

200731025B

厚生労働科学研究費補助金（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

平成17～19年度 総合研究報告書

平成20(2008)年4月

主任研究者 大西 三朗

目 次

I. 総合研究報告

1. 難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究 1
高知大学医学部 消化器内科学 大西 三朗

II. 分担研究総合研究報告

1. 自己免疫性肝炎に関する研究 5
昭和大学医学部 第二内科 井廻 道夫
2. 原発性胆汁性肝硬変に関する研究 7
高知大学医学部 消化器内科学 大西 三朗
3. 劇症肝炎に関する研究 10
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻人間環境学 消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 13

IV. 資 料

1. 第13回PBC全国調査 17
2. 原因不明の硬化性胆管炎の分類と治療の指針 22
3. 劇症肝炎, LOHFの全国調査(2006年) 24

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

総合研究報告書

難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究

主任研究者 大西 三朗 高知大学医学部 消化器内科学 教授

研究要旨: 自己免疫性肝炎(AIH)では原発性胆汁性肝硬変との鑑別診断の7因子(臨床検査と肝組織所見)ロジスティックモデル, 3因子(臨床検査のみ)ロジスティックモデルの有用性を検証した。UDCA投与が軽度肝障害には単独で有効であり, また維持療法におけるプレドニソロン減量に有用である。AIHの再燃に関与する臨床/病理所見, およびステロイド抵抗性とリンパ球のABCトランスポーターP糖蛋白との関連が報告された。全染色体領域のマイクロサテライト解析により, AIHの疾患感受性7マーカー, および疾患抵抗性17マーカーが同定された。病態に関与するTreg細胞とTh17細胞の動態と, FoxP3とCOX-2の遺伝子多型が報告された。小児AIHの発生率は約10例/年と推測され, 臨床像が成人例と異なるために, 独自の診療指針を作る必要がある。

原発性胆汁性肝硬変(PBC)の第13回全国調査では, 無症候性と症候性PBCの10年生存率は各々92.9%, 64.8%, 肝細胞癌の15年累積発癌率は約4.7%であった。6種類の病理所見を用いた新しいPBCの病期および活動度分類が提案された。予後因子として抗gp210抗体とMDR遺伝子多型の意義が新たに報告され, 更に検証する。病態に関与する自然免疫, T細胞免疫およびトランスポーターの研究が格段に発展した。

原発性硬化性胆管炎(PSC)は「特定疾患の疫学に関する研究班」との全国調査により, 患者数は約1,200人と推定された。「難治性膵疾患に関する調査研究」班とのWGはPSCと自己免疫性膵炎に合併する胆管狭窄との鑑別診断指針を発表し, わが国独自のPSCの診断基準を作成する基盤が出来た。

劇症肝炎(FH)では全国調査が毎年実施され, 成因, 救命率, および生体部分肝移植成績について, 年次推移の解析が報告された。亜急性例の救命率は依然として不良であり, 免疫抑制剤, 抗がん剤治療によるHBV reactivationに注意を喚起した。「特定疾患の疫学に関する研究班」との共同全国調査(2003-2006)でのFH 702例の解析結果と, 小児急性肝不全の治療ガイドラインの作成状況が報告された。WG1から劇症肝炎の概念の改変についての現況, 肝移植適応ガイドラインの改訂が報告された。データマイニング解析による予後予測アルゴリズムも作成された。WG2はB型肝炎ウイルスキャリアの劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性を評価する臨床試験プロトコルを作成した。肝炎重症化の規定要因について, 急性肝不全モデルでの研究, FHの患者血清を用いた研究が報告され, 劇症化を予測する東北グループの予知式の妥当性が検証された。再生医療ではスーパー肝細胞の樹立, 骨髄細胞の移植成績と, 組換えヒトHGFの第I/II相臨床試験の進捗が報告された。

分担研究者

井廻 道夫 昭和大学医学部 第二内科
小俣 政男 東京大学大学院医学系研究科
消化器内科学
杉山 雄一 東京大学大学院薬学系研究科
分子薬物動態学
滝川 一 帝京大学医学部 内科
坪内 博仁 鹿児島大学大学院医歯総合研究科健康科学専攻
人間環境学講座 消化器疾患・生活習慣病学
中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科
形態機能病理学
幕内 雅敏 日本赤十字社医療センター
松井 陽 国立成育医療センター

A. 研究目的

難治性の肝・胆道疾患である自己免疫性肝炎(AIH), 原発性胆汁性肝硬変(PBC), 原発性硬化性胆管炎(PSC)および劇症肝炎(FH)について, わが国における実態調査をもとに, 適正な診断基準を策定し, 且

つ発症機序の研究を通じて, 肝硬変への進展を阻止する新しい薬剤治療法の開発, かつ終末病期での肝移植に替わりうる再生医療の臨床応用を行う。国民の健康福祉の向上と医療経済の効率化への貢献を目的とする。

B. 研究方法

①それぞれの疾患の実態について全国調査を継続し, 成果に基づき, より適切な診断基準, 治療方策を明らかにする。②臨床症例, 疾患モデルを用いて病態解析に関する基礎的研究を行い, 新しい治療法の開発に資する。

(倫理面への配慮)

上記の研究の遂行においては, インフォームドコンセントに基づき, 患者の人権擁護を尊重し, 個人情報秘匿については, 定められた倫理指針, 倫理規定を遵守する。実験動物については, 動物愛護の精神を尊重し, 各施設の倫理委員会の承認を得て, 実験動物ガイドラインに沿って行う。

C. 研究結果および D. 考察

自己免疫性肝炎 (AIH)

疫学調査：全国調査で小児AIHの発生率は約10例/年と推測された。小児期発症PSCでは病初期に自己免疫現象が出現し、AIHとの鑑別が困難なることがある。よって、小児の自己免疫性肝疾患は成人例と異なる独自の診療指針を作る必要がある。

診断・治療：2003年の全国調査で登録された自己免疫性肝炎症例と非自己免疫性肝炎症例を用いて作成した7因子ロジスティックモデル（血清ALP/基準上限値比、血清ALT値、抗ミトコンドリア抗体、肝生検組織における胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉性肝炎）、およびこのモデルから肝組織所見を除いた3因子ロジスティックモデルの診断有用性を新規症例を対象に検証した。3因子モデルは7因子モデルと共に高い診断能であり、更にロジスティックモデルの係数により重み付けしたスコア加算システムはAIHとPBCの鑑別に有用である。AIHの再燃に発症年齢、治療初期の肝組織所見が関るなどが報告された。治療ではステロイド抵抗性とリンパ球のABCトランスポーターP糖蛋白との関連、アザチオプリンの骨髄抑制にはアザチオプリンの代謝酵素であるthiopurine-S methyltransferaseの遺伝子多型との関連が報告された。治療薬の選択と副作用について有用な知見である。

免疫調節：AIHはウイルス性肝炎に比して、制御性T細胞のマスター遺伝子であるFoxP3遺伝子多型には有意差はないが、炎症に関わるCOX-2遺伝子の多型-1265Gが有意に多い。発症に制御性T細胞とTh17細胞の動態が関与する事が免疫染色で示された。

遺伝因子：全染色体領域のマикроサテライト解析により7ヶ所の疾患感受性マーカー、および17ヶ所の疾患抵抗性マーカーが同定された。免疫調節に関与するCD45のC77G遺伝子多型は、欧米と異なり、日本人のAIHでは健常者との間に差は認めなかった。

原発性胆汁性肝硬変 (PBC)：

疫学調査：2007年の第13回全国調査（新規954例、総登録6,676例）では、治療薬剤はUDCA単独が61.6%、UDCAとBezafibrate 併用が14.8%であり、併用例の増加が見られた。無症候性PBCと症候性PBCの10年生存率は各々92.9%、64.8%であり、症候性PBCの予後は前回調査より、やや改善が見られるが、診断基準の改定を反映していると考えられた。HCCの発症は組織学的病期進展例で有意に高く、15年の累積発症率は約4.7%であった。肝移植103例の5年、10年の生存率は77%、72%であった。QOLについて、本邦初の多施設共同研究が実施され、症候性を規定する疲労のみを症状とする症例が存在する可能性が示された。

予後予測：抗gp210抗体が高値持続例は黄疸を呈する肝不全型に移行しやすく、予後予測に有用である事が報告され、今後、研究班でその臨床的意義を検討する。PBC重症化とMDR3遺伝子多型（rs31658, rs31672, rs1149222）との相関が初めて示された。治療前に確率の高い予後予測が可能になれば、効果的な治

