

門脈血行異常症における消化管粘膜脆弱性に 関する分子生物学的機序についての研究

— Nitric oxide (NO) およびシクロオキシゲナーゼ (COX) の 門脈圧亢進症性胃症との関わり —

前原 喜彦（九州大学大学院医学研究院消化器・総合外科教授）

研究要旨

門脈圧亢進症患者の消化管粘膜は、脆弱であることが知られている。当科では、その脆弱性のメカニズムとして門脈圧亢進症胃粘膜におけるNitric Oxide(NO)の過剰な産生が、その原因の一つであることを報告してきた。一方で、門亢症胃粘膜において、胃粘膜の恒常性の維持に不可欠であるプロスタグランジン (PG) 産生に関わるシクロオキシゲナーゼ(COX)の発現は不明である。今回、我々は、COX-1抑制下において、正常胃粘膜において、COX-2の代償性の発現により粘膜傷害が生じないが、門亢症胃粘膜においては、COX-2の発現が低下しており、結果として胃粘膜障害を生じることを明らかにした。また、NO阻害剤であるL-NAMEの投与によりCOX-2の発現が回復し、粘膜障害が改善したことから門亢症胃粘膜における過剰なNOがCOX-2の代償性の発現誘導を阻害し、門亢症胃粘膜の脆弱性の一因となっていることが明らかとなった。

共同研究者

赤星朋比古、川中 博文

はじめに

門脈圧亢進症患者の胃粘膜は portal hypertensive gastropathy (PHG) という独特の胃症を有し、潰瘍や胃炎を合併しやすい。また門脈圧亢進症ラットにおける実験的な検討においてもその胃粘膜はエタノール、胆汁酸、虚血再還流障害、NSAIDs、に対し、脆弱であることが知られている¹⁾。

従来より胃粘膜の恒常性の維持にはプロスタグランジン (PG) が重要であり、胃粘膜血流の維持や胃粘液の産生に寄与していることが報告されている²⁾。よって、PG の低下は、胃潰瘍形成の原因の一つと考えられており、その合成酵素であるシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase:COX) は胃粘膜にお

ける PG 産生に重要な働きを担っている。消炎鎮痛剤の使用により生じる NSAID 潰瘍は、このシクロオキシゲナーゼの抑制による。近年 COX には、COX-1 と COX-2 の二つのアイソフォームがあり、JL Wallaceら³⁾ は胃粘膜傷害を引き起こすためには、COX-1 と COX-2 の両方とも抑制することが必要であることが報告した。これは、正常胃粘膜では、COX-1 のみの抑制下では、COX-2 が代償性に誘導され PG を産生し胃粘膜保護作用を呈するからとされている。今回我々は、門脈圧亢進症胃粘膜の脆弱性のメカニズムの解明を目的とし、門脈圧亢進症の実験モデルラットにて COX-1 または COX-2 阻害剤の胃粘膜傷害への影響について検討した。

方 法

段階的門脈閉塞を行い、門脈圧亢進症モデルラッ

ト (以下 PHT ラット) を作成、14日目に COX-1,2 の両阻害剤である Indomethacin (40mg/kg i.p)、COX-1 選択的阻害剤である SC-560 (10, 20, 30, 40 mg/kg), COX-2 選択的阻害剤である NS-398 (10 mg/kg i.p) あるいは celecoxib (10mg/kg p.o) の投与を行い、8 時間後に胃粘膜障害度を肉眼のおよび病理組織学的に検討した。コントロール群として、単開腹のみ行った正常ラット (SO ラット) を用い、PHT ラットとの比較検討を行った。また PHT 胃粘膜の脆弱性のメカニズムの検討として、PHT 胃粘膜にて過剰発現している Nitric Oxide (NO) の抑制剤 L-NAME による COX-1, COX-2 発現への影響についても検討した。

結 果

1) 各種 COX 阻害剤が SO および PHT ラット胃粘膜に及ぼす影響

インドメサシンによる胃粘膜傷害度は、PHT 群において有意に粘膜障害度が大きかった (図 1)、次に選択的 COX-1 阻害剤 SC-560 において検討したところ、PHT ラットにおいては 10-40mg において容量依存性に傷害度が増加した。一方、正常ラットにおいてはいずれの濃度においても粘膜障害は認められなかった。一方、選択的 COX-2 阻害剤では、SO および PHT ラットのいずれの胃粘膜にも傷害を生じなかった (図 2)。

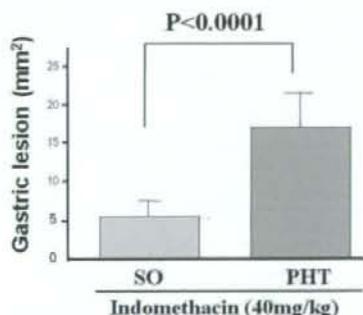


図1: 非選択性COX阻害剤がPHTラット胃粘膜障害に及ぼす影響

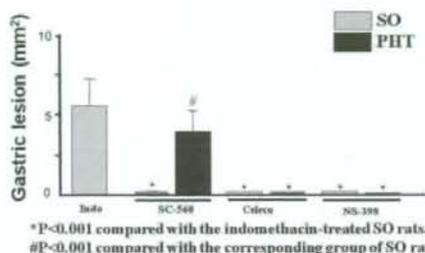


図2: 選択的COX-1阻害剤のPHTラットの胃粘膜障害に及ぼす影響

2) 選択的 COX-1 阻害剤における代償性 COX-2 発現の検討:

Western Blot 法にて SO ラットの胃粘膜においては、選択的 COX-1 阻害下において COX-2 の発現がみられたが、PHT ラットにおいては、COX-2 の誘導が見られなかった (図 3)。インドメサシン投与下にて PGE₂ および PGI₂ の発現は SO 群および PHT 群において共に有意に非投与群において低下していた。選択的 COX-1 阻害剤において PGE₂ には有意差なかったが、PGI₂ においては SO ラットに比較して PHT ラットでは有意に低下していた (p < 0.05)。

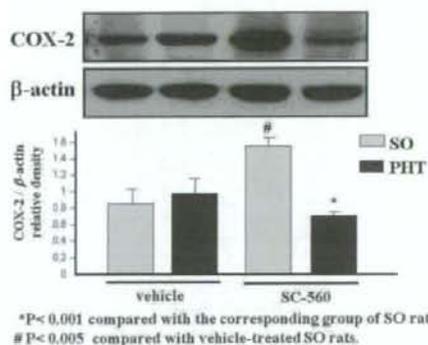


図3: 選択的COX-1阻害下での胃粘膜におけるCOX-2発現への影響

3) NO 阻害剤による PHT ラットにおける COX-2 発現の検討

NO は COX-2 の上流の転写因子である NF-kappaB の発現において抑制的にはたらくとの報告がなされているため⁸、NO 阻害剤である L-NAME を用いて COX-2 の発現の検討を行った。L-NAME

