

HSP27の弱い陽性所見を認めた(図1b)。正常肝と同様、肝細胞は全例がHSP27陰性で、血管平滑筋と神経線維が恒常的に陽性であった。

#### BilIN:

肝内結石症に合併したBilINでは、多くの症例でHSP27の陽性所見を認めた(図1c)。同一症例(同一切片)のBilINのfocusでもHSP27の発現には強弱があったが、上皮が乳頭状を呈する部位により強い陽性所見を認める傾向にあった。また、HSP27が陰性のBilINのfocusもあった。

#### 胆管癌(浸潤癌):

胆管癌の浸潤部では、約半数の症例がHSP27陽性を示した(図1d)。HSP27陽性症例でも、同一切片上で発現の程度に強弱があり、この傾向はBilINと同様であった。約半数の浸潤癌症例はHSP27陰性であった。

#### 半定量的評価:

HSP27の染色性は同一切片上で均一でないため、各切片から代表的な数カ所を選択し、それぞれの部位でのHSP27発現の強度を4段階で評価した。この検討では正常肝と肝内結石症(BilIN, 胆管癌非合併例)は大型胆管上皮におけるHSP27の発現を評価対象とした。

肝内結石症をBilIN, 胆管癌, およびBilIN・胆管癌非合併例の3群にわけて検討した結果を図2に示す。肝内結石症(BilIN, 胆管癌非合併例), およびBilIN, 胆管癌では各々、正常肝と比較してHSP27の有意な発現亢進を認めた。さらに、BilINにおけるHSP27発現は肝内結石症(BilIN, 胆管癌非合併例)より有意に亢進していた。

肝内結石症(BilIN, 胆管癌非合併例)において、慢性胆管炎の有無でHSP27発現の強度に差があるかどうかを検討したところ、両者に有意な差は認めなかった(図3)。次いで、BilINのgradeで検討した結果、BilIN-1と比較してBilIN-2とBilIN-3でHSP27の発現頻度と強度がやや高い傾向にあったが、統計学的な有意差はなかった(図3)。また、浸潤癌の組織型を乳頭腺癌、管状腺癌、粘液癌に分類し、組織型によるHSP27発現の差を検討したところ、粘液癌においてその発現が低い傾向にあったが、粘液癌は症例数が少なく統計学的な有意差はなかった。

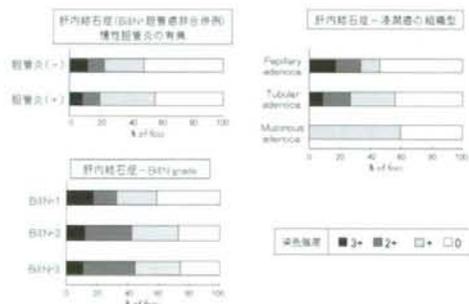


図3 HSP27免疫染色・半定量的評価結果

## D. 考察

今回の検討結果から、HSP27は正常肝の肝胆道系における発現はわずかであり、肝内結石症の胆管上皮でその発現が亢進している傾向が明らかとなった。HSP27は抗アポトーシス効果を有しており、他臓器でも発癌との関連性が指摘されている分子であることから、肝内結石症からの発癌にHSP27の発現誘導が関連していることが示唆される。

肝内結石症では、特にBilINにおいてHSP27の発現が有意に亢進しており、胆管上皮におけるその発現誘導は、発癌に関連した早期の現象である可能性がある。また、肝内結石症(BilIN, 胆管癌非合併例)の大型胆管上皮でも、正常肝と比較してHSP27発現が有意に亢進していたが、こうした症例からBilINが発現しやすい可能性も考えられる。

HSP27は分泌蛋白であり、腫瘍の血中腫瘍マーカーとして有用であるとする報告がある。今回の結果から、血中もしくは胆汁中のHSP27は肝内結石症の発癌予測バイオマーカーの候補分子の一つとなりうると思われる。特にBilINでHSP27の発現亢進があったことは、画像的に検出できない顕微鏡的病変であるBilINの存在を、血清や胆汁を用いたHSP27の測定で予測しうる可能性を示唆しており興味深い。

## E. 結論

肝内結石症の大型胆管上皮におけるHSP27の発現誘導は、発癌に関連した早期の現象である可能性がある。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nakanuma Y, Sasaki M, Ikeda H, et al. Pathology of peripheral intrahepatic cholangiocarcinoma with reference to tumorigenesis. *Hepatol Res* 38:325-34, 2008
- 2) Itatsu K, Zen Y, Yamaguchi J, et al. Expression of matrix metalloproteinase 7 is an unfavorable postoperative prognostic factor in cholangiocarcinoma of the perihilar, hilar, and extrahepatic bile ducts. *Hum Pathol* 39:710-9, 2008
- 3) Sasaki M, Yamaguchi J, Itatsu K, et al. Overexpression of polycomb group protein EZH2 relates to decreased expression of p16(INK4a) in cholangiocarcinogenesis in hepatolithiasis. *J Pathol* 215:175-83, 2008
- 4) Nakanishi Y, Zen Y, Kawakami H, et al. Extrahepatic bile duct carcinoma with extensive intraepithelial spread: a clinicopathological study of 21 cases. *Mod Pathol* 21:807-16, 2008
- 5) Nishino R, Honda M, Yamashita T, et al.

Identification of novel candidate tumor marker genes for intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 49:207-16, 2008

- 6) Nakanishi Y, Zen Y, Kondo S, et al. Expression of cell cycle-related molecules in biliary premalignant lesions: biliary intraepithelial neoplasia and biliary intraductal papillary neoplasm. *Hum Pathol* 39:1153-61, 2008
- 7) Momiyama M, Wakai K, Oda K, et al. Lifestyle risk factors for intrahepatic stone: Findings from a case-control study in an endemic area. *Taiwan. J Gastroenterol Hepatol* 23:1075-81, 2008
- 8) Nakashima A, Kinoshita N, Nakanuma Y, et al. Clinicopathological features of 'intraductal papillary neoplasm of the bile duct' and patient outcome after surgical resection. *Hepatogastroenterol* 55:1167-73, 2008
- 9) Nakashima A, Sumida Y, Tomoshige K, et al. A case of intraductal papillary neoplasm of the bile duct with stromal invasion. *Case Res Gastroenterol* 2:314-20, 2008
- 10) 佐々木素子, 中沼安二. 胆管細胞癌-腫瘍栓の病理. *外科* 70:134-7, 2008
- 11) 中沼安二, 佐々木素子, 全陽. 粘液産生胆管腫瘍と粘液性嚢胞性胆管腫瘍-両者の鑑別と臍と比較しての問題点-. *胆と臍* 29:479-85, 2008
- 12) 中沼安二, 佐藤保則, 佐々木素子他. 慢性胆管上皮障害からみた肝内胆管癌のハイリスク因子-胆管癌2008 up-to-date. *肝胆臍* 57:27-33, 2008
- 13) 中沼安二, 佐々木素子, 山口淳平他. 胆道癌の病理のポイント(総論)と最近のトピックス. *臨床画像* 24:1076-87, 2008
- 14) 七島篤志, 角田順久, 木下直江他. 肝内胆管癌の切除成績と胆管内乳頭状腫瘍の臨床病理学的検討. 肝内胆管癌の病態特性からみた外科治療の適応と限界. *消化器科* 47:303-11, 2008
- 15) 池田博子, 全陽, 中西喜嗣他. 胆嚢癌・胆管癌の早期診断のための工夫と実際(病理診断を含む). *消化器の臨床* 11:703-8, 2008
- 16) 中沼安二, 全陽, 板津慶太. 胆管内乳頭状(粘液産生性)腫瘍:疾患概念, 病理, 病態. *消化器(林紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹編)中外医学社, 東京, 185-90, 2008*

## 2. 学会発表

- 1) 全陽, 中沼安二. 胆管 IPMN (IPMB) の輪巢病理学的特徴. 第97回日本病理学会総会
- 2) 小坂一斗, 中沼安二, 佐々木素子他. 置換浸潤発育し増生細胆管類似の組織像を呈する肝内胆管癌を bile ductular carcinoma と呼ぶことを提唱する. 第97回日本病理学会総会
- 3) 小野寺学, 全陽, 中沼安二. 胆道癌における fascin 発現と腫瘍浸潤の関連性. 第97回日本病理学会総会

- 4) 板津慶太, 全陽, 池田博子他. MMP-7は大型胆管癌の予後不良因子である. 第97回日本病理学会総会
- 5) 胆管癌腫瘍進展における fascin と MMP の関連性. 第44回日本肝臓学会総会
- 6) 小野寺学, 全陽, 中沼安二. 胆管癌発癌過程における maspin の発現の検討. 第44回日本胆道学会学術集会
- 7) 全陽, 中沼安二. 胆管乳頭状腫瘍 (IPNB) の病理学的特徴:胆管 MCN と粘液産生胆管腫瘍との異同を中心に. 第12回日本肝臓学会大会
- 8) 中沼安二. 胆管乳頭状腫瘍の病理. 第13回外科病理学会
- 9) Nakanuma Y. Cholangiocarcinoma and its precursor lesions. *Asian-Pacific Study of Liver Disease*
- 10) Nakanuma Y. Cholangiocarcinoma. *Juei-Low Foundation Annual Meeting*
- 11) Onodera M, Zen Y, Nakanuma Y. Fascin is involved in tumor necrosis factor (TNF)-alpha-dependent production of MMP9 in cholangiocarcinoma. *AASLD*

