

200936033A

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21年度 総括・分担研究報告書

平成 22(2010)年 4 月

研究代表者 坪内 博仁

序

本調査研究班の研究目的は難治性の肝・胆道疾患について、わが国における最新の実態調査に基づき、適正な診断基準の作成、治療法の標準化を目指すものである。また、難治例の病態解明をすすめ、新規治療法の開発など新たな進展を図る必要がある。本年度は3年計画の2年目を迎え、対象疾患である自己免疫性肝炎（AIH）、原発性胆汁性肝硬変（PBC）、原発性硬化性胆肝炎（PSC）、劇症肝炎（FH）および肝内結石症について最新の全国疫学調査、ワーキンググループ研究、個別研究の進捗状況および研究成果が報告された。

AIHでは全国調査が実施され、本邦における最新の動向が明らかにされた。診療ワーキンググループ（WG）では、急性発症や重症例の病態が示され、診断WGでは現行の診断法、国際診断基準の問題点が明確にされた。治療WGではステロイド、免疫抑制剤、UDCAなど具体的な治療指針が示された。個別研究では、免疫反応を制御する遺伝子多型、自然免疫の関与などに新たな進展がみられた。

PBCでは診断基準WGで、診断基準の見直し案が報告された。診療ガイドライン作成WGでは、全国調査に基づき診療ガイドラインの作成が進行し、治療WGでは本邦におけるオーバーラップ症候群の予後が明らかにされた。抗gp210抗体の有用性検討WGでは、その病態進展マーカーとしての有用性が検証された。自然免疫、トランスポーター、肝代謝など最新の個別研究により、病態解明が進んでいる。PSCでは全国調査から、ステロイド著効例の存在が確認された。

FHでは全国調査より、免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化肝炎に対する対策の重要性が確認された。WGⅠでは診断基準に関する問題点、劇症肝炎の成因以外の急性肝不全の実態が示され、本邦と海外との差異が明確になった。また、新肝移植適応ガイドラインの検証により、その有用性が報告された。WGⅡではHBVキャリア例に対する免疫抑制療法の有効性を評価する臨床試験が進行中である。個別研究では、データマイニング解析による予後予測アルゴリズムや劇症化の早期予知、搬送システムの有用性が検証された。また、クッパー細胞、血小板機能異常、再生に関して新たな病態解明が進んでいる。

肝内結石症では疫学予後WGでこれまでの全国調査から発癌関連因子が明らかにされ、胆管癌合併を回避するための明確な治療指針が示された。診断治療WGでは診療ガイドラインの作成が進行し、画像WGでは合併する胆管癌の画像診断上の問題点が報告された。発癌WGでは胆管癌発癌関連マーカーや、胆汁中microRNAより発癌予測バイオマーカー候補が明らかにされた。個別研究では、胆汁酸の病態との関連、胆管癌細胞に対する分子標的治療薬など新たな進展がみられている。

肝移植においては、対象疾患に対する最新の移植成績が示され、再発因子の解明など、移植成績の向上につながる研究成果が報告された。

総じて各分科会のWGを中心に、本邦の実態に則した診断基準、治療指針の更新または作成が進行し、診療ガイドラインの骨格が形成されつつある。また、病態や治療法に関する新たな研究成果が報告され、今後の展開が期待される。

本研究班の成果が、診療ガイドラインなどをとおして、ひろく社会に還元され、わが国の健康福祉の向上に貢献できることを願っている。

平成22年4月

難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班
研究代表者 坪内博仁

目次

序 研究代表者 鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁

I. 総括研究報告

難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究

鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁

II. 分担研究の概要

1. 自己免疫性肝炎に関する研究

愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一

2. 原発性胆汁性肝硬変に関する研究

金沢大学医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二

3. 劇症肝炎に関する研究

鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁

4. 肝内結石症に関する研究

金沢大学医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二

III. 分担研究報告

III-1. 自己免疫性肝炎分科会

【ワーキンググループ (WG) 研究報告】

1. 診療指針の作成 WG

愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一

2. 診断指針の作成 WG

東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科 銭谷 幹男

3. 治療指針の作成 WG

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科学 山本 和秀

【分担研究報告】

1. 自己免疫性肝炎の全国調査 (第一報)

愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一

2. 自己免疫性肝疾患における COX-2, osteopontin, FOXP3 遺伝子プロモーター領域の SNP 解析

昭和大学医学部 内科学講座消化器内科学部門 広石 和正

3. 自己免疫性肝炎におけるサイトカインネットワークとサイトカイン遺伝子多型

信州大学医学部 内科学第二 吉澤 要

4. 自己免疫性肝炎モデルにおける肝内 NKT 細胞の動態解析

東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科 銭谷 幹男

5. 自己免疫性肝炎におけるヌクレオソームの病態への関与

福島県立医科大学 消化器・リウマチ膠原病内科 大平 弘正

6. 自己免疫性肝炎の診断：新スコアシステムの検討

国際医療福祉大学 塩谷病院内科 森實 敏夫

7. 小児自己免疫性肝炎の診断 新スコアシステムの検討

済生会横浜市東部病院こどもセンター 藤澤 知雄

8. 自己免疫性肝炎の病態と予後の解明

慶應義塾大学医学部 消化器内科 日比 紀文

9. 自己免疫性肝炎の予後に関わる宿主要因の検討
 虎の門病院分院 臨床検査部 鈴木 義之
10. 自己免疫性肝炎におけるアルファ・フェトプロテイン (α -fetoprotein; AFP) 上昇に関する研究
 新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科学 青柳 豊
11. 自己免疫性肝疾患における新規自己抗体の探索
 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科学 山本 和秀

