

表10 昏睡出現から肝移植までの日数

| 発症年  | 症例 | 平均±SD     | 0～2 | 3～4 | 5～7 | 8～14 | 15～ | 4日以内の比率 (%)   |
|------|----|-----------|-----|-----|-----|------|-----|---------------|
| 2004 | 14 | 11.5±18.4 | 4   | 4   | 1   | 2    | 3   | 8/14 (57.1)   |
| 2003 | 21 | 5.9±7.0   | 4   | 9   | 4   | 3    | 1   | 13/21 (61.9)* |
| 2002 | 36 | 10.1±14.9 | 2   | 15  | 7   | 7    | 5   | 17/36 (47.2)  |
| 2001 | 25 | 8.0±14.7  | 7   | 12  | 1   | 3    | 2   | 19/25 (76.0)* |
| 2000 | 28 | 14.8±23.4 | 4   | 6   | 6   | 6    | 6   | 10/28 (35.7)  |
| 1999 | 28 | 13.3±16.6 | 3   | 5   | 5   | 7    | 8   | 8/28 (28.6)   |
| 1998 | 6  | 9.7±9.4   | 1   | 1   | 1   | 2    | 1   | 2/6 (33.3)    |

\*p<0.05 vs 1998年

表11 適応判定基準による予測と予後との関連：2004年の肝移植非施行例における検討

(昏睡出現時)

|    | 急性型 (n=32) |    |   |   | 亜急性型 (n=23) |    |   |   | LOHF (n=2) |    |   |   |
|----|------------|----|---|---|-------------|----|---|---|------------|----|---|---|
|    | 生存         | 死亡 | A | B | 生存          | 死亡 | A | B | 生存         | 死亡 | A | B |
| 救命 | 7          | 8  | — | 3 | 2           | 4  | — | 0 | 0          | 1  | — | 0 |
| 死亡 | 3          | 8  | — | 3 | 0           | 16 | — | 1 | 0          | 1  | — | 0 |

(5日後)

|    | 急性型 (n=32) |    |   |   | 亜急性型 (n=23) |    |   |   | LOHF (n=2) |    |   |   |
|----|------------|----|---|---|-------------|----|---|---|------------|----|---|---|
|    | 生存         | 死亡 | A | B | 生存          | 死亡 | A | B | 生存         | 死亡 | A | B |
| 救命 | 12         | 6  | — | 0 | 3           | 3  | — | 0 | 0          | 1  | — | 0 |
| 死亡 | 2          | 10 | 2 | 0 | 1           | 15 | 1 | 0 | 0          | 1  | — | 0 |

A：昏睡Ⅱ度以上出現5日以内の死亡，B：データ不足のため評価不能

|                                     | 急性型        | 亜急性型       | LOHF    |
|-------------------------------------|------------|------------|---------|
| 5日後再評価不能例 (%)                       | 2/32 (6.3) | 1/23 (4.3) | 0/2 (0) |
| 昏睡出現時の正診率 (%)                       | 57.7       | 81.8       | 50.0    |
| 再評価できた症例での正診率 (%)                   | 73.3       | 81.8       | 50.0    |
| 死亡予測のまま短期死亡した症例は生診とする場合の全体での正診率 (%) | 75.0       | 82.6       | 50.0    |

# 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

### 肝炎重症化を規定する宿主要因

研究協力者 持田 智 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科学 教授

研究要旨：肝炎劇症化にはTh1/Th2系免疫応答の不均衡が関与すると推定される。我々はTh1免疫応答の開始に必須のcytokineであるosteopontinのpromoter領域を解析し、nt -155, -443, -616, -1,748の4ヶ所に単塩基変異（SNP）を見出した。これらのうちnt -443のSNPはC型慢性肝炎患者における血清ALT値と関連が認められ、肝炎重症化を規定する宿主要因である可能性が想定された。一方、nt -155, -616, -1,748の3 SNPsにはほぼ100%の連鎖不平衡が認められ、日本人では各SNPsのhomozygotesとして3種類のhaplotype（[nt -155, -443]：1型 [deletion, T], 2型 [deletion, C], 3型 [G, T]）が存在した。そこで、これらSNPsの機能を明らかにするために、各haplotypeを呈するDNAを用いて、nt0から-658の領域をPCRで増幅し、pGL3 basic vectorに組み込み、上皮系のHepG2細胞及び単球由来のTHP1細胞に導入した後に転写活性を測定した。HepG2細胞を用いた検討では、転写活性はhaplotype 1型に比して2型が高度であり、3型は1型に比して著しく軽度であった。一方、THP1細胞ではhaplotype 1型は2型よりも活性が高度であったが、3型は同様に1型に比して著しく軽度であった。従って、nt-443のSNPは細胞の種類によってallele CとTの転写活性に差異が認められるのに対して、nt -155のSNPは何れの細胞でもdeletion mutationがallele Gに比して活性が亢進していることが明らかとなった。以上より、ヒトosteopontin遺伝子のpromoter SNPsは機能的であり、osteopontin発現調節を介して肝炎重症化に関わる宿主要因となる可能性があると考えられた。

#### 共同協力者

菅原 通子 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科 助手  
内木佳代子 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科 研助手  
稲生 実枝 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科 講師  
名越 澄子 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科 助教授  
藤原 研司 横浜労災病院 院長

#### A. 研究目的

肝炎はウイルス感染肝細胞に対するTh1系免疫応答によって発症する。このため広汎肝壊死を特徴とする劇症肝炎は、Th1/Th2系免疫応答の不均衡が原因で成立すると考えられている。Th1系の反応が過剰の場合はCTLによる肝細胞障害が持続する。また、肝macrophageと、微小循環障害を介して肝壊死は広汎に進展すると推定される。従って、Th1系免疫応答を規定する遺伝的要因を明らかにすることは、肝炎劇症化に関わる宿主要因の解明に繋がると考えられる。

OsteopontinはRGD配列を有する細胞外matrixであるが、Th1系免疫応答の開始に必須のcytokineとしても作用する。障害肝では活性化macrophageとともに、肝細胞におけるosteopontin発現が高度になり、免疫応答を調節している可能性がある<sup>1,2</sup>。我々は、human serum amyloid P component promoterを利用することで、肝細胞にosteopontinを過剰発現するtransgenicマウスを作成した<sup>3</sup>。本マウスでは12週以降にリンパ球の肝浸潤、小葉内壊死巣が観察される<sup>3</sup>。また、concanavalin-Aを投与すると対照マウスに比して高度の肝障害が惹起されることから<sup>4</sup>、肝炎の重症度は肝におけるosteopontin発現を介して調節されている可能性がある。一方、ヒトosteopontin遺

伝子のpromoter領域の解析では、nt-155, -443, -616, -1,748の4ヶ所に単塩基変異（SNPs）を発見した<sup>5</sup>。これらのうちnt-443のSNPはC型慢性肝炎における肝炎活動性を規定している可能性があり、無治療で血清ALT値が2年以上にわたって正常範囲内の患者は、そのalleleが88%はC/TないしC/Cであり、異常値を示す患者に比して有意に高率であった<sup>5</sup>。従って、同SNPはosteopontin発現を介して肝局所の免疫応答を調節しており、ウイルス感染に際しては、肝炎の重症度を規定している可能性がある。

そこで、今回は肝炎劇症化におけるosteopontin遺伝子promoter SNPsの意義を明らかにする目的で、各SNPsのalleleによる転写活性の差異をin vitroで評価した。

#### B. 研究方法

1) 日本人におけるosteopontin遺伝子promoter領域のhaplotype

筆者らによるC型慢性患者を対象とした検討から、osteopontin遺伝子promoter領域のSNPsのうち、nt -155, -443, -1,748の3SNPsはほぼ100%の連鎖不平衡を示すことが判明している<sup>5</sup>。転写活性を評価するためには、各SNPsのalleleが何れもhomozygotesのDNA検体が必要になる。そこで、遺伝子解析の同意を得ているウイルス性慢性肝疾患、自己免疫性肝疾患の患者500例以上を対象に、Invader assayによってnt-155（ないし-616, -1,748）と-443のalleleを同定したが、日本人では3種類のhaplotype（[nt-155, -443]：1型 [deletion, T], 2型 [deletion, C], 3型 [G,

T])が見られるものの、[G, C]を呈する症例は存在しないことが明らかになった。

2) Osteopontin遺伝子promoter SNPsの転写活性  
各haplotypeを呈するcDNAを用いて、nt 0 から-658までの領域をPCRで増幅した。このfragmentをpCR2.1にサブクローニングし、plasmid DNAの塩基配列を解析して、PCR産物が挿入されていることを確認した。次いで、plasmidの挿入配列部位を切り出し、pGL3 Vector のホタルルシフェラーゼ遺伝子上流のマルチクローニングサイトにサブクローニングした。作成した Vector とウミイシタケルシフェラーゼ遺伝子を含むpTK VectorをHepG 2 細胞ないしTHP 1 細胞にco-transfectionし、dual-luciferase receptor assayによって、転写活性を測定した。

HepG 2 細胞を用いた検討では、転写活性はhaplotype 2型が1型に比して約1.5倍と高度であり、nt-443のalleleはCよりTにおける活性が亢進していた。しかし、同細胞ではhaplotype 3型の活性は1型の1/10以下と軽度であり、nt-155はdeletion mutationに比してallele Gの場合は活性が低下することが判明した。一方、THP 1 細胞ではhaplotype 1型は2型よりも活性が高度であったが、3型はHepG 2 細胞の場合と同様に1型に比して著しく軽度であった。従って、nt-443のSNPは細胞の種類によってallele CとTの転写活性に差異が認められるのに対して、nt-155のSNPは何れの細胞でもdeletion mutationがallele Gに比して活性が亢進していることが明らかとなった。

#### D. 考案

Osteopontin遺伝子promoter領域のSNPsは、C型慢性肝炎の活動性に関連したnt-443のみならず、連鎖不平衡にあるnt-155、-616、-1,748の3 SNPsもalleleによって転写活性に差異が認められた。また、nt-443のSNPに関しては上皮系と単球形細胞ではalleleによる活性に差異が認められた。筆者らの検討では、肝におけるosteopontinの主たる発現細胞は、C型慢性肝炎では肝細胞、劇症肝炎では肝macrophageであることが判明している<sup>6</sup>。従って、生体内では肝炎劇症化に関わる宿主要因は、肝におけるosteopontinの産生細胞とpromoter SNPsとの関連で、更に検討する必要があると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Naito M, Matsui A, Inao M, et al : SNPs in the promoter region of the osteopontin gene as a marker predicting the efficacy of interferon-based therapies in

patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol 40(4) : 381-388, 2005.

