

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 中村陽子：自己免疫性肝疾患を見逃さないために-合併する肝外自己免疫疾患の特徴. *Modern Physician* 23(4), 485-487, 2003
- 2) 渡部幸夫：自己免疫性肝炎の予後は治療でどう改善されたか? *Medical Practice* 23(1): 63-67, 2006

2. 学会発表

- 1) 中村陽子, 渡部幸夫, 大黒学：肝組織変化からみた自己免疫性肝炎の長期経過と治療による修飾. パネルディスカッション, 第8回日本肝臓学会大会. 福岡, 2004. 10. 21
- 2) 中村陽子, 玉眞俊平, 菅野 聡, 安達 献, 渡部幸夫, 大黒 学, 石橋大海：肝ネットワークにおける自己免疫性肝炎の診断と治療の現状, 共同). 第59回国立病院総合医学会. 広島, 2005. 10. 14

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

なし

原発性胆汁性肝硬変に対する治療方針の現状把握のための調査

研究協力者 酒井 浩徳 国立病院機構九州医療センター 消化器科医長

研究要旨： 原発性胆汁性肝硬変の多くの症例は安定した経過をたどるものの、一部の症例は進行し予後不良の経過をたどることがわかっている。しかし、現時点では経過や予後を予測することは困難であり、両者を区別することなく治療を行っているのが現状である。治療に際しては、UDCA(ウルソデオキシコール酸)を第一選択薬として多くの症例に使用され、副作用もなく良好な治療成績が得られている。しかし、治療に関して明確な指針はなく、治療開始時期、UDCAの投与開始量、UDCAに対して治療効果不良の場合の対策など、治療者各人の考えに基づいて治療を行っているのが現状である。本研究は、原発性胆汁性肝硬変の治療に対する基本的方針(治療者各人の治療ガイドライン)の現状把握と検証を目的として、肝臓学会東部会・西部会評議員の方々のご協力を得て治療方針に関するアンケート調査を行った。原発性胆汁性肝硬変の診断初期よりUDCAを開始し、UDCAによる効果が不十分の場合ベザフィブラートの追加投与が現在最も採用されている治療方針であった。しかし、治療開始時期、治療開始時の選択薬やその投与量、第一選択薬が効果不十分の時の対応などに方針の違いがあることも明らかとなった。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変の画期的治療法の開発にあたって、我が国における現行治療法の検証が必要と考えられる。この点の解析が我々に与えられたテーマである。

B. 研究方法

国立病院機構において確立された原発性胆汁性肝硬変症例データ・ベースを解析することにより本疾患の長期予後を検討した。また、治療方針の現状把握を目的とし日本肝臓学会評議員に対し、アンケート調査を行った。

C. 研究結果

国立病院機構肝ネットワークにおける原発性胆汁性肝硬変(PBC)症例のデータ・ベースにおいて、多くのPBC症例は安定した経過をたどることが明らかにされた。肝機能検査値も長期に渡って同じレベルを保ち、長期間にわたって無症候性PBCの状態経過すると考えられる。一方、一部の症例は診断早期から、あるいは長期間安定に経過したのちに症候性PBCとなり、さらに比較的急速に進行し、肝不全のために肝移植を必要とする結果となっている。このような経過をたどるPBCに対し、すべての症例を同等に治療する必要があるか、また、いかに治療するかに関してはまだ問題が残されているところである。全国規模の実態調査でも明らかな

ように、UDCAが標準的治療薬であり、第一選択薬である。国立病院機構肝ネットワークにおけるPBC症例のデータ・ベースにおいても、登録した428症例の約80.4%がUDCAの投与を受け良好な治療成績が得られている。しかし、投与症例の24.3%が不変であり、悪化症例(6.5%)や死亡症例(0.8%)があるのも事実である。PBCに対するUDCA療法のランダム化対照試験は我々が調べた限り1999年までに11編報告があり、肝機能検査においては明らかな改善が示されている。しかし、経過が長い疾患であるため、長期予後効果に関しては一定の見解が出ていない。

現在PBCの治療に関して、UDCAを第一選択薬として開始し、効果不十分の場合ベザフィブラートの併用療法に移行するか、UDCAの投与量を増加するという基本的方針に関しては異論のないところである。しかし、今回のアンケート調査でも明らかなように、多くの症例が長期間進行することなく安定した経過をたどることが明らかであるPBCに対し、どの時点から治療を開始するのか、UDCAはどの量から投与を開始するのかなどのに関しては一定の見解がないのが現状である。UDCAによる治療効果が不十分となった時、UDCAの増量をまず行うのか、ベザフィブラートの追加投与がいいのか。治療ガイドラインの確立が望まれる。

D. 考察

昨年度の本研究班において我々も示したように、多くのPBC症例は安定した経過をたどることが明らかにされてきた。肝機能検査値も長期に渡って同じレベルを保ち、長期間にわたって無症候性PBCの状態経過すると考えられる。一方、一部の症例は診断早期から、あるいは長期間安定に経過したのちに症候性PBCとなり、さらに比較的急速に進行し、肝不全のために死亡したり、肝移植を必要とする結果となっている。このような経過をたどるPBCに対し、すべての症例を同等に治療する必要があるか、また、いかに治療するかに関してはまだ問題が残されているところである。全国規模の実態調査でも明らかなように、UDCAが標準的治療薬であり、第一選択薬である。国立病院機構肝疾患政策医療ネットワークにおけるPBC症例のデータベースにおいても、登録した428症例の約80.4%がUDCAの投与を受け良好な治療成績が得られている。しかし、投与症例の24.3%が不変であり、悪化症例(6.5%)や死亡症例(0.8%)があるのも事実である。PBCに対するUDCA療法のランダム化対照試験は我々が調べた限り1999年までに11編報告があり、肝機能検査においては明らかな改善が示されている。しかし、経過が長い疾患であるため、長期予後効果に関しては一定の見解が出ていない。UDCAにより肝機能が改善しない症例があり、第二選択薬としてこれまでに多くの薬剤に対し臨床試験が行われてきた。その中で有効性、副作用などを考慮し、ベザフィブラートが現在最も使用されている。

現在PBCの治療に関して、UDCAを第一選択薬として開始し、効果不十分の場合ベザフィブラートの併用療法に移行するか、状況によってはUDCAの投与量を増加するという基本的方針に関しては異論のないところである。しかし、今回のアンケート調査でも明らかなように、多くの症例が長期間進行することなく安定した経過をたどることが明らかであるPBCに対し、どの時点から治療を開始するのか、UDCAはどの量から投与を開始するのかなどのに関しては一定の見解がないのが現状である。UDCAによる治療効果が不十分となった時、UDCAの増量をまず行うのか、ベザフィブラートの追加投与がいいのか、これに関しても現場の主治医の判断で決定されているのが今回のアンケート調査でも明らかである。

今後の画期的治療法の確立まで、肝移植以外に根治的治療法(移植後のPBC再発に関しても異論があるところである)がない現時点では、

これまでの行ってきたUDCA、ベザフィブラートによる治療を有効かつ効率的に行わなければならない。しかし、実際の臨床の場での具体的な治療方針に関しては、まだ確立されていないことが今回のアンケート調査により示された。PBCはウイルス性肝疾患と比較すると発生頻度は極めて少ない疾患であり、しかも多くの症例は極めて安定した経過をたどるため、予後をはじめとして長期の治療効果を明らかにするためには長期にわたって経過を追っていく必要がある。そのため、単一の施設における症例数では不十分であり、ネットワークを用いたデータベースの構築と長期にわたる追跡が不可欠である。

E. 結論

多くの症例が長期間進行することなく安定した経過をたどることが明らかであるPBCの治療に関して、一定の見解がないのが現状である。従って現状での治療ガイドラインの確立が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 西秀博, 酒井浩徳, 福泉公仁隆, 宮原稔彦, 武元良祐, 有村英一郎, 矢田雅佳, 高見裕子, 安森弘太郎, 村中光, 才津秀樹: 国立病院機構における原発性胆汁性肝硬変症例のデータベース構築: QOL調査. 第59回国立病院総合医学会, 広島. 2005. 10. 14-15

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

なし

図1. 無症候性PBC(γ -GTP < 100)

(Nはアンケート回答者の割合、無回答 2.7%)