Ⅲ-2. 原発性胆汁性肝硬変分科会

【ワーキンググループ (WG) 研究報告】

1. 疫学 WG
 関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 診断規準 WG
 金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理 中沼 安二
3. 治療 WG AIH-PBC オーバーラップ症候群の実態調査
 帝京大学医学部 内科 滝川 一
4. 診療ガイドラインの作成WG
 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 石橋 大海
5. 抗 gp210抗体の有用性の検証 WG
 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 肝臓病学講座 中村 稔

【分担研究報告】

1. 原発性胆汁性肝硬変 全国調査 (第30報) - 第14回原発性胆汁性肝硬変全国調査結果 -
 関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 原発性胆汁性肝硬変の長期予後予測のためのバイオマーカーの同定
 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 石橋 大海
3. PBC 肝臓における CX3CL1の産生機序
 九州大学大学院 病態修復内科学 下田 慎治
4. 胆汁うっ滞におけるコレステロールの実態 -ABCA1トランスポーターの働き
 福岡大学医学部 消化器内科 向坂彰太郎
5. PBC における MDR3の発現意義
 国立病院機構九州医療センター 中牟田 誠
6. PBC における脂質代謝の検討 (3): UDCA およびベザフィブラート治療の比較
 東京医科大学茨城医療センター 消化器内科 松崎 靖司
7. PBC の病期進展における CPT-2遺伝子多型の関与
 高知大学医学部 消化器内科学 西原 利治
8. 胆汁うっ滞性肝疾患における内因性レトロウイルス遺伝子の関与の検討
 東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学 上野 義之
9. PBC の胆管破壊の免疫学的機序 -胆管細胞におけるエストロゲン効果と病態形成への関与 -
 金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二
10. PBC の病態形成に関わる自然免疫異常の研究
 帝京大学医学部附属病院溝口病院 第四内科 宮川 浩
11. ① PSC のステロイド有効例の検討
 ②日本人 PBC 患者における疾患感受性遺伝子の検討
 帝京大学医学部 内科 滝川 一
12. 原発性硬化性胆管炎に対する生体部分肝移植
 東京大学大学院医学系研究科 臓器病態外科学 國土 典宏
13. 原発性硬化性胆管炎肝移植後長期成績に関する全国多施設共同研究
 朝日大学附属村上記念病院 外科 江川 裕人

14. 肝移植後原発性胆汁性肝硬変再発の機序解明

九州大学大学院 消化器・総合外科学 前原 喜彦

Ⅲ-3. 劇症肝炎分科会

【ワーキンググループ (WG) 研究報告】

1. WG I ①劇症肝炎の診断基準：プロトロンビン時間の扱いに関する検討
②劇症肝炎、急性肝不全の概念の改変
③肝移植適応ガイドラインの改訂

埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智

2. WG II 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

山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学 坂井田 功

【分担研究報告】

1. ①劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF: late onset hepatic failure) の全国集計 (2008年)
② de novo B型肝炎における HBV 遺伝子解析および病態解明

鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁

2. 小児期の劇症肝不全

済生会横浜市東部病院こどもセンター 藤澤 知雄

3. 急性肝不全の予後予測：データマイニングによるアルゴリズムの作成

埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智

4. 急性肝障害劇症化予知・予防に関する研究

岩手医科大学 消化器・肝臓内科 鈴木 一幸

5. 劇症肝炎治療標準化を目指して 人工肝補助療法標準化への定量的指標 -

昭和大学藤が丘病院 消化器内科 井上 和明

6. 劇症肝不全の臨床研究

順天堂大学医学部附属静岡病院 消化器内科 市田 隆文

7. 自己免疫性急性肝不全の診断に関する検討

千葉大学大学院医学研究院 腫瘍内科学 横須賀 収

8. 劇症肝炎の発症、進展に関する検討

奈良県立医科大学 第三内科 福井 博

9. 肝細胞死と肝再生・肝線維化連携機構におけるクッパー細胞の役割

岐阜大学大学院 消化器病態学 森脇 久隆

10. 肝再生過程における Gab ファミリー蛋白の関与について

大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 林 紀夫

11. 自己骨髄細胞による慢性肝不全治療

山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学 坂井田 功

12. 劇症肝炎に対する生体部分肝移植

東京大学大学院医学系研究科 臓器病態外科学 國土 典宏

Ⅲ-4. 肝内結石症分科会

【ワーキンググループ (WG) 研究報告】

1. 疫学予後 WG

杏林大学医学部 消化器一般外科学 森 俊幸

2. 診断治療 WG

広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進

3. 画像 WG 肝内結石症に合併する肝内胆管癌の診断

自治医科大学 消化器一般外科 佐田 尚宏

4. 発癌 WG 肝内結石症における発癌予測バイオマーカーの探索
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二

【分担研究報告】

1. 肝内結石症のコホート調査（追加調査）
杏林大学医学部 消化器一般外科 森 俊幸
2. 上五島地域における肝内結石症の長期予後調査
長崎県上五島病院 八坂 貴広
3. 胆汁中 heat shock protein (HSP) 27の胆管癌の腫瘍マーカーとしての有用性
金沢大学医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二
4. 胆道再建既往を有する肝内結石症の治療成績
名古屋大学大学院医学研究科 腫瘍外科 榎野 正人
5. 胆汁中の遺伝子発現解析と胆道系悪性腫瘍における発現プロファイルの検討
金沢大学大学院 先端医療技術学講座 本多 政夫
6. 先天性胆道拡張症術後に肝内結石を合併した症例の検討
千葉大学大学院医学研究院 腫瘍内科学 露口 利夫
7. 肝内胆管障害の発症メカニズム ～治療開発に向けて～
広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進
8. 肝内胆管癌に対する分子標的治療－マルチターゲット阻害剤 Sorafenib の有用性
筑波大学大学院人間総合科学研究科 スポーツ医学 正田 純一
9. 肝内結石症に対する外科治療
和歌山県立医科大学 第二外科 山上 裕機
10. 肝内結石症の外科治療 ～先天性胆道拡張症術後肝内結石について～
東北大学大学院医学系研究科 肝胆膵外科 海野 倫明