の投与により PHT ラットにおいて COX-2 の発現は SO ラットにおけるものと同程度まで回復した。また L-NAME の投与により COX-1 の選択的阻害により PHT ラットのみが生じた胃粘膜障害は、COX-2 の発現の回復を伴って粘膜障害は認めなくなった。(図 4)

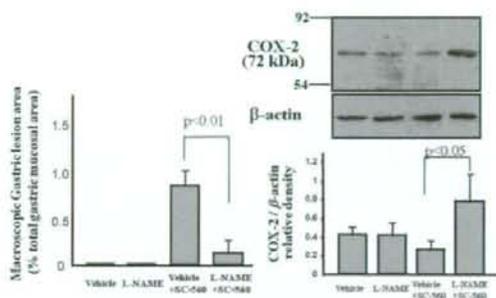


図4:NO阻害剤によるPHTラットにおけるCOX-2の発現の検討

5) NF-kapper B 阻害剤による COX-1 選択阻害剤の投与下での COX-2 の発現に関する検討

SO ラットにおいて COX-1 阻害下では、COX-2 の有意な発現を認め、この発現はNF-Kapper B の阻害剤である PDTC により抑制された。(図 5)

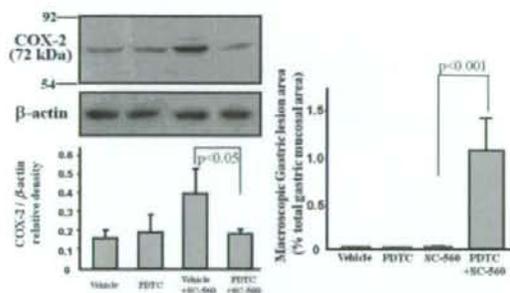


図5:NF- κ B抑制による胃粘膜におけるCOX-2の発現と胃粘膜障害の検討

考 察

門脈圧亢進症患者の胃粘膜は、門脈圧亢進症性胃症という独特の病態を呈し、NSAID などに対して脆弱であることが知られている。また粘膜の脆弱性は、門脈血行異常症における消化管出血の一因でもあり、そのメカニズムの解明は、門脈圧亢進症患者の予後を左右する消化管出血の予防のためにも重要

である。

すでに、我々は、本研究会においても、NO が門脈圧亢進症の胃粘膜においては過剰に発現しており、そのことが、胃粘膜傷害において中心的な役割の一つであることを報告してきた⁷。一方、胃粘膜傷害においては、従来よりシクロオキシゲナーゼより産生される PGE₂ や PGI₂ が胃粘膜血流、胃粘液の産生に重要であり、その恒常性を維持していることが知られている。しかしながら門脈圧亢進症における胃粘膜でのシクロオキシゲナーゼ (COX) の発現を検討した報告はなく、近年 NO が COX の発現に深く関わっているとの報告^{6,7} がなされているので、今回検討をおこなった。

臨床的によく使用されている NSAID の一つである非選択的 COX 阻害剤であるインドメサシンを投与すると、従来の報告にあるとおり SO ラットに比べ PHT ラットでは約 3 倍の胃粘膜傷害を生じた。次に COX-1 阻害剤 (SC-560) を投与したところ、SC-560 の 10-40mg/kg の投与において、SO ラットにおいては胃粘膜傷害を生じ得なかったが、PHT ラットにおいては容量依存的に粘膜障害を生じた。次に、COX-1 阻害下において COX-2 の発現を検討したところ、有意に PHT ラットでは COX-2 の代償的な発現が低下していた。実際に胃粘膜における PGE₂ と PGI₂ について検討したところ COX-1 阻害下において PGE₂ 産生には差はなかったが、PGI₂ に有意差を認めた。胃粘膜の傷害において、粘膜血流および好中球組織浸潤においては、PGI₂ が重要な役割をになっているとの報告^{9,10} がある。今回の我々の検討でも COX-2 の代償的な発現がみられ、PGI₂ の産生がみられたことから、COX-1 阻害下での SO ラットの胃粘膜では、COX-2/PGI₂ が保護的に働き、胃粘膜を生じなかったと考えられる。しかしながら、PHT ラットでは COX-2 の誘導が起こらず、粘膜障害を生じたことから、PHT ラットにおける COX-2 発現の不応性が PHT 胃粘膜の脆弱性の一因と考えられた。また、最近の報告では NO が COX-2 のシグナルの上流にある NF-Kapper B に対して抑制的にはたらいっていることが知られている^{11,12} ので PHT ラットにお

いて L-NAME を投与を行い、COX-2 の誘導を検討した。結果、PHT ラットでも NO 抑制下では、COX-2 が発現した。これまでは、NO と COX-2 は別々に門亢症胃粘膜においては検討されてきたが、今回の検討にて、互いに干渉しあい、胃粘膜の脆弱性に影響を与えていることが明らかとなった。今後は、最近では NO によりさまざまなシグナル伝達系のタンパクが Nitration や酸化ストレスによって生じる Nitrotyrosine という現象にて修飾していることが知られているので、それらの因子についても引き続き検討し、門脈血行異常症の胃粘膜脆弱性のメカニズムを明らか
したいと考える。

結 語

過剰な NO による胃粘膜傷害時の COX-2/PG の発現の低下が、NSAID (COX 阻害剤) に対する門脈圧亢進症における胃粘膜脆弱性の一因と考えられた。