療により、生命予後の改善が期待される。予後不良因子である門脈圧亢進症の簡便な診断に、CT画像による肝容積 (LV)/脾容積 (SV) の測定が有用である。胆汁酸の腸肝循環に関わるOATP, PEMT, FXRの遺伝的多型はコントロールと有意差は認めなかった。

診断・治療：6種類の病変を半定量的に評価する新しいPBCの病期および活動度分類を提案され、国際的な評価が注目される。本邦から発信のBezafibrateとUDCAの併用療法の生化学的有効性をHepato Resに掲載した。今後、長期治療例を集積し、組織学的改善と生存予後を検討する。

病因：PBCの末梢血では、PDC-E2由来のHLA-A結合性ペプチド刺激により、IFN- γ 産生単核細胞の増加傾向が認められた。マウスのモデル抗原を用いて、組織抗原特異的CTLの血管から組織へ浸潤する分子メカニズムが示された。自己免疫、癌免疫の病態、治療における新しい知見である。PBC患者から樹立した、側副刺激依存性に反応するPDC-E2特異的T細胞クローンを側副刺激分子を欠く条件で、PDC-E2の変異抗原を用いて刺激すると、アナジーが誘導され、負の免疫調節能を有するT細胞に変換し得る。自己免疫性胃炎の動物モデルを用いて、制御性樹状細胞が自己免疫性疾患の治療に有用である可能性も示された。これらの知見は自己免疫疾患の免疫学的治療への応用が期待される。

病態：1) 自然免疫：胆管細胞は自然免疫応答を介してTh1細胞の誘導/維持をするサイトカイン（IL-1 β , IL-6, IL-23）を産生し、胆管周囲に浸潤するTh17細胞の分化、誘導に関与する。TLRのリガンドであるCpG DNAの結合蛋白質として新たにヌクレオリンが同定された。J774細胞を用いて、ヌクレオリンとCpG DNAの共局在が免疫染色により証明された。PBCの病態に胆管細胞がinnate immunityの一員として関与する事がより明らかになった。2) トランスポーター：PBCの肝組織について、コレステロール代謝に関連する遺伝子群、胆汁酸生合成・分泌に関連する遺伝子群、リン脂質分泌に関連するMDR3遺伝子の発現が系統的に解析され、肝細胞内コレステロールは貯留の方向にあるが、胆汁酸の生合成・分泌は変化がなく、MDRを介したリン脂質の胆汁中への分泌は亢進している事が示された。PBCの肝組織では、胆汁酸のトランスポーター（NTCP, FXR, CYP7A1, BSEPなど）のmRNA発現はいずれも増加するが、進行症例ではCYP7A1 mRNAの発現低下が見られた。PBCは進行例でも、胆汁酸の取り込み、排泄に関わるトランスポーターの発現は保たれ、胆汁うっ滞に対する防御機構が作動している事を示唆する成績と考えられる。この3年間の研究により、この方面の研究は格段に進展した。

探索的研究：肝細胞内から胆汁中への胆汁酸排泄を担うBSEPが4-phenylbutyrate (4PBA) 処理により、毛細胆管側膜上に増加する機序には、細胞膜上からのBSEP分解を抑制が関る。ヒトのin vivoにおける核内セプター活性を反応産物の測定により推定する方法が報告された。これらの研究成果は胆汁うっ滞に対する創

薬への応用が期待される。インターフェロン γ により誘導される新規バイオマーカー、Annexin A2が胆汁のpHなどの制御に関与する可能性が示された。末梢血単核球の遺伝子発現プロファイルの階層クラスター解析により、PBCではミトコンドリア酸化的リン酸化、プロテアソーム、カスパーゼ、IL-10、IL-18、上皮間葉移行、TCAサイクルに関わるパスウェイの活性化が認められた。

原発性硬化性胆管炎 (PSC) :

疫学調査：「特定疾患の疫学に関する研究班」との全国疫学調査により、PSC患者総数は1,211人（男性513人、女性698人）と推定された。稀少疾患として疫学調査を継続する。

診断：アンケート調査により、わが国のPSCにはPSCに類似する自己免疫性膵炎（AIP）に合併する肝内胆管狭窄症例が混在する可能性がある。わが国独自の診断基準作成を目指し、研究最終年度に厚労省「難治性膵疾患に関する調査研究」班との共同WGは両者の鑑別診断指針を作成した。

病態：WB法を用いて、好中球の細胞質から抽出した50kD蛋白に対するp-ANCA抗体がPSC症例の3分の1に検出された。臨床診断への応用が期待される。若年発症と高齢発症の両群間では臨床病態に差異が見られた。

肝移植：PSCに対する生体部分肝移植の成績は、欧米での脳死肝移植の成績に比し、不良である事が初めて報告され、移植後の再発とグラフト不全に関与する因子も示された。PSCでは脳死肝移植を優先的に選択する必要性を示唆する成績と考えられる。

劇症肝炎 (FH) :

疫学調査：2005-2007年度に劇症肝炎・LOHFの全国調査を実施し、その患者背景、臨床像、予後および治療法を解析した。急性型は男性、亜急性型は女性が多く、平均年齢は亜急性型が急性型よりやや高齢であり、生活習慣病などの基礎疾患、薬物歴を有する症例の割合は高率であった。成因はウイルス性が全体の40～50%、成因不明例が20～30%、薬物性が2006年度以降は約10%程度を占め、自己免疫性例は急性型、亜急性型とも増加傾向にあり、H19年度は全体の15%を占めた。肝移植非実施症例における救命率は急性型が約50%であるが、亜急性型は依然として予後不良であった。肝移植実施例は急性型の10～20%、亜急性型の20～30%台を占め、これらも含めた救命率は、急性型は約60%、亜急性型はH17、18年度が40%台、H19年度が31%であった。成因と予後との関連では、B型キャリア6例からの発症は救命例がなく、免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化、いわゆるde novo B型肝炎に注意を要する。

「特定疾患の疫学に関する研究班」との共同全国疫学調査では、平成15～18年度に劇症肝炎702例が登録され、本研究班の全国調査と比べ、男女比や移植率などが異なるが、調査対象の違いを反映しているものと

考えられた。小児急性肝不全の全国調査を実施し、データベースを用いて治療ガイドラインの作成準備状況が報告された。

ワーキンググループ (WG) の活動報告：研究班は初年度からFHの概念/定義、肝移植適応ガイドライン、標準治療ガイドラインの作成を目的に、2つのWG立ち上げた。WG1から、わが国の診断基準であるプロトロンビン時間 (PT) のINR表記への標準化と、劇症肝炎、急性肝不全の概念の改変作業の状況が報告されたが、結論を出すに至っていない。1998～2003年に発症したFH、LOHFのうち肝移植非実施例の556例（救命208例、死亡348例）を対象に解析し、新しい肝移植適応ガイドラインを作成した。多変量解析により抽出した6つの指標（①発症から昏睡までの日数、②PT (%), ③総ビリルビン濃度 (mg/dl)、④直接/総ビリルビン濃度比、⑤血小板数、⑥肝萎縮の有無) のスコア合計点が5点以上の場合を死亡予測として肝移植を推奨している。システムの正診率は74%と向上した。データマイニングの手法を用い、予後予測アルゴリズムを作成した。WG2は、劇症化すれば極めて予後不良であるHBVキャリアからの重症肝炎の予後の改善を目指して、早期免疫抑制療法の有効性を評価する臨床試験プロトコルを作成した。臨床試験は倫理委員会で承認後、開始される。2つのWGはかなりの成果を挙げることが出来た。

肝炎劇症化の予知：岩手医大グループは劇症化予知式に基づいた搬送基準、特殊治療開始基準のプロスペクティブ研究 (2004.8-2007.12) で判別効率は良好であり、予後には合併症の評価が必要と報告した。劇症肝炎に対する生体肝移植後、経時的に採取した血清サンプルを用いて、プロテオーム解析による劇症肝炎発症マーカーの探索結果も報告された。

病因：急性肝不全モデルでは異常行動の出現時に脳内の興奮性アミノ酸の上昇とastrocyteの形態変化が認められた。アディポネクチン欠損マウスでは、70%部分肝切除後に見られる肝再生の遅延に脂肪酸 β 酸化の障害によるATP産生低下が関与している可能性がある。DMN急性肝不全モデルでは、G-CSFの投与により誘導されるIL-1が重要な肝再生抑制因子である。いずれも、新しい知見である。