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

V. 班員名簿

VI. 平成21年度班会議総会プログラム

I. 總括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究

研究代表者 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

研究要旨：自己免疫性肝炎（AIH）では全国調査が実施され、その実態が明らかにされた。診療ワーキンググループ（WG）では、急性肝炎、重症肝炎、IgG 関連 AIH の病態が報告された。診断 WG では抗核抗体測定法、従来型・簡易型システムによる診断率の差異が示された。治療 WG では UDCA、ステロイド、免疫抑制剤などの治療適応とその問題点が報告された。osteopontin, Foxp3, IL-12p40 などの遺伝子多型と病態との関連が示され、自然免疫、獲得免疫両面からの解析結果が報告された。原発性胆汁性肝硬変（PBC）では診断基準 WG で、PBC 診断基準の見直し案が作成された。診療ガイドライン作成 WG では、全国調査結果に基づき診療ガイドラインの作成が行われている。治療 WG ではオーバーラップ症候群（OLS）の実態調査が実施され、本邦 OLS の予後が良好であることが確認された。抗 gp210 抗体の有用性検討 WG では、抗 gp210 抗体が黄疸・肝不全進行の危険因子であることが確認された。全国調査より、長期予後と肝移植後成績などが報告された。病態および治療に関与する自然免疫、トランスポーター、肝代謝、ミトコンドリア、エストロゲンなどの研究成果が報告された。原発性硬化性胆管炎（PSC）では全国調査から、高齢者の中のステロイド著効例の存在が確認された。血縁ドナー由来の肝移植の長期成績と再発率および再発危険因子が明らかにされた。劇症肝炎（FH）では全国調査より免疫抑制・化学療法による HBV 再活性化肝炎例の現況が報告され、B 型肝炎対策ガイドラインの重要性が再確認された。WG I では診断基準としての PT-INR 表記の問題点が示された。救急施設を対象とした急性肝不全全国調査から、本邦の劇症肝炎以外の急性肝不全は、劇症肝炎とは病態が大きく異なることが明らかにされた。新肝移植適応ガイドラインの検証では、良好な成績が得られた。WG II では HBV キャリア発症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試験が進行中である。データマイニング解析による予後予測アルゴリズムの検証により、その有用性が示された。治療では、肝移植率に変化なく、肝移植成績は良好であることが報告された。病態に関与するクッパー細胞、ADMTS13 活性、Gab ファミリー蛋白などの研究成果が報告された。肝内結石症では疫学予後 WG で全国調査結果から、発癌関連因子が明らかにされ、治療法として肝萎縮例に対する肝切除の推奨、胆道再建の回避などが示された。診断治療 WG では実践的な診療ガイドラインの作成が進行している。画像 WG では、肝内結石症に合併する胆管癌の画像診断の問題点が報告された。発癌 WG では胆管癌発癌と HSP27 との関連性が示され、胆汁中 microRNA より複数の発癌予測バイオマーカー候補が明らかにされた。胆汁酸の胆管障害性、発癌との関連、胆管癌細胞に対する分子標的治療薬の効果など最新の研究成果が報告された。

研究分担者

中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学
石橋 大海 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター
恩地 森一 愛媛大学大学院医学系研究科先端病態制御内科学
国土 典宏 東京大学大学院医学系研究科臓器病態外科学
持田 智 埼玉医科大学消化器・肝臓内科
広石 和正 昭和大学医学部内科学講座

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対象疾患について、全国調査結果に基づき従来の診断基準をより適正に改訂する。②対象疾患について、急性型、重症例、治療抵抗例、小児例に対する診断基準および治療指針を作成する。③劇症肝炎に対する新肝移植適応ガイドラインなど既に作成したガイドラインの検証を実施する。④対象疾患の臨床検体、疾患モデルなどを用いて病態を解析し、新規診断法および治療法の開発を行う。

（倫理面への配慮）

上記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、個人情報の秘匿については、定められた倫理指針、倫理規定を遵守する。動物愛護の精神を尊重する。

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）、劇症肝炎（FH）および肝内結石症について、わが国における最新の実態調査にもとづき、適正な診断基準、肝移植適応基準および治療法の標準化を目指す。また、各疾患の病態解明により肝硬変への進展あるいは劇症化を阻止する新規治療法の開発および肝移植に替わる再生医療の臨床応用を推進する。

C. 研究結果と D. 考察

1. 自己免疫性肝炎（AIH）

全国調査（恩地研究分担者）：全国調査では、153施

設から1,056例が登録された。前回調査と比べて、男女比が1:6.0と男性の割合が増加し、平均年齢は59.9±14.7歳と高齢化していた。また、抗核抗体陰性例は11.5%と増加していた。

診療指針の作成WG(代表:恩地研究分担者):診療上問題となる病態を解析し、1)急性肝炎症例では血清学的に診断困難例が多く、高度黄疸例では予後不良、2)家族内発症は稀、3)IgG4関連AIHについては症例の集積とクライテリアの設定が必要、4)肝硬変例における肝細胞癌の合併、などの病態が明らかになった。

診断指針の作成WG(代表:銭谷研究協力者):抗核抗体測定法の検討では、AIHにおいては、IFはELISAより陽性率が高く、IF力価が低い症例ではELISA陰性となる場合が示された。また、国際AIHグループ(IAIHG)が作成した従来型・簡易型システムによる診断一致率は必ずしも高くなかった。

