

Fig. 3 抗CD27抗体(紫)と抗 α SMA抗体(茶)による二重染色標本

- a, b) 対照脾. α SMA 陽性の細網性構築が PALS 領域と連続してみられ, marginal zone に存在する α SMA 陽性細胞により, CD27 陽性細胞が層状に分布する marginal zone (MZ) は inner MZ と outer MZ に分けられる。
- c, d) 肝硬変脾. いずれも濾胞の大きさは保たれているが, c では marginal zone B 細胞の減少を認め, d では inner MZ, outer MZ とともに細胞数が減少し MZ が萎縮している。

陽性 MZ は, α SMA 陽性細胞により 2 分され, α SMA 陰性で MZ 内側に位置する CD27 陽性帯, inner MZ と, その外側に位置し α SMA 陽性の細網構築内に CD27 陽性細胞が配置する outer MZ に分けることができた (Fig. 3b)。肝硬変群の半数では, 濾胞の大きさに関わらず, inner MZ においても outer MZ においても CD27 陽性細胞 (MZ B 細胞) の著明な細胞数減少がみられ (Fig. 3c)、症例によっては inner MZ と outer MZ を境する α SMA 陽性の細網構築に沿ってのみ, 少量の CD27 陽性細胞の残存が認められた (Fig. 3d)。なお, MZ の萎縮した濾胞において, CD27 陽性細胞は胚中心を除く濾胞内部にはほとんどみられなかった。

D. 考 察

脾 MZ は血流の開口部に接する場所に位置し, 脾リンパ装置 (白脾髄) における免疫機構の最前線に相当する。MZ は, げっ歯類などの実験モデルに

おいて, 各種抗原刺激に対する組織学的な変化や MZ B 細胞の態度から, 抗原提示にかかわり, 脾固有で他に代償されない T2-I 細菌に対しての特異的免疫能のみならず, その他ウイルスや自己抗原などに対しても機能すると考えられている。しかし, ヒト脾臓 MZ は, げっ歯類の MZ とは組織学的構築や構成する細胞に違いがあることが知られ, ヒト特異的な免疫反応を解析するためには, ヒト組織における病理組織学的な検討が重要と考えられる。

白脾髄構成成分の病理組織学的評価においては, リンパ球の集合装置である白脾髄が, 房状の構造が連続するような 3 次元構造を有していることを考慮し, 標本作製時の接線方向におけるアーチファクトを考慮する必要がある。本研究においては, 白脾髄を取り巻くように存在する α SMA 陽性の細網構築を加味して白脾髄構造を評価することにより, 全例ではないものの肝硬変脾において MZ の萎縮と MZ B 細胞の減少が生じていることを明らかにした。種々の感染症モデルにおいて, MZ B 細胞の抗原提示に伴う濾胞内部への移動と MZ B 細胞の減少が知られているが, 今回検討した肝硬変群の MZ 萎縮例においては MZ B 細胞 (CD27⁺CD3⁻細胞) の濾胞内への移動はみられず, MZ の萎縮, 同細胞の減少はこれとは異なる機序で生じたものと推察された。

MZ B 細胞が同部に整然と配置するためには, MZ に存在する細網性構築上に発現する細胞接着因子とリンパ球上の受容体との関係が重要となる。本研究では, 肝硬変例に生じた MZ 萎縮の原因の検討には至っていないが, これらの関係を踏まえ, 今後, MZ 萎縮の機序を検討すること, さらに非肝硬変例, IPH 症例における病理組織学的な検討をも加えることにより, 各種門脈圧亢進症の背景にある免疫異常の病態解析が行える可能性があると考えられた。

E. 結 論

肝硬変摘出脾において, MZ の萎縮, MZ B 細胞の減少が認められた。肝硬変症例の背景にある免疫

学的異常の一つとして、今後 MZ の萎縮とその機序についてさらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

Kudo M, Zheng RQ, Kim SR, Okabe Y, Osaki Y, Iijima H, Itani T, Kasugai H, Kanematsu M,

Ito K, Usuki N, Shimamatsu K, Kage M, Kojiro. Diagnostic accuracy of imaging for liver cirrhosis compared to histologically proven liver cirrhosis. A multicenter collaborative study. Intervirology Volume: 51 Suppl 1 (2008-01-01) p. 17-26.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

質量分析を用いた IPH 肝組織特異タンパクの解析

分担研究者 塩見 進（大阪市立大学大学院医学研究科核医学教授）

研究要旨

質量分析による臨床プロテオーム解析を導入し、IPH 肝臓における特異的蛋白の検索と IPH 肝臓における蛋白ネットワークの解析を行った。IPH 肝臓において99% confidence で発現が同定された蛋白数は151であった。IPH 2症例に共通の蛋白発現種を認めたが、Hepatic system diseaseのtermでの解析では、特徴的なネットワーク関係を認めなかった。

共同研究者

森川浩安、田守昭博

（大阪市立大学大学院医学研究科核医学 肝胆臓内科）

川村悦史

（大阪市立大学大学院医学研究科核医学 核医学）

A. 研究目的

我々は、以前より特発性門脈圧亢進症 (IPH) 検体の収集、保存を行ってきた。また、その IPH 検体を用いて、IPH に特異的に発現する遺伝子、蛋白の解析を行ってきた。Atlas cDNA expression macroarray を用いた解析では、heat shock 70-kD protein 1, CCAAT-binding transcriptional factor, T-lymphocyte activated protein, Heregulin Alpha, Leukosialin S, Connective tissue growth factor (CTGF), Placental growth factor が候補となり、CTGF がC型肝疾患において線維化ステージに相関して発現していること、IPH 症例において異常高値に発現している群が存在することが確認された。また、mRNAレベルでの発現をIPH肝組織中に確認した(1)。さらに IPH 血清での原発性胆汁性肝硬変と比較したプロテインチップを用いた検索では CXCL4, CXCL7 が認められた(2)。今回臨床プロテオーム解析を導入し、IPH肝臓における特異的

蛋白を解析した。

B. 研究方法

IPH 症例の肝臓3検体と他疾患治療時摘出正常肝3検体を用いた。臨床プロテオーム解析は、QSTAR Elite LC-MS/Ms systemを用いた。

Tissue Protein Extraction Reagentを使用し、各肝臓組織からタンパク質を抽出し、サンプル個別にトリプシン消化を行い、iTRAQ®試薬を用いて標識した。測定サンプルの混合を行い、QSTAR® Elite Hybrid LC/MS/MS System にて測定した。行程の概略を図1に示す。測定は3回行い、2回以上検出された蛋白のみリストアップした。得られた測定結果をIngenuity Pathways Analysis

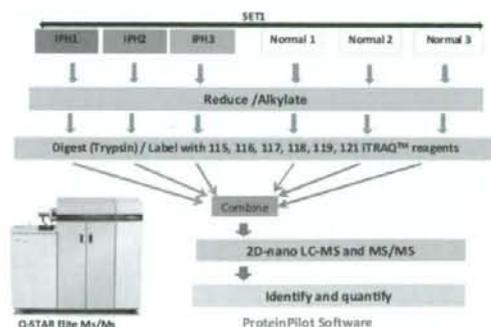


図1. 質量分析を用いたプロテオーム解析

(INGENUITY® SYSTEMS) を用いてネットワーク解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪市立大学倫理委員会の承認を受け、同意を得た検体のみを使用し蛋白分析のみを行った。