治療：B型FH、および与芝の予知式により劇症化が予測されたB型重症肝炎に対するIFNとラミブジン併用投与は急性感染例、キャリア例ともに、IFN単独投与群に比して、生存率に有意差はなかった。先述の早期免疫抑制療法の結果に期待したい。生体部分肝移植は2006年には急性型19%、亜急性型33%に実施され、救命率は急性型86%、亜急性型67%であった。幕内分担研究者は生体部分肝移植を施行した劇症肝炎36例を対象に、適応と治療成績を報告した。術前の予後予測では36例中29例は死亡または肝移植適応と判断され、移植後の平均観察期間49ヶ月の累積生存率は91%であった。

新規治療法の開発：HNF-4遺伝子を導入したスーパー肝細胞株の樹立、非代償性肝硬変に対する骨髓細

胞移植の治療成績が報告された。医師主導治験による組換えヒトHGFの第I/II相臨床試験がコホート1(4例)の安全性が確認され、コホート2への移行が承認された。わが国では肝移植のドナー不足が深刻であり、肝移植に替わりうる新しい肝再生療法が求められており、これらの研究の成果が期待される。

E. 結 論

目標達成度

目標：班研究の初年度に以下に述べる目標を掲げた。

疫学調査・診断基準：1) 小児AIHの実態について全国調査、2) PSCの実態について全国調査、3) PBCの実態について全国調査、4) PBCの分子疫学、5) 無症候性PBCの進展に関わる遺伝子のSNP解析。6) FHの一部には抗核抗体陰性のAIH急性発症が存在する。この群の診断基準を作成する。7) 肝移植後の予後調査、移植適応基準の見直し。

治療法の開発：肝移植に依存しない治療法の開発に取り組む。

1) 肝再生医療の臨床応用に関する研究。疾患モデルを用いた病態解析。

2) 薬剤治療法：① AIHに対するUDCAの効果、② PBCに対するベザフィブラートの効果、③ B型FHに対するラミブジンなどの効果に関する試験研究。

達成度：疫学調査(疫学班との共同調査)・診断基準については、1) 小児AIHの全国調査により、年間約10例の新規発症がある。小児独自の診断基準と、ステロイド剤の長期投与による骨成長の抑制を回避する治療法を開発する必要性を示した。AIHとPBCの鑑別診断に有用な7因子ロジスティックモデル、およびより簡便な3因子ロジスティックモデルを報告した。2) PSCの全国調査により、症例総数は約1,200例である。PSCと自己免疫性膵炎に合併する肝内胆管狭窄との鑑別診断指針を作成した。3) PBCの第13回全国調査を実施した。QOLについて、本邦初の多施設共同研究が実施した。新しいPBCの病期および活動度分類を提案した。4) PBCの遺伝素因についてはトランスポーターのSNP解析の結果を報告した。5) PBCの進展予測に抗gp210抗体とMDR3のSNPが有用である事を報告した。6) FHの全国調査を実施し、背景/成因、臨床像、予後および治療法を解析した。小児急性肝不全の全国調査を初めて実施した。初年度からFHの概念/定義、肝移植適応ガイドライン、標準治療ガイドラインの作成を目的に、2つのWG立ち上げた。7) WG1は新しい肝移植適応ガイドラインと、データマイニングの手法を用い、予後予測アルゴリズムを作成した。

治療法の開発については、1) スーパー肝細胞株の樹立、非代償性肝硬変に対する骨髄細胞移植の治療成績を報告した。組換えヒトHGFの第I/II相臨床試験の進捗状況を報告した。2) 薬剤治療法：① 軽症AIHはUDCA単独で治療できる。ステロイド抵抗性とリンパ球のABCトランスポーターP糖蛋白との関連、アザチオプリンの副作用である骨髄抑制とアザチオプリン代

謝酵素のSNPとの関連を報告した。② 本邦から発信のベザフィブラートとUDCAの併用療法の生化学的有効性をHepato Resに掲載した。今後、長期治療例を集積し、組織学的改善と生存予後を検討する。③ FHのWG2はHBVキャリアからの重症肝炎の予後改善を目指して、早期免疫抑制療法の有効性を評価する臨床試験プロトコールを作成した。

今後の展望と課題：小児の難治性の肝・胆道疾患の疫学、治療法の研究は緒に就いたばかりであり、班研究の継続課題である。PBCの患者数の実態は掌握が不十分であり、今後も疫学班との共同調査が必要である。無症候性PBCの予後予測に抗gp210抗体などの有用性を班研究として検証する。PBCに対するUDCAおよびBF併用療法の病理学的改善、予後の改善を検証する。PSCは本年度、作成したAIPの胆管狭窄との鑑別診断指針を足がかりにして、わが国独自の診断基準を作成する。FHは概念/定義の見直しを継続し、WGで作成した新しい肝移植適応ガイドラインと、予後予測アルゴリズムの有用性を検証する。HBVキャリアからの重症肝炎の予後改善を目指して、早期免疫抑制療法の有効性を評価する臨床試験プロトコールを実施する。

研究班の当初の研究目標はほぼ達成することが出来たが、なお未解決の課題が残され、また新しい研究課題も提起された。今後も、難治性の肝・胆道疾患の全国調査を継続し、より適正な診断基準の策定、発症機序の研究を行い、新しい薬剤治療法の開発、かつ終末期での肝移植に替わりうる再生医療の臨床応用を行う事が、国民の健康福祉の向上と医療経済の効率化に貢献できると考える。

II. 分担研究総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

自己免疫性肝炎に関する調査研究

分担研究者 井廻 道夫 昭和大学医学部 第二内科 教授

要約

研究の目的は自己免疫性肝炎（AIH）の実態を明らかにすると共に、その病因、発症機序を解明し、簡便な診断法の確立、治療指針の作成、小児症例の診療指針作成に向けた検討を行うことである。小児の自己免疫性肝炎の発生率は約10例/年と推測され、原発性硬化性胆管炎を合併する症例も存在し、成人発症の自己免疫性肝炎と比較し難治重症例も少なくなく、小児の自己免疫性肝炎に対する診療指針を作る必要がある。成人における自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変の鑑別には、血清ALP/基準上限値比、血清ALT値、抗ミトコンドリア抗体、肝生検組織における胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉性肝炎からなる7因子ロジスティックモデル、肝生検組織所見を除いた3因子ロジスティックモデル、ロジスティックモデルの係数により重み付けした7因子スコア加算システム、3因子スコア加算システムは、いずれもウイルス肝炎が否定される場合に有用である。小児の原発性硬化性胆管炎は病初期には自己免疫性肝炎との鑑別が困難なことがある。しかし、潰瘍性大腸炎の合併頻度が高く、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、IgE高値、好酸球増多がみられる場合は原発性硬化性胆管炎がより疑われる。治療においては、軽度肝障害症例（血清AST値が基準値上限の5倍未満）に対してはウルソデオキシコール酸単独療法（600mg/日）が可能であり、プレドニソロン10mg/日による維持療法の症例では、ほとんどの症例でウルソデオキシコール酸（600mg/日）併用によりプレドニソロンを5mg/日に減量できると考えられる。治療における寛解期の組織像から治療中止後の再燃を予測することは困難であるが、ALT値が20IU/l以下に維持できた症例ではステロイド治療を再燃無く中止できる可能性があり、発症年齢が若年であるほど（40歳以下）、治療初期の肝組織所見でinterface hepatitisが強いほど早期に再燃しやすく、反対に小葉炎が強いほど再燃しにくい傾向が見られる。時にプレドニソロンと併用されるアザチオプリンは稀に骨髄抑制を生じるが、thiopurine-S methyltransferaseの変異遺伝子多型の症例だけでなく、野生型の遺伝子多型の症例でも骨髄抑制を認め、アザチオプリン投与の患者では血中モニタリングが望ましいと考えられる。全染色体領域のマイクロサテライト解析により7ヶ所の自己免疫性肝炎感受性を示すマーカーと17ヶ所の疾患抵抗性を示すマーカーが同定されたが、臨床経過との関連はみられていない。日本の自己免疫性肝炎では欧米と異なり、CD45の遺伝子多型C77Gの関与はみられない。FoxP3遺伝子多型の自己免疫性肝炎への関与はみられていないが、COX-2遺伝子の多型-1265Gが