治療WG(代表:山本研究協力者):治療法については、1)UDCA単独治療は、主にトランスアミナーゼ上昇が軽度の例であり、UDCA併用PSL治療例ではステロイド維持量が少ないこと、2)アザチオプリンは、PSL減量に伴う再燃例において有効であるが、副作用に対する注意が必要なこと、3)重症化例では、診断時の血清ビリルビン値が予後因子として有用で、ステロイド治療不応例には肝移植の考慮が必要であること、ステロイドパルス療法においては感染症合併に注意が必要であることが報告された。

個別研究:広石研究分担者は、COX-2、osteopontin(OPN)、Foxp3の遺伝子プロモーター領域の遺伝子多型が自己免疫反応と病態への影響の違いに関与している可能性を報告した。吉澤研究協力者は、IL-12p40の遺伝子多型について解析し、IL-12高産生となるIL-12B 3' UTR(1188A/C) C/Cやphenotype C(C/CあるいはC/A)がAIH患者に多いことを報告した。銭谷研究協力者は、樹状細胞と高分化型肝癌細胞の融合細胞とIL-12投与により作製したAIHモデルを用いて、NKT細胞が本モデルの病態形成に関与することを明らかにした。大平研究協力者は、若年発症例、発症時IgG高値例やステロイド治療後の再燃例では治療中の抗ヌクレオソーム抗体価の低下率は低く、本抗体がAIH再燃の予測因子となり得る可能性を示した。森實研究協力者は、従来型を基準にした場合、簡易型診断スコアリングシステムの感度は78%と相関はあまり高くないこと、また既に発表した多変量の3因子モデル、7因子モデルの感度はそれぞれ73%、97%であったことを報告した。藤澤研究協力者は、小児AIHにおいてはIgG値が正常値以下の症例、抗核抗体あるいは抗平滑筋抗体が40倍以下の症例や急性発症型では新基準を満たさない可能性を示した。新基準の小児への適応については今後更に検討する必要がある。日比研究協力者は、AIH患者の血清中ではIL-17とMIP-1a、MIP-1bが高値であること、MyD88ノックアウトマウスでみられる肝障害とマクロファージとの関連性などより、AIHにおける自然免疫と獲得免

疫のクロストークの重要性を示した。鈴木研究協力者は、AIH長期観察例の解析により、免疫抑制療法が奏功している症例では、組織学的改善がみられたこと、HLA-DR14陽性例では治療反応性が良好で、組織学的改善も良好であったことを報告した。青柳研究協力者は、AIH症例においてはAFP、特にAFP-L3分画の上昇がみられ、急性肝炎症例よりも高率で、劇症肝炎症例と同様であったことより、AIHにおける強い肝障害性を示した。山本研究協力者は、AIHの診断や病態解明に有用な疾患特異的バイオマーカーを同定する目的で、ステロイド治療前の患者血清中のIgG分画中より新規自己抗体を探索している。

2. 原発性胆汁性肝硬変(PBC)

PBC診断基準WG(代表:中沼研究分担者):現在提唱している新しいPBC病理学的病期と活動度分類を用いてPBC 166例を対象に分類した結果、応用可能であることを確認した。また、PBC診断基準の見直しを行い改訂案を作成した。

疫学調査WG(代表:廣原研究協力者):第13回PBC全国調査の集計結果をデータベース化し、対象総登録症例は既登録症例2034例と新規登録954例を含む6676例となった。

診療ガイドラインの作成WG(代表:石橋研究分担者):1)重症度分類、予後予測のため、PBC全国調査のデータベースを利用し、Mayoあるいはupdated Mayo 予後予測式の日本人における検証を行なった。2)PBC患者の診療指針に関しクリニカルクエストョンに従い文献検索を行い、指針作りを進めた。

治療WG(代表:滝川研究協力者):PBC全国調査のデータベースより、AIHとPBCが同時に発症する症例(オーバーラップ症候群;OLS)は43例であり、他のPBCに較べ有意に低年齢でT.Bilが高かった。さらに詳細調査では、平均観察期間は7.1±5.7年、最終確認時のUDCA+PSLの併用が61%、肝機能正常かつ無症状であった症例が78.9%、10年生存率が88%であり、本邦OLS症例の予後が良好であることが確認された。

抗gp210抗体の有用性を検討するgp210WG(代表:中村研究協力者):PBCの多施設共同研究より、①抗gp210抗体が黄疸・肝不全進行の強い危険因子であること、②抗セントロメア抗体が門脈圧亢進進行の有意な危険因子であること、③高度な胆管消失や肝炎の所見が抗gp210抗体陽性症例の病理学的特徴であることが確認された。

疫学調査:廣原研究協力者は第14回PBC全国調査を実施し、既登録症例2129例と新規登録702例の報告が得られ、総登録症例は7376例となった。経過中肝移植が施行された症例は120例あり、移植後生存率は5年生存率86.7%、10年生存率84.5%で、前回調査時に比較して改善している事が示された。

診断・治療:石橋研究分担者は、抗gp210抗体はHLA-DRB1の遺伝子多型にかかわらず黄疸進行の危険因子であったのに対し、抗セントロメア抗体は

HLA-DRB1*0405と*0803において門脈圧亢進症進行の有意な危険因子であることを示した。また、HLA-DRB1遺伝子多型は、抗核抗体のPBC進行に対する相対危険度を規定していることを明らかにした。滝川研究協力者は、日本人PBC患者における疾患感受性遺伝子を検討し、FCRL3・IL12A遺伝子の多型とPBCの疾患感受性との間に有意な関連性を見出した。