##### 2. 学会発表

1) Sugawara K, Inao M, Matsui A, et al : Hepatitis Activity may be Regulated in Patients with Chronic Hepatitis C through Osteopontin Expression in Hepatocytes Determined by SNPs in the Promoter Region of the Gene. The 56th Annual Meeting of AASLD, San Francisco. 2005.11.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 出願番号 : P2003332067  
2003年9月24日
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

#### (参考論文)

- 1) Kawashima R, Mochida S, Matsui A, et al. Expression of osteopontin in Kupffer cells and hepatic macrophages and Stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication : A possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas. Biochem Biophys Res Commun 1999; 256: 527-531.
- 2) Wang Y, Mochida S, Kawashima R, et al. Increased expression of osteopontin in activated Kupffer cells and hepatic macrophages during macrophage migration in Propionibacterium acnes-treated rat liver. J Gastroenterol 2000; 35: 696-701.
- 3) Mochida S, Yamamoto T, Mimura S, Inao M, Matsui A, Ohno A, et al. Transgenic Mice Expressing Osteopontin in Hepatocytes as a Model of Autoimmune Hepatitis. Biochem Biophys Res Commun 2004; 317: 114-120.
- 4) Mimura S, Mochida S, Inao M, et al. Massive liver necrosis after provocation of imbalance between Th1 and Th2 immune reactions in osteopontin transgenic mice. J Gastroenterol 2004; 39: 867-872.
- 5) Mochida S, Hashimoto M, Matsui A, et al. Genetic polymorphisms in promoter region of osteopontin gene may be a marker reflecting hepatitis activity in chronic hepatitis C patients. Biochem Biophys Res Commun 313: 1079-1085, 2004.
- 6) Matsui A, Mochida S, Ohno A, et al. Plasma Osteopontin Levels in Patients with Fulminant Hepatitis. Hepatol Res 2004; 29: 202-206.

# 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多施設プロスペクティブスタディー

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] 急性肝炎劇症化の予知式をプロスペクティブに評価するとともに劇症化に関わる要因を検討する。 [方法] 2002年に定めた研究班の劇症化予知式および搬送基準（予測劇症化率20%）、特殊治療開始基準（予測劇症化率50%）に基づいて、岩手、青森、秋田、宮城4県の35研究協力施設において、PTが80%を下回った時点での急性肝障害例の臨床データを登録しプロスペクティブに評価した。 [結果] 1. 2004年8月から2006年1月までの18ヶ月間に適確症例69例が登録され、24例が搬送基準を満たし、19例が搬送された。2. 搬送基準を満たした24例中21例（88%）が重症化（PT40%以下）し、4例（17%）が昏睡を発現したが、搬送基準を満たさない症例で昏睡が発現した例はなかった。3. 特殊治療開始基準に合致した9例中4例（44%）が昏睡発現した。4. 登録例のうち、わが国の劇症肝炎の対象成因に含まれるのは36例（52%）に過ぎなかった。 [結論] 研究班の劇症化予知式に基づいた搬送基準、特殊治療開始基準の有効性が確認され、この基準に基づいて治療、劇症化要因のプロスペクティブスタディーが可能と考えられた。

#### 共同研究者

滝川 康裕 岩手医科大学 第一内科 助教授  
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

#### 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<sup>1-3</sup>。その結果、PT80%以下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<sup>3</sup>。

この基準の有効性を評価するとともに、治療法の評価や新たな劇症化の要因（薬剤使用や肥満など）を検討する目的で多施設共同研究を行った。

#### B. 研究方法

岩手医科大学第一内科（岩手医大）を急性肝不全治療の専門施設として、岩手、青森、秋田、宮城4県の35施設と共同で患者登録、搬送システムを構築し、プロスペクティブスタディーを行った。

各協力施設において、PT80%以下を初めて確認した時点の急性肝障害患者の臨床データを、所定のFAX用紙を用いて岩手医大に登録し、逐次重症度および搬送基準、特殊治療開始基準の可否を判定し、搬送および治療法のアドバイスをを行った。また、非搬送例に関しては、後日、転帰調査用紙を用いて転帰調査を行った。

尚、本研究の倫理性に関しては、岩手医科大学医学

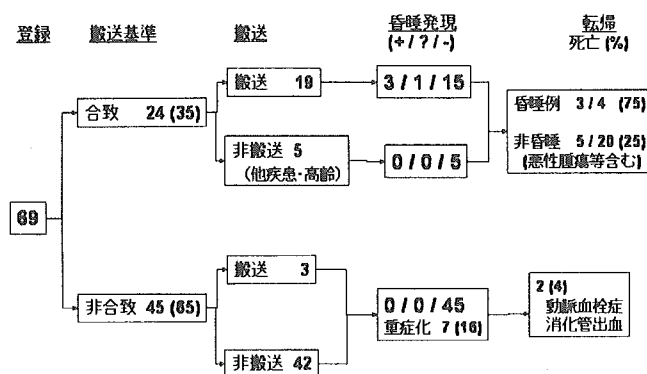
倫理委員会の審査および承認を得て行った。

#### C. 研究結果

##### 1) 登録症例の転帰

2004年8月から2006年1月までの18ヶ月間間に適格症例69例が登録された。そのうち24例が搬送基準に合致し、19例が実際に搬送された。そのうち4例に昏睡が発現し（1例は人工呼吸管理）3例が死亡した。搬送基準に合致しなかった45例に昏睡が発現した例はなかった（図1）。

図1 急性肝炎登録システム登録症例の転帰



搬送基準合致例の成因、人工肝補助療法施行の有無、転帰を表1に示す。搬送されなかった5症例の成因は循環障害、甲状腺クリーゼなどであるため、それぞれの専門診療科での加療を行った例、あるいは高齢で家族が搬送を望まなかった例である。昏睡発現例の中で、従来の劇症肝炎の診断基準に合致するのは成因不明の劇症肝炎亜急性型で救命された1例のみであった。

表1 搬送基準合致24例の成因および転帰

|                 | n             | ALS | 死亡    |  |
|-----------------|---------------|-----|-------|--|
| 劇症肝炎急性型         | 1             | 1   | 0     | 成因不明 (救命)  |
| 甲状腺クリーゼ         | 1             | 1   | 1     | 肝不全死   |
| HBV Acute on LC | 1             | 1   | 1     | YVDD   |
| アマニチン中毒         | 1             | 1   | 1     | ドクソルダケ中毒   |
| 亜急性肝炎           | 1             | 1   | 1     | 自己免疫性(肺アスペルギルス症で死亡)  |
| 悪性腫瘍・DIC・MOF    | 5             | 0   | 2     | AOBC, 肺塞栓, うっ血肝, 敗血症, 肝転移  |
| アルコール性肝炎        | 4             | 1   | 0     | 最低PT値: 10, 17, 20, 30%   |
| 急性肝炎重症型         | 2             | 0   | 0     | アセトアミノフェン (PT16%), HBV再燃   |
| 非重症化            | 3             | 0   | 0     | 急性 HBV (76才), HBV再燃, HAV (HBV LC)  |
| 非搬送             | 5             | 0   | 2     | 術後肝不全 (外科), 甲状腺クリーゼ (血血有り血液内科管理), 精神疾患 (精神科検必要), アルコール (83才, PT 7%), ショック肝 (循環器) |
| (昏睡発現例)         | ALS: 人工肝補助施行例 |     | (死亡例) |  |

2. 登録症例の成因と予後

登録された69例の成因と予後との関連を表2に示す。わが国の劇症肝炎の対象成因に含まれるウイルス性(非A非B, 成因不明も含む), 薬剤アレルギー性, 自己免疫性に相当するのは36例(52%)に過ぎなかった。

対象外の成因としてはアルコール性, 循環障害などが多く重症化の比率も高かったが, 昏睡発現例はなかった。

一方, 甲状腺クリーゼ, 循環障害などでは, 昏睡発現に至らなくても死亡する例がみられた。

表2 急性肝障害の成因と予後との関連

| 成因            | n  | 重症化 | 昏睡 | 致死例 |
|---------------|----|-----|----|-----|
| HAV           | 1  | 0   | 0  | 0   |
| 急性 HBV        | 3  | 1   | 0  | 0   |
| HBV carrier再燃 | 9  | 2   | 1  | 1   |
| HEV           | 1  | 0   | 0  | 0   |
| EBV           | 2  | 0   | 0  | 1   |
| 薬剤            | 2  | 0   | 0  | 0   |
| 中毒            | 3  | 3   | 1  | 1   |
| 自己免疫          | 2  | 1   | 0  | 1   |
| アルコール         | 19 | 9   | 0  | 0   |
| DIC・MOF・循環障害  | 7  | 5   | 0  | 3   |
| 悪性腫瘍          | 1  | 1   | 0  | 1   |
| 甲状腺クリーゼ       | 2  | 2   | 1  | 2   |
| 術後肝不全         | 1  | 1   | 0  | 1   |
| 不明            | 16 | 2   | 1  | 0   |
| 計             | 69 | 28  | 4  | 11  |

3. 劇症化予知式, 搬送基準, 特殊治療開始基準の有効性

表3に搬送基準合致例と非合致例における予後の比較を示す。搬送基準合致例では高率に重症化し, 17%が昏睡発現したのに対し, 非合致例では重症化例は少なく, 昏睡発現例はなく, 人工肝補助を要した例は1例のみであった。

表3 搬送基準と予後との関連

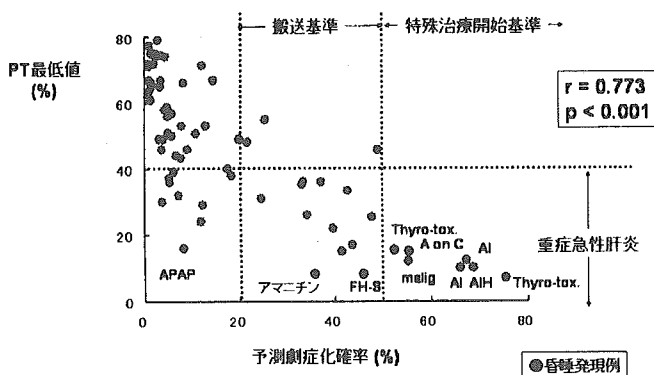
| 搬送基準     | 重症化 (%) | 昏睡発現 (%) | 人工肝補助 (%) | 致命率 (%)  |
|----------|---------|----------|-----------|----------|
| 合致 (24)  | 21 (88) | 4 (17)   | 6 (25)    | 9* (38)  |
| 非合致 (45) | 7 (16)  | 0        | 1** (2.2) | 2* (4.4) |

\*: 他疾患(悪性腫瘍, 甲状腺クリーゼ等含む)  
 \*\*: アルコール(最低PT56%)

次に, 初回の予測劇症化率と経過中の最低PT値との関連を検討した。図2に示すように, 予測劇症化率と最低PT値は有意の高い相関 ( $r=0.773, p<0.001$ )を示した。初回特殊治療開始基準(予測劇症化率50%)に達しなかった例で昏睡発現した2例(アマニチン中毒, 成因不明劇症肝炎急性型: FH-S)はいずれも初回判定の翌日, 昏睡発現前に特殊治療開始基準に達した。最終的に, 経過中に特殊治療開始基準に達した9例中4例(44%)が昏睡を発現した。