関与している可能性がある。自己免疫性肝炎では制御性T細胞の誘導低下、Th17の誘導亢進が発症に関与している可能性がある。自己免疫性肝炎では、関節リウマチに特異的に検出される抗環状シトルリン化ペプチド抗体（抗CCP抗体）が約7%で関節リウマチの合併に関係なく陽性であり、抗リポ蛋白リパーゼ抗体の陽性率は8.8%と健常者と同様である。アポトーシスのマーカーであるcytochrome Cの血清濃度は自己免疫性肝炎では肝酵素値と相関するが、同時に肝組織障害の程度を反映する指標となりうる可能性がある。末梢血T細胞のABCトランスポーターP糖蛋白発現率が高い症例はステロイド抵抗性あるいは再燃しやすいことを示唆する。最後に、自己免疫性肝炎においては他の自己免疫性疾患の合併に加え、種々の悪性腫瘍の合併も多い。

本研究は自己免疫性肝炎（AIH）の実態を明らかにすると共に、その病因、発症機序を解明し、簡便な診断法の確立、治療指針の作成、小児症例の診療指針作成に向けた検討を行うために行われたが、以下に、平成17年～19年、3年間の研究成果について述べる。

全国調査（小児自己免疫性肝炎）：2001年から2003年の小児自己免疫性肝炎の全国調査で登録された10例の自己免疫性肝炎および2例の自己免疫性肝炎/原発性硬化性胆管炎オーバーラップの症例解析、追跡調査の結果から小児の自己免疫性肝炎の発生率は約10例/年と推測された。2001年発症の5例の追跡調査では2例のみが追跡可能であったが、いずれも予後良好であった。小児ではIgGは年齢別基準値上限との比を用いてrevised AIH scoreで診断する必要があり、原発性硬化性胆管炎を合併する症例もあり、難治重症例も少なくなく、小児の自己免疫性肝炎に対する診療ガイドラインを作る必要がある。

診断：2003年の本研究班の全国調査で登録された自己免疫性肝炎症例と非自己免疫性肝炎症例を用い作成された、血清ALP/基準上限値比、血清ALT値、抗ミトコンドリア抗体、肝生検組織における胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉性肝炎からなる7因子ロジスティックモデル、肝生検組織所見を除いた3因子ロジスティックモデル、ロジスティックモデルの係数により重み付けした7因子スコア加算システム、3因子スコア加算システムは、いずれもウイルス肝炎が否定され、自己免疫性肝炎と原発性胆汁性肝硬変が疑われる場合の鑑別診断法として有用であることが実証された。小児の原発性硬化性胆管炎は病初期には自己免疫現象が強くみられ、自己免疫性肝炎との鑑別が困難なことがある。しかし、潰瘍性大腸炎の合併頻度が高く、

無症状でも大腸内視鏡検査で発見されることがあり、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、IgE高値、好酸球増多がみられる場合は原発性硬化性胆管炎がより疑われる。

治療：2000年から2005年にかけて共同研究として行われた自己免疫性肝炎におけるウルソデオキシコール酸の有効性に関するランダム化比較試験に登録された症例の追跡調査と専門家に対するアンケート調査の結果から、軽度肝障害症例（血清AST値が基準値上限の5倍未満）に対してはウルソデオキシコール酸単独療法（600mg/日）が可能であり、プレドニソロン10mg/日による維持療法の症例では、ほとんどの症例でウルソデオキシコール酸（600mg/日）併用によりプレドニソロンを5mg/日に減量できると考えられる。自己免疫性肝炎の治療における寛解期の組織像から治療中止後の再燃を予測することは困難であるが、ALT値が20 IU/l以下に維持できた症例ではステロイド治療を再燃無く中止できる可能性がある。また、発症年齢が若年であるほど（40歳以下）、治療初期の肝組織所見ではinterface hepatitisが強いほど早期に再燃しやすく、反対に小葉炎が強いほど再燃しにくい傾向が見られている。急性発症例ではステロイド投与中止後の短期の再燃は少なく、原発性胆汁性肝硬変とのオーバーラップ症例ではウルソデオキシコール酸の併用でステロイドの減量が可能である。自己免疫性肝炎の治療で時にプレドニソロンと併用されるアザチオプリンは稀に骨髓抑制を生じるが、アザチオプリン代謝の重要な酵素であるthiopurine-S methyltransferaseの変異遺伝子多型が自己免疫性肝炎患者の11%に認められ、これらの症例ではアザチオプリンの血中濃度が予想以上に高くなる危険性があるが、野生型の遺伝子多型の症例でも骨髓抑制を認めた症例が存在し、アザチオプリン投与の患者では血中モニタリングが望ましく考えられる。

遺伝的背景：全染色体領域のマイクロサテライト解析により7ヶ所の自己免疫性肝炎感受性を示すマーカーと17ヶ所の疾患抵抗性を示すマーカーが同定された。しかしながら、これらと臨床経過の関連はみられなかった。欧米の自己免疫性肝炎では免疫調節に関与していることが知られているCD45の遺伝子多型C77Gが多いことが報告されているが、日本人患者ではこの遺伝子多型の関与はみられなかった。制御性T細胞のマスター制御遺伝子であるFoxP3遺伝子と炎症に関与するCOX-2遺伝子の遺伝子多型の解析では自己免疫性肝炎ではウイルス性肝炎と比べ、FoxP3遺伝子の多型には有意な差はないが、COX-2遺伝子の多型-1265Gが有意に多いことが明らかにされた。

発症機序：自己免疫性肝炎患者末梢血単核球の制御性T細胞分画の制御性T細胞マスター制御遺伝子FoxP3 mRNAレベルは健常者と比べ低く、また、肝組織では自己免疫性肝炎では原発性胆汁性肝硬変と比べ制御性T細胞の浸潤が有意に弱く、B型慢性肝炎、C型慢性肝炎と比較しても弱い傾向があり、自己免疫性肝炎発症に制御性T細胞の誘導低下が関与している可能性が考えられる。更に、急性発症例の肝組織ではTh17細胞

の浸潤が多く、制御性T細胞の誘導低下に加え、Th17細胞の誘導も自己免疫性肝炎の発症に関与している可能性が考えられる。自己免疫性肝炎患者の制御性T細胞においてはTLRの発現がC型慢性肝炎と比べ弱いものの、健常者よりは強く、自己免疫性肝炎の樹状細胞では健常者と異なりTLR6のみが発現していることから、免疫を制御する細胞におけるTLRの発現が、自己免疫性肝炎の発症に関与している可能性が考えられる。制御性T細胞と同様に免疫制御に関与していると考えられているNKT細胞の解析では、自己免疫性肝炎患者末梢血単核球における可溶性CD1d分子遺伝子発現が健常者と比べ低下しており、肝内NKT細胞が減少している患者では肝炎の活動性が高いことが報告された。

自己抗体：関節リウマチに特異的に検出される自己抗体、抗環状シトルリン化ペプチド抗体（抗CCP抗体）は自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変の患者のそれぞれ7%前後で関節リウマチの合併に関係なく陽性であり、抗リポ蛋白リパーゼ抗体の陽性率は8.8%と健常者と差がないことが報告された。

病態：アポトーシスのマーカーであるcytochrome Cの血清濃度は自己免疫性肝炎患者では肝酵素値と相関するが、治療により血清cytochrome Cが抑制されている症例では肝酵素が高値でも組織学的には改善が見られ、血清cytochrome C値が肝組織障害の程度を反映する指標となりうる可能性が報告された。自己免疫性肝炎患者末梢血T細胞の、薬剤耐性に関与するABCトランスポーターP糖蛋白発現率はステロイド抵抗性の患者、再燃患者で高いことが明らかにされた。

予後：自己免疫性肝炎においては他の自己免疫性疾患の合併に加え、種々の悪性腫瘍の合併も多いことが明らかにされた。

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

原発性胆汁性肝硬変に関する研究

主任研究者 大西 三朗 高知大学医学部 消化器内科学 教授

原発性胆汁性肝硬変(PBC)分科会の研究課題はPBCの疫学調査、病因・病態の解明、これらに基づく、診断基準の改訂、新しい治療法の開発である。今回の研究により、PBCのより詳細な疫学、診断基準の改訂に向けての新しい予後予測因子の検討、病因・病態についての新知見、探索的な基礎研究などについて一定の成果が得られ、今後の研究課題も明確にする事が出来た。また、本班研究では原発性硬化性胆管炎(PSC)も対象疾患に加え、疫学と独自の診断基準作成についての基礎資料が得られた。