## 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

## 肝内結石症に発生する肝内胆管癌の治療成績

研究協力者 榎野 正人 名古屋大学大学院医学研究科腫瘍外科 教授

**研究要旨:** 当教室で治療経験のある肝内結石症203例のうち、22例(10.8%)に肝内胆管癌が発生したので、その治療成績を検討し報告する。22例中、肝内結石症と肝内胆管癌の同時発症は17例で、肝内結石症の経過観察中に肝内胆管癌が発症したものが5例であった。過去に胆道系の手術既往を有するものが9例みられた。16例に対して肝内胆管癌に対する根治術を施行した。肝内結石症に発生した肝内胆管癌22例の5年生存率は16%であった。

## A. 研究目的

肝内結石症は良性疾患であるが、治療後も再発を繰り返すことが少なくない難治性疾患である。肝内結石症では肝内胆管に結石が存在するために、併存する胆管病変、特に胆管癌の診断が困難なことがある。肝内胆管癌は肝内結石症の重大な合併症であり、肝内結石症患者の重要な生命予後規定因子として位置づけられている。これは肝内結石症に胆管癌が発生した場合の予後が極めて不良なためである。これらのことより肝内結石症の経過観察においては、肝内胆管癌の早期発見と治療が重要な課題となりつつある。今回われわれは当教室で経験した肝内結石症に併存した肝内胆管癌の治療成績を検討しその問題点を考察した。

## B. 研究方法

1975年1月より2008年12月までの期間に教室で経験した肝内結石症は203例であった。初診時の年齢は14~81歳(平均55歳)で男性101例、女性102例であった。このうち肝内胆管癌を合併した症例は22例(10.8%)であった。これら22例の治療成績について検討を行った。

## C. 研究結果

肝内結石症に肝内胆管癌を発症した22例の胆管癌発症時の年齢は25~76歳(平均59歳)、男性8例、女性14例であった。22例中、肝内結石の存在部位は、肝内型が19例、肝内外型が3例であり、右葉型が5例、左葉型が9例、両葉型が8例であった。

肝内結石症と肝内胆管癌の診断時期について、肝内結石症と肝内胆管癌がほぼ同時期に診断されたものを同時性、肝内結石症の治療後経過観察期間中に肝内胆管癌と診断されたものを異時性と定義すると、同時性が17例、異時性が5例であった。

同時性のうち、肝内胆管癌として教室で紹介されてきた症例の中に、肝内結石を認めたものが16例で、1例は肝内結石症として紹介を受け、切石の過程で肝内胆管癌と診断された。

異時性に肝内胆管癌と診断された5例のうち、過去の肝内結石症に対する治療歴は、胆管十二指腸吻合が2例、胆管空腸吻合を施行しその後、肝内結石が再発したのでPTCSを追加されたものが1例、PTCSのみ

が施行されたものが1例、肝内結石症と診断されたが本人の希望で無治療となっていたものが1例であった。

22例中9例で過去に、胆道系の手術が施行されていた(肝内結石症に対する手術を含む)。既往手術の術式を表1に示す。22例中切除不能例は6例で、切除不能理由は肝不全など肝機能障害が2例、腹膜播種などを認める進行癌が4例であった。残る16例に対し、肝内胆管癌の根治切除を施行した。術式を表2に示す。右3区域切除、門脈合併切除再建を1例に施行し、右葉切除を4例、うち2例に門脈合併切除再建を施行している。左3区域切除を3例に施行し、1例には臍頭十二指腸切除および肝動脈門脈合併切除再建術を施行、もう一例に対しても肝動脈門脈合併切除再建術を施行している。左葉切除を7例に施行し、うち2例には胃切除を併施し、1例には肝動脈合併切除再建術を施行している。左葉切除に後区域を合併切除した症例も1例存在する。

根治度はR0切除が6例、R1切除が10例であり、R1切除のうち8例は剥離断端が陽性であった。TNM分類による病期分類を表3に示す。リンパ節転移を約半数の症例に認めた。遠隔転移は2例に認められたが、2例ともに16番リンパ節への転移であった。

肝内結石に発生した肝内胆管癌22例の生存曲線を図に示す。3.5年生存率ともに16%であった。

## D. 考察

肝内結石症の経過観察における問題点として、結石の遺残や再発とともに胆管癌の発生が挙げられる。肝内結石症は肝内胆管癌の危険因子の一つとして認識されている。

2007年のコホート調査では肝内結石症の5.4%に胆道癌の発生を認めている。その他の本邦報告例では肝内結石症に肝内胆管癌が発生する頻度は4%から12.5%とされている。教室では肝内結石症の10.8%に胆管癌の発生を認めた。肝内結石症と肝内胆管癌の同時発症が22例中17例と多いのが教室の特徴である。これは肝内胆管癌として教室へ紹介されてくる症例の中から肝内結石症が指摘されるためである。

肝内結石の存在部位は左葉型が最も多かったが、両葉型でも左葉が中心のものも多くみられた。そして結

石と癌の存在部位は一致する症例が多くみられた。これは結石の存在による繰り返す胆管炎や胆汁うっ滞が、肝内胆管癌の発生母地となり得ることを示している。

肝内胆管癌を発症した22例中9例で過去に胆道系の手術既往があり、そのうち6例は胆道と消化管の吻合がなされていること、および異時性に胆管癌を発症した5例のうち、肝内結石症の治療として萎縮肝葉の切除術を受けた治療例が存在していないことは肝内結石症の治療を進める上で興味深いと思われる。すなわち、肝内結石症による萎縮肝葉は胆管癌の発生母地となる可能性が高いために、萎縮肝葉切除は合理的な治療法と考えられる。そして肝内結石症に対する胆道再建術は、胆道狭窄を生じると結石の再発率も高く、胆道癌の発生を含めた問題点も多いので、第一選択とはすべきではないと思われる。

切除術式は肝内結石が左葉に発症する症例が多いために、胆管癌も左葉に発症し、必然的に肝の左側切除の割合が高い。教室では胆管癌に対して、適応があれば脾頭十二指腸切除や肝動脈門脈合併切除再建術などの拡大手術を併施し、R0手術を目指している。その結果、肝内結石症に合併した肝内胆管癌に対しても、積極的に拡大手術を施行している。

教室での肝内結石症に合併した肝内胆管癌の5年生存率は16%であり、満足すべき数字ではない。これは肝内結石症に発生する肝内胆管癌は、診断が難しく発症時にはすでに進行癌になっている症例が多いことと関係があろう。肝内結石症に胆管癌を合併する病因やメカニズムに関しては、多くの研究が進んで、その病態は少しずつ明らかにされてきているが、いまだ不明な点も多い。発癌に関する基礎的な研究のみならず、術前診断の精度を向上させる研究にも引き続き取り組む必要がある。

## E. 結論

203例中の肝内結石症のうち、22例に肝内胆管癌が発生し、5年生存率は16%であった。肝内結石症の経過観察では、癌の発生を念頭においた注意深い経過観察による早期診断が重要であるとともに、その診断の精度を向上させる取り組みも必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 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

### 肝内胆管癌における新規腫瘍マーカー候補遺伝子の同定

研究協力者 本多 政夫 金沢大学大学院先端医療技術学講座 教授

**研究要旨:** 肝内胆管癌 (ICC) は鑑別診断に苦慮することが多く、また早期発見が困難でしばしば進行例で診断される。今回 ICC16例を含む計74検体を用いて Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 法や real-time RT-PCR 法などの発現解析を行い、ICC 特異的な発現遺伝子として biglycan, insulin-like growth factor-binding protein 5, claudin-4 の 3 遺伝子を同定した。3 遺伝子の real-time RT-PCR 発現度による ICC 判別式を作成したところ、ICC をより明確に判別可能であった。以上の結果より、今回同定した 3 遺伝子は肝癌の鑑別診断において有用な新規マーカーとなりうると考えられた。

#### A. 研究目的

原発性肝癌の一つである肝内胆管癌 (以下 ICC と略) は多くが画像や病理学的検査により診断されているが、低分化型や進行例において肝細胞癌 (以下 HCC と略) との鑑別診断困難例が存在し、また転移性肝癌との鑑別がしばしば困難である。更に早期発見が困難なため非常に進行した状態で発見される場合も多い。鑑別診断及び早期発見には疾患特異的なマーカーが有用であるが、現在のところ ICC に特異的なマーカーは発見されていない。今回包括的な遺伝子発現解析を行うことにより新規 ICC 腫瘍マーカー候補遺伝子の同定を試みた。