アマニチン中毒例ではキノコ摂取当日と翌日までPTは80%を越え, 劇症化予知の対象となるPT80%以下に低下したのは3日目で, その時点でPT35%となり搬送基準に合致した。アセトアミノフェン中毒(APAP)例は服用3日目でPT17%に低下し搬送基準に合致した。

図2 初回予測劇症化確率と経過中PT最低値



D. 考察

急性肝障害の劇症化には肝障害の重症度とともに治療の要因も関与すると考えられるため, 予知の有効性や治療法の効果を検討するためには治療基準を統一した上でのプロスペクティブスタディーが必要である。その目的から, 我々は, 岩手医大を中心とする近隣4県の35施設で, 急性肝障害の重症度判定, 患者搬送システムを構築し共同研究を開始した。

重症度判定に用いた予知式は, 難治性疾患克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班(班会議)の研究の一環として, 研究協力者の所属する施設における過去の症例に関するレトロスペクティ

ブスタディーから得られたもので、必ずしも治療法が統一されているとは言えないが、今回のプロスペクティブブスタディーにおいて、ほぼ予測劇症化率に合致した昏睡発現率を示した。また、経過中PT最低値と高い相関を示したことより、急性肝障害の初期の重症度判定法としてほぼ満足すべき予知式と考えられた。従って、今回構築した患者搬送システムを利用し、厳密な治療法統一により、肥満<sup>4</sup>や薬剤<sup>5-6</sup>などの劇症化要因の評価や劇症化阻害治療法の評価が可能と考えられた。

但し、例外的に中毒例では搬送基準合致の判定が遅れる傾向を示しており、服用の事実が明かな場合は、当然ながら、その時点での重症度判定よりも服用毒物の同定とそれに応じた適切な対処を優先すべきであり、一般的な急性肝不全とは異なった対応が必要と考えられた。アセトアミノフェン中毒が急増している米国の現状<sup>7</sup>をみても、研究班としての対処が必要となる可能性が考えられる。

これに関連して成因に注目すると、PT80%を下回った急性肝障害という基準では種々の成因が含まれ、わが国の劇症肝炎の対象成因（ウイルス、薬物、急性発症の自己免疫）はほぼ半分に過ぎないことが判明した。また、重症化し、さらに昏睡発現、死亡に至る肝障害は、劇症肝炎に限らないことも再確認された。したがって、人工肝補助をはじめとする特殊治療の対象疾患として劇症（急性）肝不全症候群としての疾患概念が必要と考えられた。

## E. 結 論

- 1) PT80%以下の急性肝障害例を対象とした予後予測および患者搬送システムを構築し多施設プロスペクティブブスタディーを行った。
- 2) 登録患者69例中、わが国の劇症肝炎の対象となる成因は36例（52%）に留まり、対象外ではアルコール性や循環障害などが多かった。
- 3) 劇症化予知式は、ほぼ満足すべき予測効率を示したが、中毒性肝障害では重症化予知が遅れる傾向を示した。
- 4) 薬剤や肥満など重症化のリスクの評価、抗凝固療法や抗炎症療法など治療法のプロスペクティブブスタディーが必要と考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Takikawa Y, Endo R, Suzuki K et al : Prediction of hepatic encephalopathy development in patients with severe acute hepatitis. *Dig Dis Sci* : In press.
- 2) Fujisawa K, Maesawa C, Sato R, et al : Epigenetic status and aberrant expression of the maspin gene in human hepato-biliary tract carcinomas. *Lab Invest* 85(2) : 214-

224, 2005.

- 3) Suzuki K : Branched-chain amino acid supplementation during the endoscopic injection sclerotherapy for esophageal varices may be useful for maintenance of nutritional status in patients with liver cirrhosis. *Hepato Res* : 2005.
- 4) Kataoka K, Takikawa Y, Lin SD, et al : Prostaglandin E2 receptor EP4 agonist induces Bcl-xL and independently activates proliferation signals in mouse primary hepatocytes. *J Gastroenterol* 40(6) : 610-616, 2005.
- 5) Sainokami S, Abe K, Ishikawa K, et al : Influence of load of hepatitis A virus on disease severity and its relationship with clinical manifestations in patients with hepatitis A. *J Gastroenterol Hepatol* 20(8) : 165-175, 2005.
- 6) Ishii M, Yoshioka Y, Ishida W, et al : Liver fat content measured by magnetic resonance spectroscopy at 3.0 tesla independently correlates with plasminogen activator inhibitor-1 and body mass index in type 2 diabetic subjects. *Tohoku J Exp Med* 206(1) : 23-30, 2005.
- 7) Koeda N, Iwai M, Kato A, et al : Validity of 13C-phenylalanine breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in patients with liver cirrhosis and acute hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 21(7) : 851-859, 2005.
- 8) Sato S, Watanabe A, Muto Y, et al : Clinical comparison of branched-chain amino acid (l-Leucine, l-Isoleucine, l-Valine) granules and oral nutrition for hepatic insufficiency in patients with decompensated liver cirrhosis (LIV-EN study). *Hepato Res* 31 : 232-240, 2005.
- 9) Takikawa Y, Watanabe Y, Suzuki K. et al : Successful perioperative management with activated protein C preparation for a surgical patient with gastric cancer who had multifocal deep vein thrombosis due to congenital protein C deficiency. *J Iwate Med Assoc* 57 : 63-70, 2005.
- 10) Oikawa H, Maesawa C, Sato R, et al : Liver cirrhosis induced by long-term administration of a daily low dose of amiodarone: a case report. *World J Gastroenterol* 11(34) : 5394-5397, 2005.
- 11) Kasai Y, Suzuki K, Abe K, et al : Genotypes of hepatitis B virus (HBV) and those clinical characteristics in HBV carrier

residents in Iwate, Japan: Results from health-screening program. J Iwate Med Assoc 57 : 419-426, 2005.

- 12) 宮坂昭生, 熊谷一郎, 阿部弘一, 他: B型非代償性肝硬変に対するラミブジンの治療効果と限界. 消化器科 41(4) : 358-363, 2005.
- 13) 熊谷一郎, 葛西幸穂, 宮坂昭生, 他: ウイルス性肝障害 E型肝炎の重症例. 肝胆膵 51(1) : 61-67, 2005.
- 14) 滝川康裕, 佐藤彰宏, 鈴木一幸: 劇症肝不全の全国統計. 肝胆膵 51(1) : 7-15, 2005.
- 15) 鈴木一幸: 特発性細菌性腹膜炎. 内科 95 : 1200, 2005.
- 16) 鈴木一幸: 肝・胆・膵 肝硬変の診断基準・病型分類・重症度. 内科 95 : 1156-1158, 2005.
- 17) 加藤章信, 岩井正勝, 渡辺雄輝, 他: 肝性脳症肝の重症度と治療成績. 肝胆膵 50(5) : 731-737, 2005.
- 18) 佐藤慎一郎, 稲葉宏次, 小穴修平, 他: ミトコンドリア脳筋症を合併した原発性胆汁性肝硬変の1例. 日本消化器病学会雑誌 102(5) : 595-599, 2005.
- 19) 鈴木一幸: E型肝炎の臨床. 日本農村医学会雑誌 53(6) : 919-923, 2005.
- 20) 遠藤龍人, 八角有紀, 鈴木一幸: 原因不明の急性肝炎および劇症肝炎の実態と病態. 消化器科 40(2) : 174-179, 2005.
- 21) 加藤章信, 岩井正勝, 鈴木一幸: 意識障害. 肝胆膵 50(2) : 263-269, 2005.
- 22) 滝川康裕, 鈴木一幸: 選択. 適応基準とIC取得, 実践時期の設定 劇症肝炎(内科から). 肝胆膵 50(1) : 23-29, 2005.

## 2. 学会発表

- 1) Yasumi Y, Takikawa Y, Suzuki K, et al: Serum interleukin-17 level is a new and reliable marker for prognosis of severe acute hepatic injury. The 56th Annual Meeting of AASLD, San Francisco, 2005.11.
- 2) Takikawa Y, Yasumi Y, Suzuki K, et al: Usefulness of MELD score for prediction of hepatic encephalopathy development in patients with severe acute hepatitis. International Liver Transplantation Society, Los Angels. 2005.7.22.
- 3) 滝川康裕, 片岡晃二郎, 鈴木一幸, 他: 広範肝細胞死成立に対する肝細胞アポトーシスの関与とプロスタグランディン受容体アゴニストの有効性に関する検討. 第30回日本急性肝不全研究会, シンポジウム. 大阪. 2005.6.15.
- 4) 宮坂昭生, 阿部弘一, 鈴木一幸: B型慢性肝疾患の病態別にみたLamivudine療法の治療効果と限界. 第91回日本消化器病学会総会, シンポジウム. 東京. 2005.4.15.

5) 肥田憲彦, 加藤章信, 鈴木一幸: 肝疾患における肝実質機能評価法としての<sup>13</sup>C-phenylalanine 呼気テストの有用性. 第91回日本消化器病学会総会, パネルディスカッション. 東京. 2005.4.16.

6) 佐藤慎一郎, 阿部弘一, 鈴木一幸: C型慢性肝疾患の病態とその進展に対する肥満の影響に関する検討. 第91回日本消化器病学会総会, ワークショップ. 東京. 2005.4.16.

7) 佐藤彰宏, 滝川康裕, 鈴木一幸: 劇症化予知と早期治療開始による救命率向上の可能性. 第47回日本消化器病学会大会, パネルディスカッション. 神戸. 2005.10.5.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## (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) Y Takikawa, R Endo, K Suzuki, et al Prediction of hepatic encephalopathy development in patients with severe acute hepatitis. Dig Dis Sci in print
- 3) 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.
- 4) Canbay A, Chen SY, Gieseler RK, et al. Overweight patients are more susceptible for acute liver failure. Hepato-Gastroenterol 2005 ; 52 : 1516-1520.
- 5) Garfein R, Bower WA, Loney CM, et al. Factors associated with fulminant liver failure during an outbreak among injection drug users with acute hepatitis B. Hepatology 2004 ; 40 : 865-873.
- 6) Bernuau J. Acute liver failure: avoidance of deleterious cofactors and early specific medical therapy for the liver are better than late intensive care for the brain Hepatol 2004;41 : 152-155.
- 7) Larson AM, Polson J, Fontana RJ, et al. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. Hepatology 2005 ; 42 : 1364-1372.