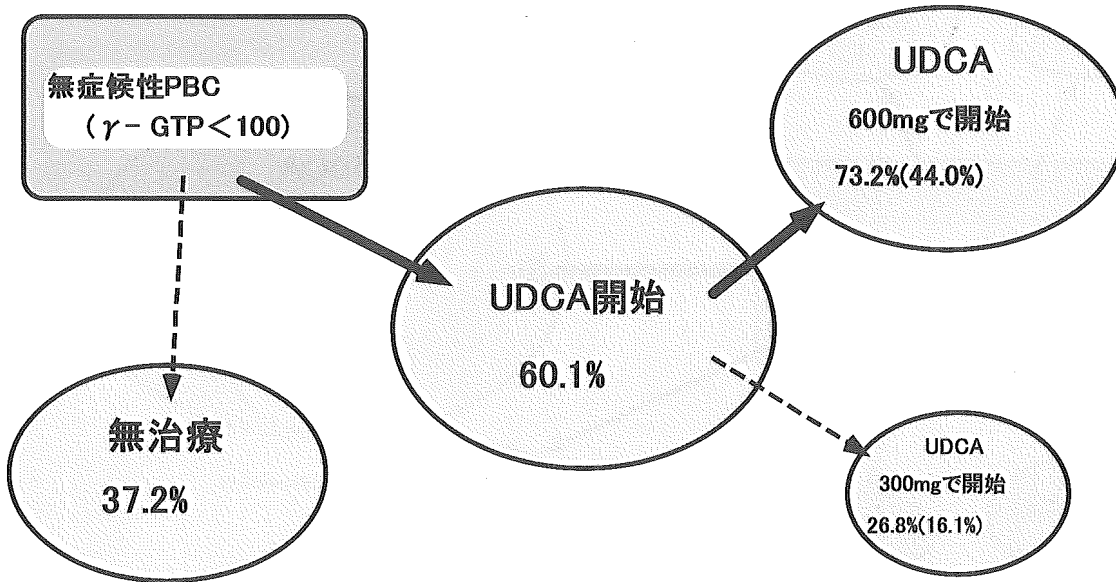


図2. 無症候性PBC($100 \leq \gamma$ -GTP < 300)

(nはアンケート回答者数)

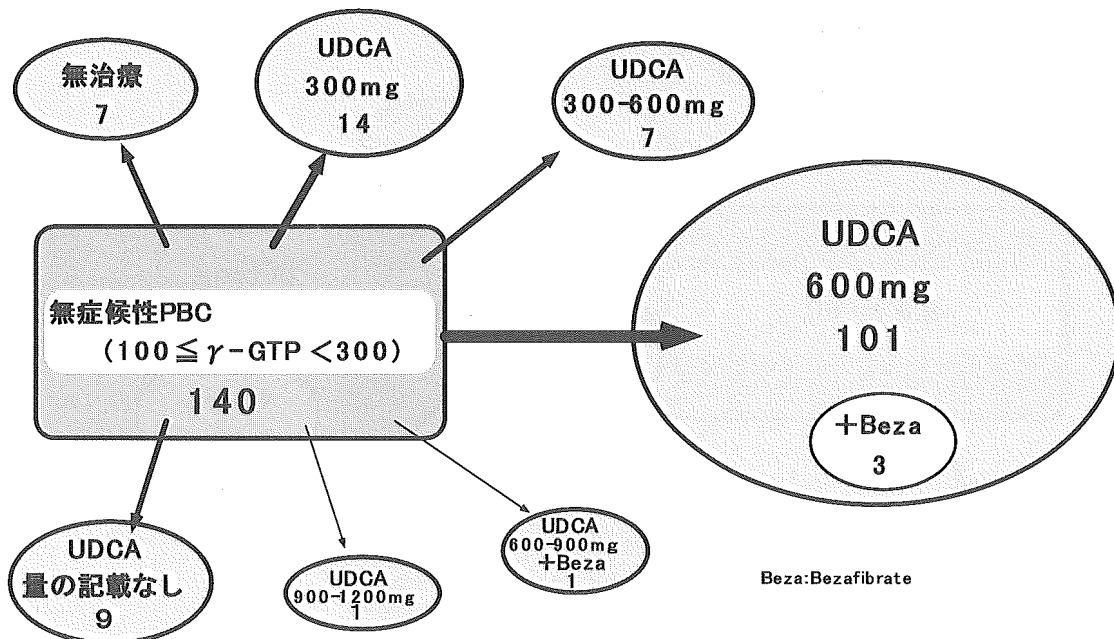


図3. 無症候性PBC($300 \leq \gamma\text{-GTP}$)

(nはアンケート回答者数)

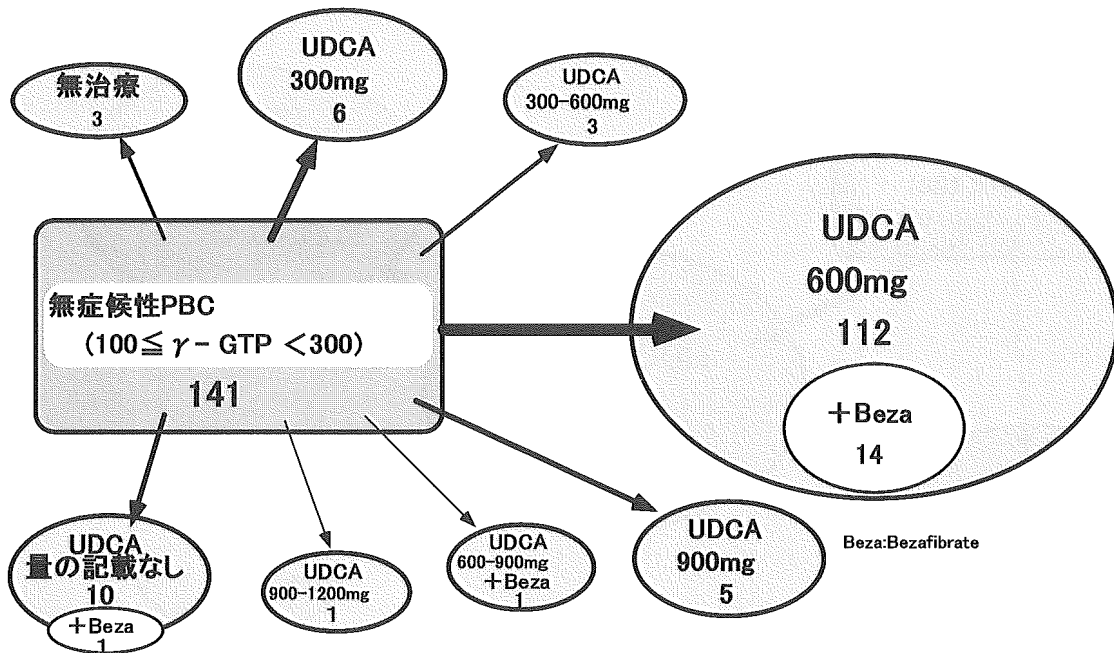
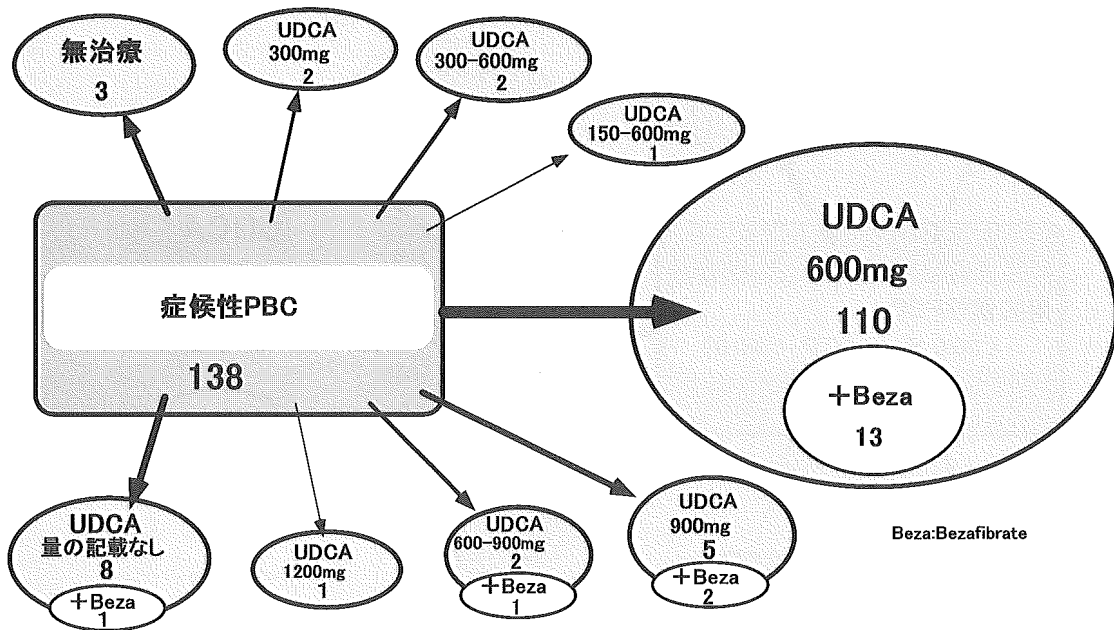


図4. 症候性PBC (nはアンケート回答者数)