#### B. 研究方法

まず外科的切除により得られた ICC 1 例と、HCC 3 例にて Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 法を用い、各々の cDNA ライブラリーを作成した。これらを比較検討し、ICC で 20 倍以上の発現亢進を認め、且つこれまで報告のない遺伝子群をマーカー候補遺伝子群として抽出した。次に National Center for Biotechnology Information (以下 NCBI) より入手可能な 16 の他臓器癌由来 cDNA ライブラリーと比較検討し候補の絞り込みを行った。続いて外科的切除や剖検等により得られた ICC16例を含む 69 検体を無作為に 2 群に分類し、一方を Training group、他方を Test group とした。Training group には市販の他臓器腺癌由来 total RNA (乳癌、大腸癌、胃癌、肺腺癌、卵巣癌) 5 検体を加え、この Training group を用いて候補遺伝子群に関して real-time RT-PCR 法、western blot 法、免疫染色を行いその発現を検討した。更に絞り込んだ候補遺伝子と real-time RT-PCR での発現度を用いて判別分析を行い、ICC 判別式を作成し、前述の Test group を用いてその有用性を検討した。

#### C. 研究結果

SAGE 法により ICC34,079 タグ、HCC59,795 タグの合計 93,795 タグ、30,859 転写産物が得られた。ICC では HCC に比べ keratin7 や 19, S100A6 や MMP7 など ICC での高発現が報告されている遺伝子群を認め、更に従来報告のない遺伝子として 9 遺伝子が同定可能で

あった。この 9 遺伝子を NCBI より入手した他臓器癌由来 cDNA ライブラリーと比較したところ、うち 8 遺伝子が ICC で有意に発現亢進していると考えられたため、Training group を用いて real-time RT-PCR 法にて解析した結果、biglycan, insulin-like growth factor-binding protein 5, claudin-4 の発現亢進を確認した。うち claudin-4 は western blot、免疫染色でも発現亢進が確認可能であった。以上よりこの 3 遺伝子を新規マーカー候補遺伝子として、判別分析により ICC 判別式を作成したところ、prediction performance は非常に高く、Test group において ICC を容易に鑑別可能であった。

#### D. 考察

SAGE 法を用いて ICC の cDNA ライブラリーを作成し検討した。SAGE 法は cDNA マイクロアレイと並ぶ遺伝子発現解析法であるが、発現度を定量的に解析できる点と、未知の遺伝子群を同定可能な点が優れている手法であり、今回の検討でも従来報告のない ICC の新規マーカー候補遺伝子を同定可能であった。但し ICC 1 例による検討であり今後更に症例数の集積が必要である。

同定した遺伝子群の機能についてはまだ不明な点も多く、ICC を含めた悪性腫瘍における役割も未知のままであり、他臓器での発現解析も含め今後検討が必要と考える。

#### E. 結論

今回同定した 3 遺伝子は肝癌の鑑別診断において有用な新規マーカーとなりうると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Identification of novel candidate tumour marker genes for intrahepatic cholangiocarcinoma. J Hepatol. 2008 Aug;49(2):207-16. Nishino R, Honda M, Yamashita T, Takatori H, Minato H, Zen Y, Sasaki M, Takamura

H, Horimoto K, Ohta T, Nakanuma Y, Kaneko S.

2. 学会発表

1) Identification of Novel Tumor Markers of Cholangiocarcinoma by Genome-Wide Transcription Analysis. 55th annual meeting of AASLD. 2004年10月31日

2) 胆管細胞癌における遺伝子発現プロファイル  
第40回日本肝臓学会総会 2004年6月3日

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

肝内胆管癌を検出するためのマーカー遺伝子 金子周一, 本多政夫, 山下太郎, 西野隆平 特願2006-255889 (P2006-255889)

2. 実用新案登録

3. その他

**研究要旨：【目的】** 肝内結石は良性疾患であるが結石の再発，併発する胆管炎，肝膿瘍，そして肝内胆管癌の発生などのため管理が難しい。以前より当科では結石部位により，肝内結石症の予後が異なると考えていた。肝内結石症における晩期合併症の危険因子を結石部位における予後も含め検討し，その治療方針について検討した。【方法】 1983年4月より2008年3月まで当科にて肝内結石症と診断された89人について検討した。診断後の経過観察期間は平均138.7ヶ月であった。結石部位により，主肝管型，末梢肝管型の亜型に分類し検討した。晩期合併症は性別，年齢，胆道系手術の既往歴の有無，結石分布（両葉型，片葉型），結石部位（主肝管型・末梢管型）について多変量解析を行った。【結果】 晩期合併症は24人に出現した。結石除去率は主肝管型で高いにもかかわらず，晩期合併症出現率は末梢肝管型より主肝管型において有意に高く認められた。相対危険度は3.668（P値0.0427）であった。合併症別では胆管炎，胆管細胞癌において主肝管型での出現率が有意に高かった。特に胆管細胞癌は主肝管型でのみ出現していた。【結論】 肝内結石症の晩期合併症の出現は主肝管型において有意に高く認められた。特に胆管細胞癌は主肝管型でのみ認められた。このため主肝管型は結石除去が良好であっても，嚴重な経過観察が必要と考えられた。

### A. 研究目的

肝内結石症は欧米では稀な疾患であるが，東アジアでは胆嚢結石症者の1.7-53.5%に認めるとも言われている。肝内結石症は良性疾患であるが病因，病態が複雑であり経過中に結石の再発，繰り返す胆管炎を認める例も多く，それに伴う胆汁性肝硬変等のために治療に難渋する難治性疾患である。また胆管細胞癌は肝内結石症に関連する疾患のうち，最も問題となるものである。

以前より我々の施設では結石の存在部位により予後が異なる事を報告してきた。今回，肝内結石症における晩期合併症の危険因子を結石部位における予後を含め検討し，長期管理について考察した。

### B. 研究方法

当科において1983年4月より2008年3月の期間において肝内結石症と診断された97人中，最終追跡が可能であった87人について検討した。肝内結石症の診断は体外式超音波（US），腹部CT，直接胆道造影にて行った。男性40例，女性47例，平均年齢56.8歳（17歳-84歳）であった。平均経過観察期間は138.7ヶ月（12.8ヶ月-346.8ヶ月）であった。また胆道手術の既往がある症例は39例であった。結石分布は片葉型61例，両葉型28例であった。また結石部位により主肝管型（肝内胆管第一分枝より二次分枝まで），末梢肝管型（3次分枝以降）に分類したところ主肝管型48例，末梢肝管型41例であった。（図1）胆管狭窄は有る症例が23例，無い症例が35例，不明の症例が31例であった。（表1）

経過観察中の調査は当院外来受診，又は毎年電話による聞き取りにて行った。晩期合併症の定義は肝内結石症に関連する，入院加療を要する病態と定義した。Start pointを診断年月日，End pointを合併症出現時とし，比例ハザードモデルを用いて晩期合併症における危険因子を解析した。



図1. 当科における結石部位の分類

Ohigawa T, et al. Percutaneous cholangioscopic treatment of hepatolithiasis: long-term results. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 366-71.

性別（男性：女性）	40：49
平均年齢（年）	56.8(17-82)
平均経過観察期間（月）	138.7(12.8-346.8)
胆道既往歴（有：無）	39：50
結石部位（主肝管型：末梢肝管型）	48：41
（片葉型：両葉型）	61：28
胆管狭窄（有：無：不明）	23：35：31

表1. 患者背景

### C. 研究結果

晩期合併症は24例（27%）において出現した。24例のうち，急性胆管炎が22例，肝膿瘍が1例，肝不全が1例，胆管細胞癌が8例認められた。

これらのうち，6例が胆管細胞癌で死亡し，1例が肝不全で死亡した。

結石部位別の患者背景を検討すると，年齢，性別，平均観察期間，胆道手術の既往については有意差を認めなかったが，初診時有症状であった例は主肝管型に

有意に多く認められた。(P<0.01)(表2)また結石除去率をみると、完全採石は主肝管型で67.3%、末梢肝管型では10%であった。(表3)

	主肝管型	末梢肝管型	計	P value
性別(男性:女性)	18:31	22:18	40:49	P>0.05*
平均年齢	55.6	58.3	56.8	P>0.05**
平均観察期間(月)	148.8	126.3	138.7	P>0.05**
胆道手術既往(有:無)	33:16	6:34	39:50	P>0.05*
初診時症状(有:無)	49:0	12:28	61:28	P<0.001*

\*χ<sup>2</sup> test with Yates' correction

\*\* Student's t-test

表2. 結石部位別の患者背景

結果	主肝管型(%)	末梢肝管型(%)	計
完全採石	33 (67.3)	4 (10)	37
部分採石*	15 (30.6)	2 (5)	17
不成功	0 (0)	2 (5)	2
経過観察	1 (2.0)	32 (80)	33
計	49	40	89

\*主肝管の結石は採石完全であったが、末梢肝管の採石が不完全

表3. 結石部位別治療成績

合併症出現率は主肝管型で41.7% (48例中20例)、末梢肝管型で9.8% (41例中4例)であった。特に、胆管癌においては8例全例が主肝管型より出現していた。(表4)また結石部位別の合併症累積無再発率をみると主肝管型に有意に多く認められた。(表5)