C. 研究結果

99% confidenceで発現が同定された蛋白数は151であった。IPH Case 1において、コントロール3検体と比較して、各46、51、63の蛋白が変動していた。高い値を示していた蛋白として argininosuccinate synthetase, acyl-CoA synthetase, carboxyl-esterase 1, isocitrate dehydrogenase, pro-collagen-proline, peroxiredoxin があつた。IPH Case 2において、コントロール検体3検体と比較して、各35、40、62の蛋白が変動していた。高い値を示していた蛋白として acyl-CoA synthetase, dicarboxyl/L-xylulose, D-dopachrome tautomerase, lactate dehydrogenase, peroxiredoxin があつた。IPH Case 3において、コントロール検体3検体と比較して、各65、69、60の蛋白が変動していた。高い値を示していた蛋白として actinin, Annexin, hemoglobin delta, heat shock protein 90, lymphocyte cytosolic protein, moesin, myosine heavy chain, phosphofructokinase, vimentin, Transgelin があつた (図2)。

ネットワーク解析を Hepatic system disease の term で行ったが特徴的なネットワークは見出せなかった。

D. 考 察

IPH Case 1, Case 2において、コントロール肝に比べて高いレベルでの蛋白が認められたのは、acyl-CoA synthetase, peroxiredoxin であつた。acyl-CoA synthetase は脂肪酸代謝に関する蛋白である。また、peroxiredoxin は酸化ストレスに反応し、アルツハイマー病やダウン症候群にて有意に上昇することが報告されている。peroxiredoxin は、heat shock protein と同じく、分子シャペロンであり、肝臓や脂肪肝でのプロテオーム解析にて報告されたりしている(3)。すなわち酸化ストレスへの応答にて認められており、IPH の病因ではなく、病態応答にて出現しているとみるべきと考えている。また、Case 3では、Case 1, 2に比べ、同定蛋白数も多く、actinin, annexin, moesin, myosine heavy chain, vimentin 等の細胞骨格や細胞間架橋に関する蛋白が多く認められた。数少ない検討であるが、Case 1 や Case 2 のように病態への反応としてコントロール肝に比べて特異的な蛋白を認める状態もあれば、ダイナミックに組織構築が動いている状態もあることが示唆された。

ネットワーク解析では、今回 hepatic system disease で検索したが、特徴的なネットワークを見出すにいたらなかった。今後は、Case 3にて特徴的なネットワークをまた、Case 1, 2にて共通のネットワークの有無を検索する予定である。

E. 結 論

IPH 肝臓における特異的な蛋白の検索と IPH 肝臓における蛋白発現ネットワークの解析を臨床プロテオーム解析を導入して行った。99%以上の信頼性で同定・定量されたタンパク質は、全SETから151個であった。IPH 2症例に共通の蛋白発現種を認めた。Hepatic system diseaseのtermでの解析では、特徴的なネットワーク関係を認めなかった。今後、更なる解析を進め、蛋白の検索、検証を行う予定である。

同定蛋白数

99% confidence 151

IPH1 vs N1	46	IPH2 vs N1	35	IPH3 vs N1	65
IPH1 vs N2	51	IPH2 vs N2	40	IPH3 vs N2	69
IPH1 vs N3	63	IPH2 vs N3	62	IPH3 vs N3	60
argininosuccinate synthetase		acyl-CoA synthetase		actinin	
acyl-CoA synthetase		dicarboxyl/L-xylulose		Annexin	
carboxylesterase 1		D-dopachrome tautomerase		hemoglobin delta	
isocitrate dehydrogenase		lactate dehydrogenase		heat shock protein 90	
procollagen-proline		peroxiredoxin		lymphocyte cytosolic protein	
peroxiredoxin				moesin	
				myosine heavy chain	
				phosphofructokinase	
				vimentin	
				Transgelin □	

図2. ProteinPilot analysis 結果

文 献

- 1) 塩見 進、森川浩安、西口修平、他：特発性門脈圧亢進症の遺伝子に関する研究。厚生省特定疾患門脈血行異常症調査研究班平成15年度研究報告書2004:5-8.
- 2) Morikawa H, Tamori A, Nishiguchi S, Enomoto M, Habu D, Kawada N, Shiomi S. Expression of connective tissue growth factor in the human liver with idiopathic portal hypertension. *Mol Med* 2007 ; 13:240-245.
- 3) Zhang L, Perdomo G, Kim DH, Qu S, Ringquist S, Trucco M, Dong HH. Proteomic analysis of fructose-induced fatty liver in hamsters. *Metabolism* 2008 ;57:1115-1124.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

Morikawa H, Shiomi S, Kawamura E, Kobayashi S, Iwai S, Enomoto M, Tamori A, Sakaguchi H, Kawada N. Induction of fibrotic gene expression by adenoviral gene transfer of connective tissue growth factor in the rat liver. The 7th JSH Single Topic Conference "Hepatic Hemodynamic Disorder", (Fukuoka) 2008年11月.

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

門脈血行異常症における *JAK2* V617F 変異解析

分担研究者 小嶋 哲人（名古屋大学医学部教授）

研究要旨

門脈血行異常症の一つであるバッドキアリ症候群（BCS）の原因には、血栓性素因や後天性疾患として骨髄増殖性疾患、とくに真性多血症によるものが数多く報告されている。欧米においては、BCS 症例の約半数に真性多血症の原因である *JAK2* V617F 変異が検出されると報告されている。今回、我々は本研究班の検体保存センターに収集された日本人 BCS ならびに肝外門脈血栓症（EHO）症例において、*JAK2* V617F 変異検出を試みた。解析の結果、BCS 13 症例、EHO 1 症例の解析を行ったが、*JAK2* V617F 変異は検出されなかった。すなわち、日本人における BCS の原因リスクは、欧米人症例と異なり *JAK2* V617F 変異はほとんどないことが明らかとなった。

A. 研究目的

門脈血栓症の発症要因に、まれではあるがアンチトロンビン欠損症など血栓性素因の関与が指摘されており、我々は本研究班において日本人に比較的多くられる血栓性素因のアンチトロンビン欠損症、プロテイン S 欠損症に伴う門脈血栓症の病態解析研究の報告をしてきた。

門脈血行異常症の一つであるバッドキアリ症候群（BCS）の原因には、上述の血栓性素因のほか、後天性疾患として骨髄増殖性疾患、とくに真性多血症によるものが多く報告され、また、同一患者での複数の原因の存在も見い出されて来ている。最近、真性多血症の原因遺伝子変異として Janus kinase 2 (*JAK2*) tyrosine kinase 遺伝子の *JAK2* V617F 変異が報告され注目を集めており、欧米人 BCS 症例では約半数に *JAK2* V617F 変異を認めると報告されている。今回、我々は本研究班の検体保存センターに収集された BCS 症例ならびに肝外門脈血栓症（EHO）症例においてこの *JAK2* V617F 変異の同定を試みた。