PBCの進展予測におけるIgAクラス抗2-OADC抗体の役割に関する研究

研究協力者 大曲 勝久 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
消化器病態制御学 講師

研究要旨： Western blot 法にて検出される IgA クラス抗 2-oxo-acid dehydrogenase complex (2-OADC)抗体が、原発性胆汁性肝硬変(PBC)の進展予測因子になりうるかを、経時的に保存された 15 例の PBC 患者血清を用いて検討した。その結果、IgA, IgA1, IgA2, secretory IgA クラス抗 2-OADC 抗体はいずれも PBC の組織学的進展と関連はなかった。組織学的ステージ(Scheuer's stage)と IgA2, secretory IgA クラス抗 2-OADC 抗体の出現率とは、いずれも関連はなかったが、IgA クラス抗 2-OADC 抗体は stage 3-4 で 11 例全例が陽性 (stage 1-2 では 20 例中 10 例が陽性) であり、有意に陽性率が高かった ($p=0.0049$)。一方、IgA1 クラス抗 2-OADC 抗体は stage 1-2 で 20 例中 16 例が陽性 (stage 3-4 では 11 例中 4 例が陽性) であり、有意に陽性率が高かった ($p=0.0232$)。以上より、IgA クラス抗 2-OADC 抗体は PBC の進展予測因子とはなり得なかったものの、組織学的進展度との関連が一部の IgA サブクラスの抗体で認められたことより、IgA クラスの抗 2-OADC 抗体は PBC の病態に関与している可能性が示唆された。したがって、これらの抗体の有無により、これまで以上に PBC 患者の病態が把握できる可能性があると考えられた。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変(PBC)に対する画期的な治療法の開発には、まず、的確な診断法の確立とこれまでの治療法では進行を抑えることのできない予後不良群の選別が必要である。われわれは Western blot 法にて検出される IgA クラス抗 2-oxo-acid dehydrogenase complex (2-OADC)抗体が、PBC の進展予測因子になりうるかを、経時的に保存された PBC 患者血清を用いて検討した。

B. 研究方法

1984 年から 2003 年までに国立病院機構長崎医療センターにて PBC と診断され、組織学的進展の有無を確認できた 15 例 (男性 3 例、女性 12 例、年齢 30-68 歳、中央値 48 歳) を対象とした。全例が、診断時、蛍光抗体間接法あるいは ELISA 法による抗ミトコンドリア抗体 (AMA) が陽性で、経過中 2 回以上の肝生検を施行され、かつ生検時に近い時期の保存血清が存在した。観察期間は 14-129 カ月で、中央値は 51 カ月であった。期間中、組織学的に進展した症例は 4 例であった。Western blot 法はウシ心筋ミトコンドリア抗原を抗原に用い、1 次抗体に対象血清、2 次抗体として HRP 標識抗ヒト IgA, IgA1, IgA2, secretory IgA を用いた。発色は ECL 法を用い、74kD の pyruvate dehydrogenase complex (PDC-E2)、52kD

の E3-binding protein (E3BP)、50kD の branched-chain oxo-acid dehydrogenase complex (BCOADC-E2)、46kD の oxo-glutarate dehydrogenase complex (OGDC-E2)、および 41kD の PDC-E1 α に対する抗体を検出した。

C. 研究結果

IgA, IgA1, IgA2, secretory IgA クラス抗 2-OADC 抗体および IgA クラス抗 PDC-E2 抗体はいずれも PBC の組織学的進展と関連はなかった。組織学的ステージ (Scheuer's stage) と IgA2, secretory IgA クラス抗 2-OADC 抗体および IgA クラス抗 PDC-E2 抗体の出現率とは、いずれも関連はなかったが、IgA クラス抗 2-OADC 抗体は stage 3-4 で 11 例全例が陽性 (stage 1-2 では 20 例中 10 例が陽性) であり、有意に陽性率が高かった ($p=0.0049$)。一方、IgA1 クラス抗 2-OADC 抗体は stage 1-2 で 20 例中 16 例が陽性 (stage 3-4 では 11 例中 4 例が陽性) であり、有意に陽性率が高かった ($p=0.0232$)。以上の結果より、これらの抗体は PBC の進展予測因子とはなり得なかったものの、組織学的進展度との関連が一部の IgA サブクラスの抗体で認められた。

D. 考察

われわれはこれまでに、IgA クラス抗 2-OADC 抗

体が組織学的に進行した症例に多く認められ、bile duct loss など PBC に特徴的な組織所見と関連していることを見いだしており、今回これらの IgA 関連抗体が PBC の進展予測因子となりうるかを検討した。その結果、これらの抗体は PBC の進展予測因子とはなり得なかったものの、組織学的進展度との関連が一部の IgA サブクラスの抗体で認められたことより、IgA クラスの抗 2-OADC 抗体は PBC の病態に関与している可能性が示唆された。特に IgA サブクラス (IgA1, IgA2 および secretory IgA) 抗体を検討した報告はこれまでになく、学術的に意義があるとおもわれる。また、組織学的進展度との関連が一部の IgA クラスの抗体で認められたことは、これらの抗体の有無により、これまで以上に PBC 患者の病態が把握できる可能性がある。

今回の結果で、最も注目されるのは、IgA クラス抗 2-OADC 抗体が stage 3-4 で有意に陽性率が高かったのに対し、IgA1 クラス抗 2-OADC 抗体は逆に stage 1-2 で陽性率が高かったことである。血清中の単量体 IgA の約 90% は IgA1 であることから、上記の結果は同じ傾向を示すはずであるのに、矛盾する結果となった。これが PBC の病態にどのような関連があるのか、さらに検討する必要がある。

E. 結論

以上より、IgA クラス抗 2-OADC 抗体は PBC の進展予測因子とはなり得なかったものの、組織学的進展度との関連が一部の IgA サブクラスの抗体で認められたことより、IgA クラスの抗 2-OADC 抗体は PBC の病態に関与している可能性が示唆された。したがって、これらの抗体の有無により、これまで以上に PBC 患者の病態が把握できる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 大曲勝久, 角川淑子, 石原 康他 : 原発性胆汁性肝硬変の経過観察における「MESACUP-2 テストミトコンドリア M2」測定 of 臨床的意義 - 蛍光抗体間接法との比較検討-. 医学と薬学 50 (4) : 543-550, 2003
- 2) 大曲勝久, 大場一生, 角川淑子他 : 日本人の PBC 患者はどれくらいいるのか? 消化器の臨床 8 (2) : 238-244, 2005

- 3) Kadokawa Y, Omagari K, Ohba K, et al. Does the diagnosis of primary biliary cirrhosis or autoimmune cholangitis depend on the "phase" of the disease? Liver Int 25:317-324, 2005

- 4) Omagari K, Kadokawa Y, Nakamura M, et al. IgA class antibodies to 2-oxo-acid dehydrogenase complex are not predictive markers of histopathological progression in primary biliary cirrhosis. Autoimmunity (in press)

2. 学会発表

- 1) 角川淑子, 大曲勝久, 大場一生他 : PBC および AIC 患者における血清学的反応性の経時的変化の検討. 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) なし

PBC の発症、進展に関与する分子の探索

分担研究者 右田 清志 国立病院機構長崎医療センター 病因解析研究部長

研究要旨： PBC の進展に関わる分子を同定する目的で、PBC 患者肝生検組織、血清を用い検討した。その結果、PBC 患者においては、胆管上皮細胞、Periportal hepatocyte の Toll-like receptor-4 (TLR4) の発現が、病期の進行と共に亢進することが判った。更に PBC 患者血清中の、BAFF (B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family)、MMP-3 は健常人に比べ有意に増加しており、病期の進行と共に、増加することが判った。以上の結果より、これら分子は PBC の発症、進展に関与している可能性が示唆され、これらの分子をターゲットとする治療法の開発が期待できる。

A. 研究目的

PBC の画期的治療法を開発する目的で、血清、肝生検組織などの臨床サンプルを用い、PBC の進展に関わる分子を明らかにする。

B. 研究方法

1. PBC 肝生検組織の検討

インフォームドコンセントの得られた PBC 患者の肝生検組織を用い、免疫組織染色法で、リポポリサッカライド (LPS) のリガンドである TLR4 の発現を検討した。

2. PBC 患者血清中のマトリックスメタロプロテアーゼ-3 (MMP-3)、BAFF (B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family) を ELISA 法にて測定した。これら血清マーカーと各種臨床パラメーターとの関連を検討した。

C. 研究結果

1. 正常肝組織の胆管上皮細胞は TLR4 を発現していたが、PBC 肝組織においては、胆管上皮細胞の TLR4 発現は、明らかに亢進していた。更に、PBC 肝組織の、Periportal hepatocyte において、TLR4 の発現が見られ、これら発現は、PBC の病期の進行に比例して増加していた。