晩期合併症における危険因子を比例ハザードモデルで解析を行った。(表6)検討項目としては、年齢、性別、胆道手術既往歴、結石分布(片葉型・両葉型)、結石部位(主肝管型・末梢肝管型)とした。胆管狭窄の有無に関しては、直接造影を行っていないため不明の症例が31例と多いため検討項目より除外した。有意な晩期合併症発生因子として、結石部位のみが有意差を認めた。(P=0.0427, RR=3.668)(表6)

合併症	主肝管型	末梢肝管型	計
胆管炎	19	3	22
肝腫瘍	0	1	1
肝不全	1	0	1
胆管細胞癌†	8	0	8

† 1例は粘液産生性胆管癌

表4. 結石部位別晩期合併症出現率

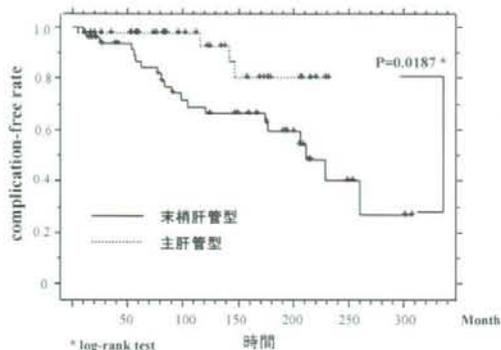


表5. 晩期合併症累積無出現率

Variable	n	合併症	合併症出現率(%)	RR	P値
年齢					
50<	46	10	21.7	1	
50≥	43	14	32.6	1.078	0.8616
性別					
女性	49	13	26.5	1	
男性	40	11	27.5	1.284	0.5759
胆道手術の既往					
無	50	10	20.0	1	
有	39	14	35.9	1.033	0.9508
結石部位					
片葉型	61	16	26.2	1	
両葉型	28	8	28.6	0.817	0.6643
結石部位					
末梢肝管型	41	4	9.8	1	
主肝管型	48	20	41.7	3.668	0.0427

表6. 多変量解析

#### D. 考察

肝内結石症は日本をはじめとする東南アジアにおいてみられる疾患であり、病因としては人種、寄生虫・細菌による胆道感染、胆道の先天異常など言われているが定かではない。また良性疾患であるが、結石再発、胆管炎などのために治療に難渋する難治性疾患であり、二次性の肝硬変、肝不全を引き起こし、胆管細胞癌との関連も指摘されている。

従来治療法として肝切除が主として行われており、結石のみならず、変性した周囲肝組織、胆管狭窄、微小膿瘍、時には合併した胆管細胞癌を同時に除去できる唯一の方法である。しかし両葉型や、高齢者や全身状態不良例では適応となりにくい。そのため近年では経皮経肝胆道鏡下碎石術(PTCSL)、経口胆道鏡下碎石術(POCSL)、体外衝撃波結石破砕療法などが行われるようになった。当科では1987年よりPOCSLを中心とした治療を行っており、採石の安全性については報告している。

今回の研究では、主肝管型では初診時全員において有症状であったため治療を拒否した1例を除いて48例(98%)に治療を施行した。しかし以前の我々の検討より無症状の末梢肝管型の肝内結石症は予後が良好であったため、末梢肝管型肝内結石症の32例(80%)の症例に対しては、経過観察のみを行った。今回の検討においても完全結石除去が主肝管型において多く行われたにもかかわらず、末梢肝管型は主肝管型に比べ有

意に予後が良好であった。また本研究では末梢肝管型のうち無症状であった28例において晩期合併症は発生していない。これらより肝葉萎縮がなく、無症状の末梢肝管型肝内結石症においては、侵襲的な治療を行わず、低侵襲の検査における経過観察が可能と考えられる。

胆管細胞癌は肝内結石症に関連する疾患のうち最も問題となるものであり、肝内結石症の2.5-7.7%の頻度で出現すると言われている。本研究においても8例(9%)の症例において胆管細胞癌の出現を認めた。また8例は全例主肝管型であった。主肝管型の肝内結石症の胆管細胞癌発生率は16.7%ときわめて高いと考えられる。7例は経過中胆管炎を繰り返していたが、1例は完全採石後、胆管炎等の合併症を一度も起こしていないにもかかわらず17年の経過後胆管細胞癌を発症している。以上より主肝管型の肝内結石症はたとえ完全採石が可能であり経過が良好であっても嚴重な観察が必要と考えられる。

肝内結石症では結石や炎症に伴い胆管壁の肥厚を伴い早期に画像での診断を行うのは困難であるのが現状である。そのため肝内結石症に合併する胆管細胞癌は予後が悪く、本研究においても8例中6例は死亡している。以上よりも主肝管型の肝内結石症においては全身状態を考慮した上で肝切除も検討するべきであると考えられる。

#### E. 結論

主肝管型肝内結石症において、晩期合併症が有意に多く認められた。また胆管細胞癌の発生は全例主肝管型において認めていた。以上より主肝管型肝内結石症は嚴重な観察が必要と考えられる。

末梢肝管型、特に無症状の肝内結石症の予後は良好であり、侵襲的な治療を行わず低侵襲な検査での経過観察が可能と考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 2007年 DDW

#### 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

### 肝内胆管障害の発症メカニズム～治療開発に向けて～

研究協力者 田妻 進 広島大学病院 総合診療科 教授

**研究要旨:** 肝内結石症や原発性硬化性胆管炎では胆管癌併発のリスクが高い。そのメカニズムは不明であるが、胆汁うっ滞時の腸肝循環の破綻が血中・胆汁中胆汁酸濃度の上昇を惹起して、その長期間曝露が肝内胆管障害 (炎症や線維化) とそれに引き続く発癌を惹起することが推定される。そこで、本研究ではその直接的な誘導物質を胆汁成分の中から絞り込み、その肝・胆道系構成細胞 (特に、胆管上皮細胞、肝星細胞) の増殖動態への影響を検討した。その結果、疎水性胆汁酸が酸化ストレスを誘導することが明らかとなり胆汁酸による胆管障害とそれに引き続く胆汁性肝硬変への進展を示唆した。さらに、その胆汁酸による酸化DNA傷害、さらに修復も判明してその発癌性も示唆された。以上の結果から、肝内結石症や原発性硬化性胆管炎における胆管癌併発を阻止するためには、胆汁酸代謝の改善と酸化ストレスの軽減が肝要であると考えられた。

#### A. 研究目的

肝内結石症の病態は胆管炎と胆汁うっ滞が主体である。本症は経過中の胆管癌リスクが重要な臨床的問題として注目されている。教室では胆汁酸が胆管上皮細胞アポトーシスを惹起することを報告してきた。そこで、本研究では、肝内結石症における胆汁うっ滞とそれに伴う胆汁成分異常が惹起する胆管障害の有無とそのメカニズムを検討する目的で、胆汁の主成分である胆汁酸の組成異常に着目してその胆管傷害性ならびに発癌リスクへの関与を検証した。

#### B. 研究方法

胆管上皮細胞として、BALB/c マウス胆管上皮初代培養細胞にSV40 T antigen geneを導入して樹立された不死化胆管上皮細胞株を用い、胆汁酸による細胞傷害(アポトーシス誘導)を惹起させた。そのin vitro実験系において、1) reactive oxygen species (ROS) 産生測定、2) ROS作用による8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)の発現、3) 酸化DNA修復酵素であるMutM homolog (8-oxo-guanine DNA glycosylase [OGG1]), MutY homolog (MUTYH) 発現の変化をreal-time PCRにて評価した。

#### C. 研究結果

GCDCに代表される疎水性胆汁酸により親水性胆汁酸に比較して強いアポトーシスが誘導された。それに伴い、ROS産生もGCDC添加により有意な増加を認めた。一方、酸化DNA傷害(8-OHdG発現にて評価)もGCDC添加にて有意な増加を認めた(図2)。しかし、酸化DNA修復酵素の発現変化をreal-time PCRによって分析したところ、OGG1, MUTYH共に有意な変化は認められなかった。

#### D. 考察

GCDCが胆管上皮細胞アポトーシスを惹起する際に、酸化ストレスの誘導と酸化DNA傷害の誘導、さらに酸化DNA修復酵素の発現が抑制されたことか

ら、肝内結石症における胆汁うっ滞に伴って胆汁酸プールにおける疎水性胆汁酸の比率が上昇することにより、胆管上皮傷害やそれに引き続く発癌リスクが示唆された。TDCによる酸化ストレス産生は主にキサノン・オキシデイスを介すると考えられ、アロプリノールによる抗酸化が抑制に寄与すると考えられた。また、上記の一連のプロセスは抗酸化剤により抑制される可能性があることが示された。