文 献

1. D'Amico, G., Montalbano, L., Traina, M., et al. Natural history of congestive gastropathy in cirrhosis. The Liver Study Group of V. Cervello Hospital. *Gastroenterology* 1990;99: 1558-1564.
2. Sarfeh, I. J., Tarnawski, A., Hajduczek, A., et al. The portal hypertensive gastric mucosa: histologic, ultrastructural, and functional analysis after aspirin induced damage. *Surgery* 1988; 104: 79-85.
3. Tarnawski, A., Sarfeh, I. J., Stachura, J., et al. Microvascular abnormalities of the portal hypertensive gastric mucosa. *Hepatology* 1998;8:1488-1494.
4. Wallace, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and cytoprotection. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1992; 21: 631-41.
5. Wallace, J. L., McKnight, W., Reuter, B. K., and Vergnolle, N. NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology* 2000;119: 706-714.
6. Marshall, H. E., and Stamler, J. S. Nitrosative stress-induced apoptosis through inhibition of NF- κ B. *J. Biol. Chem.* 2002;277: 34223-34228.
7. Ohta, M., Tanoue, K., Tarnawski, A., et al. Overexpressed nitric oxide synthase in Portal-hypertensive stomach of rats: A key to increased susceptibility to damage? *Gastroenterology* 1997; 112: 1920-1930
8. Blais, V., and Rivest, S. Inhibitory action of nitric oxide on circulating tumor necrosis factor-induced NF- κ B activity and COX-2 transcription in the endothelium of the brain capillaries. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 893-905.
9. Saeki, T., Ohno, T., Kamata, K., et al. Mild irritant prevents ethanol-induced gastric mucosal microcirculatory disturbances through actions of calcitonin gene-related peptide and PGI₂ in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2004; 286: G68-G75.
10. Boku, K., Ohno, T., Saeki, T., et al. Adaptive cytoprotection mediated by prostaglandin I₂ is attributable to sensitization of CRGP-containing sensory nerves. *Gastroenterology* 2001;120: 134-143.
11. Clancy, R., Varenika, B., Huang, W., Ballou, L., Attur, M., Amin, A. R., and Abramson, S. B. (2001) Nitric oxide synthase/COX cross-talk: nitric oxide activates COX-1 but inhibits COX-2 derived prostaglandin production. *J. Immunol.* 165, 1582-1587.
12. Habib, A., Bernard, C., Lebreton, M., Creminon, C., Esposito, B., Tedgui, A., and Maclouf, J. (1997) Regulation of the expression of cyclooxygenase-2 by nitric oxide in rat peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 158, 3845-3851.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

I. 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

門脈血栓症発症における遺伝的要因解析

分担研究者 小嶋 哲人（名古屋大学医学部教授）

研究要旨

我々は、これまでに門脈血栓症の発症症例において、アンチトロンビン（AT）欠損症、あるいはプロテインS（PS）欠損症それぞれの原因と思われる遺伝子変異を同定し、その発症分子病態を明らかにした。また、真性多血症の原因遺伝子異常の *JAK2* V617F 変異の有無について、原因不明のバッドキアリ症候群症例での解析を試みましたが、同定に至らず、さらに多数の症例解析が必要と思われた。今後の3年間では、さらに継続して門脈血栓症発症症例における血栓性素因の関与について調査研究を継続する。

A. 研究目的

門脈血栓症は様々な要因が関わり発症する。我々は、門脈血栓症症例において血栓性素因プロテインS（PS）欠損症の原因と思われる遺伝子変異を同定した¹）。また、バッドキアリ症候群は真性多血症によるものが報告されているが、その原因遺伝子変異として *JAK2* 遺伝子の V617F 変異が最近報告されている。今後3年間では、収集された症例検体での、血栓性素因検索、ならびに *JAK2* V617F 変異の同定を行う。

B. 研究方法

インフォームドコンセントを得た患者末梢血ゲノムDNA検体について、PC、PS、AT遺伝子をPCRによる塩基配列解析を行う。同定遺伝子変異がそれぞれ因子欠損症に至る分子病態を解析する。また、*JAK2* V617F 変異の検出法を改善し感度よく検出可能な方法を考案する。

（倫理面への配慮）

本研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成16年度文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）を遵守するとともに、名古屋大

学医学部倫理委員会の承認を得て施行する。

C. 研究結果

これまでに門脈血栓症の発症症例において、アンチトロンビン（AT）欠損症、あるいはプロテインS（PS）欠損症のそれぞれ原因と思われる遺伝子変異を同定し、その発症分子病態を明らかにした。また、真性多血症の原因遺伝子異常の *JAK2* V617F 変異の有無について、原因不明のバッドキアリ症候群症例での解析を試みましたが、同定に至らず、さらに多数の症例解析が必要と思われた。現在までに、研究遂行するための方法論はほぼ完成しており、今後、検体保存センターに収集された検体の解析を進める予定である。

D. 考察

日本人の血栓性素因としてAT、PC、PSの先天性欠損症が多数報告されており、門脈血行異常症においても多数検出されると考えられる。

また、欧米人には *JAK2* 遺伝子変異によるバッドキアリ症候群が報告されており、本誌にても *JAK2* V617F の同定出来るものと考えられる。

E. 結 論

これまでに、門脈血栓症患者においてその原因と思われる PS α 遺伝子変異、ならびに AT 遺伝子変異を同定した。バッドキアリ症候群での JAK2 V617F 変異は検出されていないが、今後、症例数を増やして解析を行う必要がると思われた。

F. 文 献

1. N Sanda, Y Fujimori, T Kojima, et al.: An Sp1 binding site mutation of the PROS1 promoter in a patient with protein S deficiency. *Br J Haematol.* 138(5): 663-665, 2007.

G. 研究発表

1. 論文発表

Y Fujimori, H Okimatsu, T Kojima, et al.:

Molecular defects associated with antithrombin deficiency and dilated cardiomyopathy in a Japanese Patient. *Inter Med.* 47(10): 925-931, 2008.

2. 学会発表

- 1) 藤森祐多、山田貴之、小嶋哲人ら：第VIII因子遺伝子のイントロン22逆位解析法—DNAポリメラーゼの比較— 第9検査血液学会、三重 (2008.7)

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

全国検体保存センターの再編および運営

分担研究者 橋爪 誠（九州大学大学院医学研究院教授）

研究要旨

門脈血行異常症に関する調査研究班の研究対象となる特発性門脈圧亢進症(IPH)、肝外門脈閉塞症(EHO)、パッドキアリ症候群(BCS)の病因は未だ不明である。これら三疾患は、全国的にみても症例数が少なく、比較的にまれな疾患である。これら三疾患の病因・病態を解明することを目標とし、平成9年に検体登録制度および全国検体保存センターを設立した。しかし、この検体保存センター運営はシステム上の問題点も出現してきた。

当研究班では、文部科学省・厚生労働省・経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、患者の利益・プライバシーを保護しながら、より有効な検体保存センターのシステムを構築していく必要があると考え、検体保存センターの再編(新検体保存センターの設置)を行った。

新検体保存センターの設置後、九州大学大学院消化器・総合外科と長崎大学大学院移植・消化器外科より症例登録がなされ、平成20年3月現在で新たに計20症例の検体登録がなされた(内容：血液検体20症例、脾臓・肝臓組織検体2症例)。今後登録施設と登録症例数を増やすとともに、病因・病態解明に役立つ幅広いデータを検討していく予定である。