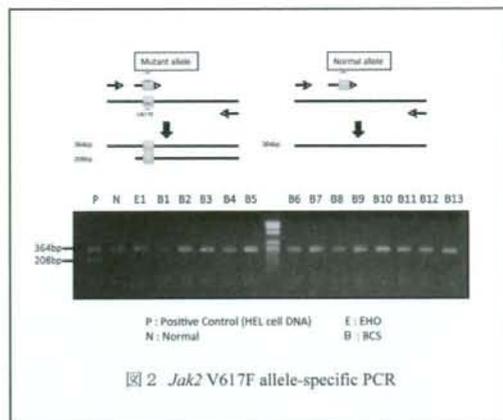
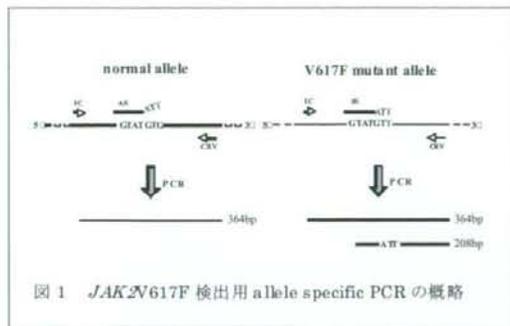
B. 研究方法

各施設倫理委員会承認のもと、本研究班の検体保存センターに収集された BCS 症例13例ならびに EHO 症例1例において、各ゲノム DNA の *JAK2* V617F 変異を検出すべくプライマーを設定し allele specific PCR を行った。Baxter らの報告を参考に、図1に示すごとく 1849 G>T (V617F) 変異を挟む IC (internal control; 5'-ATCTATAGTCATG CTGAAAGTAGGAGAAAAG), AS (allele specific; 5'-AGCATTTGGTTTTAAATTATGGAGTAT ATT), CRv (common reverse; 5'-CTGAATAGTCCTA CAGTGTTTTCAGTTTCA) 各プライマーを設定し PCR を行った。

PCR 産物は、2%アガロース (EtBr 含有) 電気泳動し UV 下でバンドを検出した。理論的には、図1に示すごとく *JAK2* 遺伝子の 1849 G>T (V617F) 変異を検出するため AS プライマーの 3' 末端に変異部を配し、その 2bp 上流に検出感度を上げるべく mismatches を導入している。

なお、陽性コントロールとして *JAK2* 遺伝子の

1849G>T (V617F) 変異をホモ接合体にもつ細胞株・HEL cell 由来の DNA を用いて PCR 解析を行った。



(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解析した。

C. 研究結果

陽性コントロールの HEL cell 由来の DNA 検体では、変異アレル由来 PCR 産物の明瞭な 208bp のバンドが認められたが、BCS の13症例ならびにEHO の1症例での DNA 検体においては、変異を示す 208bp の PCR 産物は検出されなかった(図2)。

D. 考 察

BCS の発症リスク要素は、遺伝的および後天的な凝固亢進や他の様々な原因を含めて、およそ75パーセントの患者に特定できるとされる。骨髄増殖性疾患はBCSの最も一般的な原因とされ、その遺伝子異常として最近報告された*JAK2* 遺伝子の1849 G>T (V617F)を解析した結果、日本人BCS症例13例ならびにEHO症例1例においては同遺伝子変異のは検出されなかった。一方、欧米人BCS症例では約半数に*JAK2* V617F変異が認められる報告されていること、また、日本人骨髄増殖性疾患患者においては、欧米人患者と同頻度に*JAK2* V617F

変異が検出されていることから、日本人での BCS 症例の発症リスク要因が欧米人症例と大きく異なることが示唆された。

E. 結 論

本研究班・全国検体保存センター収集の BCS 症例13例、EHO 症例1例において検索した結果、日本人における BCS の原因リスクは、欧米人症例と異なる *JAK2* V617F 変異はほとんどないことが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) T Kojima and H Saito: Hypercoagulable States. K. Tanaka, and E. W. Davie, eds; **Recent Advances in Thrombosis and Hemostasis 2008**. pp.507-520, Springer, printed in Japan, 2008.
- 2) S Sobue, S Nemoto, M Murakami, H Ito, A Kimura, S Gao, A Furuhata, A Takagi, T Kojima, M Nakamura, M Ito, M Suzuki, Y Banno, Y Nozawa, T Murate: Implications of sphingosine kinase 1 expression level for

- the cellular sphingolipid rheostat: relevance as a marker for daunorubicin sensitivity of leukemia cells. **Int J Hematol**, 87(3): 266-275, 2008.
- 3) T Nakayama, T Matsushita, K Yamamoto, N Mutsuga, T Kojima, A Katsumi, N Nakao, JE Sadler, T Naoe, H Saito: Identification of amino acid residues responsible for von Willebrand factor binding to sulfatide by charged-to-alanine-scanning mutagenesis. **Int J Hematol**, 87(4): 363-370, 2008.
- 4) T Kashiwagi, T Mstsushita, Y Ito, K Hirashima, N Sanda, Y Fujimori, T Yamada, K Okumura, A Takagi, T Murate, A Katsumi, J Takamatsu, K Yamamoto, T Naoe, T Kojima: L1503R is a member of group I mutation and has dominant-negative effect on secretion of full-length VWF multimers: an analysis of two patients with type 2A von Willebrand disease. **Haemophilia** 14(3), 556-563, 2008.
- 5) F Ozlu, M Kyotani, E Taskin, K Ozcan, T Kojima, T Matsushita, H Yapicioğlu, A Takagi, I Sasmaz, M Satar, and N Narli: A neonate with homozygous protein C deficiency with a homozygous Arg178Trp mutation. **J Pediatr Hematol Oncol** 30: 608-611, 2008.
- 6) Y Fujimori, H Okimatsu, T Kashiwagi, N Sanda, K Okumura, A Takagi, K Nagata, T Murate, A Uchida, K Node, H Saito and T Kojima: Molecular Defects Associated with Antithrombin Deficiency and Dilated Cardiomyopathy in a Japanese Patient. **Inter Med**. 47(10): 925-931, 2008.
- 7) K Okumura, Y Fujimori, A Takagi, T Murate, M Ozeki, K Yamamoto, A Katsumi, T Mstsushita, T Naoe, and T Kojima: Skewed X chromosome inactivation in fraternal female twins results in moderately severe and mild haemophilia B. **Haemophilia** 14(5), 1088-1093, 2008.
- 8) S Sobue, M Murakami, Y Banno, H Ito, A Kimura, S Gao, A Furuhata, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, Y Nozawa, T Murate: v-Src oncogene product increases sphingosine kinase 1 expression through mRNA stabilization: alteration of AU-rich element-binding proteins. **Oncogene** 27(46), 6023-6033, 2008.
- 9) R Tanizaki, A Katsumi, H Kiyoi, S Kunishima, T Iwasaki, Y Ishikawa, M Kobayashi, A Abe, T Matsushita, T Watanabe, T Kojima, K Kaibuchi, S Kojima, T Naoe. Mutational analysis of SOS1 in acute myeloid leukemia. **Int J Hematol**. 88(4):460-462, 2008.
- 10) T Iwasaki, A Katsumi, H Kiyoi, R Tanizaki, Y Ishikawa, K Ozeki, M Kobayashi, A Abe, T Matsushita, T Watanabe, M Amano, T Kojima, K Kaibuchi, T Naoe. Prognostic implication and biological roles of RhoH in acute myeloid leukaemia. **Eur J Haematol**. 81(6):454-60, 2008.