#### E. 結論

以上から、胆汁うっ滞を呈する病態を惹起する肝内結石症や持続性胆管炎(例えば、原発性硬化性胆管炎)では胆汁成分中の疎水性胆汁酸の増加が胆管上皮を恒常的に傷害する。そのメカニズムには酸化ストレス誘導が関与しており、その抑制が長期的な治療戦略として重要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Recent understanding of cholesterol gallstone pathogenesis: implication to non-surgical therapeutic strategy. Susumu Tazuma, Gastroenterol Received: 15 June 2008
- 2) Deletion of angiotensin II type I reduces hepatic steatosis. Yoshitake Nabeshima, Susumu Tazuma, Keishi Kanno, Hideyuki Hyougo, Kazuaki Chayama, Accepted by J of Hepatology (in press 2009)
- 3) Efficacy of atorvastatin for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis with dyslipidemia. Hyogo H, Tazuma S, Arihiro K, Iwamoto K, Nabeshima Y, Inoue M, Ishitobi T, Nonaka M, Chayama K. Metabolism. 2008 Dec;57(12):1711-8. Accepted by Metabolism (in press 2009)

- 4) 胆石症. 田妻進. 新臨床内科学<第9版>.  
2009:616-620.
2. 学会発表

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

肝内胆管癌に対する分子標的治療－IL-4受容体標的サイトトキシンの有用性について

研究協力者 正田 純一 筑波大学 消化器内科 准教授

**研究要旨：***Pseudomonas Exotoxin (PE)* は緑膿菌由来の外毒素であり、PE と interleukine-4 (IL-4) を結合した IL-4受容体標的サイトトキシンの (IL-4-PE) は、IL-4受容体を高発現する腫瘍細胞に対して効率的な殺細胞効果・抗腫瘍効果が報告されている。肝内胆管癌を含む胆道癌の臨床標本における IL-4受容体の発現と胆道癌細胞株に対する IL-4-PE の細胞障害性について検討した。肝内胆管癌をはじめとする胆道癌においては、IL-4受容体の発現が高率に認められることより、また、IL-4-PE は肝内胆管癌細胞に対する細胞障害作用を有し、さらに、皮下腫瘍モデルおよび腹膜播種モデルにおいても強い抗腫瘍効果を発揮したことより、本サイトトキシンは肝内胆管癌に対する新規分子標的治療としての有用であると考えられた。

**A. 研究目的**

肝内胆管癌は早期発見が困難であり、また、進行癌では化学療法や放射線療法に対して抵抗性を示す事が多いことより、難治性の癌と位置付けられている。その治療成績の向上には、新しい有効な治療手段の開発していくことが重要である。*Pseudomonas Exotoxin* (以下 PE) は緑膿菌由来の外毒素であり、有核細胞の細胞死を惹起する。IL-4受容体標的サイトトキシン (interleukin-4 conjugated PE, 以下 IL-4PE) は、IL-4 と PE を結合した recombinant protein であり、IL-4 受容体を高発現する腫瘍細胞に対して効率的に殺細胞効果を発揮することが報告されている。米国においては、現在、各種癌腫における臨床試験が施行されている。今回、我々は、肝内胆管癌を含む胆道癌の臨床標本における IL-4 受容体の発現と胆道癌細胞株に対する IL-4PE の細胞障害性について検討を行った。

**B. 研究方法**

1. ヒト癌組織における IL-4受容体発現の検討  
ヒト胆道癌組織（胆嚢癌42例、肝外胆管癌18例、肝内胆管癌30例）、および非癌胆道組織（非癌胆嚢17例、非癌肝内胆管12例）において免疫組織染色を行い、IL-4受容体の発現を検索した。また、ヒト胆嚢および胆道癌の手術検体組織（非癌胆嚢2例、胆嚢癌3例、肝内胆管癌2例、肝外胆管癌2例）を用いウエスタン解析を行い、組織内の IL-4受容体タンパクの有無を検索した。
2. ヒト胆道癌細胞株における IL-4受容体発現の検討  
8種の胆道癌由来細胞株を用いて in vitro 実験を行った。
  - i) IL-4受容体 mRNA の発現の有無を RT-PCR によって検索した。各細胞株より得られた RNA より cDNA を合成し、IL-4受容体特異的 primer を用いて、Taq-man PCR 法で増幅し検索した。
  - ii) IL-4受容体タンパクの発現をウエスタン解析により検索した。各胆道癌細胞株 1x10<sup>6</sup>個よりライセートを作成し、IL-4受容体の検出を行った。膵臓癌細胞株 Panc-1 を陽性コントロールとして用いた。

- iii) 放射性ラベル IL-4を用いた細胞表面の IL-4受容体への IL-4の結合能について評価した。IL-4を 125-I で放射性ラベリングを行い、各胆道癌細胞株と反応させ、細胞表面に結合した放射性ラベル IL-4を計測した。
3. ヒト胆道癌細胞株に対する IL-4PE の細胞障害効果（タンパク合成阻害効果）の検討  
8種の胆道癌細胞株に対して、IL-4PE を 0-1000 ng/ml の濃度で24時間反応させた。その後、放射性ラベルロイシンを添加し、その細胞内取り込みを計測することにより、タンパク合成阻害効果を相対的に評価した。
4. 皮下腫瘍マウスモデルにおける IL-4PE の抗腫瘍効果の検討  
胆嚢癌細胞株を4週齢のヌードマウスの皮下に注入し、皮下腫瘍を形成させることにより担癌モデルを作成した。IL-4PE の腫瘍内局注群、vehicle の腫瘍内局注群、IL-4PE の腹腔内投与群、vehicle の腹腔内投与群の計4群、各群5匹のモデルマウスで皮下腫瘍の volume を計測し、抗腫瘍効果を評価した。
5. 腹膜播種マウスモデルにおける IL-4PE の抗腫瘍効果と生存期間延長効果の検討  
胆嚢癌細胞株を4週齢のヌードマウスの腹腔内に散布し、腹膜播種モデルとした。IL-4PE 腹腔内投与群、vehicle 投与群の2群、各10匹のモデルマウスを用いて生存期間の変化を検討した。

**C. 研究結果**

1. ヒト癌組織における IL-4受容体発現  
免疫染色におけるヒト胆道癌における IL-4受容体の発現検討では、胆嚢癌42例中25例（60%）、肝外胆管癌18例中9例（50%）、肝内胆管癌30例中19例（63%）に IL-4受容体の染色像が得られた（表、図1-B）。組織学的進行度や分化度による発現の差は見られなかった。一方、非癌胆嚢および非癌肝内胆管組織には IL-4受容体の染色像は認められなかった。ヒト胆道癌組織のウエスタン解析では、胆道癌組織7例すべてにおいて、IL-4受容体タンパクの発現が認められた（図1-A）。非癌胆嚢より作成したライセートでは IL-4受

Table. Expression of IL-4 Receptor and Clinicopathological Features of Biliary Tract Carcinomas

Location	IL-4R	
	+	-
<b>Gallbladders</b>		
Normal (n = 17)	0 (0) <sup>a</sup>	17 (100)
Carcinomas (n = 42)	25 (60)	17 (40) <sup>d</sup>
Histology		
well <sup>a</sup> (n = 15)	11 (73)	4 (27)
mod (n = 21)	14 (67)	7 (33)
poor (n = 5)	0 (0)	5 (100)
adeno-sq (n = 1)	0 (0)	1 (100)
pStage <sup>b</sup>		
I (n = 3)	2 (67)	1 (33)
II (n = 14)	10 (71)	4 (29)
III (n = 2)	1 (50)	1 (50)
IV (n = 23)	12 (52)	11 (48)
<b>Extrahepatic bile ducts</b>		
Carcinomas (n = 18)	9 (50)	9 (50)
Histology		
well (n = 7)	4 (57)	3 (43)
mod (n = 9)	4 (44)	5 (56)
poor (n = 1)	0 (0)	1 (100)
adeno-sq (n = 1)	1 (100)	0 (0)
pStage		
I (n = 3)	2 (67)	1 (33)
II (n = 1)	0 (0)	1 (100)
III (n = 14)	7 (50)	7 (50)
<b>Intrahepatic bile ducts</b>		
Normal (n = 12)	0 (0)	12 (100)
Carcinomas (n = 30)	19 (63)	11 (37) <sup>d</sup>
Histology		
well (n = 13)	8 (62)	5 (38)
mod (n = 10)	5 (50)	5 (50)
poor (n = 3)	3 (100)	0 (0)
adeno-sq (n = 4)	3 (75)	1 (25)
pStage		
I (n = 2)	1 (50)	1 (50)
II (n = 6)	4 (67)	2 (33)
III (n = 21)	13 (62)	8 (38)
IV (n = 1)	1 (100)	0 (0)

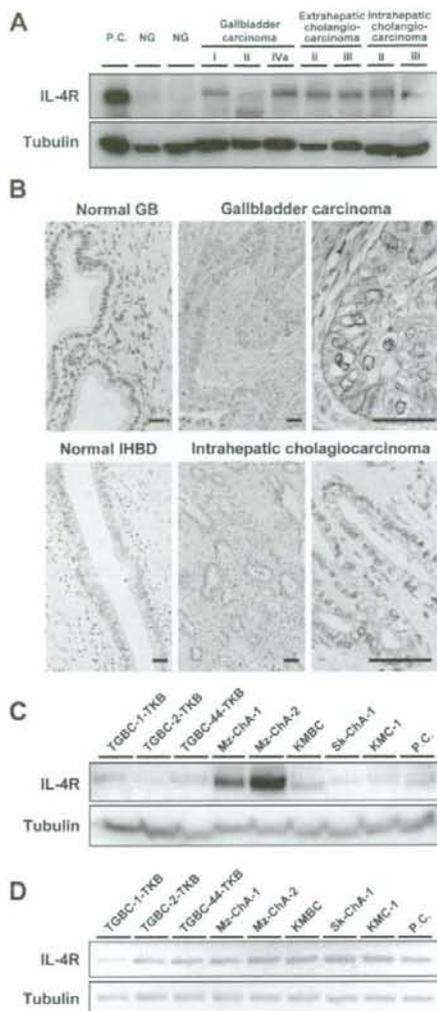
<sup>a</sup> Well, well-differentiated; mod, moderately differentiated; poor, poorly differentiated; adeno-sq, adenocarcinoma.

