNAを抽出してcompetitive RT-PCR法によりPAI-1 mRNAを定量するとともに、血漿中の活性化型PAI-1抗原量をt-PA binding assay法にて測定した。8週齢の若年マウスでは、拘束ストレス負荷2時間後に早くも血中活性化型PAI-1抗原量および腎臓、副腎、脂肪組織などでのPAI-1 mRNA発現量が有意に増加し、20時間後には、血中PAI-1抗原量はストレス負荷前の約7倍と著明に上昇し、組織でのPAI-1 mRNA発現量も肝臓(4倍)、副腎(12倍)、脂肪組織(20倍)において顕著に増加した(図1)。この結果より、拘束ストレス負荷によってin vivoでの血栓傾向が増大することが示唆された。

次に、ストレス負荷後の血栓傾向が老齢個体ではどのように変化するのか、8週齢の若年マウスと12ヵ月ない

し24ヵ月齢の老齢マウスを用い、同様な方法でPAI-1の発現変化について比較検討を行った。非常に興味深いことに、20時間の拘束ストレス負荷によるPAI-1の発現増加は老齢マウス(斜線カラム)においてより著明であり、特に副腎と脂肪組織においては顕著であった(図2)。in situ hybridization法にてストレス負荷後のマウス組織におけるPAI-1 mRNAの局在について検討してみると、老齢マウスにおいてのみ肝細胞、腎尿管上皮細胞、傍大動脈交感神経節の細胞、脂肪細胞、副腎髄質内の腺細胞(クロム親和性細胞)などに一致してPAI-1 mRNAのシグナル増強を認めたが、いずれの臓器においても血管内皮細胞においては明らかなPAI-1 mRNA発現増強を認めなかった。なかでも脂肪細胞におけるPAI-1 mRNAシグナルがもっとも強く認められた。脂肪組織はPAI-1の主要な産生臓器のひとつであることが明らかにされているが、全身のかつ局所的な線溶能低下に関与し、血栓傾向を助長していると考えられる。

さらに20時間拘束ストレス負荷後の組織において微小血栓の存在を検索したところ、若年マウスではまったく血栓の沈着を認めなかったが、老齢マウスではほぼ全例に脂肪組織の微小血管内や腎糸球体の毛細血管内に微小血栓の沈着を認めた(図3)。それ以外の組織についても検索したところ、ストレス後に肝類洞や副腎の微小血管内に血栓を認める老齢個体もあった。しかし、門脈などの大静脈には血栓は認められなかった。

考 察

このように、ストレスによるPAI-1の遺伝子発現と組織内微小血栓形成は加齢依存的に増大することが明らかになったが、これにはホメオスタシスの維持にかかわるグルココルチコイドなど種々のホルモンや自律神経系の反応性が関与していると推測される。また今回の解析では、PAI-1発現の重要なメディエーターとされるTNF- α も拘束ストレス後に血中レベルが有意に上昇することが観察された。そこで、ストレス負荷前に抗TNF- α 抗体を投与してそのPAI-1発現に及ぼす効果を調べてみると、ストレス後のPAI-1 mRNA発現増加が腎臓や脂肪組織において約50%抑制されたことから、ストレスによるPAI-1の組織特異的な発現増強にサイトカインであるTNF- α も大き

く寄与していると考えられた。

以上、ストレスにより誘発される血栓症/血栓傾向には、組織におけるPAI-1の発現増強が強く関与していると考えられ、その反応は加齢依存的に増大することが示された。高齢者はストレスに弱いと言われるが、こと血液凝固線溶系に関しては、ストレス反応としての血栓傾向がより増大する方向へシフトしていると考えられる。しかし、このマウスモデルにおいては門脈に血栓をつくることは出来なかった。血管壁の傷害などの他の要因が複合的に重なることが必要かもしれない。

文 献

Yamamoto K, Takeshita K, Shimokawa T, Yi H, Isobe K, Loskutoff DJ, Saito H: Plasminogen activator inhibitor-1 is a major stress-regulated gene: Implications for stress-induced thrombosis in aged individuals. Proc Natl Acad Sci (USA) 99(2): 890-895, 2002.

拘束ストレス負荷後の血中活性型PAI-1抗原量の変化

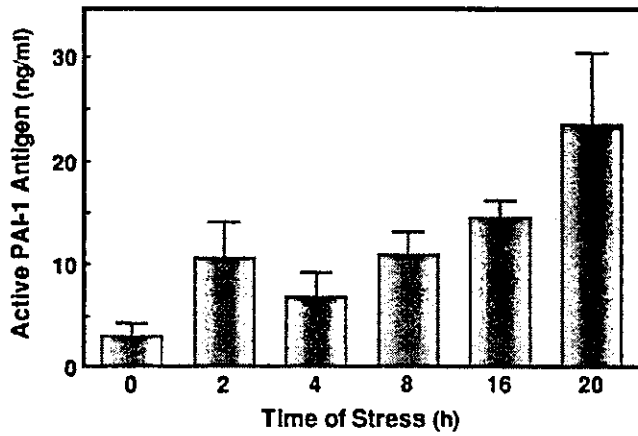


図 1

拘束ストレスによるPAI-1の発現増加 (若年および老齢マウスでの比較)