2. 学会発表

- 1) 宮脇由理、鈴木敦夫、田中亮子、中島大輔、藤森祐多、山田貴之、奥村 薫、高木 明、村手隆、松下 正、高松純樹、小嶋哲人：女性血友病Aの1例 第9回愛知県医学検査学会、豊橋
- 2) 小嶋哲人：シンポジウム2「血栓性素因の病態と診断の進歩」：血栓性素因のとしてのATとPC異常 第9回日本検査血液学会学術集会、津
- 3) 藤森祐多、山田貴之、奥村 薫、田中亮子、中島大輔、鈴木敦夫、宮脇由理、高木 明、村手隆、小嶋哲人：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回日本検査血液学会学術集会、津
- 4) 古畑彩子、村上真史、高 四強、木村有美、伊藤裕美、高木 明、小嶋哲人、安部明弘、直江知樹、村手隆：GATA-1, GATA-2によるWT1発現調節の解析 第70回日本血液学会総会、京都

- 5) 柏木隆宏、松下 正、伊藤康友、高木 明、村手 隆、勝見 章、平島寛司、直江知樹、小嶋哲人：新規 GroupI 変異L1503Rのvon Willebrand 病type 2A 発症における役割 第70回日本血液学会総会、京都
- 6) 宮田敏行、川崎富夫、辻 肇、窓岩清治、坂田洋一、小嶋哲人、村田 満、阪田敏幸、竹下 聡、小久保喜弘、小亀浩一、岡田裕美、池田康夫：日本人の血栓症の遺伝的背景に関する調査研究 第70回日本血液学会総会、京都
- 7) 藤森祐多、奥村 薫、山田貴之、田中亮子、中島大輔、鈴木敦夫、宮脇由理、村手 隆、高木明、小嶋哲人：日本人における血栓性素因遺伝子変異データベースの作成 第70回日本血液学会総会、京都
- 8) 宮脇由理、鈴木敦夫、田中亮子、中島大輔、藤森祐多、山田貴之、奥村 薫、高木 明、村手 隆、松下 正、高松純樹、小嶋哲人：女性血友病Aの分子病態解析 第31回日本血栓止血学会学術集会、大阪
- 9) 小嶋哲人：「抗血栓薬の最近の進歩」関連学会ジョイントシンポジウム 日本循環器学会 第31回日本血栓止血学会学術集会、大阪
- 10) 田中亮子、中島大輔、鈴木敦夫、宮脇由理、藤森祐多、山田貴之、奥村 薫、勝見 章、山本晃士、松下 正、高松純樹、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：先天性凝固第 VII 因子欠損症の分子病態解析 第31回日本血栓止血学会学術集会、大阪
- 11) 平島寛司、柏木隆宏、松下 正、伊藤康友、高木 明、村手 隆、勝見 章、直江知樹、小嶋哲人：新規Grcm pI 変異 L1503Rのvcm Willebrand 病 type2A 発症における役割 第31回日本血栓止血学会学術集会、大阪
- 12) H Ito, M Murakami, S Gao, A Furuhashi, K Yoshida, Y Tagawa, S Sobue, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, Y Banno, Y Nozawa, K Koizumi, T Murate: Regulatory mechanism of neutral sphingomyelinase 2 gene expression by daJnorubicin in MCF-7 cells. 第31回日本分子生物学会、神戸
- 13) S Gao, M Murakami, H Ito, A Furuhashi, K Yoshida, Y Tagawa, S Sobue, A Takagi, T Kojima, Y Banno, M Suzuki, Y Nozawa, T Murate: Mutated Ras-induced. phospholipase D1 transcripton in a human colon adenocarcinoma cell line, DLD-1. 第31回日本分子生物学会、神戸
- 14) M Murakami, H Ito, S Gao, A Furuhashi, K Yoshida, Y Tagawa, S Sobue, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, Y Banno, Y Nozawa, T Murate: ATRA inhibits ceramide kinase transcription through an ATRA-related transcription factor, COU⁻-TFI, in a human neuroblastoma cell line, SH-SY5Y cells. 第31回日本分子生物学会、神戸
- 15) 祖父江沙矢加、村上真史、坂野喜子、伊藤裕美、高 四強、古畑彩子、高木 明、小嶋哲人、野澤義則、村手 隆、市原正智：v-Src によるSPHK1 mRNA 安定化と発現増強 第31回日本分子生物学会、神戸

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

特発性門脈圧亢進症における免疫異常 —FOX P3 遺伝子多型との関連—

分担研究者 馬場 俊之（昭和大学内科学講座消化器内科学部門講師）

研究要旨

特発性門脈圧亢進症（IPH）の病因には免疫異常の関与が推測されている。IPH では肝および脾組織内、末梢血において制御性T細胞（Treg）が減少しており、免疫亢進状態が惹起されている可能性がある。今後、多数例における検討を加え、研究を進めていく予定である。

A. 研究目的

特発性門脈圧亢進症（IPH）では自己免疫疾患の合併（12%）、自己抗体陽性（40%）、高ガンマグロブリン血症（26%）などが高頻度に認められ、免疫異常の関与が推測されている。また免疫の調節機構にはヘルパーT細胞（Th）1、Th2、制御性T細胞（Treg）、Th17などが複雑に関与しているが、IPHでは相対的にTh1優位と報告されている。我々はIPHの病因として免疫異常の関与を明らかにする目的で、Tregの関連について検討している。

これまでの検討では、IPHにおける肝浸潤単核球中のTregの割合は、自己免疫性肝炎（AIH）、C型慢性肝疾患（HCV-CLD）、転移性肝腫瘍の非病変部肝組織よりも低く、殆ど認められなかった。また脾組織内単核球中のTregは、脾粘液性嚢胞腺腫の非病変部脾組織では少数認められたが、IPHでは殆ど認められなかった。以上よりIPHの肝および脾組織ではTregは減少していると考えられる。

現在、Tregの減少とIPHの病因について検討を進めている。

B. 研究方法

対象：AIH、HCV-CLD、IPH、健常者。

末梢血単核球（PBMC）のサイトカイン産生能の比率：PBMCを採取し、 2×10^5 をPHAで刺激後IFN- γ とIL-4産生細胞をELISPOT法で解析した。IFN- γ (spots) /IL-4 (spots) をTh1/Th2バランスの指標とした。

末梢血中のTregの頻度：PBMCを採取し、CD4+/FoxP3+細胞をFACSで解析した。

（倫理面への配慮）検体提供者に対し十分な説明を行い、文書での同意を得る。

C. 研究結果

PBMCのサイトカイン産生能の比率は、AIH（2例）：13.5、16.5、HCV-CLD（3例）：1.6、3.5、7.6、IPH（2例）：5.3、88.0、健常者（9例）：平均17.5（1.8-107.0）であった。