<sup>b</sup> pStage, pathological stage.

<sup>c</sup> Values in parentheses represent percentages.

<sup>d</sup>  $P < 0.05$ , significantly different between the two groups.

Figure 1



容体タンパクの発現は見られなかった。

## 2. ヒト胆道癌細胞株における IL-4 受容体発現

胆道癌細胞株を用いた RT-PCR では 8 種すべての細胞株において、IL-4 受容体の mRNA 発現が認められた (図 1-D)。また、ウエスタン解析においても、IL-4 受容体タンパクの発現が 8 種すべての細胞株において認められ、胆嚢癌細胞株 2 種ではとくに高発現が示唆された (図 1-C)。放射性ラベル IL-4 を利用した IL-4 結合能の検討では、すべての細胞株において IL-4 の結合が確認された (図 2)。結合能の細胞間での比較では、先のウエスタン解析において IL-4 受容体タンパクの高発現が示唆された 2 種の胆嚢癌細胞株において、IL-4 の結合量が多い結果であった。

## 3. ヒト胆道癌細胞株に対する IL-4-PE の細胞障害効果 (タンパク合成阻害効果)

IL-4-PE を用いて行った細胞障害性実験では、8 種

の細胞株すべてにおいて IL-4-PE 濃度依存性にアミノ酸ロイシンの取り込み・利用の低下が見られた (図 3)。ウエスタン解析および IL-4 結合能試験で IL-4 受容体高発現、放射性ラベル IL-4 の高結合を示した 2 種の細胞で、とくに細胞障害作用が顕著であった。さらに別の 2 種の細胞で、IC50 が 10 ng/ml を下回り、計 4 種の細胞で強い感受性が示された。また、この IL-4-PE の細胞障害は IL-4 との競合作用が認められ、IL-4-PE が IL-4 受容体特異的な結合および細胞障害であることが示された (図 3)。

## 4. 皮下腫瘍マウスモデルにおける IL-4-PE の抗腫瘍効果

胆嚢癌細胞株を用いた皮下腫瘍モデルマウスでは、IL-4-PE の腫瘍内投与・腹腔内投与とともに、有意な腫瘍の縮小効果が観察された (図 4)。とくに IL-4-PE の腫瘍内投与では 5 匹中 2 匹において腫瘍の消失を認め、抗腫瘍効果はより顕著であった。

Figure 2

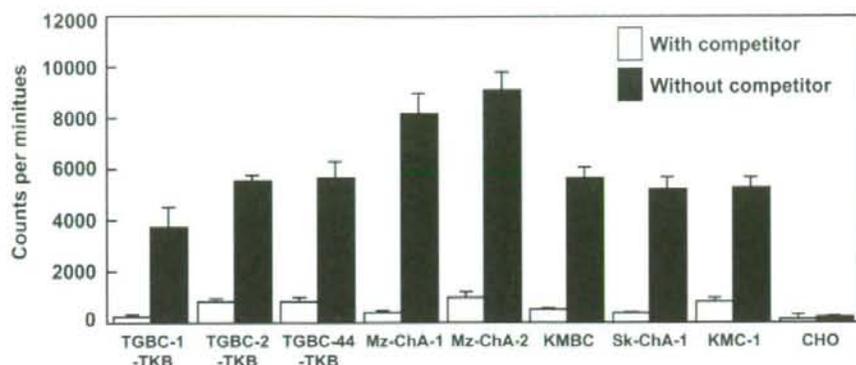
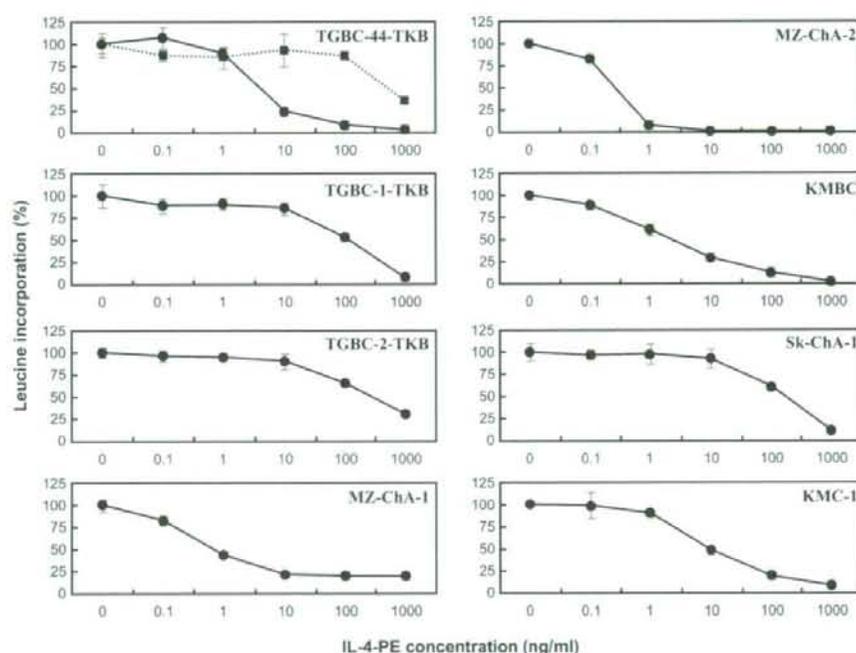


Figure 3



#### 5. 腹膜播種マウスモデルにおける IL-4-PE の抗腫瘍効果と生存期間延長効果

胆嚢細胞株を用いた腹膜播種モデルマウスを用いた IL-4-PE の腹腔内投与の効果検討においては、コントロール群では血性腹水の出現および悪液質を呈し死亡。その median survival period は 5 週であった (図 5-A)。これに対して、IL-4-PE 腹腔内投与群においては、その発症は遅延し、median survival period は 13 週となり、8 週間の生存期間延長が見られた (図 5-B)。また、IL-4-PE 治療群では 6 匹 (60%) のモデルマウスで 20 週以上の生存期間が得られた。

#### D. 考察

ヒト胆道癌組織を用いた検討により、半数以上の胆

道癌において、IL-4 受容体を高発現することが明らかとなった。また、その発現は胆道癌の分化度あるいは進行度との関連は見られなかった。一方で、正常胆嚢組織、正常胆管組織においては IL-4 受容体の発現は認めず、IL-4 受容体は胆道癌に対する新規標的分子になりうる可能性が示唆された。ヒト胆道癌細胞株を用いた検討では、IL-4-PE の良好な細胞障害が 8 種中 4 種で認められ、そのうち特に 2 種では非常に高い感受性を示した。このことより胆道癌細胞株が IL-4-PE が十分に効果を発揮し得るだけの受容体を発現していると考えられる。ヌードマウスを用いた担癌モデルにおいては、皮下腫瘍モデルのみならず、腹膜播種モデルにおいても、IL-4-PE の良好な抗腫瘍効果が観察された。胆道癌は比較的早期に腹腔内への転移病巣を形成しや