病因・病態：下田研究協力者は、Toll様受容体3リガンド、Toll様受容体4リガンドが各々胆管上皮細胞と単球に作用して、細胞間接触とその間に単球より産生されるTNF- α の刺激で、胆管上皮細胞からCX3CL1が産生されることを明らかにした。宮川研究協力者は、PBCの高IgM血症にB cell activating factor (BAFF) が果たす役割を検討し、単球のmBAFF発現の程度とIgM産生量は正の相関があることを明らかにした。向坂研究協力者は、ABCA1発現を抑制した培養肝細胞では血清中のコレステロール値が低下することを確認し、ABCA1トランスポーターが肝細胞からのコレステロール排出に関与していることを明らかにした。中牟田研究協力者は、PBC肝ではフォスファチジルコリン産生に関与するCDPコリン経路 (Kennedy経路) のCCT, メチル化経路のPEMT, BHMTはいずれも発現は低下し、血清コリン値は逆に増加していたことから、PBC肝におけるコリン取り込みの低下と肝内コリン欠乏を報告した。松崎研究協力者は、UDCAは肝臓の胆汁酸とコレステロールの分泌負荷は軽減しないが、ベザフィブラートはコレステロールと胆汁酸の合成分泌負荷を軽減させ、UDCAによる胆汁うっ滞の改善を補助することを報告した。西原研究協力者は、野性株のCPT-2の発現をドミナントネガティブに抑制するC352 variantを有する症例ではミトコンドリアにおける脂肪酸酸化能の低下を通じて、PBCの予後に悪影響を与える可能性と、フェノフィブラートの持つCPT-2の発現亢進作用はC352 variantを有する症例の予後を改善する可能性を示した。中沼研究分担者は、ヒト胆管細胞ではエストロゲン関連受容体ERR α と γ が発現し、エストロゲン存在下ではERR γ の発現が抑制されたこと、中高年女性PBCの胆管ではERR γ 発現が亢進していたことより、閉経後女性PBCにおける胆管病変の発生にERR γ が関与することを示した。上野研究協力者は、抗ミトコンドリア抗体産生と胆管病変を認めるNOD.C3C4マウスおよびヒトPBCの肝臓から内因性レトロウイルス遺伝子断片を検出し、PBCとレトロウイルスとの関連性を示唆した。

肝移植：前原研究協力者は、生体肝移植を施行したPBC症例41例中、術後PBC再発の組織学的診断例が3例、5年再発率は4.1%であり、これまでの生体肝移植での報告よりも低頻度であったことを報告した。PBC症例における再発と再発に関する組織学的診断の問題点を指摘した。

3. PSC

疫学調査：滝川研究協力者は、PSC全国調査に基づくアンケート調査から、高齢者の中に胆道系酵素と生化学的改善が得られるステロイド著効例が存在することを再確認した。

肝移植：国土研究分担者は、脳死肝移植と異なり血縁ドナー由来の肝移植ではPSCが高率に再発する可能性を指摘した。一方、移植非適応例の予後は5年生存率約40%であり、肝移植のタイミングを含めた包括的な治療戦略の必要性を示した。江川研究協力者は、PSCの肝移植後予後全国多施設共同調査により、初回生体肝移植114例における10年生存率57%、10年生着率34%、類似胆管病変をきたす12例を除く96例中PSC10年再発率は52%と報告した。また再発危険因子を明らかにした。

4. 劇症肝炎

全国調査 (坪内研究代表者)：2008年は劇症肝炎65例 (急性型33例、亜急性型32例)、LOHF 5例が登録され、成因はウイルス性41%、成因不明34%、薬物性13%、自己免疫性11%の順であった。免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化肝炎は、de novo B型3例を含めてB型例全体の35% (8/23) にみられ、B型肝炎対策ガイドライン周知の必要性が確認された。肝移植非実施症例における救命率は急性型42%、亜急性型21%であった。肝移植は急性型7例 (21%)、亜急性型8例 (25%) に行われ、移植成績は良好であった。

WG I (代表：持田研究分担者)：

1) 劇症肝炎の診断基準

プロトロンビン時間 (PT) 測定キットの全国調査から、全国で16種類のキットが使用され、PT 40%に相当するINR値は1.6から2.12の間に分布していることが明らかになった。INR表記の改変については今後さらに検討することとなった。

2) 急性肝不全の実態調査

全国の救急専門施設を対象に劇症肝炎以外の急性肝不全のアンケート調査が実施された。劇症肝炎に分類されない成因は45.5%で、アルコール性、循環障害の順であった。これらはacute-on-chronicないしは非昏睡型肝不全の病型を呈する症例が多く、肝不全に比して、多臓器不全など合併症が死因の症例が多かった。本邦における劇症肝炎以外の急性肝不全は、劇症肝炎とは病態が大きく異なることが示唆された。

3) 新肝移植適応ガイドラインの検証

2004~2007年の登録症例を基に新肝移植適応ガイドラインの検証を行い、正診率74%、感度60%、特異度89%、陽性的中率85%、陰性的中率67%と良好な結果が得られた。従来のガイドラインに変わる予後予測法として有用であることが示された。

WG II (代表：坂井田研究協力者)：臨床試験「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」の登録が開始された。

劇症化の予知：藤澤研究協力者は新肝移植適応ガイ

ドラインを小児例で検証したところ、脳症Ⅱ度以上発現日の判定では正確に予後を判定できなかったが、5日後の判定では正診率87.5%と成人とほぼ同様の結果が得られた。小児では発症時のみならず、経時的な判定の必要性を報告した。持田研究分担者はデータマイニングの手法を用いた決定木法、radial basis function (RBF)、back propagation (BP) 法による予後予測法を報告した。2004～2007年の症例での検証では、正診率、感度、特異度とも高率で、従来法に比べ精度が高いものであった。鈴木研究協力者は、急性肝炎劇症化予知式に基づいた搬送基準、特殊治療開始基準の検証から、劇症肝炎に分類されないその他の成因では過剰予測の傾向がみられること、本システムが早期予知、早期治療開始に有効であること、アジアロシンチグラフィ LHL15の有用性などを報告した。