末梢血中のTregの頻度は、AIH（2例）：1.2%、1.5%、HCV-CLD（3例）：3.5%、4.2%、4.9%、IPH（2例）：1.9%、2.3%、健常者（2例）：2.1%、3.5%であった。

D. 考 察

PBMC のサイトカイン産生能の比率では、IPH で高値（いわゆる Th1 優位）を示した症例が存在した。現在のところ少数例での検討あり、疾患との関連については言及できない。

末梢血中の Treg の頻度をみると、AIH では低かったが、HCV-CLD で高く、これまでの報告と一致していた。IPH では AIH と同等に低かった。よって IPH では肝臓、脾臓、末梢血の Treg が減少しており、免疫亢進状態が惹起されている可能性がある。

また IPH では相対的に Th1 優位と報告されている。Th1 優位である AIH では脾臓、末梢血の Treg は減少していたが、肝臓ではむしろ多数の Treg が浸潤していた。IPH と AIH では、自己免疫異常を背景とする疾患であるものの、異なる病態である可能性がある。

E. 結 論

IPH の病因として免疫異常と Treg との関連について検討中である。肝臓、脾臓、末梢血の Treg の減少が免疫の調節機構へどのように影響しているのか、多数例における検討を加え、研究を進めていく予定である。

また IPH の病因に免疫異常が関与し、Treg が何らかの役割を担っているのであれば、FoxP3 の一塩基多型 (SNPs) の解析も考慮したい。

F. 健康危険状態

なし。

G. 研究発表

【論文発表】

- 1) Sakaki M, et al. Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune liver diseases and chronic viral hepatitis. *Hepatology Res* 38: 354-361, 2007

【学会発表】

- 1) Sakaki M, et al. Intrahepatic regulatory T cells in autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis and hepatitis C. 5th JSH single topic conference "liver and immune disorder: new insights from pathogenesis to treatment". September 29-30, 2006, Nagasaki, Japan.
- 2) Sakaki M, et al. Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, chronic hepatitis C, and chronic hepatitis B. 58th AASLD. November 2-6, 2007, Boston, USA.

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。

門脈血行異常症に関する調査研究

—IPHにおけるTGF- β アンタゴニストBMP7の発現とその役割—

分担研究者 中沼 安二（金沢大学医薬保健研究域医学系形態機能病理学教授）

研究要旨

我々は以前、特発性門脈圧亢進症（IPH）での肝内末梢門脈枝の硬化・潰れには、TGF- β 1を介した門脈血管内皮細胞の筋線維芽細胞様細胞への形質変換（endothelial to mesenchymal transition, EndMT）が関与している可能性を報告した。今回、TGF- β アンタゴニストである bone morphogenetic protein-7 (BMP7)に着目し、IPHにおける発現とその役割を検討した。培養血管内皮細胞（human dermal microvascular endothelial cell, HMVEC）をTGF- β 1存在下で培養すると細胞形態が類上皮様から紡錘形へと変化し、血管内皮マーカー（CD34）の発現低下、筋線維芽細胞マーカー（S100A4、 α -SMA）の発現誘導、培養上清におけるコラーゲン濃度の有意な増加を認めたが、これら血管内皮細胞の細胞形質の変化（EndMT）はBMP7の同時投与により抑制された。BMP7の免疫染色では、IPHの肝内に明かな陽性所見は認めなかった。また、IPH患者血清中のBMP7濃度は 6.6 ± 5.5 pg/ml ($n = 66$)であり、健常人の 5.0 ± 2.4 pg/ml ($n = 16$)と同程度の低いレベルであった。以上より、BMP7は血管内皮細胞のEndMT抑制効果を有することが示され、IPHでは門脈血管内皮細胞のEndMTを抑制することで、門脈圧亢進症状の増悪の防止あるいは改善につながる分子であることが示唆された。

A. 研究目的

特発性門脈圧亢進症（IPH）では全身性硬化症を合併することがあるが、全身性硬化症の皮膚線維化には、血管内皮細胞の筋線維芽細胞様細胞への形質変換（endothelial to mesenchymal transition, EndMT）に基づく細胞外マトリックス産生が関与していることが報告されている（1,2）。EndMTはtransforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)とSmadの活性化を介した反応であり、全身性硬化症の病態形成以外にも、心臓の線維化や腫瘍間質の線維増生への関与が示されている（3,4）。以前の本会議で、我々はIPHにおける肝内末梢門脈枝の硬化・潰れにも、門脈血管内皮細胞の筋線維芽細胞様細胞への形質変換（EndMT）が関与している可能性があることを報

告した。

Bone morphogenetic protein-7 (BMP7)はTGF- β スーパーファミリーに属する分子であり、TGF- β アンタゴニストとしてTGF- β による線維化を抑制する作用を有する（5）。実際、BMP7はTGF- β によるEndMTやepithelial-mesenchymal transition (EMT)を抑制する効果があることが示されており、線維化治療への応用が可能な分子として注目されている（3）。

今回、IPHにおけるBMP7の発現とその役割を、末梢門脈内皮細胞のEndMTの観点から明らかにすることを目的とした検討を行った。

B. 研究方法

培養血管内皮細胞として human dermal

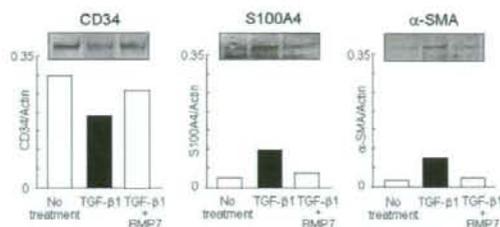


図1 HMVECにおけるBMP7のEndMT抑制効果

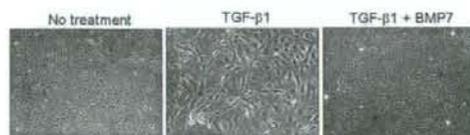


図2 HMVECにおけるBMP7のEndMT抑制効果

microvascular endothelial cell (HMVEC) を使用した。HMVECをTGF- β 1 (10 ng/ml) 単独、もしくはTGF- β 1 (10 ng/ml) +BMP7 (100 ng/ml) 存在下で5日間培養し、細胞形態の変化、血管内皮マーカー (CD34) と筋線維芽細胞マーカー (S100A4、 α -SMA) の発現、培養上清中のコラーゲン濃度を検討した。IPH 肝での BMP7 の発現は、肝組織切片を用いた免疫染色により評価した。また、IPH 患者血清 (末梢血、 $n = 66$) における BMP7 濃度を ELISA 法にて測定し、健常人 ($n = 16$)、慢性ウイルス性肝炎/肝硬変 ($n = 19$) との比較を行った。統計学的解析は Mann-Whitney U -test によった。

C. 研究結果

HMVEC を TGF- β 1 単独あるいは TGF- β 1 +BMP7存在下で培養し、HMVEC から抽出した蛋白を用いて血管内皮マーカー (CD34) と筋線維芽細胞マーカー (S100A4、 α -SMA) に対するウェスタンブロットを行った結果を図1に示す (棒グラフはプロットのバンドの定量値)。TGF- β 1 単独では、CD34 の発現低下と S100A4、 α -SMA の発現亢進を認めたが、これらの変化は BMP7 の同時投与により抑制された。培養上清中のコラーゲン濃度は TGF- β 1 単独投与では有意な増加を示した