# 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換えヒト肝細胞増殖因子（rh-HGF）の第Ⅰ/Ⅱ相治験

分担研究者 坪内 博仁 鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨：肝細胞増殖因子（HGF）は肝再生を強力に促進する増殖因子で、抗アポトーシス作用も併せ持っている。本研究では、劇症肝炎に対する組換えヒトHGFの第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験を医師主導治験の枠組みで行うべく、非臨床安全性試験、治験計画届に向けた準備および治験実施にかかる組織構築を行った。組換えヒトHGFの非臨床試験では、反復投与毒性試験において、可逆性の腎毒性、血圧低下作用が認められた。また、臨床用量の組換えヒトHGFに肝発癌促進作用は認められなかったが、増殖因子であるHGFの発癌性に関しては十分なインフォームドコンセントが必要と考えられた。このような安全性に関する論理構築を行った後に、組換えヒトHGFの概要書、劇症肝炎および遅発性肝不全に対する第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験の治験実施計画書及び説明同意文書を作成した。さらに、モニタリング、データマネージメント等、GCPに準拠した医師主導治験の実施体制を構築、医薬品医療機器総合機構に治験計画届を行った後、9月1日より被験者募集を開始した。

#### 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  
遠藤 龍太 岩手医科大学 内科学第一講座 助手  
宇都 浩文 宮崎大学医学部 内科学第二講座 講師

#### 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。一方、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。本研究では、劇症肝炎および遅発性肝不全患者を対象とした組換えヒトHGFの第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験を医師主導治験の枠組みで実施すべ

く、その準備を行い、医薬品医療機器総合機構への治験計画届を経て9月1日から治験を開始した。

#### B. 研究方法

組換えヒトHGFは製薬会社から供給される人体に投与実績のない未承認臨床サンプルである。従って、その臨床試験は承認申請を目的とした「治験」として実施する必要がある。薬事法改正により、2003年7月より医師・医療機関が実施する治験が実施可能となったことから、組換えヒトHGFの臨床応用はこの「医師主導治験」として実施すべく、治験計画届に向けた準備をすすめた。

#### C. 研究結果

- 1) 治験計画届への準備：治験実施に関する正当性、倫理性を確保するために、対象を救命率が約20%の劇症肝炎および遅発性肝不全の肝移植適応例における肝移植非実施例とし、治験計画届に向けた資料を準備した。即ち、治験概要書に加え、「劇症肝炎および遅発性肝不全に対する組換えヒトHGFの第Ⅰ/Ⅱ相治験」の治験実施計画書、説明・同意文書等を作成し医薬品医療機器総合機構に治験計画届を行った。また、GCPに対応すべく、モニタリング、データマネージメント等の治験実施体制を整備した。
- 2) 安全性について：非臨床試験に関しては、「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、基本的にGLPデータによるげっ歯類、非げっ歯類の反復投与毒性試験で対応した。特殊毒性試験および局所刺激性試験は、多くはこのGLPデータで対応を試みた。遺伝毒性はタンパク製剤には不要であった。
- 3) 発癌性について：臨床用量の組換えヒトHGFが発癌を促進する成績は得られていないが、増殖因子であるHGFの発癌性を完全に否定することは困難である。従って、臨床応用の際にはHGFが発癌を



促進する可能性は否定できないというスタンスで、被験者には十分なインフォームドコンセントを行うこととした。

#### D. 考 察

組換えヒトHGFの非臨床試験を行い、その成績から安全性に関する論理構築を行った。組換えヒトHGFは人体に投与実績のない新規有効成分であるため、正当性および倫理性の観点から、まずは劇症肝炎および遅発性肝不全のうち、肝移植の適応がありながら肝移植が実施できない者（救命率約20%）を対象とした第I/II相治験を本邦初の開発型医師主導治験として開始した。この治験計画届を通して、未承認臨床サンプルを治験の枠組みで臨床試験を行う様々なノウハウを蓄積した。

組換えヒトHGFの臨床試験は、本邦初の開発型医師主導治験、また世界初の組換えヒトHGFの臨床試験である。このように臨床試験を治験の枠組みで実施することは、その安全性および科学性が確保され、さらにその成績が国際的な評価に耐えうるということが考えられ、学術的、社会的意義は大きいと考えられる。一方、未承認臨床サンプルの開発を目的とした医師主導治験は本邦初の事例であるため、その立ち上げには未知の部分も多かった。また、専門的な人材や製剤化、非臨床試験および治験計画届などにかかる資金およびノウハウが不足していること、また治療法開発を目的とする医師主導治験を支援する体制の整備が不十分であることが問題点として考えられた。

#### E. 結 論

劇症肝炎および遅発性肝不全に対する組換えヒトHGFの第I/II相治験を実施すべく、治験実施計画書、説明・同意文書および治験薬概要書等を作成した後に治験計画届を行った。このような新規医薬品の開発を医師主導治験の枠組みで行うことは、その安全性および科学性が確保され、さらにその成績が国際的な評価に耐えうるということが考えられ、また希少な難病に対する医薬品開発の新たな道筋となることが期待されることから、その学術的、社会的意義は大きい。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kusumoto K, Ido A, Moriuchi A, et al: Repeated intravenous injection of recombinant human hepatocyte growth factor ameliorates liver cirrhosis but causes albuminuria in rats. *Int J Mol Med* 17(3): 503-509, 2006.
- 2) Kim ID, Azuma T, Ido A, et al: Navigator-echo-based MR provides high resolution images and precise volumetry of

swine livers without breath holding or injection of contrast media. *Liver Transpl* 12(1): 72-77, 2006.

- 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* 20(11): 1753-1761, 2005.
- 4) 井戸章雄, 蓮池悟, 永田賢治, 他: 肝疾患の病態と対策 慢性肝不全 肝硬変症例のマネジメント. *総合臨床* 54(3): 599-605, 2005.
- 5) 井戸章雄, 森内昭博, 金一徳, 他: ウイルス性肝疾患とサイトカイン-HGFによる病態制御を中心に. *臨床消化器内科* 20(3): 295-302, 2005.
- 6) 井戸章雄, 森内昭博, 金一徳, 他: HGFによる劇症肝炎の治療—トランスレーショナルリサーチの現況—. *最新医学* 60(4): 830-836, 2005.
- 7) 井戸章雄, 宇都浩文, 坪内博仁: 肝細胞増殖因子HGFを用いた最新の臨床展開. *バイオサイエンスとインダストリー* 63(3): 167-170, 2005.

#### 2. 学会発表

- 1) 井戸章雄, 森内昭博, 金一徳, 他: 組み換え型ヒトHGFの臨床応用—医師主導型治験としての取り組み. 第41回日本肝臓学会総会, 大阪. 2005. 6.
- 2) 井戸章雄, 森内昭博, 坪内博仁: 劇症肝炎に対する組換えヒト肝細胞増殖因子による第I・II相臨床試験への取り組み. 第9回日本肝臓学会大会, パネルディスカッション. 神戸. 2005.10.5.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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）半定量キットの有用性

分担研究者 坪内 博仁 鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨：昨年度までに、イムノクロマト法を用いたHGF簡易測定キットを用いた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有用な検査法となる可能性があることを後ろ向き研究で明らかにした。本年度は、昨年度に引き続き班員の協力を得て、急性肝疾患におけるHGF簡易測定キットの有用性に関する前向き試験を行った。ELISA法によるHGF濃度との比較では、判定者が実際のHGF濃度より低めに判定する傾向が明らかとなった。しかし、HGF半定量が陽性と判断された症例は、劇症肝炎・LOHFに進展する頻度、および死亡する頻度が弱陽性および陰性の症例より高かった。また、最終的に死亡した例は生存した例に比較して、HGF半定量が陽性と判断される頻度が高かった。以上のことから、HGF簡易測定キットを用いたHGF半定量はベッドサイドでHGF濃度を迅速簡便に予測でき、劇症肝炎の予知や急性肝疾患患者の予後予測に有用な検査法となると考えられた。

#### 共同研究者

宇都 浩文 宮崎大学医学部 内科学第二講座 講師  
持田 智 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科 教授  
名越 澄子 埼玉医科大学 消化器・肝臓内科 助教授  
板垣はつえ 三菱化学 ヤトロン研究開発部  
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

#### A. 研究目的

血清中の肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor, HGF）濃度は劇症肝炎の早期診断や予後予測に極めて有用で、ELISA法による血清HGF測定は保険適応となっている。しかし、血清HGF濃度測定は外注検査で行われ、その測定結果を得るには数日を要し、HGF検査データは必ずしも臨床の場で貢献していない。これまで、我々は迅速簡便なHGF半定量測定キットの開発に取り組み、本測定キットが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可能性を後ろ向き試験で明らかにした。その後、他施設の協力を得て、全国的な前向き試験を開始し、症例数が蓄積されたので、その結果を報告する。

#### B. 研究方法

- 1) 全国の登録施設に入院した急性肝障害患者のうち、登録時に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。
- 2) 平成16年度に報告した手順を経て、HGF半定量測定キットの測定を各施設で行った。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、1ng/ml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。
- 3) HGF半定量測定結果とELISA法によるHGF濃度との関連を検討した。
- 4) HGF半定量測定結果と最終病型、転帰との関連を検討した。

#### C. 研究結果

- 1) 登録症例中HGF濃度が半定量測定キットで確認できた65例を解析した。最終病型は急性肝炎重症型27例、劇症肝炎急性型5例、劇症肝炎亜急性型3例、LOHF1例、その他27例、不明2例であった。
- 2) ELISA法によりHGF濃度が測定可能で、半定量測定キットで陽性、弱陽性、陰性と判断した症例はそれぞれ5例、9例、47例で、そのうちHGF濃度（ELISA法）が1ng/ml以上であったものはそれぞれ4例（80%）、7例（78%）、10例（21%）で、HGFキットによりHGF濃度が1ng/ml以上であることをある程度予想できた。しかし、弱陽性もしくは陰性（1ng以下）と判断した症例で、ELISA法ではHGF濃度が1ng以上であった症例が39例中17例存在した。本検査法は感度19.0%、特異度97.5%であり、感度が低く、判定者が実際のHGF濃度より低めに判定する傾向が明らかとなった。
- 3) 劇症肝炎、LOHFに進展する症例はその他の疾患に比較して、HGF半定量が陽性と判断される頻度が有意に高かった（33.3% vs. 5.4%,  $P=0.031$ , Fisher's exact probability test）。また、最終的に死亡した例は生存した例に比較して、HGF半定量が陽性と判断される頻度が高かった（40% vs. 6.5%,  $P=0.069$ , Fisher's exact probability test）。
- 4) HGF半定量測定時の臨床検査値（HGF, PT, HPT, ATIII, Alb, TB, DB, AST, ALT,  $\text{NH}_3$ , Fischer比, BTR, PLT, WBC, AFP）の中で、最終病型（肝不全に移行したか否か）や転帰（死亡もしくは生存）との関連性が強く示唆されたものはELISA法によるHGF濃度、PT値、HPT値であった。さらに、HGF半定量値（陽性か否か）、PT値（40%以下か否か）、HPT値（30%以下か否か）で最終病型と予後について感度・特異度を比較すると、3つのうちで、いずれもHGF半定量値はやや感度が劣るものの、特異度は最も高かった。

#### D. 考 察

本研究では免疫クロマト法を用いてHGF半定量測定キットを開発し、その有用性を平成15年度から検討してきた。本年度は、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、全国調査を行い、その有用性を明らかにした。HGF半定量は実際のHGF濃度より低めに判定する傾向で、劇症化の予知や転帰の推定にはやや感度がPT値やHPT値に劣るものの、特異度は優れていた。HGF半定量はベッドサイドで僅か100 $\mu$ lの血清を用いて、20分で迅速簡便に結果を得ることが出来、簡便に予後予測が出来る点で、非常に優れた検査法であると考えられた。