治療：

1) 肝移植

国土研究分担者は、劇症肝炎39例の累積生存率が85.4%と、その成績が良好であることを報告した。市田研究協力者は医学的緊急度9点の脳死肝移植症例の解析により、劇症肝炎例の5年生存率68.5%に対し、グラフト機能不全例は34%と低率であることを明らかにした。

2) 肝補助療法

井上研究協力者は、大量の緩衝液で血液を洗浄する血液濾過透析 (HDF) や high-flow の持続血液濾過透析 (CHDF) による人工肝補助療法により、脳浮腫の頻度が5%以下に予防されること、グルタミン除去総量が人工肝補助の評価指標となり得る可能性を示唆した。

病態と新規治療：横須賀研究協力者は、自己免疫性急性肝不全例では重症化・劇症化までの経過が長く IgG 正常例や自己抗体陰性例が多いこと、組織学的に centrilobular necrosis, CT 画像で heterogeneous hypoattenuation などが特徴的所見であることを報告した。坪内研究代表者は、de novo B 型肝炎の HBV シークエンス解析から、全例にコアプロモーター変異があり、死亡例にはプレコア変異を認めたこと、S 領域に欠損や変異を認めたことを報告した。福井研究協力者は、ラット急性肝不全モデルを用い、肝 Toll-like receptor 4 (TLR4) の発現と TNF- α の増加、肝障害の進展が関連することを示した。また、合併症を伴う急性肝不全症例では血漿エンドトキシン (Et) 濃度と相関して ADMTS13 活性の著減と VWF 抗原の著増がみられることを明らかにした。森脇研究協力者は、胆管結紮によるマウス胆汁鬱滞肝障害モデルを用いて、慢性肝障害の肝臓ではクッパー細胞は肝細胞に対して AKT 活性化を介した抗アポトーシス状態獲得および肝再生誘導による保護的作用を有することを明らかにした。林研究協力者はアダプター蛋白である肝特異的 Gab1 ファミリー蛋白を欠損したマウスモデルでは、部分肝切除後の肝再生障害がみられることより、Gab ファミリー蛋白を介したシグナルが肝再生過程に重要な役割を担うことを報告した。坂井田研究協

力者は、局所麻酔下に採取した少量自己骨髄液から骨髄由来細胞を培養増殖させる技術を開発し、肝硬変に対する骨髄由来肝臓修復 (LR) 細胞投与方法について報告した。

5. 肝内結石症

疫学予後 WG (代表：森研究協力者)：第6期全国調査に基づく横断調査では、胆管癌の危険因子は胆道再建の既往例、肝萎縮例であった。また、第5期全国調査に基づくコホート調査では発癌リスクを上げる因子として切石術が、下げる因子として UDCA 内服が抽出された。初発例では左葉例は発癌リスクを上げ、肝切除術はリスクを下げる因子であった。肝萎縮を伴う肝内結石例には肝切除を積極的に行い、胆道再建は可能な限り避けるべきであることが報告された。

診断治療 WG (代表：田妻研究協力者)：肝内結石症の診療実態をアンケート調査から確認した。実践的な診療ガイドライン策定を目指し、1) 肝内結石症診療の現状把握、2) その問題点の拾い上げと診療指針の立案、を踏まえ、次年度には、3) 新規の診断 modality と治療発掘・開発を、多施設研究により推進する予定である。

画像 WG (代表：佐田研究協力者)：肝内結石症に合併する肝内胆管癌 Profile 調査結果から、肝内結石症に合併する肝内胆管癌の治療成績は不良であった。診断法に関しても従来の直接造影法もしくは胆管内視鏡による細胞診、生検が主で、新たな診断手段の評価は困難であった。従来型の長期肝内結石、胆管炎罹患症例の割合が減少し、2000年以降は肝内結石と肝内胆管癌が同時に発見される例が増加していたことが報告された。

発癌 WG (代表：中沼研究分担者)：胆管癌合併の肝内結石症例において血清 HSP27 は、非癌症例や健康人より高い傾向にあることが示された。また、胆汁中の microRNA の解析により、胆管癌で異常を示すいくつかの発癌予測バイオマーカー候補が同定された。本研究班から発信した BilIN 分類ならびに IPNB 分類は、本年中に改訂予定の WHO Classification (WHO blue book) に採用されることが決定した。

疫学・予後：森研究協力者は、第5期全国調査の登録症例に対するコホート調査の追加調査を実施し、発癌に影響を与える因子の解析を予定している。八坂研究協力者は、長崎県上五島地域における肝内結石症の長期予後の検討により、治療後経過不良例や肝内胆管癌併発例は肝葉萎縮のある左葉あるいは両葉型が多く、遺残・再発結石や胆道再建術が高頻度に認められたことから、胆道再建手術の回避、肝葉萎縮を伴わない末梢型肝内結石症では経過観察が推奨されることを報告した。

診断・治療：柳野研究協力者は、胆道再検の既往がある肝内結石症20例のうち3例に肝内胆管癌が併発し、うち1例が癌死したことから、胆道再建術後の経過観察の重要性を報告した。山上研究協力者は、最近5年では肝切除に加えて PTCSL などの非観血的治療