PBC

平成15年度以降に実施した全国調査は倫理委員会の承認後、個人情報保護法を遵守した個人情報管理システムに則り、解析を行った。

1. 疫学調査：

1) 患者数の実態「特定疾患の疫学に関する研究」班と本班との共同で、「難治性の肝疾患の全国調査に基づく全国患者数の推計」を平成17年度(1次調査)、平成18年度(2次調査)にアンケート調査を行い、PBCの患者数は約13,000人と推定され、年次推移により発症の高齢化、UDCA投与による死亡予後の改善が報告された。しかし、平成18年度のPBC受給者は約15,000人である事を考慮すると、患者数の実態を更に正確に把握する必要がある。

2) 全国調査：廣原研究協力者から、平成19年に実施した第13回全国調査の解析結果が報告された。新規登録954例を併せた総登録は6,676症例となり、治療薬物(記載のあった3,021症例)はUDCA単独が61.6%、UDCAとBezafibrate 併用が14.8%であった。5年生存率は無症候性PBC 97.6%、症候性PBC79.2%、10年生存率は各々92.9%、64.8%であり、無症候性、症候性PBCの予後は共に前回調査(平成15年度実施)に比較して、やや改善が見られた。この成績は平成15年度の診断基準の改訂により、無症候性PBCの一部が症候性に移行した事を反映していると考えられる。HCCの発症は組織学的病期の進展例で有意に高く、PBC診断後15年の累積発癌率は約4.7%であった。肝移植103例の5年、10年の生存率は77%、72%であった。

3) QOL調査：滝川分担研究者から、PBCの症候性を規定する疲労について、PBC-40、Fatigue Impact Scale、SF-36などの評価尺度を用いて、本邦初の多施設共同研究が実施され、疲労のみを症状とするPBC症候が存在する可能性が示された。

4) 予後予測因子：石橋研究協力者から抗gp210抗体の高値持続例は黄疸を呈する肝不全型に移行しやすく、

予後予測に有用である事が報告された。今後は研究班WGでその臨床的意義を検討する。大曲研究協力者はMDR3遺伝子多型(rs31658, rs31672, rs1149222)のhaplotype/diploypeとPBC重症化との相関解析を行い、Hap 1/Hap 1の患者は黄疸を伴う重症肝硬変へ進行せず、Hap 2/Hap 2の患者は黄疸を伴う重症肝硬変へ進行しやすい事を示した。多数例で検証する必要がある。大西主任研究者は胆汁酸の腸肝循環に関わるOATP、PEMT、FXRの遺伝的多型を解析し、いずれの遺伝子もコントロール群とPBC群の間に有意差は認めないと報告した。佐久川研究協力者はPBCにおけるFXR遺伝子変異(-1G/T)は約半数の症例に見られ、変異の有無による臨床像の差はなく、環境的要因として沖縄県に蔓延している糞線虫の保有率は対象群と比較して明らかに低い事を報告した。恩地研究協力者は食道・胃静脈瘤が他の症候に先行するPBC亜群ではHCC合併頻度が高く、多変量解析でCT画像による肝容積(LV)/脾容積(SV)と血清ビリルビン値が予後に関与すると報告した。

2. 診断・治療

研究期間の最終年度に、中沼分担協力者は6種類の組織病変を半定量的に評価する新しいPBCの病期および活動度分類を提案した。今後、班研究でその有用性を検討すると共に、国際的な評価に注目したい。大西主任研究者から、PBCの新しい治療として注目されているベザフィブラートとUDCA併用投与に治療抵抗性に関わる臨床検査による判別成績が示され、BezafibrateとUDCAの組織学的改善について検討中である。

3. 病 因

宇高研究協力者はPBC患者の末梢血ではPDC-E2由来のHLA-A結合性ペプチドの刺激によりIFN- γ 産生単核細胞の増加傾向を認める事を報告した。さらに、マウスのモデル抗原系を用いて、血管から組織へのリンパ球浸潤には血管内皮細胞のMHCクラスII分子に提示された組織抗原を認識するTh細胞が先に侵入し、IFN- γ を分泌して血管内皮細胞にケモカインを産生させることにより、組織抗原特異的CTLを呼び込むことも明らかにした。下田研究協力者はPBC患者あるいは健康人由来のPDC-E2反応性T細胞は抗原提示細胞からの側副刺激依存性が異なり、またPBC患者由来の側副刺激依存性にPDC-E2に反応するT細胞クローンを側副刺激分子がない環境で、PDC-E2の変異抗原を用いて刺激することにより、T細胞をアナジーに誘導し、負の免疫調節能を有するT細胞に変換しうることを

を報告した。免疫学的な治療法への応用が期待される。恩地研究協力者は自己免疫性胃炎の動物モデルを用いて制御性樹状細胞が自己免疫性疾患の治療に有用である可能性を示した。

4. 病態:

1) 自然免疫: 中沼分担研究者から、培養胆管細胞は自然免疫応答を介してTh17細胞の誘導/維持をするサイトカイン (IL-1 β , IL-6, IL-23) を発現し、胆管周囲に浸潤するTh17細胞の分化、誘導に関与すると報告された。石橋研究協力者から、培養ヒト肝内胆管上皮細胞のToll-like receptor (TLR) 2,4をリガンド刺激時にはTNF α , IFN β の分泌誘導が認められず、マクロファージや樹状細胞と異なる事が報告された。大平研究協力者はPBCのTLR1, 9, RP105遺伝子のSNPは健常者と優位差を認めないが、若年症例ではTLR9の2848A/Aの頻度が高いと報告した。また、CpG DNA結合蛋白質であるヌクレオリンを同定し、J774細胞の免疫染色でCpG DNAとの共局在も証明した。PBCの末梢血単核球におけるヌクレオリンmRNA発現量の増加はCpG DNAに対する高反応性に関与する可能性が示唆された。さらに、PBCで検出される好酸球顆粒抗体の対応抗原であるEPOをアジュバントCpGとで免疫するマウス肝炎モデルを用い、免疫寛容の破綻には微生物由来のCpG DNAが関与する可能性を示した。宮川研究協力者は細菌細胞膜の最小構成成分であるmuramyl dipeptideのreceptor刺激によるサイトカイン産生の成績、およびPBC患者血清中のAMAの対応抗原 (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2) に対する主なIgGサブクラスはPBC患者の末梢血単核球細胞をCpGで刺激した場合と同様にIgG2である成績を報告し、AMAの産生に自然免疫反応が関与している可能性を示した。

2) トランスポーター: 向坂研究協力者は未治療PBCの肝組織では胆汁酸のトランスポーター (MRP2-4, NTCP, FXR, SHP, LXRA, FTF, CYP7A1, BSEP) のmRNAの発現は早期症例ではいずれも増加しているが、進行症例ではCYP7A1 mRNAの発現が低下すると報告した。MRP2-4の転写調節因子もSouth Western Histochemistry法で検討され、研究の新たな展開に期待したい。中牟田研究協力者はPBCの肝組織を用いて、コレステロール代謝に関連する遺伝子 (SREBP2, LDLレセプター, HMG-CoA還元酵素, MTP, ApoB 100など)、胆汁酸生合成・分泌に関連する遺伝子 (PPAR α , CYP7A1, BSEP, FXRなど)、リン脂質分泌に関連するMDR3遺伝子の発現を詳細に解析し、肝細胞内のコレステロールは貯留の方向にあるが、胆汁酸の生合成・分泌は変化がなく、一方、MDRを介したリン脂質の胆汁中への分泌は亢進していることを示した。共に、PBCは進行例でも、胆汁酸の取り込みや排泄などに関わるトランスポーターは保たれ、胆汁うっ滞に対する防御機構が作動している事を示唆する成績と考えられる。最終年度を迎え、トランスポーター関連の研究はPBCの肝組織材料を用いて、新しい治療の