共同研究者

小西 晃造（九州大学大学院医学研究院）

B. 目 的

A. 研究背景

門脈血行異常症に関する調査研究班の研究対象となる特発性門脈圧亢進症(IPH)、肝外門脈閉塞症(EHO)、パッドキアリ症候群(BCS)の病因は未だ不明である。これら三疾患は、全国的にみても症例数が少なく、比較的にまれな疾患である。よって、病因・病態の解明を行うにあたり、調査研究対象となる症例を確保することが必要である。

IPH、EHO、BCSの研究対象症例を確保し、その検体や臨床データを有効利用することにより、これら三疾患の病因・病態を解明することを目標とし、平成9年に検体登録制度および全国検体保存センターを設立した。さらに、運営上生じた様々な問題点を克服すべく、平成18年度に新検体保存センターシステムを設立した。

全国からの症例データを収集・集中し、当研究班における病因・病態解明への研究を円滑にすることを目的とする。

C. 旧検体保存センターから新検体保存センターへの移行

当研究班では上記目的の達成のため、平成9年に検体登録制度および検体保存センターを設立し、運営を行ってきた。平成17年度までに研究協力を依頼した施設は666施設、研究協力に同意した施設は258施設であり、IPH 98例、EHO 51例、BCS 39例の計188例の検体の登録を完了している。

しかし、過去の検体保存センター運営には問題点も出現してきた。遺伝子を解析する研究にあたっては、研究の結果が様々な倫理的・法的・社会的問題

を招く可能性を十分考慮しなければならず、試料等提供者、その家族や血縁者さらには同じような病気にかかっている他の患者の尊厳を尊重し、人権を守り、利益を保護することが重要であり、平成13年3月29日付けで、文部科学省・厚生労働省・経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が告示され、この指針に定められた手続きを遵守することが求められるようになった。

そこで、当研究班では、平成14年3月25日、九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会において「門脈血行異常症の遺伝子異常に関する調査研究(杉町班)」が承認され、平成14年12月26日、大阪市立大学・倫理委員会にても同様に承認を得た。さらに、橋爪班への変更に伴い、平成15年3月25日、九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会において「門脈血行異常に関する調査研究(橋爪班)」が再承認され、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づいた検体保存センターの運営環境を整えた。しかし一方で、そのような環境は、新規検体登録状況を厳しくしており、新規登録数は年々減少していく状況となった。

よって、当研究班ではこのような問題点を克服し、患者の利益・プライバシーを保護しながら、より有効な検体保存センターのシステムを構築していく必要があると考え、検体保存センターの再編(新検体保存センターの設置)を行った。

D. 新検体保存センターの現況

新検体保存センターによる門脈血行異常症の病因・病態の解析は平成18年3月2日に九州大学大学院医学研究院倫理委員会において、同年3月8日に九州大学大学院ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会において承諾を受けた。その後、九州大学大

学院災害救急医学および消化器・総合外科、長崎大学大学院移植消化器外科、大阪市立大学大学院核医学および公衆衛生学、大分大学第一外科、琉球大学機能制御外科の計5施設において倫理委員会での承諾が完了した。新検体保存センターの設置後、九州大学大学院消化器・総合外科と長崎大学大学院移植・消化器外科より症例登録がなされ、平成20年3月現在で新たに計20症例の検体登録がなされた(内容:血液検体20症例、脾臓・肝臓組織検体2症例)。

症例の内訳は、IPH:5症例、EHO:3症例、BCS:8症例、肝硬変対象群:4症例。今後登録施設と登録症例数を増やすとともに、各分担研究班で検体を有効活用し、病因・病態解明に役立つデータを提示していく予定である。

E. 最後に

平成9年度に設置された検体保存センターの更なる発展を期待し、諸問題を克服したうえで新検体保存センターを確立した。今後、登録症例数を増やすとともに、三疾患における病因・病態の更なる解明を進めていく必要がある。

F. 文 献

なし

G. 研究発表

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

バッド・ケアリ症候群患者の臨床疫学特性 —臨床調査個人票を用いた解析（計画）—

分担研究者 廣田 良夫（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学教授）

研究要旨

本研究班では「特定疾患の疫学に関する研究班」と共同で、1999年、2005年に全国疫学調査を実施し、門脈血行異常症の患者数の推計および臨床疫学特性に関する集計解析を行ってきた。その結果、年間受療患者数の経年的な比較検討により、EHO患者数は減少していることが示唆され、新患の割合はいずれの疾患においても減少していると考えられた。しかし、これらの傾向は、調査実施年に限って偶然に認められた可能性も否定できない。

そこで、今回、特定疾患医療受給者証の交付を受けたバッド・ケアリ症候群患者を対象とし、最近7年間の臨床調査個人票の情報を用いて、患者の発生動向等を経年的に調査することを計画している。また、疾病重症度などに関連する因子の解析も予定している。

本報告では、その研究計画について述べる。

研究協力者

大藤 さとこ（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学助教）

共同研究者

福島 若葉（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学助教）

村井 陽子（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学大学院生）

A. 研究背景および目的

本研究班では「特定疾患の疫学に関する研究班」と共同で、1999年、2005年に全国疫学調査を実施し¹⁾、門脈血行異常症の患者数の推計および臨床疫学特性に関する集計解析を行ってきた。その結果を要約すると、年間受療患者数（95%信頼区間）は、1998年の1年間ではIPH:920人(710-1140)、EHO:720人(540-1040)、BCS:280人(200-360)、2004年の1年間ではIPH:850人(640-1070)、EHO:450人(340-560)、BCS:270人(190-360)と推定された²⁾。従って、年間受療患者数の経年的な比較検討により、EHO患者数はその信頼区間から判断すると減少していることが示唆された。また、新患の

割合は、1998年ではIPH:31%、EHO:38%、BCS:28%、2004年ではIPH:21%、EHO:28%、BCS:6%と算出され、いずれの疾患においても減少していると考えられた³⁾。しかし、これらの傾向は、調査実施年に限って偶然に認められた可能性も否定できない。

本研究の目的は、特定疾患医療受給者証の交付を受けたバッド・ケアリ症候群患者を対象とし、最近7年間の臨床調査個人票を用いて患者の発生動向等を経年的に検討することである。また、疾病重症度等に関連する因子の解析も予定している。

B. 研究方法

調査対象は、平成13～20年に、特定疾患治療研究事業により特定疾患医療受給者証が交付されたバッド・ケアリ症候群患者とする。臨床疫学特性に関する情報は、臨床調査個人票の記載内容を用いる。当該個人票により収集可能な情報項目は、①性、年齢、出生地、居住地等の人口動態学的特性および地