が増加し、遺残結石率も4%にまで減少したこと、肝内結石に対する肝切除は創感染や腹腔内感染症の発生頻度が高く、胆汁中の細菌が原因と推定されることなどを報告した。露口研究協力者は、先天性胆道拡張症術後に肝内結石を合併した症例は再発例が多く、再発予防にはPTCSLより肝切除が望ましいこと、肝切除困難で肝予備能不良例には、肝移植の考慮が必要であることを報告した。海野研究協力者は、先天性胆道拡張症で肝外胆管切除・胆道再建施行例の検討により、術後肝内結石の危険因子として「戸谷分類Ⅳ-A型」と「手術時年齢30歳以上」を確認し、より厳密な術後経過観察の重要性を指摘した。

発癌・治療：田妻研究協力者は、膵胆管合流異常において、胆汁中のリゾ・リン脂質がG-protein coupled receptorsの発現増強を介して胆管細胞にアポトーシスを惹起することを示し、胆汁酸の胆管障害性および発癌との関連性を示した。中沼研究分担者は、胆汁中HSP27の胆管癌の腫瘍マーカーとしての有用性を検証し、カットオフ値を2.0ng/mlとした場合の感度は90.9%、特異度は78.6%で良好な結果であったことを報告した。正田研究協力者は、Sorafenibがアポトーシス抑制因子mcl-1の発現抑制により用量依存性にアポトーシスを誘導し、胆管癌細胞の細胞増殖を抑制することから、肝内胆管癌に対する新しい治療薬としての有用性を示した。本多研究協力者は、胆道系悪性腫瘍群、非腫瘍群の胆汁から抽出したmiRNA 380種の発現を比較検討し、悪性腫瘍群で発現が変化するmiRNA 9種を同定した。今後、診断マーカーとしての可能性が期待された。

Ⅱ. 分担研究の概要

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分科会総括研究報告書

自己免疫性肝炎に関する研究

研究分担者 恩地 森一 愛媛大学大学院 先端病態制御内科 教授

本研究班は初年度に引き続き、全体研究を全国調査と3つのワーキンググループに分けて作業を行い、2年度においては、それぞれにおいて中間的な解析結果を得ることができた。最終年度に向けて結論を得るように作業を進めている。具体的には、1) 過去3年間の自己免疫性肝炎を全国集計し解析、2) 診断基準の見直しと国際基準との整合性の検討、3) 劇症化・重症化例の解析、4) 治療法の進歩と標準化を行い、診療ガイドの作成の作業を開始した。

1. 全国調査

全国調査は、日本肝臓学会の理事、東西支部評議員が所属する施設（462施設）を対象にアンケート用紙を配布し、平成18年1月1日から平成20年12月31日にAIHと診断された症例数と実態について調査を行った。回答は全国153施設から得られ、回収率は33.1%であり、症例数の合計は1,056例であった。今回は、主に臨床背景について解析した。

今回の調査の特徴として、男女比は1:6.0と男性の占める割合が増加していた。診断時平均年齢は59.9±14.7歳と以前の調査と比較して高齢化していた。また、抗核抗体陰性例は11.5%にみられ、以前の調査と比べて増加していた。今後は、検査データや治療法などについて解析を行う予定としている。なお、解析結果の詳細については愛媛大学の個別研究報告書に示した。

2. ワーキンググループ

ワーキンググループでの研究では、全国調査と同一の症例を対象に本研究班に所属する施設にアンケート調査を行い解析を行った。

1) 診療ワーキンググループ

診療ワーキンググループでは、診療上問題となりうる病態について解析し、1) 急性肝炎症例では血清学的には診断困難例が多く、高度黄疸例では予後不良であること、2) 家族内発症は稀であること、3) IgG4関連AIHについては症例の集積とクライテリアの設定が必要であること、4) 肝硬変例では肝細胞癌の合併に注意する必要があること、が示された。

2) 診断ワーキンググループ

診断ワーキンググループでは、抗核抗体（ANA）の測定法による陽性率の差異、および国際AIHグループ（IAIHG）が作成した1999年版（従来型）、2008年版（簡易型）診断スコアリングシステムによる一致率の検討を行った。その結果、1) AIHにおいては、IFの方がELISAより陽性率が高く、IF力価が低い

症例ではELISAでは陰性となる場合がある、2) 従来型・簡易型システムによる診断一致率は必ずしも高くなく、症例によっては両方のスコアを参考に診断する必要がある、ことが示された。

3) 治療ワーキンググループ

治療ワーキンググループでは、1) UDCA治療の適応、ステロイド治療中止可能例の抽出、2) 免疫抑制剤の適応と問題点、3) 重症化・劇症化例に対する治療法について解析した。その結果、1) UDCA単独治療が行われているのは、主にトランスアミナーゼ上昇が軽度の例であり、UDCA併用PSL治療例ではステロイド維持量が少ないこと、2) アザチオプリンは、PSL減量に伴う再燃例において有効であるが、副作用に対しての注意が必要であること、3) 重症化例では、診断時の血清中ビリルビン値が予後因子として有用であり、ステロイド治療への反応性が乏しい場合には肝移植の考慮が必要であることと、ステロイドパルス療法を施行するには感染症合併に注意が必要であること、が示された。

3. 個別研究

広石班員は、COX-2, osteopontin (OPN), Foxp3の遺伝子プロモーター領域の多型を解析した。AIHはコントロールと比べて遺伝子多型の頻度に差がなかったが、AIH scoreのdefiniteとprobableの間でそれぞれCOX-2 -765G/Cのgenotypeとallele, OPN -616G/T及び-155G/-のgenotypeの多型の頻度に差がみられた。また、COX-2 -1195A/Gの多型の頻度がAIH, PBCがC型肝炎とgenotype, alleleで差がみられた。以上から、これらの遺伝子多型が自己免疫反応と病態への影響の違いに関与している可能性が示唆された。