Figure 4

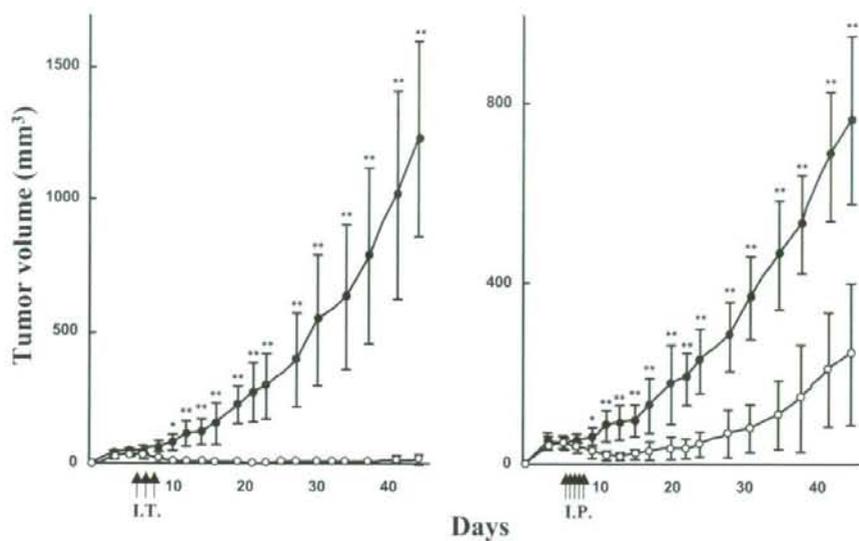
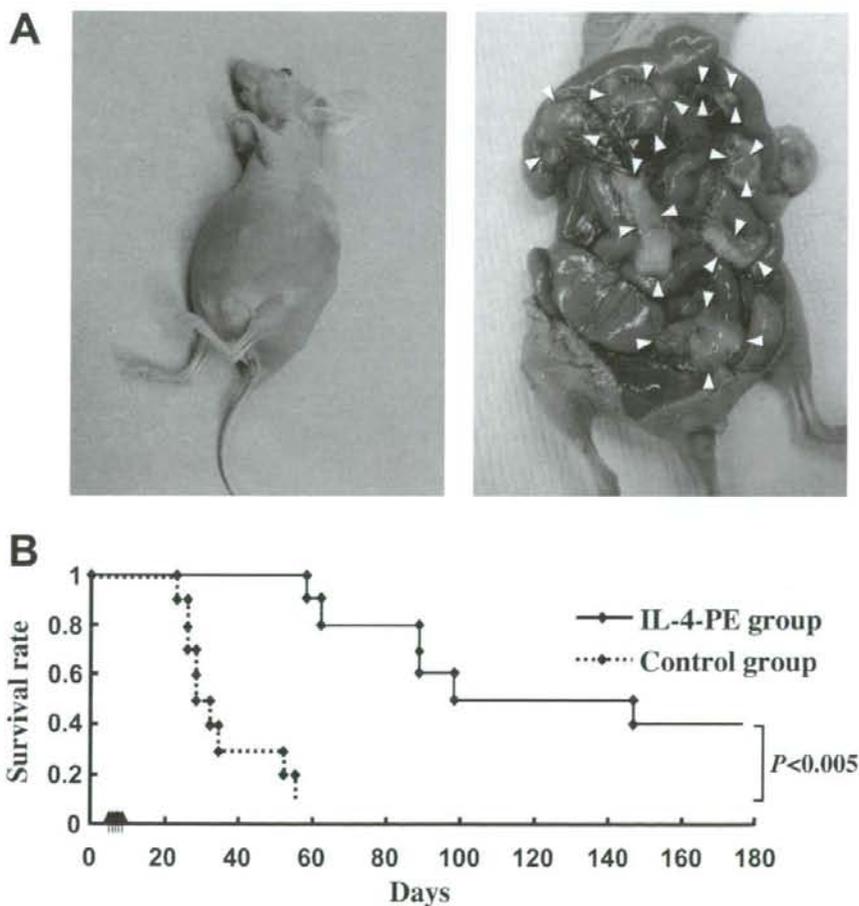


Figure 5



すく、腹膜播種は根治的外科手術を不可能とする治療困難な病態であるが、IL-4-PE 腹腔内投与は局所的な投薬による腫瘍細胞への高濃度の薬剤暴露が得られることより、腹腔内の播種病巣に良好な細胞障害を惹起することが示唆された。

## E. 結論

肝内胆管癌をはじめとする胆道癌においては、IL-4受容体の発現が高率に認められたことより、IL-4受容体を標的としたサイトトキシン療法 (IL-4-PE) は、肝内胆管癌に対する新規治療としての有用であることが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 正田純一：胆道の炎症 内科学書第7版 Vol.4 肝・胆道・脾疾患 中山書店 (東京) 2008, 印刷中。
- 2) 正田純一：原発性硬化性胆管炎 内科学書第7版 Vol.4 肝・胆道・脾疾患 中山書店 (東京) 2008, 印刷中。
- 3) 正田純一：胆嚢結石症 (内科) 今日の治療指針 山口徹, 北原光夫, 福井次矢 総編集 医学書院 (東京), pp.416-418, 2008.
- 4) 正田純一：ウイルソン病 (肝レンズ核変性症) 今日の治療指針 山口徹, 北原光夫, 福井次矢 総編集 医学書院 (東京), pp.562-563, 2008.
- 5) Okada, K., Yanagawa, T., Warabi, E., Yamastu, K., Uwayama, J., Takeda, K., Utsunomiya, H., Yoshida, H., Shoda, J., Ishii, T.: Acarbose, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, prevents obesity and hepatic steatosis in SQSTM1/A170/p62-deficient mice. *Hepatology Res* 2008, In press.
- 6) Fukumitsu, N., Sugahara, S., Nakayama, H., Fukuda, K., Mizumoto, M., Abei, M., Shoda, J., Thono, E., Tsuboi, K., Tokuyue, K.: A prospective study of hypofractionated proton beam therapy for patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008, In press.
- 7) Watanabe, S., Yokoyama, Y., Oda, K., Kokuryo, T., Shoda, J., Okada, K., Utsunomiya, H., Nagino, M.: Choleretic effect of Inchikoto on the cholestatic livers of patients with biliary obstruction due to biliary tract carcinoma: A randomized controlled study. *Hepatology Res* 2008, In press.
- 8) Ishige, K., Shoda, J., Kawamoto, T., Machida, S., Ueda, T., Hyodo, I., Ohkohchi, N., Puri, R.K., Kawakami, K.: A new and effective therapeutic option using interleukin-4-conjugated *Pseudomonas* exotoxin for biliary tract

carcinoma. *Int J Cancer* 123:2915-2922, 2008.

- 9) Okada, K., Shoda, J., Taguchi, K., Goto, N., Takeda, K., Utsunomiya, H., Oda, K., Warabi, E., Ishii, T., Osaka, K., Yamamoto, M.: Ursodeoxycholic acid exerts Nrf2-mediated stimulation of hepatobiliary transport, detoxification and antioxidative stress systems. *Am J Physiol* 295: G735- G747, 2008.
  - 10) Miyahara, N., Shoda, J., Ishige, K., Kawamoto, T., Ueda, T., Hyodo, I., Ohkohchi, N., Yamamoto, T., Thomas, M.B., Krishnamurthy, S., Carraway, K.L., Irimura, T.: MUC4 Interacts with ErbB2 in Human Gallbladder Carcinoma: Potential Pathobiological Implications. *Eur J Cancer* 44:1048-1056, 2008.
  - 11) Matsuda, A., Kuno, A., Ishida, H., Kawamoto, T., Shoda, J., Hirabayashi, J.: Development of an all-in-one technology for glycan profiling targeting formalin- embedded tissue sections. *Biochem Biophys Res Commun* 370:259-263, 2008.
- ### 2. 学会発表
- 1) 正田純一：教育講演 胆汁生化学の異常よりみた胆道結石症の成因 第20回日本結石診療研究会 (東京), 3月, 2008.
  - 2) 岡田浩介, 正田純一, 山津桂子, 宇和山純也, 蕨 栄治, 柳川 徹, 石井哲郎, 兵頭一之介：アカルボースの長期投与は A170 遺伝子欠失マウスにおける脂肪肝の発症を抑制する。第94回消化器病学会総会 (福岡), 4月, 2008.
  - 3) Kawamoto T, Ishige K, Suzuki H, Krishnamurthy S, Thomas M, Yamamoto M, Hyodo I, Shoda J: Immunohistochemical expression and gene amplification of HER family members in human biliary tract carcinoma. *ASCO (Chicago, U.S.A.)*, May, 2008.
  - 4) 平山祥子, 安倍井誠人, 長谷川直之, 福田邦明, 正田純一, 兵頭一之介：日本 S-1 化学療法が奏効し手術が可能となった進行胆嚢癌の1例 消化器病学会関東支部例会 (前橋), 5月, 2008.
  - 5) 正田純一：ランチョンセミナー4 肝胆道疾患と漢方—そのエビデンス—胆汁うっ滞における肝輸送蛋白の発現異常と漢方製剤インチンコウ湯による分子標的治療 小児外科学会学術集会 (つくば), 5月, 2008.
  - 6) 菅原信二, 安倍井誠人, 正田純一：パネルディスカッション「肝細胞癌の新展開」門脈腫瘍栓を本幹に認める (Vp4) 肝細胞癌に対する陽子線照射 第44回日本肝臓学会総会 (松山), 6月, 2008.
  - 7) 石毛和紀, 正田純一, 川本 徹, 松田祐子, 兵頭一之介, Raj K. Puri, 川上浩司：胆道系悪性腫瘍に対する分子標的治療—IL-4受容体標的のサイトトキシンの有用性について 第44回日本肝臓学会総会 (松山), 6月, 2008.