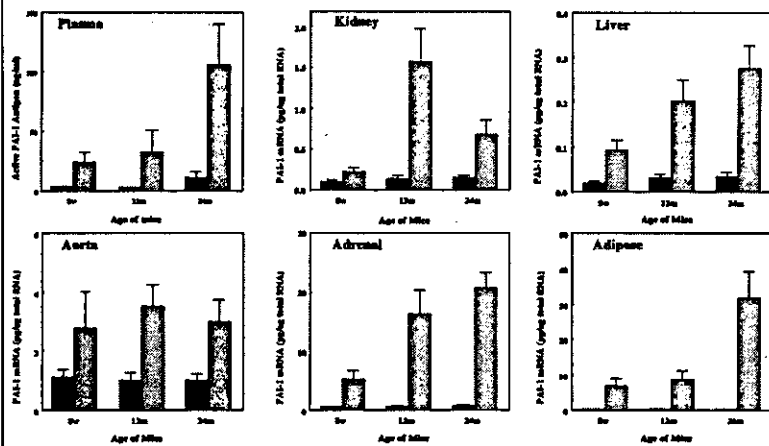


図 2

20時間拘束ストレス負荷後の微小血栓形成

若年 老齢 定量結果

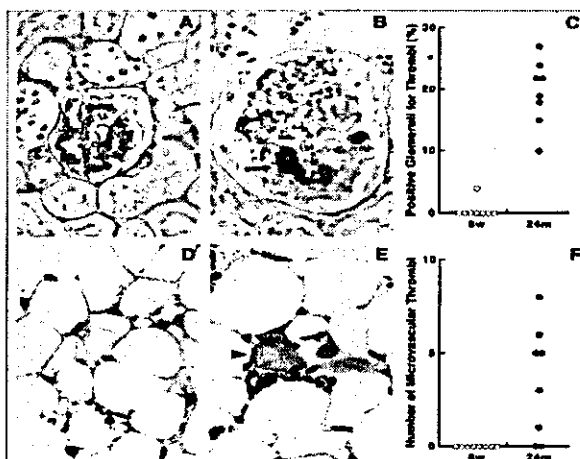


図 3

肝線維化進展に対する遺伝子プロファイルによる解析

大阪市立大学大学院医学研究科核医学
塩見 進

共同研究者
大阪市立大学大学院医学研究科肝胆臓病態内科学
田守昭博、羽生大記、武田 正、西口修平

味の素医薬研究所
高原義之

はじめに

本研究班では病因の解明を目的として、検体保存センターにおいて特発性門脈圧亢進症 (IPH)、肝外門脈閉塞症 (HO)、パッドキアリ症候群 (BCS) の検体を保存している。

我々は検体保存センターのIPH症例の血清を用い、ELISA法にて測定したconnective tissue growth factor (CTGF) 値は健常者やC型慢性肝炎患者に比べ異常高値を示す症例が存在することを明らかにした。¹⁾さらに、IPHの肝組織におけるmRNAの発現の検討では、IPHの特異的病変である門脈線維化の周辺にシグナルが認められた。²⁾そのためCTGFを用いた動物モデル作成を計画している。すなわちhuman CTGFのmRNAからcDNAを作製し、アデノウイルスへの遺伝子導入を行った。現在、組換えアデノウイルスの作製および精製ウイルスの調整まで終了し、アデノウイルスを増殖中である。³⁾今後、このウイルスを肝臓に感染させることにより、CTGFを発現させ、動物モデルを作成する予定である。

また、IPHに特異的に発現するタンパクを解析するため、プロテインチップシステムを用いタンパク質の解析を検討した。タンパク重量の解析にはsurface-enhanced laser desorption ionization (SELDI)-time of flying (TOF) 型のチップリーダーを使用した。その結果、IPHに特異的に発現していたのは7770Daおよび9290Daのタンパク質であった。TagIdentによる検索を行い、7770Daに相当するタンパクとしてCXCL4、9290Daに関してはCXCL7がほ

ぼ等しい分子量を持っていることが判明した。⁴⁾今後、それぞれの抗体を用いELISA法によりIPH患者血清中の発現の程度を検討する予定である。

今回、我々は肝線維化の原因遺伝子を解明するため、遺伝子発現プロファイルによる解析を行った。

対象と方法

肝線維化モデルを作成するため、6週齢SDラットに毎週DMNを3日連投 (ip 1mg/ml/kg)、4日休薬を4クール行った。1週間ごとに採取した肝よりRNAを抽出し、affimetrixの装置とチップ (ラット遺伝子RG-U34A) を用い、gene chip測定 (8,000遺伝子) を行った。同時に肝切片の染色、ハイドロキシプロリン量、血漿中ヒアルロン酸、GOT (AST)、GPT (ALT) を測定した。これら遺伝子のうち特に有意の発現変動を示す60遺伝子のRT-PCRプライマー (TaqManプローブ) を作成した。それらをインフォームドコンセントを得たC型慢性肝炎・肝硬変患者37名の肝組織にて測定した。

結果

DMN投与によりGOT・GPTは上昇し、4日後には低下した。GOT・GPTの上昇ピークは週ごとに減少した。これに比例して肝組織中ハイドロキシプロリン量、血漿中ヒアルロン酸量は徐々に増加した。また組織像は線維化の進行を認めた (図1)。

4日目、7日目、14日目、21日目、28日目の遺伝子発現の