域特性、②家族歴・既往歴、③疾患に関する情報として、発病年齢、初診時年齢、介護度、受診状況、主要症状、病期分類、各種検査所見、治療状況等である。

これらのデータを用いて、次に示す3種類の検討を計画している。

1) 患者の発生动向等に関する検討

単年度毎に、患者数、年齢分布、性比、地域特性、重症度等を集計し、経年変化を検討する。この検討では、登録患者全てを対象とした解析に加え、新規登録患者と更新登録患者に分けた検討も実施する予定である。

2) 疾病重症度や予後に関連する因子の横断的検討

平成13年～20年の間に登録された患者全てを解析対象とし、病期分類や予後を結果指標として、Logistic regression modelを用いた多変量解析により関連する因子を明らかにする。検討項目としては、診断時年齢、性別、居住地、家族歴、既往歴、診断時検査所見、診断時症状、治療状況等を予定している。

3) 疾病重症度や予後に関連する因子の縦断的検討

最終的には各年度のデータを連結し、登録患者をデータベース上で追跡する。これにより2)の横断的検討で関連が示唆された因子が、リスク因子・予防因子として考えられるかを検証したい。

(倫理面への配慮)

1) 本研究に関する臨床調査個人票の使用について

て、厚生労働省から許可を得た後、データの提供を受けた。これらのデータは、氏名、住所、電話番号などの個人情報が削除された電子データであり、すでに匿名化されている。

2) 疫学研究の倫理指針によると、本研究は「人体から採取された資料を用いず、既存資料等のみを用いる観察研究」に該当するため、対象者からインフォームド・コンセントを取得することを必ずしも要しない。また、本研究の実施については、大阪市立大学医学部倫理審査委員会の承認を得た。

参考文献

- 1) 廣田良夫、田中隆、他：門脈血行異常症に関する全国疫学調査進捗状況、厚生省特定疾患門脈血行異常症調査研究班 平成11年度研究報告書
- 2) 廣田良夫、福島若葉、大藤さとこ、他：門脈血行異常症の全国疫学調査—中間報告—、厚生労働省特定疾患門脈血行異常症調査研究班 平成17年度研究報告書
- 3) 廣田良夫、大藤さとこ、福島若葉、他：門脈血行異常症の全国疫学調査、厚生労働省特定疾患門脈血行異常症調査研究班 平成18年度研究報告書

IPH における門脈血栓の病態と臨床的意義について

分担研究者 松谷 正一（千葉県立衛生短期大学教授）

研究要旨

IPHにおける門脈血栓の病態と臨床的意義についてのこれまでの研究結果を概説した。IPHでは肝硬変症に比べて門脈血栓の頻度が高いこと、IPHの死亡例では血栓合併例が多いことが特徴であった。また血行動態の検討から門脈血栓は食道静脈瘤への負荷因子となることを明らかにした。さらにIPHでは血栓非合併例においても血栓関連の血液分子マーカーであるD-ダイマー値の軽度上昇がみられたことからIPHにおける過凝固状態の可能性が示された。さらに今後の研究をもとにIPHにおける血栓形成の背景と病態ならびに薬物治療の臨床経過におよぼす影響を明らかにすることにより門脈血栓の対策をふまえたIPHの予後向上を図る。

A. 研究目的

門脈血栓は門脈圧亢進症の増悪因子となる。とくに門脈血行異常症では、従来、その成因や病態の進展に門脈血栓が深く関与することが知られている。しかしIPHにおける血栓の成因や病態、臨床的意義については不明な点が少なくない。そこで今後のIPHの治療効果や長期予後の改善を図るためには門脈血栓の病態解明と対策がもたらされる。本報告ではIPHに伴った門脈血栓に関するこれまでの研究成果を概説するとともに本研究における今後の方向性を考察する。

B. 研究方法と研究結果

1. IPH における門脈血栓症の臨床

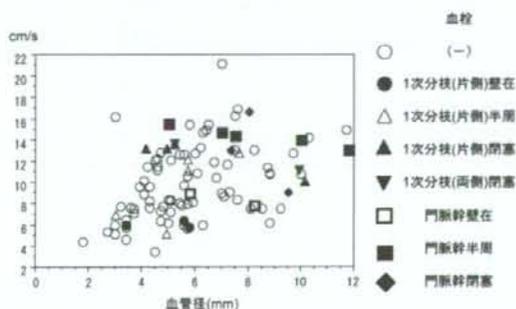
手術治療を行っていない自験IPH 22例の検討では9例(41%)と高率に門脈血栓がみられ、肝硬変症(7/70例、10%)に比べて高頻度であった。なお欧州における報告でも同様に血栓の頻度が高く、IPHの病態における血栓の強い関与が示された。また

IPHでの死亡例4例はすべて血栓合併例であった。

2. 門脈血栓症における静脈瘤血行動態(図)

門脈血栓の形成は食道静脈瘤への負荷を生じることが予測される。そこで、F2以上の食道静脈瘤を伴った門脈圧亢進症100例(LC 94例, IPH 6例、門脈血栓: LC 18例, IPH 6例)において静脈瘤供血管となる左胃静脈の血行動態(血管径、血流速度)を超音波ドプラにより検討した。門脈血栓による1次分枝閉塞例や門脈で半周以上に血栓が占拠した例では門脈血栓非合併例に比べて左胃静脈径あるいは血流速度が高値であったことから門脈血栓は静脈瘤血行動態の増悪因子となることが示された。

門脈血栓例における左胃静脈血行動態



3. IPHにおける血中D-ダイマー値

安定化フィブリンの分解産物として血栓特異性の高い分子マーカーであるD-ダイマーを門脈圧亢進症(LC 32例、IPH 14例、EHO 5例)において測定したところ、門脈血栓を合併した15例中13例(87%)でD-ダイマーの上昇がみられた。しかしIPH例では画像診断上門脈血栓が明らかでない例においてもD-ダイマーの軽度な上昇例(0.5 μ g/ml以上)がLCやEHOに比べて多くみられ、IPHにおける過凝固状態の存在が示唆された(表)。

門脈血栓非合併例における血中D-dimer

D-dimer	0-0.5	0.6-2.0	2.1-
EHO	5 (100%)	0	0
IPH	2 (28.6%)	5 (71.4%)	0
LC	18 (69.2%)	8 (30.8%)	0

D-dimer μ g/ml

4. 門脈血栓症の薬物治療

限局した肝内門脈血栓を伴ったIPH例で門脈血栓に対する抗血小板薬や抗凝固薬の効果を検討した。まず自然経過(2-4ヶ月)での縮小が見られなかった例において低用量アスピリン(経口)を用いたところ1ヶ月後には血栓の縮小が見られた。しかし、その後の経過で血栓の再増大が見られたためワルファリンによる抗凝固療法を行い、血栓の再縮小が得られた。