2. PBC 患者血清中の、MMP-3、BAFF 濃度は健常人に比べ有意に上昇しており、病期の進行と共に増加することが判った。

D. 考察

PBC の病因と細菌感染の関連は、以前より報告されており、菌体成分により誘起される自然免疫システムが、PBC の発症、進展に密接に関係していることが示唆されている。特に PBC

においては、PBC 患者血清中の LPS に対する抗体の存在、胆汁中の LPS の存在等より、PBC の病態形成における LPS の重要性が指摘されている。今回の検討の結果、LPS のリガンドである TLR4 が、PBC 胆管上皮細胞、肝細胞に強く発現していることより、LPS/TLR4 のシグナルが、PBC の肝組織障害、進展に関与している可能性が示唆された。PBC 患者血清中の BAFF、MMP-3 濃度は、健常人に比べ明らかに上昇していた。BAFF を介した免疫系の活性化、MMP-3 を介した細胞外マトリックスの分解が、PBC の進展に関与していることが考えられた。

E. 結論

1. PBC 肝組織においては TLR4 発現は亢進しており、胆汁中の LPS と TLR4 の interaction が、PBC の発症、進展に関与している可能性が示唆された。

2. PBC 患者血清中の BAFF、MMP-3 の上昇は、PBC の進展のマーカーの 1 つとなり得ることが考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T, Ueki T, Daikoku M, Yano K, Matsumoto T, Migita K, Yatsushashi H, Ito M, Masaki N, Adachi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Saoshiro T, Sodeyama T, Koga M, Shimoda S, Ishibashi H. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical

- parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 42(3):386-392, 2005
- 2) Migita K, Miyazoe S, Maeda Y, Daikoku M, Abiru S, Ueki T, Yano K, Nagaoka S, Matsumoto T, Nakao K, Hamasaki K, Yatsushashi H, Ishibashi H, Eguchi K. Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection--association between TGF-beta1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 42(4):505-510, 2005
- 3) Takii Y, Nakamura M, Ito M, Yokoyama T, Komori A, Shimizu-Yoshida Y, Nakao R, Kusumoto K, Nagaoka S, Yano K, Abiru S, Ueki T, Matsumoto T, Daikoku M, Taniguchi K, Fujioka H, Migita K, Yatsushashi H, Nakashima M, Harada M, Ishibashi H. Enhanced expression of type I interferon and toll-like receptor-3 in primary biliary cirrhosis. *Lab Invest* 85(7):908-920, 2005
- 4) Kogawa H, Migita K, Ito M, Takii Y, Daikoku M, Nakao M, Miyashita T, Kimura H, Ezaki H, Nakamura M, Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Idiopathic portal hypertension associated with systemic sclerosis and Sjogren's syndrome. *Clin Rheumatol* 24(5):544-547, 2005
- 5) Migita K, Maeda Y, Abiru S, Komori A, Yokoyama T, Takii Y, Nakamura M, Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Peroxynitrite-mediated matrix metalloproteinase-2 activation in human hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 579(14):3119-3125, 2005
- 6) Wang AP, Migita K, Ito M, Takii Y, Daikoku M, Yokoyama T, Komori A, Nakamura M, Yatsushashi H, Ishibashi H. Hepatic expression of toll-like receptor 4 in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 25(1):85-91, 2005
- 7) Migita K, Maeda Y, Abiru S, Nakamura M, Komori A, Yokoyama T, Takii Y, Mori T, Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Immunosuppressant FK506 inhibits matrix metalloproteinase-9 induction in TNF-alpha-stimulated human hepatic stellate cells. *Life Sci*(in press)
- 8) Nakamura M, Takii Y, Ito M, Komori A, Yokoyama T, Shimizu-Yoshida Y, Koyabu M, Matsuyama M, Mori T, Kamihira T, Daikoku M, Migita K, Yatsushashi H, Nozaki N, Shimoda S, Ishibashi H. Increased expression of nuclear envelope gp210 antigen in small bile ducts in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 26(2):138-145, 2006
- 9) Abiru S, Migita K, Maeda Y, Daikoku M, Ito M, Ohata K, Nagaoka S, Matsumoto T, Takii Y, Kusumoto K, Nakamura M, Komori A, Yano K, Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 26(1):32-38, 2006
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）**
なし

PBC 進展メカニズムの組織学的解明：胆管消失と線維化について

研究協力者 恒吉 正澄 九州大学大学院医学研究院形態機能病理学 教授

研究要旨： PBC の病態解明や治療法の開発のために PBC 進行症例に対する病理学的解析を行うことは重要である。本研究では生体肝移植に至った 26 例に対して摘出肝を用いた病理形態学的検討を中心として、1) 進行期の PBC のタイプ、2) 胆管障害の程度、3) 肝細胞の膜輸送蛋白 (MRP1, 2, 3) 発現と臨床的特徴とを比較検討した。結果は 1) 進行した移植肝は Non-cirrhotic type (Non-LC, 4 例), Macronodular type LC (Macro-LC, 4 例), Mixed nodular type LC (Mixed LC, 6 例), Micronodular type LC (Micro-LC, 12 例) に分類され、Macro-LC は発症してから移植までの期間が長く、肝萎縮傾向が強く、Non-LC は移植まで短期間であった。2) 残存している肝内胆管を測定した結果、胆管消失の程度は Micro-LC で高度で Macro-LC ではより残存しており、両者では特に 50um 以下の胆管障害の程度に差を認めた。3) 今回検討の PBC の 7 割以上において通常毛細胆管側のみ発現のみられる MRP2 は他の肝細胞膜にも発現し、胆汁うっ滞と関連した。また MRP3 は小葉改築と線維化が高度である micronodular LC, mixed LC で発現が低く、線維化の進行との関連が示唆された。今後も移植肝での形態学的アプローチによる PBC の病態解明の必要があると考えられる。

共同研究者：

相島 慎一 国家公務員共済組合連合会
浜の町病院病理

A. 研究目的

PBC に対する生体肝移植症例が増えている現状で摘出肝を対象とした病理学的研究は十分になされていない。従って肝移植摘出肝における病理形態学的解析によって PBC の病態および進展メカニズムの解明を目的とする。

B. 研究方法

1. 臨床的背景因子を整理する（発症時期、肝生検の Stage、移植までの治療法、症状の変遷、合併症、移植前血清データなど）。
2. 摘出肝重量および摘出肝/標準肝容積比、最大断面の面積測定 (NIH image)、移植例の線維化による分類、組織学的な検討（炎症の程度と分布、線維化の程度、肉芽腫の有無、細胆管反応の程度、Cu 沈着の程度など）。
3. 最大断面のプレパラートにおいて残存している胆管を胆管外径により <50um、50~100um、100~300um に分類し、残存胆管数をカウントした後、最大断面の面積によって残存胆管密度を算出した。
4. 胆汁排泄に関与する肝細胞膜輸送蛋白

(MRP1, 2, 3) の発現に関して免疫組織化学的染色を行い発現強度と分布によって 2 群に分類した。

5. 以上の多数の因子について臨床病理学的な比較検討を行った。

C. 研究結果

1) 移植例は肉眼的、組織学的観察によって、Non-cirrhotic type (Non-LC, 4 例), Macronodular type LC (Macro-LC, 4 例), Mixed nodular type LC (Mixed LC, 6 例), Micronodular type LC (Micro-LC, 12 例) に分類された。Macro-LC は移植時の年齢が高く、発症してから移植までの期間が長く、肝萎縮傾向が強かった。一方 Non-LC は移植まで短期間であった。

2) 胆管障害のレベルについての検討では、残存胆管密度は Macro-LC で高いのに対し Mixed LC や Micro-LC で低く、いずれの胆管レベルでも同様の傾向であった。特に 50um 以下の胆管レベルにおいて Macro-LC と Micro-LC は明らかな胆管密度の差がみられた。また、肝硬変に至っていない Non-LC でも胆管消失が高度にみられた（表 1）。

3) MRP2 蛋白発現は術前の T-bil 値が高く、組織学的な胆汁うっ滞の所見も高度であった。

また MRP3 発現は macro-LC の肝硬変で高いが、micro-LC, mixed LC の肝硬変では低かった。

表 1

Comparison between remnant bile ducts and fibrotic pattern

	No. of remnant bile duct / cm ² of liver section		
	<50um/cm ²	50-100um/cm ²	>100um/cm ²
Fibrotic pattern			
Non-LC (n=4)	0.411 +/- 0.355	0.732 +/- 0.277	0.908 +/- 0.347
Macro-LC (n=4)	0.692 +/- 0.481	0.736 +/- 0.135	0.971 +/- 0.419
Mixed LC (n=6)	0.243 +/- 0.223	0.603 +/- 0.306	0.889 +/- 0.560
Micro-LC (n=12)	0.192 +/- 0.151	0.570 +/- 0.262	0.844 +/- 0.353