開発に資する成果が得られた。

5. 探索的研究

中沼分担研究者から培養胆管細胞を用いて、PBCの障害胆管における老化形質の発現には酸化ストレスによる老化遺伝子の発現抑制を担う蛋白bmiの低下が関与する成績が示された。松崎研究協力者は、GVHRの肝病変で観察される肝内リンパ球浸潤の経時的な自然寛解にIL-10レセプター陽性のTreg細胞が関与する事を報告した。杉山分担研究者は肝細胞内から胆汁中への胆汁酸排泄を担うBSEPは4-phenylbutyrate (4PBA) 処理により、毛細胆管側膜上における発現量を増加させ、胆汁酸排泄機能を上昇させることを既に報告している。今回は、ビオチンラベル法により細胞膜上からのタンパク質分解速度を解析し、4PBAは細胞膜上からのBSEPの分解を抑制することを証明した。その際に、BSEP mRNA発現量、およびタンパク合成量、細胞膜へのtraffickingは変化しない事も示された。上野研究協力者はAnnexin A2がインターフェロン γ により誘導される新規のバイオマーカーとして有用である可能性を報告している。今回は培養ヒト胆管上皮細胞を用いて、Annexin A2が胆汁のpHなどの制御に関与している可能性を示した。金子研究協力者はPBCの末梢血単核球を用いて、遺伝子発現プロファイルの階層クラスター解析を行い、PBCは健常者と異なり、ミトコンドリア酸化的リン酸化、プロテアソーム、カスパーゼ、IL-10, IL-18, 上皮間葉移行、TCAサイクルに関わるパスウェイの活性化が認められる事を報告した。松崎研究協力者はPBCの新たな治療薬の開発を目的として、ヒトin vivoにおける核内レセプター活性の評価方法の開発を試み、FXR活性はCYP7A1の反応産物である血中C4, LXR・活性はABCG5/8の基質である血中plant sterol, またPXR活性はCYP3A4の反応産物である血中4-hydroxycholesterolをLC-MS/MSで定量する事により推定できる事を報告した。

PSC

1. 疫学調査: 滝川分担研究者から、2003年のPSCの全国調査では2峰性 (20歳代, 50~60歳代) の年齢分布を示し、高齢者群にはAIP症例が含まれると想定されるために、平成18年度に2次調査が実施され、PSC全395例 (平均観察期間は5.3 \pm 4.6年) の生存予後は良好 (移植なしの生存) 253例, 不良 (移植または死亡) 99例, 不明43例であり、移植例は若年者, 死亡例は高齢者が多い傾向があり、死因は肝不全が最も多く、胆管細胞癌は14例 (3.5%) で欧米に比して低いと報告された。平成19年度に実施された「特定疾患の疫学に関する研究班」との共同全国調査により、PSC患者総数は1,211人 (男性513人, 女性698人) と推定された。

2. 診断・治療

1) 独自の診断基準の策定

わが国のPSCは欧米の症例と臨床像が異なり、独自の診断基準を作成する必要がある。また、自己免疫性

膵炎（AIP）に合併する肝内胆管狭窄像はPSCと類似するが、血清IgG4の高値、ステロイド剤の著効などPSCと病態が異なる。両疾患の比較研究は鑑別診断基準の作成に必須であり、初年度から厚労省「難治性膵疾患に関する調査研究」班（大槻主任研究者）との共同WGを発足させ、最終年度にアンケート調査に基づき、両者の鑑別診断指針を作成することが出来た。独自の診断基準の策定に向けて、基礎資料としたい。

2) 肝移植：江川研究協力者から、PSCに対する生体部分肝移植の成績は欧米での脳死肝移植の成績に比し不良である事が初めて報告された。生体部分肝移植では移植後の再発が高率であり、かつ再発後の進行も速く、短期間にグラフト不全となる。肝移植30症例の多変量解析により、移植後の再発に関与する因子は周術期のサイトメガロウイルス感染症、術後1年以内の胆管吻合部合併症、血縁ドナーであり、グラフト不全に関与する因子は症例の低年齢が唯一のリスクファクターである事が報告された。

3. 病 態

小俣分担研究者はPSCの若年発症と高齢発症との病態を比較し、高齢群では血清IgE高値例が多く、肝不全死および移植や持続ドレナージを要する例が少なく、両群では臨床病態に差異が見られる事を指摘した。栗山研究協力者からPSCの長期予後について、初期ステージでは若年齢、腸管合併症の存在、IgG高値が予後不良因子であると報告された。藤澤研究協力者から小児期発症PSC9例について、成人と比して予後の良好な群、自己免疫性肝炎との鑑別診断が困難な症例の存在が報告され、成人と異なる肝移植の適応基準と治療指針の必要性が提言された。滝川分担研究者は好中球の細胞質分画を抗原に用いたWB法を用い、PSC症例の3分の1に50kD蛋白に対するp-ANCAが検出される事を報告した。臨床応用が期待される。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

劇症肝炎に関する研究

分担研究者 坪内 博仁 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻 人間環境学講座消化器疾患・生活習慣病学 教授

全体研究としては2004～2006年に発症した劇症肝炎、LOHFの全国調査を実施し、患者背景、成因、臨床所見及び予後に関して解析した。劇症肝炎分科会では、平成17年度にこれまでの課題とされた劇症肝炎の定義、成因分類、肝移植適応ガイドラインの見直しおよび治療の標準化について2つのワーキンググループ（WG）を発足させた。WG-1（持田委員長）では平成18年度より、従来の劇症肝炎・LOHF調査票を更新した。またこれまでの劇症肝炎、LOHFには分類されない急性肝不全症例を対象に調査を実施した。更に1998～2003年の肝移植非実施の劇症肝炎、LOHF症例を対象に新しい肝移植適応ガイドラインを作成した。WG-2（坂井委員長）ではHBVキャリアの急性増悪に対するステロイドパルス療法の有効性を検証する臨床試験プロトコル「B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪による重症肝炎の劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性評価」を作成した。また、WG-1,2と肝炎等克服緊急対策事業「B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究班」との合同で免疫抑制・化学療法に伴うHBV再活性化によるB型肝炎劇症化予防対策のため「免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎に対する診療ガイドライン案」の検討を開始した。また、劇症肝炎の病態、診断、治療に関する基礎的、臨床的検討も分担研究として多数報告された。

1. 劇症肝炎、LOHFの実態（全国調査、共同研究、分担研究）

平成17～19年度はそれぞれ2004～2006年に発症した劇症肝炎、LOHFに関する全国集計を実施し、計236例（劇症肝炎急性型116例、亜急性型106例、LOHF14例）を解析した。患者平均年齢は急性型49歳、亜急性型54歳、LOHF56歳であり、1998～2003年に比べ全体的に高齢化していた。生活習慣病などの基礎疾患を有する症例、薬物歴を有する症例の割合はいずれの年度も高率であった。成因はウイルス性47%（A型3%、B型41%、その他3%）、自己免疫性10%、薬物性15%、成因不明例27%であり、急性型はウイルス性（65%）、亜急性型では成因不明例（39%）、LOHFでは自己免疫性（36%）が最多であった。ウイルス性では、2004年に1例、2006年に2例のE型劇症肝炎例が報告された。

共同研究では本研究班（大西主任研究者）と「特定疾患の疫学に関する研究班」（永井主任研究者）が合同で平成15～18年度に登録された劇症肝炎の電子入力済み臨床調査個人票の解析を行い、その臨床疫学像を明らかにした。また、松井分担研究者は小児劇症肝炎の全国調査により小児における劇症肝炎の主な成因、

予後などを報告し、成人との相違点を明らかにした。市田研究協力者は劇症肝炎と同様の病態を呈するアルコール性、循環障害ならびに悪性腫瘍の肝浸潤症例などを解析し、多くは原因治療が優先され、血漿交換やCHDFなどは不要であることを示した。

2. WG-1活動報告

1) 劇症肝炎の診断基準

平成18年度に更新した調査票の主な変更点は成因分類において薬物性肝障害診断スコア、自己免疫性肝炎診断スコア、身体所見としてSIRS診断基準、血液検査所見として腎機能検査、DIC検査項目の追加、合併症診断基準の作成などである。以上の改変により成因、症候、合併症についてより正確な診断が可能になった。次にわが国での劇症肝炎の診断に用いられるプロトロンビン時間（PT）の国際的なINR表記への改変を検討した。しかし、PT測定キット間で%表記とINR相関性に大きな差異が生じる可能性が示唆され、平成20年度以降にWG-1施設において施設間での比較を行なうこととなった。