C. 考 察

IPHにおいては門脈血栓が、その成因や病態に深く関与することが知られている。自験例においても高率な合併や予後不良因子としての意義が認められている。しかしどのような状況でどのような例に発症するか、また血栓がIPHの病態にどのような影響をおよぼすかについては不明な点が少ない。そこで、IPHの門脈血栓の特徴、血栓の形成や進展過程がIPHの臨床病態にどのような影響をおよぼすかについて血行動態や肝機能の観点から検討

を行うことにより、IPHにおける血栓の臨床的意義を明確にすることが必要と考えられる。またIPHの門脈血栓については、これまでに過凝固状態や潜在性の骨髄増殖性疾患が背景因子として重要であることが欧州から報告されている。しかし本邦のIPH例では、このような背景や異常について十分な検討がなされていないのが現状である。そこでIPH例における血液凝固関連因子の異常からみた血栓形成の背景にある過凝固状態の成因や病態を明らかにすることができれば、血栓予防や発症予測などの対策につながるものと考えられる。門脈血栓の治療については病態への緊急的な影響などが明らかでないことから診断時の対応について十分に検討がなされていない。さらに門脈血行異常症では消化管出血を生じることが多く、血栓症の薬物治療についても積極的な治療介入を行いにくい状況がある。しかし血行動態の検討から血栓の程度によっては静脈瘤への血流負荷が生じていることから、静脈瘤出血を助長する因子として対応や対策が求められる。また画像診断の進歩により、今後は症候の乏しい比較的軽度な血栓例が診断される機会が増加することも予測される。このような多様な病態への対処については、これまでの様々な薬物治療等の臨床効果や自然経過例の解析をふまえて病態ごとの適切な対応を模索していくことが重要と考えられる。

D. 結 論

門脈血行異常症における門脈血栓に関する研究結果を概説することにより、血栓の成因や臨床的影響ならびに対応に関する研究の必要性と方向性を示した。

E. 文 献

1. Matsutani S, et al. Study of portal vein thrombosis in patients with idiopathic portal hypertension in Japan. *Liver International* 2005; 25: 978-983
2. Hillaire S, et al. Idiopathic non-cirrhotic intrahepatic portal hypertension in the West: a re-evaluation in 28 patients. *Gut* 2002; 51:

3. 松谷正一：門脈血栓症における門脈血行動態の検討－静脈瘤血行路におよぼす影響について、厚生労働省特定疾患・門脈血行異常症調査研究班、平成16年度研究報告書、班長 橋爪 誠、2005, 20-22。
4. 松谷正一：肝内門脈に血栓を伴ったIPH症例の検討。厚生労働省特定疾患・門脈血行異常症

調査研究班、平成17年度研究報告書、班長 橋爪 誠、2006, 87-93。

5. 松谷正一：門脈圧亢進症におけるD-ダイマー値の検討－門脈血栓との関連について－、厚生労働省特定疾患・門脈血行異常症調査研究班、平成18年度研究報告書、班長 橋爪 誠、2007, 58-61。

造影超音波を用いた肝内血行異常の検討

分担研究者 森安 史典（東京医科大学消化器内科教授）

研究要旨

肝繊維化に伴う門脈枝の変化は、過去の動物実験ないし剖検肝を用いた検討により報告されている。しかし、それらの変化を生理的な条件下で観察し得た報告はない、今回我々は、第二世代の超音波造影剤であるソナゾイドと、超音波の造影手法である Micro flow imaging (MFI) を用い、生理的な状態で微小な門脈枝を描出し、定量的に解析を行った。まだ、ごく初期段階の検討であるが報告する。

共同研究者

市村茂輝、杉本勝俊、目時 亮、古市 好宏

（東京医科大学消化器内科）

白石 順二、土井 邦夫（シカゴ大学放射線科）

A. 研究目的

1. 慢性肝炎から肝硬変に至る肝微小血管（門脈）の形態の変化を第二世代の超音波造影剤であるソナゾイドと、超音波の造影手法である Micro flow imaging (MFI) を用い、生理的な状態で描出し、定量的に解析する。
2. 造影超音波を用いた、肝線維化の程度を診断するコンピュータ支援診断（CAD）システムを構築する。

B. 研究方法

症例：病理学的に証明された慢性肝炎および肝硬変症例80例および健常例20例である（目標症例）。ただし、画像および血液・生化学検査において明らかな硬変肝は組織学的な検査が行われていなくても対象に含めることとする。同様に、過度な飲酒歴および肝疾患の既往を有さない症例は組織学的な結果がなくても健常例として対象に含める。

造影超音波検査：超音波診断装置は東芝AplioXG[®]、超音波造影剤としてSonazoid[®]を使用した。Sonazoid[®] 0.5mlを左肘静脈より bolus 静注した後10mlの生食でフラッシュした。その後、肝実質が十分に造影された時相（portalvenous phase: 50-90 sec）でバーストスキャンを行い、スキャン断面のマイクロバブルを崩壊させ、その後再環流するマイクロバブルを MFI モードにて観察した。これらの画像は cine clipとして保存した。スキャンに使用したプローブは3.5Mhzのコンベックスプローブを用い、右肋間よりスキャンした。この際デプスは5cm、フォーカスポジションは4cmと一定とし、ゲイン、MI値はオペレーターが症例ごとに最適化した。

組織学的検査：肝生検には16Gの生検針を使用し、右肋間より超音波ガイド下で穿刺した。得られた肝組織組織は新犬山基準に従い2名の病理医のコンセンサスにより診断した。

血液検査：各症例は肝生検前に以下の項目の採血を行った（Platelet count、AST、ALT、GGT、total bilirubin）。線維化の指標としてAPRI index[1]を用いた。値は以下の計算により算出した。AST (x upper limit of normal range) x 100/platelet count (10⁹/L)。

Micro flow imaging (MFI)：東芝の造影超音波の造影手法である[2]。ピクセル毎の最大輝度値保持を

行うことにより、通常の harmonic imaging と比べ血管構築が連続性をもって描出可能である。

解析方法：MFI画像から血管構造のみ抽出し、それらに対し細線化処理を行った(図1, 2)。細線化処理を行った全ての血管から血管分岐角度および血管分岐間距離の推定を行った(図3)。