#### E. 結 論

我々が開発したHGF半定量測定キットは、ベッドサイドでHGF濃度を迅速簡便に予測でき、劇症肝炎の予知や急性肝疾患患者の予後予測に有用な検査法となる可能性を前向き試験で明らかにした。今後の臨床応用が期待できる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Uto H, Ido A, Kusumoto K, et al :  
Development of a rapid semi-quantitative immunochromatographic assay for serum hepatocyte growth factor and its usefulness in acute liver failure. Hepatol Res 33 : 272-276, 2005.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得      なし
2. 実用新案登録   なし
3. その他          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

### マウス重症肝炎モデルにおけるadiponectinの肝保護作用

研究協力者 林 紀夫 大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 教授

研究要旨：脂肪組織特異的分子アディポネクチンは、アディポサイトカインの一つであり、抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用、抗炎症作用を有することが明らかにされてきた。また、アディポネクチンは、マクロファージに作用してサイトカインの産生分泌において、抗炎症作用を示すことが知られている。本研究では、アディポネクチン欠損マウスを用い、ガラクトサミン (GalN)/LPSの腹腔内授与による重症肝障害モデルにおけるアディポネクチンの作用を検討すると同時に、in vitroにおけるKupffer細胞に対する作用を検討した。GalN/LPS投与によりアディポネクチン欠損マウスは、野生型マウスに比して生存率の低下ならびにALTの有意な上昇を認め、血中TNF- $\alpha$ の分泌が増加しapoptosisを起こす肝細胞が増加した。また、IL-10の血中濃度、肝臓での遺伝子発現は、アディポネクチン欠損マウスで低下を示した。In vitroの系では、アディポネクチンは、LPS刺激によりKupffer細胞からのTNF- $\alpha$ の産生・分泌を抑制し、IL-10の産生分泌を促進した。以上の結果からアディポネクチンは、LPSによる急性重症肝障害においてKupffer細胞に作用し、TNF- $\alpha$ の産生抑制、IL-10の産生亢進を介して肝障害に対して抑制的に作用することが示唆された。

#### A. 研究目的

近年、脂肪細胞はさまざまな生理活性物質（アディポサイトカイン）を分泌していることが明らかになり、単なるエネルギーの貯蔵庫ではないことが実証されている。そしてアディポサイトカインの分泌は、この病態において変化することが判明している。アディポネクチンは、アディポサイトカインの中のキー分子として注目されている。アディポネクチンは、抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用、抗炎症作用をあわせもつ分子であることが多くの研究者により明らかにされてきた。脂肪細胞ごとに腸管膜の脂肪細胞から放出されたアディポサイトカインや遊離脂肪酸、TNF- $\alpha$ をはじめとする炎症性サイトカインは、門脈を介して肝臓に到着するので、肝細胞をはじめとする肝臓の細胞に種々の面で直接的な影響を及ぼしている可能性が高い。今回、私どもは、アディポネクチン欠損マウスを用い、D-galactosamine(GalN) / lipopolysaccharide(LPS)の投与により作成した重症肝障害モデルにおけるアディポネクチンの作用について検討した。また、in vitroの培養系においてもLPS刺激に対するKupffer細胞におけるアディポネクチンの作用を検討した。

#### B. 研究方法

1) アディポネクチン欠損マウスと野生型マウスを用い、ガラクトサミン (700mg/kg)/LPS (10 $\mu$ g/kg)を腹腔内に投与し急性肝障害モデルを作製した。急性肝障害作成後の欠損マウスと野生型マウスの生存曲線を検討した。また、投与直前、投与0.5, 1, 4時間後にsacrificeし、血漿中ALT, TNF- $\alpha$ , IL10, IFN- $\gamma$ を測定し、肝臓内のTNF- $\alpha$ , IL10, IFN- $\gamma$ 遺伝子の発現は、real time PCR法にて測定した。肝臓組織中のapoptosisを起こした肝細胞は、TUNEL法 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxynuridine triphosphate nick-end

labeling assay)にて検討した。

2) 雄のSDラットにおいてコラゲナーゼ肝内還流法にて肝臓の細胞を分離し、その後Nycodenzを用い遠心法にてKupffer細胞を得た。初代培養したKupffer細胞に10 $\mu$ g/mlのアディポネクチンを含むメデイウムと含有していないメデイウムで24時間それぞれ培養後、10 $\mu$ g/mlのLPSで4時間刺激しその前後で上清中TNF- $\alpha$ , IL10, IFN- $\gamma$ を測定した。また、細胞内のTNF- $\alpha$ , IL10, IFN- $\gamma$ 遺伝子の発現は、real time PCR法にて測定した。

#### C. 研究結果

1) GalN/LPSによる重症肝障害の作成

GalN/LPS投与後24時間のアディポネクチン欠損マウスと野生型マウスにおいては、生存曲線は有意に欠損マウスで悪い結果を示した ( $p=0.041$ ; log-rank test)。血中ALT値は、GalN/LPS投与後投与後、欠損マウスと野生型マウスでそれぞれ4時間後、8時間後の値は、欠損マウスで有意に高い値をとった (4時間後, WT, 41.6+28.36, vs. KO 87.5+32.5IU/L;  $P<0.01$ , 8時間後; WT, 135.3+194.5 vs. KO, 419.2+58.7;  $p<0.05$ )。投与8時間後の肝臓におけるapoptosisをTUNEL法にて比較すると欠損マウスで有意に高値であった (WT, 95+118 vs. KO, 683+729 apoptosis cells/HPF;  $p<0.05$ )。

2) GalN/LPS投与による血中TNF- $\alpha$ , IL-10, IFN- $\gamma$ 濃度ならびに肝臓内遺伝子発現

GalN/LPS投与後の血漿中TNF- $\alpha$ は、欠損マウスにおいて有意に高値 ( $P<0.05$ )を示し、IL-10は欠損マウスにおいて投与1時間後において有意に低値であった ( $p<0.01$ )。IFN- $\gamma$ は、両群に差を認めなかった。肝臓におけるTNF- $\alpha$ の遺伝子発現量は投与0.5時間、1時間後において欠損マウスにおい

て有意に増加し( $p < 0.01$ ), IL-10の遺伝子発現は1時間, 4時間後に有意に低下していた( $p < 0.05$ )。IFN- $\gamma$  遺伝子の発現は, アディポネクチン欠損マウスと野生型マウスの両群に有意差を認めなかった。

### 3) 培養Kupffer細胞におけるLPS投与による上清中TNF- $\alpha$ , IL-10, IFN- $\gamma$ 濃度ならびに遺伝子発現に対するアディポネクチンの作用

Kupffer細胞にアディポネクチンを添加し先に24時間培養した群は, LPS刺激後の培養上清において, TNF- $\alpha$ の濃度は有意に低値( $p < 0.05$ )で, IL-10の濃度は有意に高値であった( $p < 0.01$ )。また, アディポネクチンを添加し先に24時間培養した群は, LPS刺激によりKupffer細胞内のTNF- $\alpha$ 遺伝子発現は0.5, 1時間後に有意に低下し, IL-10遺伝子は0.5, 1時間後に有意に上昇した( $p < 0.05$ )。IFN- $\gamma$  遺伝子は両群に差を認めなかった。

## D. 考 察

アルコール性肝障害や非アルコール性脂肪肝炎などにおいてエンドトキシン血症がその進展に関与していると考えられる。また, Kupffer細胞はinnate immunityとしてLPSをToll-like receptor 4等により認識し, TNF- $\alpha$ 等のpro-inflammatory cytokineやIL-10等のanti-inflammatory cytokineを分泌することによりエンドトキシン血症における肝障害において重要な役割を果たす。アディポネクチンは, これまでの報告で血中マクロファージに作用してサイトカインの分泌を制御して抗炎症作用を示すことが明らかになっており, 肥満やアルコール負荷により血中濃度が低下することが知られている。

GalN/LPSによる重症急性肝障害モデルにおいて欠損マウスは, 死亡率が有意に高く, 血漿中ALT値は有意に高値を示し, TUNEL法にてKOマウスにおいて有意に高いapoptosis細胞をみとめた。また, in vivoにおいてGalN/LPS投与後の血漿中のTNF- $\alpha$ は, KOマウスにおいて有意に高値を示し, IL-10は, 欠損マウスにおいて有意に低値であった。IFN- $\gamma$ は, 両群間に差を認めなかった。肝臓におけるTNF- $\alpha$ 遺伝子の発現も欠損マウスにおいて有意に増加, IL-10遺伝子は有意に低下した。IFN- $\gamma$ は, 両群間に差を認めなかった。In vitroでKupffer細胞を用いた実験結果とあわせ考えると, アディポネクチンは, LPS刺激によるKupffer細胞でのサイトカインの産生分泌を制御することにより抗炎症作用を示し, その欠如がLPSによる肝障害を増強していると考えられた。

## E. 結 論

アディポネクチンは, Kupffer細胞に作用してGalN/LPSによる肝障害を抑制した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Matsumoto H, Tamura S, Kamada Y, et al : Lack of adiponectin enhances lipopolysaccharide-induced liver injury through the modulation of cytokine production by Kupffer cells. in submission, 2006.
- 2) Kamada Y, Matsumoto H, Tamura S, et al : Hypoadiponectinemia accelerates the hepatic tumor genesis in a non-alcoholic steatohepatitis (NASH) mouse model. in submission, 2006.
- 3) Kamada Y, Tamura S, Kiso S, et al : Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. Gastroenterology 125(6) : 1796-1807, 2003.

### 2. 学会発表

- 1) Matsumoto H, Tamura S, Kamada Y, et al : Adiponectin, an adipocyte-derived hormone, attenuates lipopolysaccharide induced liver injury. The 55th Annual Meeting of AASLD, Boston. 2004.10.29-11.2.
- 2) 松本仁, 田村信司, 鎌田佳宏, 他 : アディポネクチンのKupffer細胞に対する効果. 第41回日本肝臓学会総会, 大阪. 2005.6. .