D. 考察

移植例に至ったほとんどの症例は UDCA の効果に乏しいか、経過中に自己中断による病態の悪化を背景としていた。移植摘出肝でも 4 例は完成した肝硬変に至っていなかった。しかし胆管障害の程度は肝硬変例とほぼ同等であり、高度の胆汁うっ滞や lobular hepatitis が目立っていた。これら Non-LC 例は発症から移植までの期間が短く、線維化が進行せずとも門脈圧亢進症状や胆汁うっ滞による肝不全に進行する例であると考えられる。

また肉眼的に 5mm 以上の再生結節からなるような Macro-LC 例では移植時の年齢が高く、発症から移植までの期間が長く、摘出肝の萎縮傾向がみられ、その他の肝硬変例に比べ比較的長い経過を要するタイプであることが示唆される。

さらに胆管障害についての検討では、残存胆管密度は Macro-LC で高いのに対し Mixed LC や Micro-LC で低く、いずれの胆管レベルでも同様の傾向であった。つまり胆管障害の程度によって進行した時の肝硬変の形状、つまり再生結節の大きさと線維化の状態が決まると思われ、特に 50um 以下のより小さい胆管障害に左右されることが示された。

進行した PBC の約 7 割以上において通常は毛細胆管側のみ発現のみられる MRP2 は毛細胆管側以外の細胞膜にも発現し、胆汁うっ滞と相関することから、胆汁うっ滞による発現誘導の可能性はある。また MRP3 は小葉改築と線維化が高度である micronodular type, mixed nodular type の肝硬変で発現が弱く、線維化の進行との関連が示唆される。

移植摘出症例には PBC の発症から治療経過を含めて病態の進行メカニズムを解明するための重要な情報が含まれている。同様に移植に至ったかに見える症例でも、実は複雑な病因によって多様な経過をとりうる事が予想される (表 2)。

表 2

Characteristic differences according to the fibrotic pattern of explanted PBC

	non-LC	micro-LC	macro-LC
Frequency	15%	46%	15%
Cirrhotic nodular size	(-)	<3mm	>5mm
Time to LDLT	short	short	long
Liver size	enlarge	enlarge	atrophic
Loss of bile duct	mild to moderate	severe	mild

E. 結論

移植症例の検討で PBC の進行形態は多様であることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

ゲノミクスに基づく難治性自己免疫性肝疾患の病態解析と
診断・治療への応用に関する研究

分担研究者 金子 周一 金沢大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨： 原発性胆汁性肝硬変および自己免疫性肝炎を対象に包括的な発現遺伝子解析を行った。両者における発現遺伝子のプロファイルは明確に異なっていた。また発病の初期および後期における遺伝子発現の解析から原発性胆汁性肝硬変の初期は異なる発現遺伝子プロファイルが得られた。これらの結果を用いることによって早期の原発性胆汁性肝硬変に対する的確で治療に適した診断法を確立できる可能性が示された。またこれら初期に変動する分子群を解析することにより治療の標的を探索することが可能と考えられた。

A. 研究目的

難治性自己免疫性肝疾患である原発性胆汁性肝硬変および自己免疫性肝炎の病態解析に包括的な遺伝子解析（ゲノミクス）の手法を導入する。その結果にもとづいて、自己免疫性肝疾患の病態診断や治療の選択に寄与する診断法の開発を行う基盤研究を行う。

B. 研究方法

本研究は3年計画で行う。初年度は金沢大学において保存されている自己免疫性肝炎および原発性胆汁性肝硬変の症例を用いて、DNAチップによる包括的な発現遺伝子解析を行い、その発現のプロファイルを明らかにする。次年度は、浸潤あるいは集簇したリンパ球および周辺の肝細胞や胆管細胞における遺伝子の発現を明らかにする。研究最終年度は、病態診断や治療の選択に寄与する分子（群）を抽出する。

C. 研究結果

Hierarchical clusteringにおいて、原発性胆汁性肝硬変と自己免疫性肝炎および正常肝臓の発現遺伝子プロファイルは分離された。さらに原発性胆汁性肝硬変では初期と後期の病期によってもプロファイルが分離された。この分類は従来の臨床病理学を用いて診断が困難であった症例においても有効で、治療法の選択に有用であることが示された。

SheuerのI期においては4.4%の遺伝子の発現が亢進し、II-IV期では3.0%の遺伝子が亢進し、また正常肝臓と比して4.7%の遺伝子の発現が低下していた。I期においてはリンパ球やhematopoietic細胞の分化および血管新生に関連する遺伝子の発現が上昇していた。後期において

は接着やストレス反応およびケモカイン遺伝子が上昇していた。

自己免疫性肝炎では、細胞回転やアポトーシスおよびインターフェロン誘導遺伝子の発現が上昇しており、これらの発現は病期の進行とともに亢進していた。これらの結果はRT-PCR法においても確認された。

病態診断や治療の選択に寄与する分子（群）をより正確に同定するため、LCMを用いてCNSDC領域あるいはリンパ球の集簇領域を選択的に採取した。原発性胆汁性肝硬変のリンパ球細胞集団から得られるプロファイルはStage IとStage IIIの相同性が、C型慢性肝炎から得られる相同性よりも高かった。原発性胆汁性肝硬変のCNSDCにおける遺伝子発現は、C型慢性肝炎のリンパ球集簇領域における遺伝子発現と比較すると、interferon- γ , 7, 11などの発現が亢進していた。これらの遺伝子はStage IIIでは低下していた。

自己免疫性肝炎における病期の進行に関与する遺伝子は初期から後期にかけて同様の遺伝子発現が関与していたのに比して、原発性胆汁性肝硬変においては初期と後期において変動する遺伝子が異なっていたことは、原発性胆汁性肝硬変の病期の進展を考える上で重要な成果であった。初期において発現が亢進している遺伝子はCNSDCなどの病理像に代表されるようにリンパ球の集簇に関与しているものであり、原発性胆汁性肝硬変の発症を考え、さらに診断や治療の標的とするには重要と思われた。とりわけ、初期のリンパ球にinterferon γ , interleukin 6 receptor interferon- γ , 7, 11の発現が亢進していた。SAGE法を用いてPBCの詳細な発現遺伝子プロファイルのデータベースを作成した。

D. 考察

包括的な発現遺伝子プロファイル解析により従来の臨床病理学的な診断法よりも正確、かつ治療に適した診断法が確立される可能性が明確に示された。今回の包括的発現遺伝子解析の結果から、発病の初期における遺伝子発現とは進展した病態における遺伝子発現は原発性胆汁性肝硬変において異なり、自己免疫性肝炎と同様であった。この結果から原発性胆汁性肝硬変においては発病初期における変化が疾病成立に重要な役割を演じているものと予想された。その中でも初期に変動する分子（群）のいくつかが明らかとなったことは初期の診断および治療法の開発に重要な知見であると考えられた。

E. 結論

難治性自己免疫性肝疾患である原発性胆汁性肝硬変および自己免疫性肝炎の病態解析に包括的な遺伝子解析（ゲノミクス）の手法を導入し、新たな診断および治療法の開発に重要な分子群を同定した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 発表論文

- 1) M Honda, H Kawai, Y Shirota, T Yamashita, T Takamura and S Kaneko. cDNA microarray analysis of autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis and consecutive disease manifestation. J Autoimmun (in press)
- 2) H Tsuji, K Hiramatsu, H Minato, S Kaneko and Y Nakanuma. Auxiliary partial orthotopic liver transplantation with de novo autoimmune hepatitis in the allograft and leftover primary biliary cirrhosis in the native liver. Semin Liver Dis, 25(3): 371-7, 2005
- 3) M Honda, H Kawai, Y Shirota, T Yamashita, and S Kaneko. Differential gene expression profiles in stage I primary biliary cirrhosis. Am J Gastroenterol 100(9):2019-30, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし

原発性胆汁性肝硬変に対する EBM の導入

分担研究者 西原 利治 高知大学 助教授

研究要旨： マーカーを用いて UDCA 抵抗性例の同定が可能となれば、PBC 治療に益するところである。そこで UDCA 抵抗性を示した症例につき胆管あるいは肝細胞における PPAR- α を介するシグナルの活性化の程度を系統的に検討し、プロテオミクスと分子 imaging という二つの最新技術を駆使して PBC に対する bezafibrate 治療の有効性を担保する遺伝的素因の解明を行った。その結果、bezafibrate に抵抗性を示す PBC に特徴的な遺伝子座を特定した。この素因を克服して、新たな治療法開発に繋がる break through の発見に努めたい。

A. 研究目的

PBC は自己免疫性疾患であるため、当初、免疫抑制剤が第一選択と考えられ、胆管の障害が限定的な症例では胆管病変進行の抑制といった好ましい効果が確認された。しかし、本症は閉経後の中年女性に好発する疾患であり、胆管障害の結果として胆汁の消化管への排泄量が減少するためビタミンDなどの脂溶性ビタミンの吸収が低下するといった骨粗鬆症を来しやすいといった疾患背景も存在する。このため、長期に亙るプレドニンを中心とした免疫抑制剤の使用は、糖尿病のみならず骨粗鬆症による骨折といった重篤な合併症を高率に引き起こすので禁忌とされ、治療法の開発が急務であった。