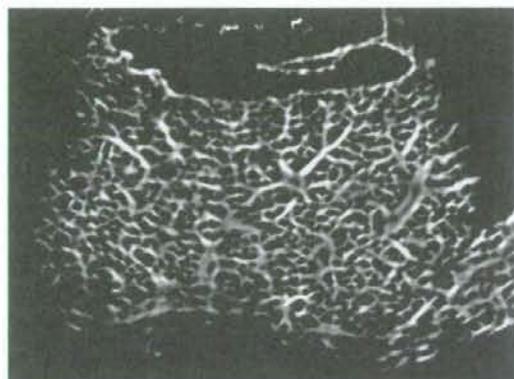


図1：血管領域部の画像強調処理

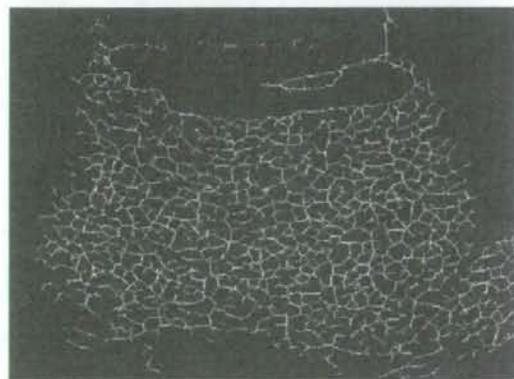


図2：血管領域部の細線化処理



図3：血管分岐角度・分岐間距離の推定

C. 研究結果、D. 考察

健常肝1例と硬変肝1例の予備的な解析結果を下記に示す。

健常肝(分岐数1159)では分岐角度： 88.5 ± 26.3 度、分岐間距離： 2.63 ± 1.60 mmであるのに対し、硬変肝では分岐角度： 93.21 ± 19.0 度、分岐間距離： 2.11 ± 1.35 mmであり、分岐間距離では両者に明らかな有意差は認められなかったものの、分岐角度では硬変肝の方が有意に広い傾向が認められた($P < 0.001$)。また、正常観1例と硬変肝1例のごく初期の検討であるが、血管の分岐角度において有意差が認められた。今後、多数の症例を用い解析を行う予定である。

E. 結 論

F. 文 献

1. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 518-526
2. Shiraishi J, Sugimoto K, Moriyasu F, Kamiyama N, Doi K. Computer-aided diagnosis for the classification of focal liver lesions by use of contrast-enhanced ultrasonography. *Med Phys.* 2008; 35: 1734-1746.

G. 研究発表

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

IPHにおける門脈血行動態と長期予後との関連について

分担研究者 松谷 正一（千葉県立衛生短期大学教授）

研究要旨

IPH においては最近の治療法の進歩に伴って静脈瘤治療成績の改善がみられる。自験例においても内視鏡治療により高い食道静脈瘤消失効果と低い再発率が得られ、食道静脈瘤については良好な長期経過を認められた。このような背景をふまえて最近のIPH例における長期経過を検討すると門脈血栓や腹水など静脈瘤以外の病態による予後不良例が増加している。そこで今後の研究では長期経過に伴って生じるIPH例での新たな病態の特徴を門脈血行動態変化との関連から明らかにすることによりIPH例における長期予後改善のための対策を模索する。

A. 研究目的

門脈血行異常症における予後関連因子としては食道胃静脈瘤出血とその治療効果が、従来、最も重要な因子とされてきた。しかし近年の静脈瘤治療法の進歩は門脈血行異常症における静脈瘤治療成績の向上と予後の改善をもたらすようになってきた。このような変化を背景に最近のIPH例では経過の長期化と静脈瘤出血以外の予後規定因子が新たな問題点として生じてきている。そこで本報告ではまずIPHの長期予後に関するこれまでの研究を概説する。さらに門脈血行動態の長期変化がIPHの長期病態や予後にどのような影響をおよぼすかについて、今後の研究を展望する。

B. 研究方法と研究結果

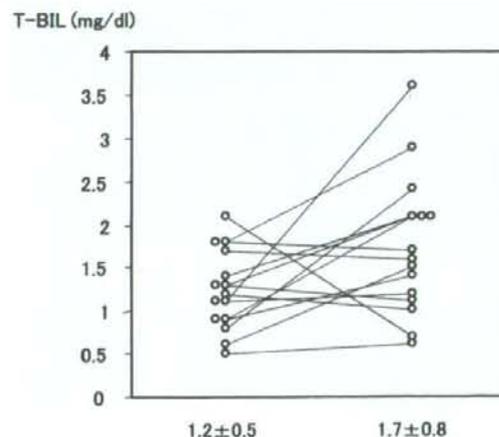
1. IPHにおける最近の静脈瘤治療成績

食道静脈瘤を伴ったIPH 13例（出血10例）において静脈瘤治療効果と治療後経過を検討した。治療は内視鏡的硬化療法（EIS）により行った。なおEIS前に9例ではEVLを、3例ではPTOを併用した。救

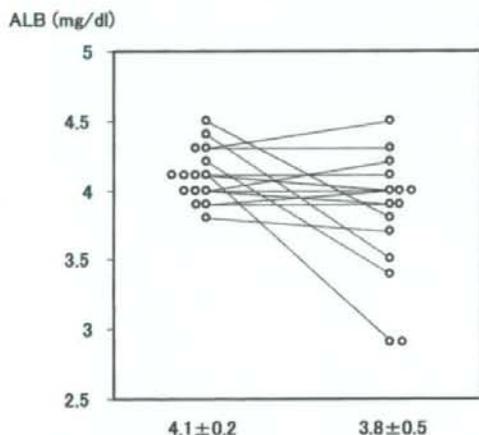
急治療を行った5例では全例で止血効果がえられた。また治療終了時には13例全例で内視鏡所見上静脈瘤の消失がえられたが、1例（7.7%）で3年後に再発がみられた。治療後は 10.1 ± 5.8 年（平均 \pm SD）の経過で静脈瘤出血はみられていない。3例の死亡例はいずれも静脈瘤関連死ではなかった。

2. IPHにおける長期予後について

10年以上の経過（観察期間 13.1 ± 4.3 年、10-24年）をみる事ができたIPH 15例（女性14例、 56.7 ± 9.2 才）において臨床経過の検討を行った。食道静脈瘤



は13例に合併し、6例で静脈瘤出血がみられた。内視鏡的静脈瘤治療は9例に行われた。治療後経過での静脈瘤出血はみられていない。長期経過における臨床的事象としては門脈血栓が5例(33.3%)、腹水が4例(26.7%)にみられた。死亡例3例中2例は門脈血栓と腹水の合併例、1例は腹水例であった。なお未治療の静脈瘤を伴った4例中2例では自然経過による静脈瘤縮小がみられた。11例は日常生活上での問題点はなく経過している。血液検査値の変化として血清総ビリルビンは観察開始時で $1.2 \pm 0.5 \text{ mg/dl}$ (平均 \pm SD、以下同)、最終観察時で $1.7 \pm 0.8 \text{ mg/dl}$ であり、最終観察時では 2 mg/dl を超える例が6例(40%)にみられた(図1)。血清アルブミンは観察開始時で $4.1 \pm 0.2 \text{ g/dl}$ 、最終観察時で $3.8 \pm 0.5 \text{ g/dl}$ であり、最終観察時では 3.5 g/dl 以下の例が3例(20%)にみられた(図2)。