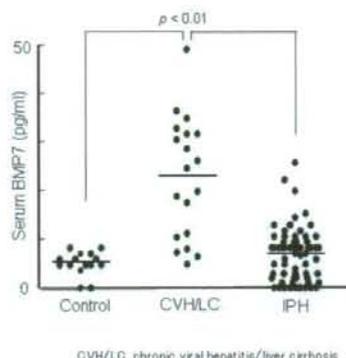


図3 IPH患者血清中のBMP7濃度

が、BMP7の同時投与でこの増加は抑制された。また、TGF- β 1 は HMVEC の細胞形態を類上皮様から紡錘形へと変化させたが、BMP7 同時投与によりこうした細胞形態の変化は抑制された (図2)。

IPH の肝組織切片を用いて BMP7 の免疫染色を行った結果、肝内に BMP7 の明かな陽性所見は認めなかった。免疫染色は正常肝と慢性ウイルス性肝炎/肝硬変の組織切片でも行ったが、IPH と同様、BMP7の陽性所見は明らかでなかった。

IPH患者血清中の BMP7 濃度は 6.6 ± 5.5 pg/ml (mean \pm SD, $n = 66$) であり、これは健常人の 5.0 ± 2.4 pg/ml ($n = 16$) と同程度の低いレベルであった。一方、慢性ウイルス性肝炎/肝硬変は 27.5 ± 12.4 pg/ml ($n = 19$) であり、IPH、健常人より有意に高値を示した (図3)。

D. 考察

BMP7 は心臓の線維化モデルで EndMT を抑制することで TGF- β 1 による線維化を抑制し、またラットの肝線維化モデルにおいても線維化を抑制する作用があることが示されている (3, 5)。今回の HMVEC を用いた培養系での検討でも、TGF- β 1 による EndMT は BMP7 により抑制されることが示された。

生体内における BMP7 の発現部位として骨・軟骨や脳・脊髄、腎尿細管上皮、消化管上皮などが知られている。文献的に正常肝において BMP7 の発現はないとされているが、今回の IPH 肝組織を用い

た免疫染色でも肝内に BMP7 の明かな陽性所見は認めなかった。

BMP7 はその受容体である BMP receptor type I (BMPR-1A) と type II (BMP-R II) を介して細胞内シグナルが伝達されるが、これら BMP レセプターは肝に発現していることが示されている。我々は IPH の肝組織切片で BMPR-1A、BMP-R II の発現を免疫染色で予備的に検討しているが、末梢門脈内皮細胞に BMP-R II の発現は認めたものの BMPR-1A の発現は確認できておらず、今後さらに検討を行う必要がある。

BMP7 は微量であるが血中や尿中に分泌される蛋白であることが知られている。IPH 患者血清中(末梢血)における BMP7 を測定したところ、ELISA法で検出できるレベルの BMP7 を含んでいたが、健常人と同程度の低いレベルであった。一方、慢性ウイルス性肝炎/肝硬変の患者血清中の BMP7 濃度は IPH、健常人より有意に高値を示した。我々は以前の本会議で、IPH 患者血清中の TGF- β 1 濃度は慢性ウイルス性肝炎/肝硬変、健常人より有意に高いことを示したが、TGF- β 1 と BMP7 のバランスの観点からは、IPH では EndMT を生じやすい全身的な環境にあることが推測される。全身臓器における TGF- β 1、BMP7 の発現部位の同定も今後の研究課題の一つと言える。

E. 結 論

BMP7 は血管内皮細胞の EndMT を抑制する作用を有し、IPH では TGF- β 1 による門脈血管内皮細胞の EndMT を抑制することで、門脈圧亢進症状の増悪の防止や改善につながる分子である可能性がある。

F. 文 献

1. Tsuneyama K, Nakanuma Y et al. Overlap of idiopathic portal hypertension and scleroderma: report of two autopsy cases and a review of literature. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17:217-23.

2. Chaundhuri V et al. Inflammatory cytokines induce the transformation of human dermal microvascular endothelial cells into myofibroblasts: a potential role in skin fibrogenesis. *J Cutan Pathol* 2007;34:146-53.
3. Zeisberg EM et al. Endothelial to mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* 2007;13:952-61.
4. Zeisberg EM et al. Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts. *Cancer Res* 2007;67:10123-8.
5. Kinoshita K. Adenovirus-mediated expression of BMP-7 suppresses the development of liver fibrosis in rats. *Gut* 2007;56:706-14.

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato Y, Sawada S, Nakanuma Y. Fibulin-5 is involved in phlebosclerosis of major portal vein branches associated with elastic fiber deposition in idiopathic portal hypertension. *Hepatol Res* 2008;38:166-73.

2. 学会発表

1. Nakanuma Y. Classification and pathological findings of non-cirrhotic portal hypertension. 18th World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists. October 2008, Istanbul, Turkey.
2. Nakanuma Y. Natural course of non-cirrhotic portal hypertension (idiopathic portal hypertension). 18th World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists. October 2008, Istanbul, Turkey.
3. Sato Y, Kitao A, Sawada S, Sasaki M, Harada K, Nakanuma Y. Endothelial-to-

mesenchymal transition via transforming growth factor-beta1/Smad activation is essential for portal venous stenosis in idiopathic portal hypertension. 18th World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists. October 2008, Istanbul, Turkey.

4. Nakanuma Y. Pathology and pathogenesis of idiopathic portal hypertension. 第7回 日本肝臓学会シンガルトピックカンファレンス、2008年11月、福岡
5. 佐藤保則、北尾梓、佐々木素子、原田憲一、中沼安二. 特発性門脈圧亢進症の病態形成におけ

る TGF- β 1 の関与—門脈内皮細胞の筋線維芽細胞様細胞への形質変換に着目して。第15回日本門脈圧亢進症学会総会、2008年11月、福岡

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

バッドキアリ症候群機序解明のための イメージベースド CFD による流体力学的解析

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

肝静脈－下大静脈合流部の狭窄症であるバッドキアリ症候群の主な原因は、これらの血管内で発生する血栓である可能性が高い。またこの部位での血栓の形成には、高壁面せん断応力・よどみ域の形成などの流体力学的な因子が関与している可能性が以前より指摘されている。本研究では医療画像を用いた数値流体解析を行うことでこれらの血管内流れ場の再現を行い、血栓形成に寄与する流体力学的因子の調査を行う。

共同研究者

渡部正夫、松原瑞浦（九州大学大学院工学研究院）

小西晃造（九州大学大学院医学研究院）

A. 研究目的

Budd-Chiari 症候群の主原因であるとされる、主要肝静脈および下大静脈合流部付近での血栓形成原因を調査するため、医用画像を用いたイメージベースド CFD により、この部位での内部流れ場の再現を行い、血栓形成に寄与する流体力学的因子の調査を行う。

B. 研究方法

これまでに健常協力者の MRI の撮影を行い、高精度な境界面追跡法であるレベルセット方を用いて、主要肝静脈－下大静脈合流部の血管モデルを3次元的に構築してきた。今回、BCS5 症例の CT データを解析し、数値流体解析 (Computational Fluid Dynamics: CFD) による非定常解析のための血管モデルの構築を行った。