利胆作用を有する ursodeoxycholic acid (UDCA) は胆管系酵素、例えば ALP や γ -GTP を低減させる効果があるため、今日では本症に対する世界の標準治療と見なされている。UDCA 療法により多くの症例で臨床的効果が得られるものの、一部の症例では改善が小幅に留まり、治療抵抗性を示す症例も観察される。このような症例の多くでは、fibrate 系薬剤の併用で著効が得られることも、近時、明らかにされ、さしもの難治性疾患においても、一步一步予後の改善が進んでいるとの実感を得るに至っている。

そこで、今回の研究事業では、UDCA 抵抗性を示した症例につき胆管あるいは肝細胞における PPAR- α を介するシグナルの活性化の程度を系統的に検討し、fibrate 療法抵抗性例の予知が可能なマーカーの検討を行った。その上で、非侵襲的で客観的かつ再現性と定量性の高い薬効評価法を確立し、EBM の導入に努めた。

B. 研究方法

二つの方法を用いた。第一は bezafibrate 治療によって生じる血清組成の変化を指標とする方法である。UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 抵抗性例 6 例と、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 有効例 6 例について、UDCA+bezafibrate 治療後の血清蛋白質を二次元電気泳動により展開し、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 抵抗性例で低値、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 有効例で高値、あるいはその逆の傾向を示す蛋白 6 種類を同定した。次いで、アミノ酸配列よりこれらの蛋白を同定し、PPRE を有する蛋白の定量を目的とした ELISA を開発した。別の UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 抵抗性例 6 例と、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 有効例 6 例について、このキットを用いて治療前の血清におけるこの蛋白量を測定し、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 有効例の判別が可能か検討を行った。

第二は、Bezafibrate が PPAR- α の ligand であることを念頭に、bezafibrate 治療によって生じる肝臓の機能変化を非観血的に体外計測する方法である。肝臓は肝細胞、胆管上皮細胞、血管内皮細胞、間質細胞のみならず、血液細胞由来の Kuffer 細胞をはじめとする細胞からなる集合体であり、構成する細胞相互間で密な signaling が行われている。このため、Bezafibrate 抵抗性の肝臓では PPAR- α の signal 伝達に何らかの機能低下が存在している可能性が想定され、われわれは PBC に対する bezafibrate 治療の有用性の発見を契機として、PPAR- α signaling pathway の差が治療反応性を規定しているのではないかと考えるに至った。

PPAR- α は多機能性 transcription factor

であり、肝細胞の脂肪酸 β 酸化に関連する一群の遺伝子の転写を促進するのみならず、肝細胞における transporter 機能を亢進させたり、局所における抗炎症作用など高次機能をも誘導する因子である。そこで今回は、PBC における PPAR- α の活性化の度合いを検討する目的で、保険収載の検査法を用いて *in vivo* で肝臓における脂肪酸の β 酸化能を半定量化できる分子 imaging system を開発し、bezafibrate 抵抗性の予知におけるその機能評価の有用性を検討した。即ち、 ^{131}I で標識した長鎖脂肪酸アナログを静脈内投与した後、経時的に肝臓への脂肪酸の取り込みと減衰速度を計測し、肝臓における脂肪酸 β 酸化能の半定量化を行い、PPAR- α signalling の指標とした。

C. 研究結果

【プロテオミクスを指標とする方法】

同定された6種の蛋白の内、2種類に PPRE 様構造が認められ、1種類は PPAR- α との結合が確認された。そこで、この蛋白に対する抗体を作成し、ELISA によるこの蛋白の測定系を確立した。UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 抵抗性例 12 例と、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 有効例 12 例における検討では、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 抵抗性例 6 例が低値、2 例が中等度、4 例が高値を示した。これに対し、UDCA 抵抗性かつ bezafibrate 有効例では 4 例が低値、3 例が中等度、5 例が高値を示した。

【分子イメージングシステムを指標とする方法】

標識した長鎖脂肪酸アナログ投与 1 分後には、標識された長鎖脂肪酸アナログはすでに心腔内に滞留して映して 5 分後には、血中の標識された長鎖脂肪酸アナログ量は激減した。肝臓における血中の標識された長鎖脂肪酸アナログの取り込みは 3-5 分を極値として、以後脂肪酸の β 酸化による消費を反映して漸減した。投与後 5-30 分ではすべての症例で、減衰曲線は直線で近似できた。そこで、この部分のデータを用いて、長鎖脂肪酸アナログの減衰速度を検討したところ、0.2-1.1%/分に分布し、その内の 3 症例は 0.2-0.4%/分と極めて低値を示した。

UDCA 投与では長鎖脂肪酸アナログの代謝速度の改善は得られず、前値と同一の再現性のある検査値を得ることができた。他方、PPAR- α の ligand である bezafibrate を投与すると、長鎖脂肪酸アナログの代謝速度の改善と共に、脂肪肝も明らかな改善を示した。

D. 考察

今回の研究事業では、第一段階として原発性胆汁性肝硬変(PBC)における、胆管あるいは肝細胞における PPAR- α を介するシグナルの活性化の程度を系統的に検討し、原発性胆汁性肝硬変の病態における PPAR- α の役割を明らかにすることであった。症例が検索対象であるため、非侵襲的な検査法が求められている。通常、このような場合には、非進取的な検査法として確立されている血清学的方法と画像診断が用いられる。本研究においては、血清を対象としたプロテオミクスが採用され、key molecule の同定が可能となったが、これは先端技術応用の一例である。この蛋白を同定し、EIA 法による測定系が完成されたが、PBC の予後推定因子としての有用性の検討は未だ道半ばである。

他方、画像診断に用いた手法は最先端技術である分子 imaging の手法の新たな確立であり、非侵襲的に *in vivo* で機能解析が行える画期的な system である。この system の開発を受けて、高知大学知的財産本部は国際特許を申請中である。この技術は標識化合物を置換するだけで、他の標的臓器における *in vivo* での機能評価を可能にする汎用性の高い技術であり、評価に値すると自負している。本検査法は保険収載された物質を用法通りに使用して検査を行っており、データ処理の部分に特許性が存在する。従来、この検査はたくさんの症例に行われ、検査の安全性は保証されているが、今回提唱した理論に基づくデータ収集は従来行われておらず、健常者を含む基礎データの収集が本検査法の PBC における有用性を確立する上で課題となる。

その上で、非侵襲的で客観的かつ再現性と定量性の高い薬効評価法を確立し、EBM の導入に努めたい。

E. 結論

UDCA 治療抵抗性マーカーの同定に成功し、そのキット化を行った。また、分子 imaging を駆使して PBC に対する bezafibrate 治療の有効性を担保する遺伝的素因の解明を行った。その結果、bezafibrate に抵抗性を示す PBC に特徴的な遺伝子座を特定できた。

これらの成果により、bezafibrate 治療を積極的に推進することが望ましい PBC 症例を早期に同定することができるようになった。この成果を基に PBC の大多数症例で、当初から最適化された治療プロトコルを治療に用いることが可能になるため、本疾患の予後改善に寄与

すると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M. Fukumoto, M. Ono, H. Masuda, Y. Ogawa, Y. Nemoto, S. Onishi, T. Saibara. In vivo imaging of fatty acid metabolism in the liver: using semiquantitative ¹²³I-BMIPP liver scan. *Hepatol Res* (in press)

2. 学会発表

- 1) Fukumoto. Et al. Molecular imaging of hepatic fatty acid beta-oxidation in vivo. 3rd Japan Society of Hepatology Single Topic Conference 2004
- 2) T. Saibara, M. Fukumoto, Y. Ogawa, M. Ono, S. Onishi International Symposium on Energy Metabolism and Oxidative Stress in Live Pathophysiology Molecular imaging of fatty acid beta-oxidation in vivo in the liver of patients with nonalcoholic steatohepatitis, 2005
- 3) 小野正文, 増田弘誠, 西原利治: 分子標的イメージングを用いた肝臓の機能解析. シンポジウム, 第47回日本消化器病学会大会. 神戸, 2005. 10. 5-7

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 1件
米国仮出願 60/675, 605
2005. 4. 28 出願, 本出願準備中.