- 8) 福田邦明, 安倍井誠人, 菅原信二, 正田純一, 兵頭一之介: 併存疾患のために手術非適応となった肝細胞癌患者に対する陽子線治療の長期予後 第44回日本肝臓学会総会(松山), 6月, 2008.
- 9) 岡田浩介, 正田純一, 田口恵子, 巖 栄治, 宇都宮洋才, 小田高司, 後藤信治, 石井哲郎, 山本雅之, 兵頭一之介: ウルソデオキシコール酸は転写因子 Nrf2を活性化し, 肝細胞の輸送, 解毒代謝, 抗酸化ストレス応答を賦活する 第44回日本肝臓学会総会(松山), 6月, 2008.
- 10) 岡田浩介, 正田純一, 兵頭一之介, 田口恵子, 山本雅之, 後藤信治, 小田高司: ウルソデオキシコール酸は転写因子 Nrf2を活性化し, 肝細胞の輸送, 解毒代謝, 抗酸化ストレス応答を賦活する 第16回肝病態生理研究会(松山), 6月, 2008.
- 11) 岡田浩介, 正田純一, 田口恵子, 巖 栄治, 宇都宮洋才, 小田高司, 後藤信治, 石井哲郎, 山本雅之, 兵頭一之介: ウルソデオキシコール酸は転写因子 Nrf2を活性化し, 肝細胞の輸送, 解毒代謝, 抗酸化ストレス応答を賦活する 第5回東日本胆汁酸研究会, 7月, 2008.
- 12) Shoda J, Yamamoto M: Epidemiology and pathogenesis of gallbladder and bile duct carcinoma. Symposium "Cancer of gallbladder and bile ducts" APDW 2008 (New Delhi), September, 2008.
- 13) Ishige K, Shoda J, Kawamoto T, Matsuda S, Ueda T, Hyodo I, Ohkochi N., Puri RK, Kawakami K.: Potent in vitro and in vivo antitumor activity of interleukin-4 conjugated pseudomonas exotoxin against human biliary tract carcinoma. APDW 2008 (New Delhi), September, 2008.
- 14) 正田純一, 海野倫明, 千々岩一男: 日消会ガイドライン: JDDW2008特別企画 胆石症診療ガイドライン作成に向けて: 胆石症の病態と疫学 JDDW (東京), 10月, 2008.
- 15) 川本徹, 正田純一, 山本雅一: 胆嚢癌における癌遺伝子 HER2および HER3発現とそれらの腫瘍生物学的意義について JDDW (東京), 10月, 2008.
- 16) 鈴木英雄, 正田純一, 兵頭一之介, Li Donghui: 膵臓癌のリスクとしての喫煙と食事に及ぼす CYP2A6 と SULT1A1 遺伝子多型の影響 JDDW (東京), 10月, 2008.
- 17) 正田純一, 岡田浩介, 兵頭一之介, 石井哲郎, 山本雅之: 胆汁分泌の分子機構と胆汁うっ滞症における異常 胆汁酸研究会 サテライトシンポジウム (広島), 10月, 2008.
- 18) 岡田浩介, 正田純一, 石井哲郎: コリンメチオニン欠乏食 (MCDD) 誘発非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) における転写因子 Nrf2の役割 シンポジウム「酸化ストレスと肝疾患」肝臓学会東部会(東京), 12月, 2008.
- 19) 石毛和紀, 川上浩司, 正田純一: 肝内胆管癌における IL-4受容体発現と IL-4受容体標的サイトトキシンの有用性 ワークショップ「肝内胆管癌の病態・治療」肝臓学会東部会(東京), 12月, 2008.

#### 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

## V. 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

### 書籍

著者名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石橋大海, 中村 稔, 下田慎治	原発性胆汁性肝硬変の病因と予後。第4章：非ウイルス性肝障害	小俣政男, 河田純男, 横須賀収, 工藤正俊, 榎本信幸	肝疾患 Review 2008-2009	日本メディカルセンター	東京	2008	75-81
石橋大海, 下田慎治, 中村 稔	免疫学的機序－原発性胆汁性肝硬変の病態と免疫機序。PBC、PSCと肝移植	市田隆文	第4回伊豆肝臓カンファレンス記録	アークメディア	東京	2008	55-64
石橋大海	Ⅱ章 肝・胆・膵、【1】肝臓、K.自己免疫性肝障害	富野康日己, 渡辺純夫, 三輪洋人	専門医のための薬物療法 Q&A, 消化器	中外医学社	東京	2008	230-239
青柳 豊, 西口修平, 道堯浩二郎, 徳本良雄, 恩地森一	本邦の肝硬変の成因と現状 第44回日本肝臓学会主題ポスター「肝硬変の成因別実態」のまとめ	恩地森一	肝硬変の成因別実態 2008	中外医学社	東京	2008	1月10日
中沼安二, 全陽, 板津慶太	胆管内乳頭状(粘液産生性)腫瘍：疾患概念, 病理, 病態, 消化器	林紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹	Annual Review 消化器 (2008)	中外医学社	東京	2008	185-190
鈴木義之	自己免疫性肝疾患	岡庭豊, 荒瀬康司, 三角和雄	year note 2009	メディックメディア	東京	2008	201-213
市田隆文	劇症肝炎, 肝不全と治療	市田隆文	第三回伊豆肝臓カンファレンス記録,	アークメディア	東京	2008	
市田隆文, 玄田拓哉, 成田論隆	肝移植後の肝炎再発予防	小俣政男, 河田純男, 横須賀収, 工藤正俊, 榎本信幸	肝疾患 Review2008-2009	日本メディカルセンター	東京	2008	149-155
田中 篤, 滝川 一	Primary biliary cirrhosis (PBC)	林 紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹	Annual Review 消化器 2008	中外医学社	東京	2008	174-179
廣原淳子, 仲野俊成, 關壽人, 岡崎和一	原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis, PBC)	井村裕夫他	わかりやすい内科学 (第3版)	文光堂	東京	2008	645-649
田妻 進	胆石症	高久史磨, 尾形悦郎, 黒川 清, 矢崎義雄	新臨床内科学 <第9版>	医学書院	東京	2009	616-620
正田純一	胆道の炎症	小川 聡	内科学書第7版 Vol.4 肝・胆道・膵疾患	中山書店	東京	2009	印刷中
正田純一	原発性硬化性胆管炎	小川 聡	内科学書第7版 Vol.4 肝・胆道・膵疾患	中山書店	東京	2009	印刷中

正田純一	胆嚢結石症 (内科)	山口 徹, 北原光夫, 福井次夫	今日の治療指針	医学書院	東京	2008	416-418
正田純一	ウイルソン病 (肝レンズ核変性症)	山口 徹, 北原光夫, 福井次夫	今日の治療指針	医学書院	東京	2008	562-563

## 雑 誌

氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
坪内博仁, 熊田博光, 清澤研道, 他	免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策-厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究」班合同報告-	肝臓	50	38-42	2009
Ido A, Moriuchi A, Marusawa H, Ikeda K, et al	H. Translational research on HGF: A phase I/II study of recombinant human HGF for the treatment of fulminant hepatic failure.	Hepatology Research	38	S88-S92	2008
Sakaki M, Hiroishi K, Baba T, Ito, T, et al	Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune liver diseases and chronic viral hepatitis.	Hepatology Research	38	354-361	2008
Hiroishi K, Ito T, Imawari M, J	Immune Responses in HCV Infection and Mechanisms of HCV Persistence.	Gastroenterol Hepatol	23	1473-1482	2008
Iwasaki S, Ohira H, Nishiguchi S, Zeniya M, et al	Study Group of Intractable Liver Diseases for Research on a Specific Disease. Health Science Research Grant, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. The efficacy of ursodeoxycholic acid and bezafibrate combination therapy for primary biliary cirrhosis: A prospective, multicenter study.	Hepatology Research	38	557-564	2008
本吉康英, 石橋大海	PART.3 肝臓の病気を知る 16. 原発性胆汁性肝硬変と原発性硬化性胆管炎	からだの科学「肝臓病のすべて」	258	84-87	2008
石橋大海, 田中 篤, 高橋宏樹	PBC 特異的尺度 (PBC-40). 特集: 肝胆膵疾患と QOL	肝胆膵	57	1147-1154	2008
中村 稔, 下田慎治, 小森敦正, 石橋大海	<クリニカル・トピックス> 原発性胆汁性肝硬変における抗 gp210抗体の臨床的意義	BIO Clinica	23	1136-1143	2008
Nakamura M, Funami K, Komori A, Yokoyama T, et al	Increased expression of toll-like-receptor 3 in intrahepatic biliary epithelial cells at sites of ductular reaction in diseased livers.	Hepatology International	2	222-230	2008
Ohishi Y, Nakamura M, Iio N, Higa S, et al	Single-nucleotide polymorphism analysis of the multidrug resistance protein 3 gene for the detection of clinical progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis	Hepatology	48	853-62	2008
Shimoda S, Harada K, Niuro H, Yoshizumi T, et al	Biliary epithelial cells and primary biliary cirrhosis: the role of liver-infiltrating mononuclear cells.	Hepatology	47	958-65	2008
Shimoda S, Miyakawa H, Nakamura M, Ishibashi H, et al	CD4 T-cell autoreactivity to the mitochondrial autoantigen PDC-E2 in AMA-negative primary biliary cirrhosis.	J Autoimmun	31	110-115	2008