C. 研究結果

健常者の数値流体解析を行った結果、流速の増加に伴い、主要肝静脈－下大静脈合流部付近に強い壁面せん断応力が働くことを既に明らかにしてきた。

(図1、2)。また、流速の増加に伴い、下大静脈背面にも強いせん断応力が働くことが分かった。今回新たに BCS 症例の MDCT データから、肝静脈？下大静脈の血管三次元モデル化を行い、2例において血栓閉塞部位を含めたモデル化が可能であった。

D. 考察

流速の増加と共に主要肝静脈－下大静脈合流部付近に強い壁面せん断応力が働く理由として、下大静脈上流からの流れが主要肝静脈－下大静脈合流部上側壁面にぶつかり、この部位での速度勾配が大きくなることが挙げられる。今回 MDCT から BCS 症例の病院症例の血管モデルの構築を行った。最近の Thin-slice の造影 CT であれば画像解析によって血管モデルの構築が可能である。BCS 症例のデータを集積し、健常者との比較検討を行うことで、形態

学的に BCS 症例の病因解明の一助となる可能性がある。

E. 結 論

今回 5 名の BCS 症例の MDCT 画像を解析し、2 例の血管モデルを構築した。今後は血流データも取得し、CFD による非定常解析を行い、血流速と壁面せん断応力の関係を明らかにする。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Mizuho MATSUBARA, Masao WATANABE, Satoshi WATANABE, Kozo KONISHI, Shohei YAMAGUCHI, Makoto HASHIZUME, Fluid Dynamic Study on Budd Chiari Syndrome: Sensitivity Study of Vessel Reconstruction on Image-Based Simulation, Journal of Biomechanical Science and Engineering, 2(2): pp.69-80,2007

2. 学会発表

- (1) 渡部正夫、松原瑞浦、小西晃造、橋爪 誠
Proceedings of FEDSM2007 (ASME), CD-ROM, 2007
- (2) 渡部正夫、松原瑞浦、小西晃造、橋爪 誠 日本機械学会2007年度年次大会
講演論文集(6), pp.93-97, 2007
- (3) 渡部正夫、松原瑞浦、小西晃造、橋爪 誠 日本機械学会 第18回バイオフロンティア講演会
講演論文集, 2007
- (4) 渡部正夫、松原瑞浦、小西晃造、橋爪 誠 日本機械学会 第20回バイオエンジニアリング講演会
講演論文集, pp.257-258,2007