原発性胆汁性肝硬変の予後予測マーカーと分子標的の同定

分担研究者 中村 稔 国立病院機構長崎医療センター 先端技術研究部長

研究要旨： 原発性胆汁性肝硬変の予後予測マーカーと分子標的を同定するために、患者情報、患者血清を用いた国立病院機構肝疾患共同研究と、肝生検組織、培養胆管上皮細胞を用いて分子レベルでの解析を行った。その結果、予後予測マーカーとして抗 gp210 抗体の有用性が明らかとなり、原発性胆汁性肝硬変の画期的治療法の分子標的の候補として gp210 蛋白、interface hepatitis、type1 IFN-TLRs シグナル系が同定された。また、抗 gp210 抗体が、肝不全へ進行する予後不良群の血清マーカーとなることから、抗 gp210 抗体を測定することにより原発性胆汁性肝硬変の前向き治療研究が可能となった。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変の画期的治療法を開発するために、画期的治療が必要な症例の選別、予後予測マーカーの同定、治療の分子標的の同定を行う。

B. 研究方法

①国立病院機構肝疾患共同研究で長期観察されている原発性胆汁性肝硬変患者の経時血清を用いて、肝不全へ進行する予後不良群の血清学的特徴をあきらかにする。

②当センターで過去 24 年間に肝生検された原発性胆汁性肝硬変の病理標本を用いて、肝不全へ進行する症例の病理学的特徴を明らかにする。

③原発性胆汁性肝硬変の凍結肝生検組織の病変局所の遺伝子解析をすることにより、治療の標的となる分子を同定する。

④培養・ヒト肝内胆管上皮細胞を用いて、原発性胆汁性肝硬変の胆管上皮細胞で生じている自然免疫システムの異常を同定する。

以上の知見を統合して、原発性胆汁性肝硬変の画期的治療法の分子標的を同定する。

本研究は、倫理委員会での承認をうけ、インフォームドコンセントを得た後に行った。

C. 研究結果

原発性胆汁性肝硬変患者の中で、現存の治療に抵抗して肝不全へ進行する症例の特徴として、①抗 gp210 抗体が持続陽性であること、②interface hepatitis が強いこと、が明らかとなった。③gp210 抗体の産生機序として、胆管周囲の炎症により胆管上皮細胞の gp210 抗原

の発現が亢進していることが示された。また、④原発性胆汁性肝硬変の病変局所では、type1 IFN-TLRs シグナルの持続活性化のあること、⑤培養胆管上皮細胞には免疫担当細胞とは異なる胆管細胞に特有の自然免疫システムが存在することを見出した。これらの自然免疫システムの調節機構の異常により、胆管細胞障害、胆管周囲の慢性炎症が生じている可能性が示唆された。

D. 考察

原発性胆汁性肝硬変における gp210 抗体の産生機序は未だ明らかではないが、胆管周囲の炎症による gp210 蛋白の発現の増加、それに伴う何らかの抗原提示の異常を介して抗 gp210 抗体が産生されるものと推定された。さらには、gp210 蛋白に対する自己免疫応答が出現、持続する症例が肝不全に進行することから、gp210 蛋白は胆管細胞障害の標的抗原になっている可能性が示唆された。

一方、抗 gp210 抗体陽性の症例では、interface hepatitis の程度が抗 gp210 抗体陰性症例に比し明らかに強いことから、interface hepatitis の発症に gp210 に対する免疫応答が関与していることが推定された。interface hepatitis の強さと肝不全への進行が正に相関することから、interface hepatitis は原発性胆汁性肝硬変の進展に関する重要な病理学的特徴と考えられ、その発症機構を今後さらに詳細に解明する必要がある。

また、原発性胆汁性肝硬変の発症や進展に関わる分子標的として type1 IFN-TLRs シグナル系の関与や、胆管細胞に特有の自然免疫システ

ムの存在とその調節機構の異常が疑われた。病理組織と培養ヒト胆管上皮細胞を用いた自然免疫システムの解析を今後さらにすすめる必要がある。

E. 結論

原発性胆汁性肝硬変の予後予測マーカーと分子標的を同定するために、患者情報、患者血清を用いた国立病院機構肝疾患共同研究と、肝生検組織、培養胆管上皮細胞を用いた分子レベルでの研究を行った。その結果、予後予測マーカーとして抗 gp210 抗体の有用性が明らかとなり、また、gp210 蛋白、interface hepatitis、type1 IFN-TLRs シグナル系が分子標的の候補として同定された。さらには、抗 gp210 抗体が、肝不全へ進行する予後不良群の血清マーカーとなることから、抗 gp210 抗体を測定することにより原発性胆汁性肝硬変の前向き治療研究が可能となった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yokoyama T, Komori A, Nakamura M, Takii Y, Kamihira et al: Human intra-hepatic biliary epithelial cells function in innate immunity by producing IL-6 and IL-8 via the TLR4-NF- κ B and -MAPK signaling pathways. *Liver International*, 2006 (in press)
- 2) Nakamura M, Takii Y, Ito M, Komori A, Yokoyama T et al: Increased expression of nuclear envelope gp210 antigen in small bile ducts in primary biliary cirrhosis. *J. Autoimmunity* 26:138-145, 2006
- 3) Takii Y, Nakamura M, Ito M, Yokoyama T, Komori A et al: Enhanced expression of type I interferon and toll-like receptor-3 in primary biliary cirrhosis. *Lab. Invest* 85:908-920, 2005
- 4) Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T et al: Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J. Hepatology*, 42:386-392, 2005
- 5) Wang A-P, Migita K, Ito M, Takii Y, Daikoku M, Yokoyama T, Komori A, Nakamura M et al. et al: Hepatic expression of

toll-like receptor 4 in primary biliary cirrhosis. *J. Autoimmunity* 25:85-91, 2005

- 6) Kamihira T, Shimoda S, Nakamura M, Yokoyama T, Takii Y, Kawano A et al: Biliary epithelial cells regulate autoreactive T cells: Implications for biliary-specific diseases. *Hepatology* 41:151-159, 2005
 - 7) Migita K, Abiru S, Nakamura M, Komori A, Yoshida Y, Yokoyama T, Daikoku M, Ueki T, Takii Y, Yano K, Yastuhashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Lipopolysaccharide signaling induces serum amyloid A (SAA) synthesis in human hepatocytes in vitro. *FEBS Lett.* 2004, 569(1-3):235-239
 - 8) Kamihira T, Shimoda S, Harada K, Kawano A, Handa M, Baba E, Tsuneyama K, Nakamura M, Ishibashi H, Nakanuma Y, Gershwin ME, Harada M. Distinct costimulation dependent and independent autoreactive T-cell clones in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2003, 125(5):1379-1387
 - 9) 中村 稔, 瀧井 康, 伊東正博, 小森敦正, 右田清志, 大黒 学, 八橋 弘, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における肝病変の局所遺伝子発現の解析. *消化器と免疫* 42, 2006 (in press)
 - 10) 中村 稔: 原発性胆汁性肝硬変における抗核膜(gp210)抗体の意義. *日本臨床免疫学会会誌* 28(3):117-122, 2005
 - 11) 中村 稔: 原発性胆汁性肝硬変の長期予後予測因子. *国立病院機構長崎医療センター医学雑誌* 8:1-4, 2005
 - 12) 中村 稔, 上平幸史, 下田慎治, 石橋大海: 潜在的免疫組織としての肝内胆管系. *肝胆膵* 51(4):517-522, 2005
 - 13) 小森敦正, 中村 稔, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変/原発性硬化性胆管炎. *肝疾患と免疫*, 各務伸一編. 医薬ジャーナル社 133-140, 2005
- ### 2. 学会発表
- 1) 中村 稔, 森 剛志, 瀧井 康, 伊東正博, 小森敦正, 横山照史, 松山睦美, 小藪真紀子, 右田清志, 大黒 学, 八橋 弘, 下田慎治, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における抗核膜抗体の産生機序. 第 35 回日本免疫学会総会, 横浜. 2005. 12. 13
 - 2) Terufumi Yokoyama, Atsumasa Komori, Minoru Nakamura, Yasushi Takii, Takashi