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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

当院におけるHBV急性感染による劇症肝炎の検討～ウイルス因子を中心に～

研究協力者 与芝 真彰 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 教授

### 共同研究者

井上 和明 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 助教授  
渡邊 綱正 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 助手  
安田 宏 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 講師  
山田 雅哉 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 助手  
平田 雄一 昭和大学藤が丘病院 消化器内科 員外助手

### A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV）による劇症肝炎には急性感染とキャリア発症の二つの感染様式が存在する。

HBVの急性感染による劇症肝炎では旺盛な宿主の免疫応答により急速にウイルスが排除され、脳症発現時にはウイルス増殖はすでに終息しているために、原因治療を行わずとも人工肝補助療法により肝不全期間を乗り切れば、多くの症例で救命は可能であると我々は主張してきた。過去19年間に経験したHBVが原因の劇症肝炎のうち急性感染による29例を臨床的・ウイルス学的に検討した。まず人工肝補助療法のみでは救命できなかった症例の解析からHBVの急性感染による劇症肝炎に対する当施設の移植適応基準を考案する。さらにウイルス学的解析により劇症化に関与するウイルス因子の解析とHBVのgenotypeと劇症化との関連を検討した。

### B. 研究方法

1986年から2004年までに当院に入院し治療を施行したHBVが原因の劇症肝炎93例中、急性感染が原因と考えられる29例の病型・臨床経過・背景因子・ウイルス遺伝子型・治療・予後をretrospectiveに解析し劇症化に関与しうるウイルス側の因子を検討した。

### C. 研究結果

HBV急性感染29例中、劇症肝炎が24例、プロトロンビン時間が40%以下になり脳症I度を呈した急性肝炎重症型が3例、剖検肝から先行肝病変の存在が認められた症例が2例であった。劇症肝炎の内訳は、急性型が21例で亜急性型が3例であった。急性型のうち数日以内に肝機能の廃絶する超急性の経過をとったものが3例、亜急性型の3例はステロイドまたは抗ガン剤の投与を受けている患者であった。剖検時にアルコールおよびMTXによると考えられる肝線維症の認められた症例が2例あり、この2例は劇症肝炎からは除外した。治療は劇症肝炎全例に血漿交換と血液濾過透析による人工肝補助療法を施行した。またインターフェロンもほとんどの症例に投与した。その他の治療として1996年以降はラミブジン投与とステロイドパルス療法を施行したが、ラミブジンの投与の有無およびステ

ロイドパルス療法施行の有無で比較しても救命率に有意差は認められなかった。治療成績は、急性肝炎重症型は全例救命、劇症肝炎急性型は83.3%（15/18）が救命された。超急性の経過をとった3例のうち1例は生体肝移植により救命された（内科的救命率0%）。亜急性の経過をとったものは3例とも救命された（100%）。HBV急性感染による劇症肝炎全体の救命率は75%（18/24）であった。さらにウイルス遺伝子型は病型に関係無くジェノタイプCが最も多く約50%、次いでジェノタイプBが20%前後、その他ジェノタイプDが2例、外国人のジェノタイプFが1例存在した。

劇症肝炎化に関与するウイルス因子の解析として、透析クリニックにおけるHBVによる劇症肝炎の集団発生例のうちの1例を肝炎発症前より経過観察し、臨床的にも劇症化するウイルスはdoubling timeが10時間前後と極めて増殖力が旺盛であった。本例のHBV全塩基配列をHBeAg陽性でHBV-DNA量 $1 \times 10^8$  copies/ml以上の高ウイルス量である無症候性キャリアから分離した5株と比較した結果、合計26塩基（0.8%）ユニークな変異を認め、コアプロモーターおよびプレコア領域の変異と、それ以外のアミノ酸変異を伴う変異が9塩基存在し、いずれもP遺伝子の上流領域に限定されておりポリメラーゼ活性に影響ないと考えられた（DDBJ/GenBank/EMBL accession number; AB205152）。コアプロモーターおよびプレコア領域の変異によりHBV複製が増強されることは周知であり、以上の結果からWild株に匹敵あるいはそれ以上の活発な増殖能を有すると予測されるHBV株の初感染による劇症化と考えられた。

超急性の経過をとったB型劇症肝炎の1例を示す。20歳女性で、全身倦怠感と39.7°Cの発熱出現後5日目に受診。血液検査上、T-Bil=8.5mg/dl AST=12797 IU/l ALT=8542 IU/l PT=3.6%、来院時は意識軽度混濁であったが、その後1～2時間の経過で意識状態が悪化し、入院時には明らかに肝性脳症II度を呈した。入院後直ちに人工肝補助さらにステロイドパルス療法開始したが、刻々と状態悪化しD/T比も0.24と低下。移植の絶対適応と判断し、第3病日父親の肝左葉グラフトを用いた生体肝移植を行い救命した。この症例は脳症出現早期の来院時血中HBV-DNA $3 \times 10^9$  copies/mlと高値で3日目の血中HBV-DNAは $5 \times 10^4$  copies/mlと2日間で約1/100,000にウイルス量が減少し、摘出肝はmassive necrosisの所見を呈しin situ PCRでわずかに残った肝細胞の一部にHBVの遺伝子が認められた。本例より超急性の経過をとる場合は免疫応答が極めて強力で、短期間に肝臓はmassive necrosisに陥り同時にウイルスも排除されることが示

唆された。

#### D. 考 察

今回の検討からHBV急性感染による劇症肝炎のうち超急性型の経過をとるものは肝移植の絶対適応と考えられる。その他は内科的治療で救命可能であるが、薬剤やアルコールにより肝の線維化が認められる場合は肝再生能が乏しく、移植を考える必要がある。

また劇症肝炎は臨床的にも急速なウイルス増殖が旺盛な免疫応答を引き起こした場合に発症すると考えられた。

#### E. 結 論

HBV急性感染による劇症肝炎において超急性の経過をとるものと、発症前に肝臓の線維化が推定される場合は肝移植が必要である。劇症肝炎の発症にはウイルス側の因子として急速なウイルス増殖と宿主側の因子として旺盛な免疫応答が必須であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Inoue K, Ogawa O, Yamada M, et al : Possible association of vigorous hepatitis B virus replication with development of fulminant hepatitis. J Gastroenterol : In press, 2006.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

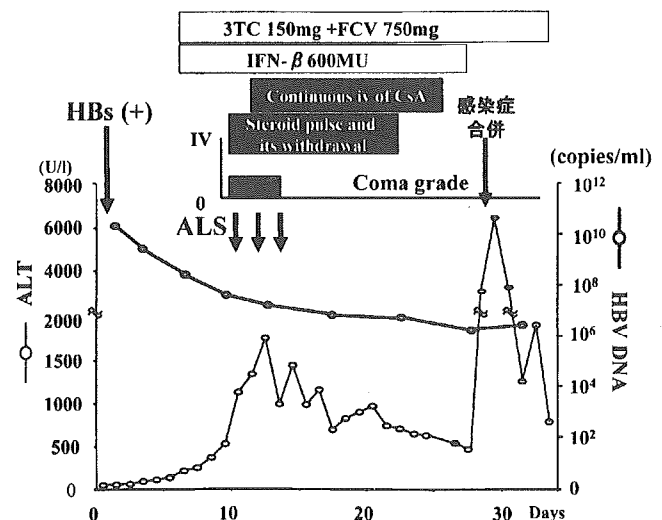
1. 特許取得      なし
2. 実用新案登録    なし
3. その他        なし

図1 HBV感染および病型による分類

|                    |              |      |  |                        |
|--------------------|--------------|------|--|------------------------|
| HBV<br>急性感染<br>29例 | 劇症肝炎<br>24例  | 超急性型 | 3例<br>(13%)                                | 数日以内に肝機能が廃絶し進行性の脳症を呈する |
|                    |              | 急性型  | 18例<br>(75%)                               |                        |
|                    |              | 亜急性型 | 3例<br>(13%)                                | 免疫抑制状態、高齢者、薬剤合併を示唆する症例 |
|                    | 急性肝炎 重症型     | 3例   | 入院後劇症化を回避した脳症I度の急性肝炎                       |                        |
|                    | 先行肝病変を有する肝不全 | 2例   | 急性肝炎以前に肝病変を示唆する病態を有する。<br>(肝線維症:アルコール合併など) |                        |
| HBV<br>慢性感染<br>64例 | 現在解析中        |      |  |                        |

～1986年より当院にて治療施行したHBV肝炎による症例～

図2 49year-old male



# 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

### CT volumetryによる肝萎縮の客観的評価と劇症肝炎における臨床的有用性

研究協力者 日比 紀文 慶應義塾大学医学部 消化器内科 教授

**研究要旨：**肝萎縮は劇症肝炎の予後不良因子であることは知られているが、その評価方法については確立されていない。今回、腹部CTによる肝volumetric analysisを用いて測定した肝容積（CTLV）と標準肝容積（SLV）の比（CTLV/SLV比）が劇症肝炎患者における肝萎縮の客観的評価、予後予測に有用か検討した。29例の劇症肝炎・LOHF症例を予後良好群（A群）と予後不良群（B群）に分けてCTLV/SLV比を比較したところ、A群では1.037と肝萎縮を認めなかったのに対し、B群では0.776であった。CTLV/SLV比は肝萎縮の客観的評価として有用であり、またガイドライン項目など他のパラメータと比較しても非常に有用な予後予測因子となり得る。また、ガイドライン初回判定時のcut-off値はCTLV/SLV比0.8-0.85が望ましいと考えられた。

#### 共同研究者

山岸 由幸 慶應義塾大学医学部 消化器内科 助手  
多田慎一郎 慶應義塾大学医学部 消化器内科 助手  
齋藤 英胤 慶應義塾大学医学部 消化器内科 講師

#### A. 研究目的

劇症肝炎の肝移植の適応には第22回急性肝不全研究会による「肝移植適応ガイドライン」が頻用されている。一方、ガイドライン項目にはないが、肝萎縮を認める症例では予後不良であることが一般的に知られているが、その評価は主観的となる場合が多い。一方、移植外科では、標準肝容積を用いた肝volumetric analysisはグラフトサイズを予測するのに広く用いられてきた。またCT機器の進歩に伴い、肝容積の測定は将来的に一般病院などにおいても比較的容易になり広く普及するようになると思われる。

1999年以降、当院で入院加療した急性肝不全少数の症例の検討では、腹部CTを用いた肝volumetric analysisによる肝容積（CTLV）により標準肝容積（SLV）に対する割合（CTLV/SLV比）を算出したところ、予後と有意に相関した。今回、多施設（当院の関連施設）を含め劇症肝炎患者のCTLV/SLV比を算出し、予後不良例を識別し得るCTLV/SLV比を設定し、劇症肝炎患者の予後予測に役立てる。

#### B. 研究方法

1) 各施設の劇症肝炎・LOHF症例のガイドライン初回判定時、5日後判定時の肝CT、身長・体重、転帰を解析し、CTと体表面積よりCT測定肝容積/標準肝容積（CTLV/SLV）比を算出し解析する。尚、肝Volumetric analysisは下記方法にて行う。

- $SLV(ml) = 706.2 \times BSA$ （体表面積）（ $m^2$ ）+ 2.4  
（Urata K, et al; Hepatology, 1995）
- $BSA(m^2) = Weight^{0.444}(kg) \times Height^{0.663}(cm) \times 0.008883$   
（藤本ら；栄養学雑誌, 1968）
- CTLV(ml)：解析ソフト NIH image v1.61にて計測
- $CTLV/SLV = CT$ 測定肝容積/標準肝容積