2) 劇症肝炎、急性肝不全の概念の改変

平成19年度に班員施設を対象に、血清ALT値が300IU/l以上に上昇し、発症から24週以内に肝性脳症を発症ないしはPTが50%以下またはINR 1.5以上になった急性肝不全で、従来の劇症肝炎およびLOHFには分類されない症例の調査を実施した。2006年の発症例で同条件を満たした急性肝不全51例が登録されたが、その成因は中毒性1例、循環不全3例など従来の成因以外の症例は少数であった。従って、平成20年度は消化器内科以外の全診療科を対象とした実態調査を、WG-1の施設に限定して予備的に実施することとなった。

3) 肝移植適応ガイドラインの改訂

1998～2003年に発症した劇症肝炎648例、LOHF 64例のうち肝移植非実施の556例（救命208例、死亡348例）を対象に肝移植適応ガイドラインを作成した。多変量解析を用いた従来法により、1) 発症から昏睡までの日数、2) PT（%）、3) 総ビリルビン濃度（mg/dl）、4) 直接/総ビリルビン濃度比、5) 血小板数、6) 肝萎縮の有無を指標に0から2点でスコア化し、その合計が5点以上の場合には死亡予測として肝移植を推奨するシステムを開発した。このシステムの正診率は78%で、2004年以降に発症した83例を対象としたvalidationでは69%であった。また、データマイニングによる決定木法を用いた解析では合併症数、

治療開始5日後のPT (%)、肝萎縮などを指標とした予後予測アルゴリズムが完成した。

3. WG-2活動報告

劇症化すれば極めて予後不良であるHBVキャリアの急性増悪による重症肝炎を対象として、劇症化予防における早期免疫抑制療法(ステロイドパルス療法)の有効性を明らかにするための臨床試験プロトコール「B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪による重症肝炎の劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性評価」を作成した。研究デザインは(1)多施設パイロット試験(各施設で治療群を選択するレジストリー形式)(2)各施設で選択した治療以外で治療した場合にも登録、転帰調査を行う方式とした。治療方法はI.抗ウイルス療法単独群 ① エンテカビル ② エンテカビル+IFN II.抗ウイルス療法と免疫抑制療法併用群 ③ エンテカビル+ステロイドパルス療法 ④ エンテカビル+IFN+ステロイドパルス療法 ⑤ エンテカビル+IFN+ステロイドパルス療法+サイクロスポリン療法の計5群とした。本臨床試験は鹿児島大学倫理委員会にて平成20年2月に承認され、4月より開始される予定である。

4. 肝炎重症化を規定する要因(分担研究)

与芝研究協力者はHBV急性感染による劇症肝炎の発症にウイルス側因子として急速なウイルス増殖と宿主側因子として旺盛な免疫応答が必須であることを報告した。また非A～非G型劇症肝炎の病理学的検討を行い、約80%の症例で肝炎の存在を明らかにし、劇症肝炎の内科的治療における肝炎治療の必要性を示した。坂井田研究協力者は急性肝不全モデルにおいて、異常行動と脳内の興奮性アミノ酸であるグルタミン酸、アスパラギンの上昇および脳内アストロサイトの形態変化との関連性を報告した。林研究協力者はアディポネクチン欠損マウスにおける70%部分肝切除後の肝再生を検討し、脂肪肝における肝再生不全にアディポネクチンを介する脂肪酸 β 酸化の障害が関与している可能性を示唆した。森脇研究協力者は急性肝不全におけるG-CSFの効果をもDMN肝障害モデルを用いて解析し、G-CSFがIL-1 β の発現増強を介して肝再生に抑制的に作用する可能性を報告した。持田研究協力者はTh1免疫応答系サイトカインであるオステオポンチン遺伝子プロモーター SNPsと転写活性との関係を解析した。その結果nt-155の SNPsがY染色体に存在するSRYとの結合能と関連していることから、このSNPsが肝炎重症度の性差を規定している可能性を示唆した。これらの研究により、肝炎の進展機序および再生不全の病態が更に解明されることが期待される。

5. 劇症肝炎、LOHFの治療(全国調査、共同研究、分担研究)

2004～2006年に発症した236例の検討では、劇症肝炎、LOHFの治療法としてはこれまで増加傾向にあったラミブジンによる抗ウイルス療法および肝移植の実

施頻度はほぼ横ばいとなった。肝移植非実施症例における救命率は急性型55%、亜急性型24%、LOHF30%であり、1998～2003年の報告と比べLOHFの救命率がやや向上した以外は大差はなかった。急性型に比べ亜急性型、LOHFの救命率はいずれの年度も低かったが、特に平成19年度の亜急性型の救命率は13%と低下していた。

成因と予後との関連では特にB型キャリア例と自己免疫性例は病型を問わず依然予後不良であった。このB型キャリア例では2004年の8例中1例、2005年の10例中4例、2006年の6例中4例が免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化症例で、特に悪性リンパ腫に対しリツキシマブ、ステロイドを併用したR-CHOP療法が普及した2005年以降にその割合が増加した。またB型キャリア例中、発症前のHBs抗原陰性例が2005年は1例、2006年は4例報告され、いわゆるde novo B型肝炎の増加がみられた。B型キャリア例に対しては各年度、全体の80～100%でラミブジン投与が行われ、ほとんどが脳症発現前から投与されていたが、これらは必ずしも予後の改善に繋がっていなかった。特に免疫抑制・化学療法により発症するHBV再活性化症例では、肝炎発症後にラミブジン治療を開始しても劇症化を必ずしも阻止できておらず、今後は予防投与や肝炎発症前の早期投与を目指した治療指針の確立が急務と思われた。このため平成19年度に2つのWGと「B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究班」とが合同で「免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎に対する診療ガイドライン案」の検討を開始した。

1) ラミブジン

与芝研究協力者はB型劇症肝炎および重症肝炎例を対象にラミブジン導入前後での予後の差を検討した。急性感染例、キャリア例ともIFN単独群、IFN+ラミブジン併用群で生存率に有意差はみられず、予後に独立して影響する因子は先行病変の有無、総ビリルビン値、PT値の早期改善であったことより、B型劇症肝炎においてはウイルス学的改善より早期の肝機能の改善を目指す治療が重要であることを報告した。

2) 生体部分肝移植

2004～2006年に肝移植は計52例(22%)で実施されており、これらを含めた救命率は急性型58%、亜急性型39%、LOHF50%に達した。生体部分肝移植の普及によって、急性肝不全の予後は向上しているものの、肝移植による救命率は急性型77%、亜急性型74%、LOHF100%とLOHF以外は1998～2003年の報告と変化はなかった。幕内分担研究者による劇症肝炎における肝移植成績では移植後の平均観察期間49ヶ月で累積生存率が91%と全国調査を上回るものであった。前原研究協力者は劇症肝炎に対する生体肝移植における問題点を示し、摘出肝を用いた劇症肝炎発症メカニズムの解明と移植手術後の血清サンプルを用いたプロテオーム解析により新たな劇症肝炎発症マーカーを探索し

ている。

3年間に登録された肝移植非施行184例を対象に、肝移植適応ガイドラインの有用性を検討した。急性型はⅡ度以上の昏睡出現時の正診率が71%、sensitivity (72%)、specificity (70%)といずれも1998～2003年の報告よりやや上回っていた。一方、亜急性型はsensitivity (100%)は高率であるが、specificity (33%)は低率であり、正診率は84%であった。5日後の再評価では急性型のsensitivity (93%)、亜急性型のspecificity (38%)がやや上昇したが、その他の成績の向上は見られなかった。

3) 新規治療法

森協研究協力者はHNF-4遺伝子を導入することにより肝特異的遺伝子を発現した肝細胞を確立した。また細胞外マトリックスであるEHSゲルやコラーゲン上で培養された肝細胞を用いて、肝特異的遺伝子の発現と細胞形態変化を調べ、肝細胞分化とアクチンの重合/脱重合制御に関するシグナル伝達機構の役割を明らかにした。これらの研究は今後の肝細胞移植療法の進展に繋がるものと期待される。また坂井田研究協力者は非代償性肝硬変患者に対する自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法において、これまでの施行例では重篤な副作用がなく、肝機能、肝線維化の改善が認められたことを示した。坪内分担研究者は2005年9月1日より医師主導治験による組換えヒトHGFの第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験を開始し、現在コホート1(4例)の安全性が確認され、投与量が2倍となるコホート2への移行が承認され、治験が継続中であることを報告した。

6. 肝炎劇症化の予知(試験研究, 分担研究)