- Kamihira, Tsuyoshi Mori, Shinsuke Fujiwara, Makiko Koyabu, Hiroshi Yatsuhashi, Hiromi Ishibashi. Human intrahepatic biliary epithelial cells function in innate immunity by producing IL-6 and IL-8 via the TLR4-NF- κ B and -MAPK signaling pathways. 第 28 回日本分子生物学学会, 福岡. 2005. 12. 7
- 3) 中村 稔, 森 剛志, 瀧井 康, 小藪真紀子, 横山照史, 小森敦正, 右田清志, 大黒 学, 八橋 弘, 石橋大海: 抗 gp210 抗体と抗セントロメア抗体の組み合わせによる原発性胆汁性肝硬変の高リスク群の同定. 第 33 回日本臨床免疫学会総会, 京都. 2005. 10. 28
 - 4) 中村 稔, 瀧井 康, 伊東正博, 小森敦正, 横山照史, 森 剛志, 小藪真紀子, 松山睦美, 上平幸史, 阿比留正剛, 大黒 学, 松本武浩, 右田清志, 八橋 弘, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における肝病変の局所遺伝子発現の解析, シンポジウム II 慢性肝疾患の病態にせまる免疫学的アプローチ. 第 42 回日本消化器免疫学会, 東京. 2005. 8. 4
 - 5) 中村 稔, 瀧井 康, 小森敦正, 横山照史, 伊東正博, 大黒 学, 阿比留正剛, 上平幸史, 長岡進矢, 大畑一幸, 楠本浩一郎, 矢野公士, 松本武浩, 藤岡ひかる, 右田清志, 吉田由紀, 下田慎治, 八橋 弘, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における gp210 蛋白の発現の解析. 第 41 回日本肝臓学会総会, 大阪. 2005. 6. 16
 - 6) 瀧井 康, 中村 稔, 伊東正博, 小森敦正, 横山照史, 中尾瑠美子, 楠本浩一郎, 長岡進矢, 大畑一幸, 矢野公士, 阿比留正剛, 松本武浩, 大黒 学, 右田清志, 藤岡ひかる, 八橋 弘, 原田実根, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における Toll-like receptors と type1 IFN についての解析. 第 41 回日本肝臓学会総会, 大阪. 2005. 6. 16
 - 7) 小森敦正, 横山照史, 瀧井康, 上平幸史, 下田慎治, 中村稔, 藤岡ひかる, 石橋大海: 培養ヒト肝内胆管細胞における遺伝子発現パターンの多用性. 第 41 回日本肝臓学会総会, 2005. 6. 17, 大阪
 - 8) Nakamura M, Takii Y, Ito M, Komori A, Shimoda S et al. Increased expression of nuclear envelope gp210 antigen in small bile ducts in primary biliary cirrhosis. AASLD Abstract #683, November 13, 2005. San Francisco
 - 9) Nakamura M, Takii Y, Mori T, Komori A, Yokoyama T et al. Anti-gp210 antibody in combination with anti-centromere antibody may identify PBC patients who are at high risk for end-stage hepatic failure. AASLD Abstract #678, November 13, 2005. San Francisco
 - 10) 横山照史, 小森敦正, 瀧井 康, 中村 稔, 上平幸史, 下田慎治, 石橋大海: ヒト培養胆管上皮細胞における Toll-like receptor (TLR) を介した細胞内シグナル伝達. 第 34 回日本免疫学会総会, 札幌. 2004. 12. 1
 - 11) 王 愛平, 右田清志, 瀧井 康, 中村 稔, 横山照史, 小森敦正, 石橋大海: PBC 肝組織における Toll-like-receptor 4 (TLR4) の発現. 第 34 回日本免疫学会総会, 札幌. 2004. 12. 1
 - 12) 中村 稔, 瀧井 康, 小森敦正, 横山照史, 大黒 学, 矢野公士, 八橋 弘, 下田慎治, 吉田由紀, 右田清志, 伊東正博, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における抗核膜 (gp210) 抗体の産生機序の解析. 第 34 回日本免疫学会総会, 札幌. 2004. 12. 1
 - 13) 瀧井 康, 中村 稔, 伊東正博, 小森敦正, 横山照史, 中尾瑠美子, 阿比留正剛, 矢野公士, 大黒 学, 右田清志, 八橋 弘, 原田実根, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における門脈域および肝実質のサイトカイン, Toll-like receptor (TLR) の遺伝子発現解析. 第 34 回日本免疫学会総会, 札幌. 2004. 12. 1
 - 14) 中村 稔, 大黒 学, 伊東正博: 原発性胆汁性肝硬変の長期予後予測因子の検討. パネルディスカッション 3, 自己免疫性肝疾患の長期経過と治療による修飾. 第 12 回日本消化器関連学会 (DDW), 福岡. 2004. 10. 21
 - 15) 下田慎治, 上平幸史, 半田瑞樹, 中村 稔, 石橋大海: PBC 患者あるいは健常者から樹立される自己抗原反応性 T 細胞クローンの性質の比較検討. 第 40 回日本肝臓学会総会, 東京. 2004. 6. 3
 - 16) 右田清志, 阿比留正剛, 中村 稔, 小森敦正, 大黒 学, 吉田由紀, 横山照史, 瀧井 康, 松本武浩, 植木俊仁, 矢野公士, 八橋 弘, 石橋大海: ヒト肝細胞における Toll-like receptor 4 (TLR4) の発現. 第 40 回日本肝臓学会総会, 東京. 2004. 6. 3
 - 17) 小森敦正, 横山照史, 瀧井 康, 吉田由紀, 中村 稔, 上平幸史, 下田慎治, 八橋 弘, 石橋大海: 自然免疫刺激により発現誘導される胆管上皮細胞由来ケモカイン, サイトカインの解析. 第 40 回日本肝臓学会総会, 東京. 2004. 6. 3
 - 18) 上平幸史, 下田慎治, 中村 稔, 横山照史, 半

- 田瑞樹, 石橋大海: PD1 リガンド・プロスタグランدين E2 を介したヒト肝内胆管上皮細胞 (HIBEC) の T 細胞に対する抑制作用. 第 40 回日本肝臓学会総会, 東京. 2004. 6, 3
- 19) 瀧井康, 中村 稔, 横山照史, 吉田由紀, 小森敦正, 大黒 学, 伊東正博, 八橋 弘, 原田実根, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変症例における門脈域, 肝実質別サイトカインおよび Toll-like receptor (TLR) 遺伝子発現の解析. 第 40 回日本肝臓学会総会, 東京. 2004. 6, 3
- 20) 中村 稔, 吉田由紀, 下田慎治, 瀧井 康, 横山照史, 小森敦正, 植木俊仁, 大黒学, 右田清志, 八橋 弘, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における抗 gp210 蛋白抗体の臨床的意義. 第 40 回日本肝臓学会総会, 東京. 2004. 6, 3
- 21) 中村 稔, 瀧井 康, 小森敦正, 横山照史, 吉田由紀, 下田慎治, 大黒 学, 植木俊仁, 矢野公士, 右田清志, 八橋 弘, 伊東正博, 石橋大海: 抗 gp210 抗体価による原発性胆汁性肝硬変の予後予測. 第 32 回日本臨床免疫学会総会, 東京. 2004. 10. 8-9
- 22) Komori A, Yokoyama T, Takii Y, Nakamura M, Shimoda S et al: Innate immune responses in human intrahepatic biliary epithelial cells via Toll-like receptors. AASLD Abstract #597, October 31, 2004. Boston
- 23) Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T et al: Anti-gp210 antibody titers as a clinical parameter that predicts the long-term outcome of primary biliary cirrhosis under ursodeoxycholic acid treatment. AASLD Abstract #679, October 31, 2004. Boston
- 24) 横山照史, 小森敦正, 瀧井 康, 吉田由紀, 中村 稔, 上平幸史, 下田慎治, 右田清志, 八橋 弘, 石橋大海: ヒト初代培養胆管上皮細胞における Toll-like receptor (TLR) の発現とその機能解析. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡. 2003. 12. 8-10
- 25) 吉田由紀, 中村 稔, 瀧井 康, 下田慎治, 小森敦正, 横山照史, 大黒 学, 植木俊仁, 右田清志, 八橋 弘, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変における抗 gp210 抗体の産生機序. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡. 2003. 12. 8-10
- 26) 瀧井 康, 中村 稔, 横山照史, 吉田由紀, 小森敦正, 伊東正博, 八橋 弘, 原田実根, 石橋大海: Laser Capture Microdissection を用いた原発性胆汁性肝硬変の門脈域サイトカイン遺伝子発現の解析. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡. 2003. 12. 8-10
- 27) 上平幸史, 下田慎治, 中村 稔, 河野 聡, 半田瑞樹, 石橋大海, 林田一洋: 原発性胆汁性肝硬変における CD28 陰性 CD4 陽性 T 細胞の頻度および同 T 細胞の胆管上皮との相互作用について. 第 39 回日本肝臓学会総会, 福岡. 2003. 5. 22-23
- 28) 上平幸史, 下田慎治, 中村 稔, 河野 聡, 半田瑞樹, 石橋大海, 林田一洋: 原発性胆汁性肝硬変における CD4+CD25+ regulatory T cell の検討. 第 39 回日本肝臓学会総会, 福岡. 2003. 5. 22-23
- 29) 下田慎治, 上平幸史, 河野 聡, 半田瑞樹, 中村 稔, 石橋大海: 原発性胆汁性肝硬変の自己抗原反応性 T 細胞の CD28 分子発現について. 第 39 回日本肝臓学会総会, 福岡. 2003. 5. 22-23
- 30) 上平幸史, 下田慎治, 中村 稔, 河野 聡, 半田瑞樹, 石橋大海, 林田一洋: ヒト肝内胆管上皮細胞 (HIBEC) の T 細胞に対する抑制作用. 第 39 回日本肝臓学会総会, 福岡. 2003. 5. 22-23

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
なし