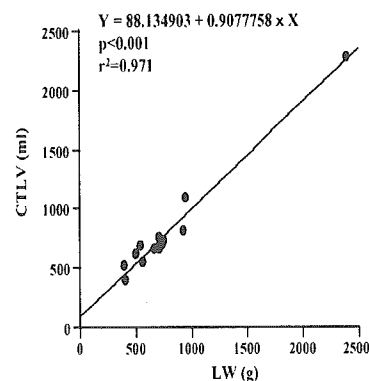
- 2) 当院における生体肝移植症例と、内科的治療にて死亡し病理解剖を施行した症例の、摘出肝重量とCTLV/SLV比を比較した。
- 3) 他施設症例含め対象患者を内科的治療にて救命し得た群（予後良好群：A群：12例）と、内科的治療で肝不全死あるいは生体肝移植を施行した群（予後不良群：B群：17例）に分けて各種パラメータとCTLV/SLV比を比較した。
- 4) ガイドライン判定とCTLV/SLV比につき、感度、特異度を検討した。

データはmedian, rangeにて示し、摘出肝重量とCTLV/SLV比の相関は単回帰分析にて解析した。各種パラメータにおけるA, B群の比較はWilcoxon検定とFischerの正確検定を用いた。多変量解析にはロジスティック回帰分析を用い、それぞれ $p < 0.05$ にて有意差があるとした。

#### C. 研究結果

当院における生体肝移植症例、剖検例の摘出肝重量とCTLV/SLV比は有意に相関した（ $p < 0.001$ ,  $r^2 = 0.971$ ,  $Y = 88.134903 + 0.9077758 \times X$ ）。

図1 CT測定肝容積と摘出肝重量の相関



CTLV:CT測定肝容積 LW:摘出肝重量

Yamagishi Y, et al. J Gastroenterol Hepatol, 2005



対象患者A群12例, B群17例の患者背景を表1に示した。各項目につき, A群とB群でいずれも有意差は認めなかった。また, A群とB群における各種パラメータの比較を表2に示した。ALT値はピーク, 初回判定時ともA群のほうが高い傾向にあった。TB値は初回, 5日後とも有意にB群が高値であったが, D/T比に関しては初回判定時には有意差を認めなかった。また, PT%も初回判定時は有意差を認めなかったが, 5日後ではB群のほうが有意に延長していた。欧米にて近年, 末期肝疾患の移植適応判断に広く用いられているMELD scoreに関しては, 初回, 5日後ともA, B群間で有意差を認めなかった。CTLV/SLV比は初回判定時はA群では1.037と肝萎縮を認めなかったのに対しB群では0.776と低値であり, 5日後もA群では1.042であったのに対しB群では0.642とより低下する傾向にあり, いずれもA, B群間で有意差を認めた。

表1 患者背景

|                              | A群 (n=12)       | B群 (n=17)       |
|------------------------------|-----------------|-----------------|
| Age (y/o, range)             | 44.9 (19-83)    | 46.7 (22-69)    |
| Male / Female                | 6 / 6           | 8 / 9           |
| Etiology                     |                 |                 |
| viral / drug / AIH / unknown | 6 / 4 / 0 / 2   | 7 / 4 / 2 / 4   |
| viral (A / B / C / E)        | 2 / 3 / 0 / 1   | 0 / 7 / 0 / 0   |
| PE / (C)HDF                  | 12 / 11         | 17 / 17         |
| PE (times, range)            | 4.50 (2-10)     | 6.35 (2-13)     |
| (C)HDF (times, range)        | 5.83 (0-20)     | 7.53 (3-20)     |
| Steroid therapy              | 10              | 17              |
| Lamivudine and/or IFN        | 3 / 3           | 5 / 7           |
| SLV (ml, range)              | 1056 (828-1231) | 1108 (991-1436) |

AIH: autoimmune hepatitis, PE: plasma exchange, (C)HDF: (continuous) hemodiafiltration  
SLV: standard liver volume

今回の症例において, 初回ガイドライン判定生存例についての感度は66.7%, 特異度は100%であった。CTLV/SLVについては0.8-0.85で91.7%, 特異度が76.5%と最も良好であった。また, 5日後判定ではガイドラインが感度83.3%, 特異度94.4%で, CTLV/SLVは0.75のときの感度が100%, 特異度91.7%と最も良好であった。

表2 各種パラメーターとの比較

|                             | A群                  | B群                    |
|-----------------------------|---------------------|-----------------------|
| ピークALT (IU/L, range)        | 2896 (300-12723)    | 1057 (211-3701)*      |
| ALT 初回 (IU/L, range)        | 2875 (48-4350)      | 1016 (105-4083)*      |
| TB 初回 (mg/dl, range)        | 8.45 (1.8-16.2)     | 16.45 (6.7-23.9)**    |
| TB 5日後 (mg/dl, range)       | 6.11 (1.8-19.3)     | 10.88 (5.0-21.3)**    |
| D/T 初回 (ratio, range)       | 0.61 (0.28-0.90)    | 0.61 (0.43-0.75)      |
| D/T 5日後 (ratio, range)      | 0.57 (0.16-0.85)    | 0.39 (0.14-0.58)*     |
| PT 初回 (% , range)           | 19.32 (10.0-34.0)   | 19.49 (10.0-30.4)     |
| PT 5日後 (% , range)          | 56.6 (35.0-78.0)    | 33.1 (17.0-50.0)**    |
| ピークNH3 (μ mol/ml, range)    | 150.8 (93-274)      | 167.9 (87-258)        |
| 脳症 (grade, range)           | 2.25 (2-3)          | 2.35 (2-4)            |
| MELD 初回 (score, range)      | 31.6 (21-54)        | 31.5 (21-46)          |
| MELD 5日後 (score, range)     | 22.7 (13-35)        | 25.4 (19-38)          |
| CTLV/SLV 初回 (ratio, range)  | 1.037 (0.768-1.409) | 0.776 (0.410-1.421)** |
| CTLV/SLV 5日後 (ratio, range) | 1.042 (0.796-1.504) | 0.642 (0.391-1.201)** |

\*p<0.05 \*\*p<0.01

また, ガイドライン各項目と比較したところ, 表3に示した通り, 初回判定時TB値18mg/dl以上と亜急性型の場合は予後不良となったが, CTLV/SLV比においても0.8-0.85以下の症例がB群では有意に多いという結果となった。

表3 ガイドライン項目との比較

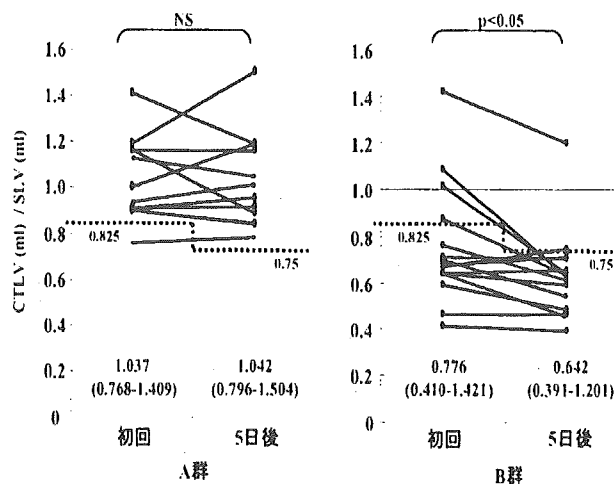
|                        | A群           | B群              |
|------------------------|--------------|-----------------|
| 年齢≥45歳                 | 50.0% (6/12) | 64.7% (11/17)   |
| 脳症発現まで≥11日(亜急性型)       | 25.0% (3/12) | 82.4% (14/17)** |
| PT≤10%                 | 16.7% (2/12) | 17.6% (3/17)    |
| TB≥18.0mg/dl           | 0% (0/12)    | 47.1% (8/17)**  |
| D/T比≤0.67              | 58.3% (7/12) | 76.5% (13/17)   |
| 初回死亡                   | 33.3% (4/12) | 100% (17/17)**  |
| 5日後死亡                  | 16.7% (2/12) | 94.1% (16/17)** |
| CTLV/SLV 初回 0.8-0.85以下 | 8.3% (1/12)  | 70.6% (12/17)** |
| CTLV/SLV 5日後 0.75以下    | 0% (0/12)    | 94.1% (16/17)** |

\*\*p<0.01

尚, ガイドライン項目において血液検査項目であるTB値, PT%, D/T比とCTLV/SLV比を説明変数として多変量解析を施行したところ, TB値(オッズ比: 0.0012, 95%信頼区間: -0.70 - -0.09, p=0.034)とともにCTLV/SLV比(オッズ比: 135.9, 95%信頼区間: 0.877 - 10.3, p=0.033)も独立した予後規定因子となった。

図2にはA, B群それぞれにおける初回, 5日後のCTLV/SLV比の推移を示した。A群は初回, 5日後共肝萎縮は認めず, 初回判定時に0.80以下は1例のみで, 5日後は全例0.75以上であった。B群は初回判定時0.85以上の例も3例認めしたが, 5日後は1例を除き0.75以下であった。また5日後判定時には有意に肝萎縮が進行する傾向を認めた。

図2 ガイドライン初回, 5日後判定時のCTLV/SLV比



## D. 考 察

わが国における劇症肝炎の予後は人工肝補助療法や部分生体肝移植の普及に伴い改善傾向にある。欧米では主流である脳死肝移植も、わが国では未だ極一部のみであり、脳死肝の提供が限られている現状では緊急性を要する本疾患に対して普及するにはまだまだ時間を要すると思われる。部分生体肝移植は健常人の親族をドナーとするため、内科的治療にて救命でき得る症例には施行するべきではないと思われるが、その判断はしばしば非常に困難である。現在、わが国では肝移植適応ガイドラインが頻用されており、非常に有用であるが、人工肝補助の普及により脳症発症前より血漿交換 (PE)、(持続)血液濾過透析 (C) HDF を導入する場合も予想され、その評価が困難な症例が増加すると思われる。一方、肝萎縮が進行した症例では予後不良であることは知られているが、それを客観的に評価するシステムは確立されていない。腹部CT検査は劇症肝炎患者においても侵襲が少なく、また一般病院などでも容易な検査である。今回の検討にて摘出肝重量とCTLV/SLV比には強い相関が見られた。これまで、CTを用いた肝容積について評価した報告はあるが、SLVを用いて固体差まで含めた検討をされた報告はない。今回の検討でCTLV/SLV比の測定は劇症肝炎症例における肝萎縮の客観的・定量的評価に有用であることが示された。

今回の検討では、CTLV/SLV比同様、他の血液性化学、凝固系マーカーについてもA、B群にて比較したところ、TB値は初回、5日後とも有意にB群で高く、またTB18mg/dl以上もB群では有意に多かったことより、TB値18mg/dlは単独でも非常に良い予後予測因子となると思われた。ALT値はA群でむしろ高く、B群で低い傾向となったが、これは初回判定時までALTのピークも低めで上昇から脳症までの時間がかかる、つまり重急性であるほど予後不良であることと関連していると思われる。D/T比については有意差を認めなかったが、TB値が低値の症例でD/T比が低値である症例が多く、TB低値のうちに脳症を発現した場合にはD/T比での評価が困難となる可能性が示唆された。しかし5日後では有意差が出る結果となり、PT%に関しても同様であった。これらは年齢も含め、今回の症例数が限定されたことによる可能性がある。一方、CTLV/SLV比は初回判定時もA、B群間で有意差を認めており、非常に良い予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。その傾向は5日後にはより明らかとなった。A群ではほぼ全例初回判定、5日後判定時と一環して肝萎縮を認めなかった。一方、B群においては初回判定時すでに大部分の症例が肝萎縮を認めていた。また初回には萎縮を認めない症例でも5日後には肝萎縮を来しており、初回判定時には肝萎縮のなかった症例も進行性に肝萎縮を来す症例はやはり予後不良であった。