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

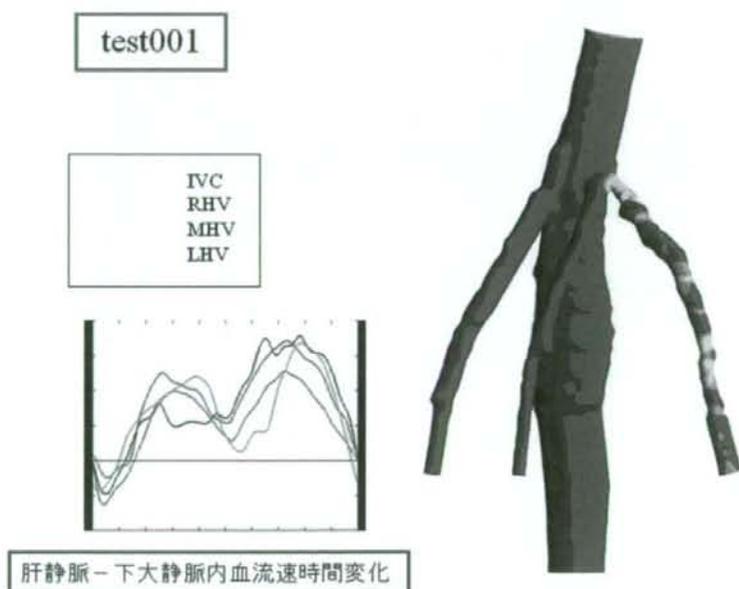


図1-壁面せん断応力の時間変化

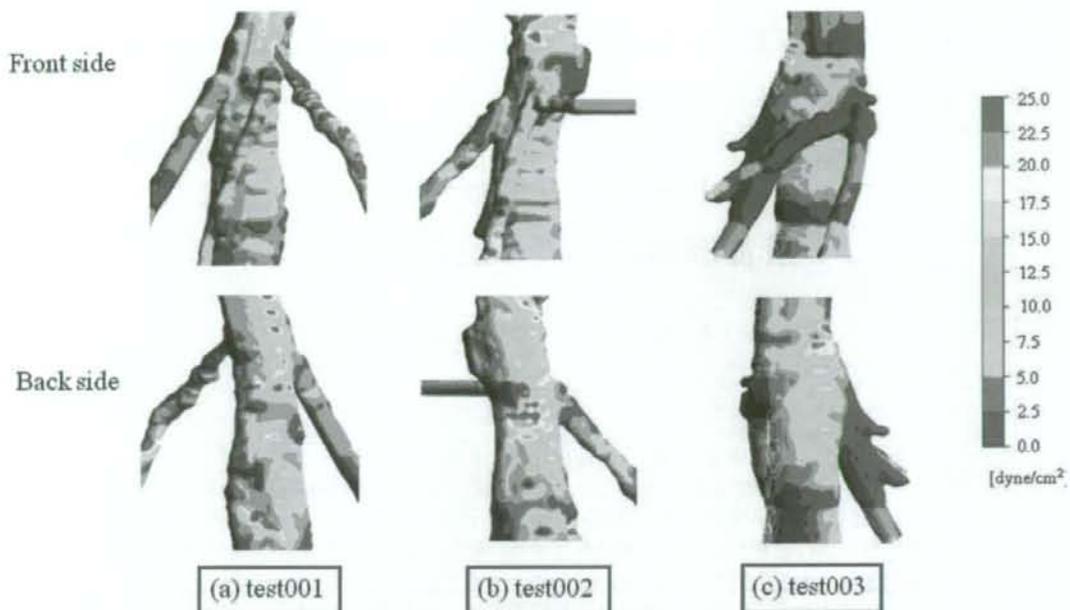


図2 - 下大静脈内最大流速時の壁面せん断応力

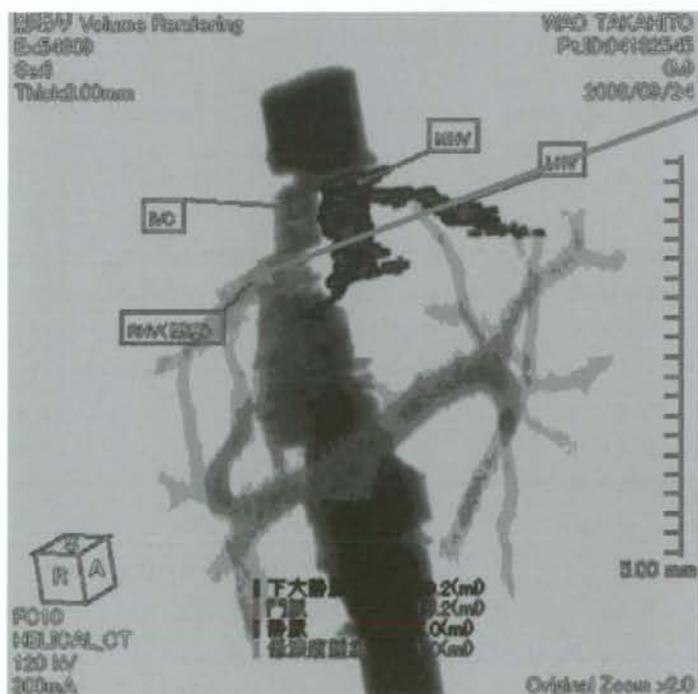


図3 - BCS症例の3Dモデル化

バッド・キアリ症候群の二症例 —肝静脈血流速度の意義について—

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

バッド・キアリ症候群は門脈圧亢進症のなかでも難治性疾患として位置づけられることが多い。しかし画像診断の進歩と疾患としての知識の普及は診断の容易化をもたらしていることから、今後は早期診断例や軽症例の増加が予測される。そこで比較的軽症例での病態を肝静脈の血行動態をふまえて検討を行った。症例は右肝静脈が開存した肝部下大静脈の膜様閉塞例である。症例1では食道静脈瘤の治療も兼ねて、経皮的血管形成術を行い、症例2は肝機能異常、門脈圧亢進所見とも軽度なことから経過観察を行っている。肝静脈の血流速度は、症例1は症例2にくらべて低下し、呼吸性変動も軽度であった。また、下大静脈開通術後には血流速度の増加がみられた。肝静脈血流速度はバッド・キアリ症候群の病態や重症度の指標として、治療適応や治療時期判定への応用が可能と考えられた。

A. 研究目的

バッド・キアリ症候群ではうっ血性の肝障害による難治性の門脈血行異常をおこすことが知られている。バッド・キアリ症候群が、このような難治性疾患となる背景として、以前は臨床診断が比較的困難なことが多かったことによる診断の遅れもその要因のひとつとなっていたことが考えられる。しかし、最近では画像診断の進歩や普及ならびに本疾患に対する認識が高まってきたことにより、比較的容易に診断することが可能となってきている^{1,2)}。そのため、今後は本症においても、早期診断例や比較的軽症な状態での診断例が増加することが予測される。そこで、本研究では、最近経験された比較的軽症の本症例における治療上の問題点を分析し、さらに本症の病態における肝静脈血行動態の意義について検討を行った。

B. 研究方法

肝静脈血行動態については健常者20例、肝硬変症70例、バッド・キアリ症候群2例において超音波ならびに超音波ドプラによる検討を行った。計測は右肝静脈の起始部から2-3cm付近で行い、空腹時ならびに通常の呼吸下での血管径、血流速度（順方向での最大血流速度、1波形における時間平均血流速度）を計測した³⁾。

C. 研究結果

1. バッド・キアリ症候群2症例の臨床的概要

症例1（44歳男性）、症例2（59歳男性）ともに腹壁皮下静脈拡張を自覚した際の受診時に、スクリーニングの画像診断にて肝部下大静脈閉塞を指摘されバッド・キアリ症候群の診断がなされた。両症例ともに発熱や腹痛はみられず、既往歴や生活歴にも特起事項はみられなかった。門脈圧亢進所見としては

軽度の脾腫と食道静脈瘤の合併が両例ともに認められた(症例1: LmF2CbRC+Lg cFIRC-, 症例2: LiFICbRC-Lg-)。臨床検査値は表1に示した。血小板は正常の下限であり、プロトロンビンの軽度な低下がみとめられた。血栓関連の検査値には異常はみられなかった。

表1. 臨床検査値

	血算、凝固関連		血液生化学		感染症	
	症例1	症例2	症例1	症例2	症例1	症例2
WBC/μL	4900	3700	AST IU/L	36 23	HBsAg	(-) (-)
RBC/μL	481x10 ⁴	463x10 ⁴	ALT IU/L	41 17	HCVAb	(-) (-)
Hb g/dL	15.2	14.2	LDH IU/L	202 226		
Ht %	44.7	42.6	ALP IU/L	222 343	CRP mg/dL	0.1 0.1
PLT/μL	11.0x10 ⁴	12.9x10 ⁴				
			T-Bil mg/dL	1.7 2.3		
PT sec	14.6	14.6	C-Bil mg/dL	0.3 0.8		
%	67	71				
PT-INR	1.28	1.27	TP g/dL	8.0 7.0		
			ALB g/dL	5.1 4.1		
D-dimer μg/ml	0.4	0.3				
AT-III %	74	100	T-choI mg/dL	153 147		
Protein C %	89	69	TG mg/dL	89 76		
			GLU mg/dL	100 122		
Lupus anti-Coagulant	(-)	(-)	BUN mg/dL	14 16		
			Cre mg/dL	0.73 0.71		
			NH3 μg/dL	37 60		

画像診断所見では腹部エコー(ドブラを含む)ならびにX線CT所見から、両症例とも右肝静脈が開存した肝部下大静脈膜様閉塞例と診断された(図1、2 矢印: 膜様閉塞部)。

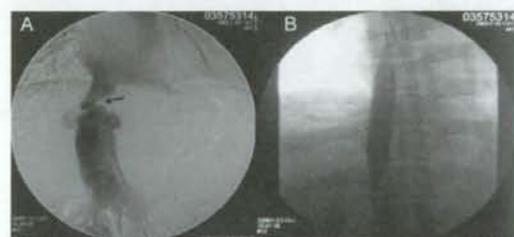


図1. 肝部下大静脈の超音波像(症例1)

なお症例1では食道静脈瘤の内視鏡所見をふまえて膜様閉塞部の経皮的な穿破とバルーン拡張術を施行し、静脈瘤の軽減が得られている(図3)。また症例2は、症候に乏しいことから経過観察(平成18年2月より平成21年2月現在)となっている。



図2. 肝部下大静脈の超音波像(症例2)



下大静脈造影(A)では、肝部下大静脈が膜様に閉塞(矢印)していた。ガイドワイヤーによる閉塞部穿破後にバルーン拡張術を施行した(B)。下大静脈圧は、バルーン拡張術により25cmH₂Oから15cmH₂Oに低下した。

図3. 経皮的血管形成術(症例1)

2. 肝部下大静脈膜様閉塞例における肝静脈血行動態

右肝静脈での血管径は、肝部下大静脈膜様閉塞(MOVC)例では症例1で11.2mm、症例2で12.8mmと健常者(平均±SD: 6.9±1.1mm)や肝硬変症例(5.5±1.4mm)に比べて拡張が明らかであった(図4)。

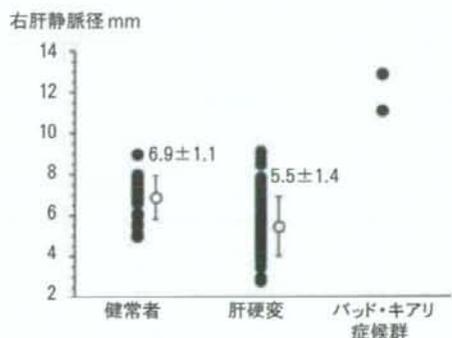


図4. 右肝静脈における血管径