C. 考 察

IPHは肝機能異常が軽微なことが多いとされており、従来は静脈瘤出血が予後を規定する因子として最も重要と考えられてきた。しかし、内視鏡治療を中心とした静脈瘤治療法の進歩や普及により静脈瘤治療の臨床成績は著しく向上してきていることから、IPH例においても静脈瘤出血に関連した死亡例は減少しつつあるようである。このような背景をもとに、最近ではIPH例における臨床経過の長期化や静脈瘤以外の病態が新たな問題点として生じてきて

いる。ここで自験例での長期経過における肝機能検査値の推移をみると、ビリルビン値の上昇やアルブミン値の低下など肝細胞機能の低下を示唆する結果が得られている。しかし、経過中の予後不良例は、必ずしもこのような肝細胞機能低下例が該当するわけではなく、IPHにおける肝機能検査値の異常と臨床病態との関連についてはさらなる検討を要するものと考えられる。一方、長期経過例では腹水や門脈血栓の合併例がみられ、このような例での予後不良が目立っていた。そこでIPH例の経過で出現する門脈血栓や腹水などの病態を解析し対策をしていくことが今後のIPH例での長期予後改善に必要とされる。これらの病態の形成には門脈血行動態の異常が深く関与することが推測される。そこでIPHにおいては長期経過で門脈血行動態がどのように変化していくのかを明らかにすることが長期経過で問題となる病態の解明に必要と考えられる。なお少数例ではあるが長期経過例のなかには門脈圧亢進症状が自然に軽減していく例が観察された。このようにIPHでは臨床経過の長期化に伴って、従来とは異なる多彩な病像を示すことが予測される。そこでIPHにおける門脈圧亢進症の特性をさらに明らかにしていくことが今後の門脈血行異常症への対処として重要と考えられる。

D. 結 論

最近のIPH例における長期経過の特徴と予後に関連する新たな病態について報告した。長期経過における門脈血行動態の変化がIPH例の病態にどのような影響をあたえるかを明らかにすることが重要と考えられる。

E. 文 献

1. Okuda K. Non-cirrhotic portal hypertension versus idiopathic portal hypertension. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2002; 17: S204-S213.
2. Okuda K, et al. Clinical studies of eighty six

- cases of idiopathic portal hypertension and comparison with cirrhosis with splenomegaly. *Gastroenterology* 1984; 86: 600-610.
3. 橋爪 誠、他：門脈血行異常症の治療成績に関する全国調査 厚生労働省特定疾患・門脈血行異常症調査研究班、平成18年度研究報告書、班長 橋爪 誠、2007, 93-96.
 4. Ito K, et al. Study of hemodynamic changes in portal systemic shunts and their relation to variceal relapse after endoscopic variceal ligation combined with ethanol sclerotherapy. *Journal of Gastroenterology* 2006; 41: 119-126.
 5. Ohnishi K, et al. Portal hemodynamics in idiopathic portal hypertension(Banti's syndrome). Comparison with chronic persistent hepatitis and normal subjects. *Gastroenterology* 1987; 97: 751-758.
 6. Matsutani S, et al. Study of portal vein thrombosis in patients with idiopathic portal hypertension in Japan. *Liver International* 2005; 25:978-983.
 7. Seiko S, et al. Pathological study of idiopathic portal hypertension with an emphasis on cause of death based on records of Annuals of Pathological Autopsy Cases in Japan. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2007; 22: 204-209.

再発性食道静脈瘤診断における FICE 併用経鼻内視鏡検査の位置づけ

分担研究者 森安史典（東京医科大学消化器内科教授）

研究要旨

経鼻内視鏡検査は、被検者に対する苦痛度が低く、セデーションを用いることなく検査が可能であることから、門脈血行異常を有する食道静脈瘤患者から大変注目を集めている。しかし、解像度や操作性の点などで従来の内視鏡に比べると劣るため、更なる発展が望まれてきた。そこで我々は、任意の光波長を分光し、それを画像処理・再構築することを可能とした FICE (Flexible Imaging Color Enhancement) という新しい内視鏡診断技術を併用することで、経鼻内視鏡検査におけるこれらの弱点を克服し、再発性食道静脈瘤の診断能を向上させることが出来たため報告する。

共同研究者

古市好宏、市村茂輝、宮田祐樹、目時 亮
(東京医科大学消化器内科)

analogue scale を用いて判定した（無痛0点～最悪の苦痛10点）。

C. 研究結果

A. 研究目的

FICE 併用経鼻内視鏡検査が再発性食道静脈瘤診断において有用であるか明らかにする。

B. 研究方法

EIS (or EVL) 治療後2年以内の再発性食道静脈瘤32例を対象とした。いずれも同時期に経口 (Fujinon EG-590WR) と経鼻検査 (EG-530N2) の両方を施行しており、経鼻検査では FICE を併用した。

治療痕、治療周囲の微小血管拡張像、静脈瘤再発の鮮明度について比較検討した。FICE は0番～9番まで使用し3名の盲検者にて判定した(悪い0点、普通1点、良い2点)。またスコアリングに際しては FICE 非使用時の経鼻画像を基準 (1点) とした。

次に、経鼻検査における被検者の苦痛度を、咽頭違和感、息苦しさ、嘔吐感、膨満感の4項目で visual

通常の経鼻検査は経口検査に比べ低成績であったが、FICE を使用することでいずれも鮮明度が上昇した。特に、治療周囲の微小血管描出性が最も向上した。実際のスコア (経口群、FICE 使用経鼻群、経鼻群) は、治療痕 (1.8±0.4、1.3±0.6、1.0)、微小血管 (1.7±0.5、1.7±0.5、1.0)、静脈瘤 (1.5±0.5、1.4±0.5、1.0) であった。その為 FICE は、食道静脈瘤再発の早期発見に有用であると思われた。また、治療痕には FICE 6番、微小血管には3番、静脈瘤には9番を使用した際に最も鮮明度が上昇した。

経鼻検査における苦痛度の評価では、嘔吐感が最も低く (0.8±1.3)、咽頭違和感1.7±1.5、息苦しさ1.7±1.8、膨満感3.3±3.0という結果で、被検者にとって大変許容性が高い検査であることが証明された。