では具体的にどの程度肝萎縮が進行していたら予後不良であり、どの程度であれば内科的治療で救命できる可能性があるか。今回の検討から初回判定時CTLV

/SLV比0.8-0.85以上は予後良好、それ以下は予後不良となる可能性が高く、0.8-0.85をcut-off値とすることにより、ガイドライン判定のみで判断が困難な際の助けになると考えられた。また、ガイドライン初回判定死亡であっても、CTLV/SLV比が0.8-0.85以上の場合は内科的に救命し得る可能性があり、また5日後に0.75以上であればその可能性はより強くなると思われる。自験例でも実際、初回、5日後とも死亡判定であったが、CTLV/SLV比が0.9前後で推移し救命し得た症例を経験し、同様の症例では肝移植も念頭に置きながらも、内科的治療継続を検討することにより、部分生体肝移植を回避する可能性を検討する必要があると思われた。しかし、初回判定時CTLV/SLV比0.85以上でも5日後には肝萎縮を来し予後不良となった症例も経験していることから、ガイドラインによる経過観察に併せて腹部CTもフォローすることが望ましい。今回の検討ではTB値と同様にCTLV/SLV比は独立した予後予測因子となったが、初回判定時CTLV/SLV比が0.8-0.85の間の症例がなかったため、cut-off値がこのような値となった。今後更に症例を集積し、より適正なcut-off値を設定する必要があると思われる。

## E. 結 論

人工肝補助の発達に伴い、ガイドラインによる判定のみでは予後予測が困難となる症例が増加することも予想される。腹部CTは劇症肝炎患者においても侵襲の少ない検査である。CTLV/SLV比は有用な予後予測因子となると思われ、初回判定時予後不良のcut-off値は0.80-0.85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) Yamagishi Y, Horie Y, Kato S, et al : Ethanol modulates gut ischemia / reperfusion-induced liver injury in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282(4) : G640/G646, 2002.
- 2) Horie Y, Yamagishi Y, Kato S, et al : Role of ICAM-1 in chronic ethanol consumption-enhanced liver injury after gut ischemia-reperfusion in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 283(3) : G537/G543, 2002.
- 3) Horie Y, Yamagishi Y, Kato S, et al : Low-dose ethanol attenuates gut ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats via nitric oxide production. *J Gastroenterol Hepatol* 18(2) : 211-217, 2003.
- 4) Ishii H, Yamagishi Y, Okamoto S, et al : Hemophagocytic syndrome associated with

- fulminant hepatitis A: a case report. *Keio J Med* 52(1) : 38-51, 2003.
- 5) Nakamoto N, Tada S, Kameyama K, et al : A free radical scavenger, edaravone, attenuates steatosis and cell death via reducing inflammatory cytokine production in rat acute liver injury. *Free Radic Res* 37(8) : 849-859, 2003.
  - 6) Tada S, Nakamoto N, Kameyama K, et al : Clinical usefulness of edaravone for acute liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 18(7) : 851-857, 2003.
  - 7) Adachi M, Saito H, Kobayashi H, et al : Hepatic injury in 12 patients taking the herbal weight loss AIDS Chaso or Onshido. *Ann Intern Med* 139(6) : 488-492, 2003.
  - 8) Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara K, et al : Hepatocellular carcinoma in heavy drinkers with negative markers for viral hepatitis. *Hepatol Res* 28(4) : 177-183, 2004.
  - 9) Yamagishi Y, Saito H, Tada S, et al : Value of computed tomography-derived estimated liver volume / standard liver volume ratio for predicting the prognosis of adult fulminant hepatic failure in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 20(12) : 1843-1849, 2005.
  - 10) 山岸由幸, 齊藤英胤, 島津元秀, 他 : 当院における急性肝不全治療 : 内科・外科連携の重要性. *日本消化器病学会雑誌* 99(10) : 1205-1212, 2002.
- ## 2. 学会発表
- 1) Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara M, et al : Low dose ethanol prevents hepatic microvascular dysfunction and concomitant liver injury elicited by gut ischemia / reperfusion in rats. The 50th Annual Meeting of AASLD, Dallas. 1999.11.8.
  - 2) Kajihara M, Tamai H, Ishi H : Ethanol modulates gut ischemia/reperfusion-induced hepatic microvascular dysfunction associated liver injury in rats. The 101th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association, San Diego. 2000.5.21.
  - 3) Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara M, et al : Role of adenosine in the preventive effect of low dose ethanol and on gut ischemia / reperfusion induced hepatocellular injury in rats. The 52th Annual Meeting of AASLD, Dallas. 2001.11.11.
  - 4) Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara M, et al : Preventive effect of low dose ethanol on gut ischemia/reperfusion induced hepatocellular injury in rats -Role of adenosine-. The 11th Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, San Francisco. 2002.7.2.
  - 5) Yamagishi Y, Horie Y, Kajihara M, et al : Role of adenosine receptors in the protective effect of ethanol on gut ischemia / reperfusion induced hepatocellular injury in rats. The 12th Congress of the International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Mannheim. 2004.9.30.
  - 6) 山岸由幸, 加藤眞三, 松永聖子, 他 : A型劇症肝炎に血球貪食症候群を合併した一例. 第26回日本急性肝不全研究会, 福岡. 2000.6.7.
  - 7) 中本伸宏, 海老沼浩利, 若林寛二, 他 : 高齢者急性肝炎患者の特徴とその対応. 第3回日本高齢消化器医学学会議, 米子. 2001.1.27.
  - 8) 齋藤史武, 高木珠子, 清野芳江, 他 : プロムワレリル尿素により生じた重症肝炎および膵炎の1症例. 第263回日本消化器病学会関東支部例会, 東京. 2001.2.17.
  - 9) 山岸由幸, 小林央, 中本伸宏, 他 : 急性肝不全に対する生体肝移植術後の問題点についての検討. 第27回日本急性肝不全研究会, 横浜. 2001.5.16.
  - 10) 小林央, 高木珠子, 齋藤史武, 他 : 救命後の肝組織が硬変肝であったB型劇症肝炎の1例. 第27回日本急性肝不全研究会, 横浜. 2001.5.16.
  - 11) 山岸由幸, 島津元秀, 石井裕正 : 移植後の問題点から検討した劇症肝炎に対する肝移植適応について. 第88回日本消化器病学会総会, 旭川. 2002.4.24.
  - 12) 菊池真大, 一松収, 多田慎一郎, 他 : 急性A型肝炎を契機に発症した自己免疫性肝炎の1例. 第269回日本消化器病学会関東支部例会, 東京. 2002.5.11.
  - 13) 山岸由幸, 齊藤英胤, 足立雅之, 他 : 移植前後の経過から検討した劇症肝炎に対する肝移植適応. 第28回日本急性肝不全研究会, 大阪. 2002.6.12.
  - 14) 足立雅之, 小林央, 西村知泰, 他 : 生体肝移植にて救命し得た薬剤性の疑われる亜急性劇症肝炎および遅発性肝不全の2例. 第28回日本急性肝不全研究会, 大阪. 2002.6.12.
  - 15) 西村知泰, 足立雅之, 小林央, 他 : 中国産ダイエット薬品が原因と思われる亜急性型劇症肝炎および重症肝炎の2例. 第270回日本消化器病学会関東支部例会, 千葉. 2002.7.13.
  - 16) 多田慎一郎, 中本伸宏, 齋藤英胤 : フリーラジカルスカベンジャーエダラボンの急性肝障害抑制効果. 第6回日本肝臓学会大会, 横浜. 2002.10.24.
  - 17) 栗田聡, 足立雅之, 西村智泰, 他 : 血液型不適合生体肝移植により救命された自己免疫性劇症肝不全の1例. 第34回日本肝臓学会東部会, つくば.

2002.11.30.

- 18) 足立雅之, 若林寛二, 小林央, 他: 中国製ダイエット健康食品が原因になった重症肝障害例についての検討: 特に亜急性型劇症肝炎および重症肝炎の2例について. 第34回日本肝臓学会東部会, つくば, 2002.11.30.
- 19) 堀江義則, 齋藤英胤, 足立雅之, 他: 中国製ダイエット健康食品による重症肝障害症例12例についての検討. 特に亜急性型劇症肝炎および重症肝炎の2例について. 第29回日本急性肝不全研究会, 福岡, 2003.5.22.
- 20) 中本伸宏, 多田慎一郎, 北村公美, 他: ラジカル消去剤エダラボンによる急性肝障害抑制効果. 第39回日本肝臓学会総会, 福岡, 2003.5.23.
- 21) 金子光太郎, 齋藤英胤, 石井裕正, 他: 自家製ウコン茶による重症肝障害の1例. 第275回日本消化器病学会関東支部例会, 東京, 2003.7.12.
- 22) 山岸由幸, 齋藤英胤, 堀江義則, 他: 単一施設における急性肝不全に対する生体肝移植も含めた集学的治療. 第45回日本消化器病学会大会, 大阪, 2003.10.17.
- 23) 常松令, 熊谷直樹, 多田慎一郎, 他: マウス Concanavarin A肝障害に対するエダラボンによる肝障害抑制. 第7回日本肝臓学科大会, 大阪, 2003.10.16.
- 24) 齋藤英胤, 島津元秀, 若林剛, 他: 移植後早期死亡例. 「C型肝炎ウイルスと生体肝移植」. 伊豆肝臓カンファレンス, 伊豆長岡, 2004.12.4.
- 25) 堀川ひとみ, 齋藤英胤, 多田慎一郎, 他: 急速に肝不全を来したNK細胞リンパ腫の一例. 第35回日本肝臓学会東部会, 東京, 2004.12.10.
- 26) 藤山洋一, 山岸由幸, 菊池真大, 他: 人工肝補助療法を施行し得たE型劇症肝炎の一例. 第31回日本急性肝不全研究会, 大阪, 2005.6.15.
- 27) 森朱夏, 山岸由幸, 松橋智弘, 他: 急速に進行し肝不全を呈した肝アミロイドーシスの一例. 第31回日本急性肝不全研究会, 大阪, 2005.6.15.
- 28) 森朱夏, 山岸由幸, 菊池真大, 他: 当科における重症・劇症化した急性発症した自己免疫性肝炎症例の検討. 第41回日本肝臓学会総会, 大阪, 2005.6.17.
- 29) 山岸由幸, 齋藤英胤, 加藤眞三: 肝萎縮評価の定量化を利用した劇症肝炎治療方針. 第47回日本消化器病学会大会, パネルディスカッション. 神戸, 2005.10.5.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得      なし
2. 実用新案登録      なし
3. その他      なし

#### (研究協力施設)

国立病院機構東京医療センター  
日本鋼管病院