鈴木研究協力者は2004年8月から2007年12月までの期間における研究班が定めた急性肝炎劇症化予知式に基づいた搬送基準、特殊治療開始基準による多施設プロスペクティブ研究結果を報告した。これによるとPT80%以下を示した急性肝障害147例の経過で劇症化予知の搬送基準を満たした55例中42例(76%)が重症化(PT40%以下)し、8例(15%)が昏睡を発現したが、搬送基準に満たない症例で昏睡が発現した例はなかった。予知効率は劇症肝炎成因例で高かったが、アルコール、敗血症、循環障害など対象以外の成因では低く、今後劇症肝炎の対象成因以外の成因による急性肝障害の予後評価に関しては肝不全の評価に加え、合併症の評価が必要であることを報告した。日比研究協力者はCT Volumetryによる肝容積(CTLV)/標準肝容積(SLV)比が劇症肝炎患者における肝萎縮の客観的評価、予後予測に有用であることを示し、CTLV/SLV比0.8～0.85をカットオフ値とすることを提唱した。坪内分担研究者はイムノクロマト法を用いた迅速で簡便なHGF測定キットを用いたプロスペクティブ研究により、本法によるHGF半定量が劇症肝炎予知や急性肝疾患患者の予後予測に有用であるが、キットでは実際のHGF濃度より低めに判定される傾向があり、今

後感度を上げる改良が必要であると報告した。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

氏 名	論文タイトル名	発 表 誌 名	巻号	ページ	出版年
Isse K, Harada K, Nakanuma Y, et al	Fractalkine and CX3CR1 are involved in the recruitment of intraepithelial lymphocytes of intrahepatic bile ducts.	Hepatology	41	506-516	2005
Harada K, Isse K, Nakanuma Y, et al	Th1 cytokine - induced downregulation of PPARgamma in human biliary cells relates to cholangitis in primary biliary cirrhosis.	Hepatology	41	1329-1338	2005
Yoshizawa K, Ota M, Katsuyama Y, et al	Genetic Analysis of the HLA Region of Japanese Patients with Type 1 Autoimmune Hepatitis.	J Hepatol	42	578-584	2005
Sasaki M, Ikeda H, Haga H, et al	Frequent cellular senescence in intrahepatic small bile ducts in primary biliary cirrhosis: a possible role for progressive bile duct loss.	J Pathol	205	451-459	2005
Takii Y, Nakamura M, Ito M, et al	Enhanced expression of type I interferon and toll-like receptor-3 in primary biliary cirrhosis.	Lab Invest	85	908-920	2005
Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, et al	Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis.	J Hepatol	42	386-392	2005
Wang AP, Migita K, Ito M, et al	Hepatic expression of toll-like receptor 4 in primary biliary cirrhosis.	J Autoimmun	25	85-91	2005
Kamihira T, Shimoda S, Nakamura M, et al :	Biliary epithelial cells regulate autoreactive T cells: Implications for biliary-specific diseases.	Hepatology	41	151-159	2005
Akamatsu N, Sugawara Y, Tamura S, et al	Prevention of renal impairment by continuous infusion of human atrial natriuretic peptide after liver transplantation.	Transplantation	80	1093-1098	2005
Naiki T, Nagaki M, Asano T, et al	Adenovirus-mediated hepatocyte nuclear factor - 4 α overexpression maintains liver phenotype in cultured rat hepatocytes.	Biochem Biophys Res Commun	335	496-500	2005
Yokoyama Y, Terai S, Ishikawa T, et al	Proteomic analysis of serum marker proteins in recipient mice with liver cirrhosis after bone marrow cell transplantation.	Proteomics	6	2564-2570	2006
Kimura K, Moriwaki H, Nagaki M, et al	Pathogenic role of B cells in anti-CD40 caused necroinflammatory liver disease.	Am J Pathol	168	786-795	2006
Wakabayashi K, Lian ZX, Moritoki Y, et al	IL-2 receptor $\alpha^{-/-}$ mice and the development of primary biliary cirrhosis.	Hepatology	44	1240-1249	2006
Meng F, Yamagiwa Y, Ueno Y, et al	Over-expression of interleukin-6 enhances cell survival and transformed cell growth in human malignant cholangiocytes.	J Hepatol	44	1055-1065	2006

氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mack CL, Tucker R M, Ueno Y, et al	Cellular and humoral autoimmunity directed at bile duct epithelia in murine biliary atresia.	Hepatology	44	1231-1239	2006
Gaudio E, Barbaro B, Ueno Y, et al	Vascular endothelial growth factor stimulates rat cholangiocyte proliferation via an autocrine mechanism.	Gastroenterology	130	1270-1282	2006
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	39	107-112	2006
Nakamura M, Takii Y, Ito M, et al	Increased expression of nuclear envelope gp210 antigen in small bile ducts in primary biliary cirrhosis.	J. Autoimmunity	26	138-145	2006
Kimata T, Nagaki M, Ogiso T, et al	Actin organization and hepatocyte differentiation are regulated by extracellular matrix via PI-4,5-bisphosphate in the rat.	Hepatology	44	140-151	2006
Sasaki M, Ikeda H, Nakanuma Y, et al	Decreased expression of Bmi1 is closely associated with cellular senescence in small bile ducts in primary biliary cirrhosis.	Am J Pathol	169	831-845	2006
Yokosawa S, Yoshizawa K, Ota M, et al	A genomewide DNA microsatellite association study of Japanese patients with autoimmune hepatitis type 1.	Hepatology	45	384-390	2007
Nakamura M, Kondo H, Mori T, et al	Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis.	Hepatology	45	118-127	2007
Kikuchi R, Kusahara H, Sugiyama Y, et al	Regulation of tissue-specific expression of the human and mouse urate transporter 1 gene by hepatocyte nuclear factor 1 alpha/beta and DNA methylation.	Mol Pharmacol	72	1619-1625	2007
Yang Q, Onuki R, Sugiyama Y, et al	Ezrin and radixin both regulate the apical membrane localization of ABCC2 (MRP2) in human intestinal epithelial Caco-2 cells.	Exp Cell Res	313	3517-3525	2007
Mizuno N, Takahashi T, Sugiyama Y, et al	Evaluation of the role of breast cancer resistance protein (BCRP / ABCG2) and multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the urinary excretion of sulfate and glucuronide metabolites of edaravone (MCI-186; 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one).	Drug Metab Dispos	35	2045-2052	2007
Mizuno N, Takahashi T, Sugiyama Y, et al	Human organic anion transporters 1 (hOAT1/SLC22A6) and 3 (hOAT3 / SLC22A8) transport edaravone (MCI-186; 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one) and its sulfate conjugate.	Drug Metab Dispos	35	1429-1434	2007

氏 名	論文タイトル名	発 表 誌 名	巻号	ページ	出版年
Tanaka Y, Imamura J, Omata M, et al	Runx3 interacts with DNA repair protein Ku70.	Exp Cell Res	313	3251-3260	2007
Kume Y, Ikeda H, Omata M, et al	Hepatic stellate cell damage may lead to decreased plasma ADAMTS13 activity in rats.	FEBS Lett.	581	1631-1634	2007
Ikeda H, Sasaki M, Nakanuma Y, et al	Interaction of Toll-like receptors with bacterial components induces expression of CDX2 and MUC2 in rat biliary epithelium in vivo and in culture.	Lab Invest	87	559-571	2007
Umemura T, Zen Y, Nakanuma Y, et al	IgG4 associated autoimmune hepatitis: a differential diagnosis for classical autoimmune hepatitis.	Gut	56	1471-1472	2007
Zen Y, Fujii T, Nakanuma Y, et al	Th2 and regulatory immune reactions are increased in immunoglobulin G4 - related sclerosing pancreatitis and cholangitis.	Hepatology	45	1538-1546	2007
Harada K, Sato Y, Nakanuma Y, et al	Innate immune response to double-stranded RNA in biliary epithelial cells is associated with the pathogenesis of biliary atresia.	Hepatology	46	1146-1154	2007
Takikawa H	Characteristics of primary sclerosing cholangitis in Japan.	Hepato Res	37	S470-473	2007
Tanaka A, Nezu S, Takikawa H, et al	The clinical significance of IgA antimitochondrial antibodies in sera and saliva in primary biliary cirrhosis.	Ann N Y Acad Sci	1107	259-270	2007
Hashimoto T, Sugawara Y, Makuuchi M	Impact of human leukocyte antigen mismatching on outcomes of living donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis.	Liver Transpl	13	938-939	2007