吉澤研究協力者は、自己免疫性肝炎におけるサイトカインネットワークとサイトカイン遺伝子多型について解析した。特に、IL-12p40が急性期に高値であり、治療後に有意に低下していたため、IL-12p40の遺伝子多型について解析した。IL-12高産生となるIL-12B 3' UTR (1188A/C) C/CはAIHで多く、phenotype C (C/CあるいはC/A)を持つものは、controlに比較して有意にAIH患者に多くみられた。今後は症例数を増やして、他のサイトカインやその受容体の遺伝子多型も併せて検討する必要がある。

銭谷研究協力者は、樹状細胞と高分化型肝癌細胞の融合細胞とIL-12投与により作製したAIHモデルの肝内NKT細胞動態を解析した。肝内NKT細胞数は、肝炎期で増加、回復期で減少し、逆に脾臓では肝炎期で減少、回復期に増加していた。肝炎期に増加した

NKT細胞におけるCD69の発現は増加しており、同細胞はIFN γ を産生していた。以上から、本モデルにおいて、肝内NKT細胞が病態形成に関わることを明らかにした。

大平研究協力者は、AIHにおけるヌクレオソームの病態進展への関与を解析した。ステロイド治療開始後にALTが正常化した症例で、治療前後での抗ヌクレオソーム抗体価の低下率を評価すると、低下率が35%未満の症例では、35%以上の低下率を示した症例に比べ、ステロイド減量に伴う再燃率が高値であった。また、AIHの発症年齢が低く、発症時のIgGが高値を示す症例では、ステロイド治療後のヌクレオソーム抗体価の低下率が低かった。以上から、抗ヌクレオソーム抗体がAIH再燃の予測因子となる可能性が示唆された。

森實研究協力者は、IAIHGが作成した簡易型診断スコアリングシステムの有用性について報告した。1999年度版診断スコアリング基準とのスコアの相関はそれほど高くなく、旧基準をゴールドスタンダードとすると、簡易型スコアリングの感度は78%であった。また、昨年度報告した3因子(ALP, ALT, AMA)、7因子(3因子に加えて、胆管障害、胆管消失、ロゼット形成、小葉間肝炎)の感度は73%、97%であった。

藤澤研究協力者は、簡易型診断スコアリングシステムの小児における有用性を検討した。新基準ではIgG値が正常値以下の症例や、抗核抗体或いは抗平滑筋抗体が40倍以下の症例では新基準を満たさない可能性がある。特に、急性発症型は新基準でAIHと診断できない可能性があるため、新基準の小児への適応については今後更に検討する必要がある。

日比研究協力者は、AIH患者の血清中のサイトカイン・ケモカインの測定を行い、AIHではIL-17とMIP-1a, MIP-1bが高値であった。また、MyD88ノックアウトマウスではConA誘発性肝障害が軽減され、その機序にマクロファージが関与していることを示した。以上から、AIHにおいても自然免疫と獲得免疫のクロストークが重要であると考えられた。

鈴木研究協力者は、AIHの長期観察例を対象に、治療反応性と肝組織像、HLAとの関連を解析した。免疫抑制療法が奏功している症例では、組織学的改善がみられた。また、HLA-DR14陽性例では治療反応性が良好で、組織学的改善も良好であった。

青柳研究協力者は、AIHにおけるAFP上昇について解析した。AIH症例においては、ALT値上昇が軽度で肝予備能が保たれていてもAFP、特にAFP-L3分画の上昇がみられる症例が多かった。AFP-L3分画上昇の程度は、急性肝炎症例よりも高率で、劇症肝炎症例と同様であった。このような強い肝細胞障害の存在が示唆されることは、AIHの発症機序を考える上で重要と考えられた。

山本研究協力者は、ステロイド治療前の自己免疫性肝炎患者50例より得られた血清を用いて、AIHの診断や病態解明に有用な疾患特異的バイオマーカーを同定する目的で、患者血清中のIgG分画に存在すると

考えられる新規自己抗体を探索している。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

原発性胆汁性肝硬変に関する研究

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理 教授

原発性胆汁性肝硬変（PBC）分科会は、PBCの疫学調査、診断基準の改訂、病因・病態の解明、新しい治療法の開発と肝移植の成績を検討課題とし、原発性硬化性胆管炎（PSC）も調査研究の疾患としている。本年度からは、疫学調査ワーキング、PBC診断基準ワーキング、診療ガイドラインの作成ワーキング、治療ワーキング、抗gp210抗体の有用性を検討するgp210ワーキングの5つのワーキンググループを立ち上げ、2年間の研究成果および3年目年次計画について議論した。本年度は以下に述べる班研究の進捗状況と個別研究の成果が報告された。

1. PBC

・ワーキンググループ（WG）

PBC診断基準WG：中沼分担研究者を代表とし、PBC、PSC、IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準の改訂を目的としたWGである。本年度は、現在提唱している新しいPBC病理学的病期と活動度分類を用いてPBC 166例を対象に分類した結果、応用可能であることを確認した。また、PBC診断基準の見直しを行い改訂案を作成した。

疫学調査WG：廣原研究協力者を代表とした本WGでは、PBC全国調査のデータベースを作成し、本邦におけるPBCの病因・病態の解明および診断および治療指針の策定などに利用することを目的としている。今回は2007年2月に実施した第13回PBC全国調査の集計結果をデータベース化し、対象総登録症例は既登録症例2034例と新規登録954例を含む6,676例となった。

診療ガイドラインの作成WG：石橋分担研究者を代表とする本WGでは、PBC患者の診療のガイドラインの作成を目的として、1）重症度分類、予後予測、2）PBC診療にあたっての薬物投与・合併症対策等の指針について検討を行った。重症度判定のためのMayoあるいはupdated Mayo予後予測式の日本人における検証は、PBC全国調査のデータベースを利用した。PBC患者の診療指針に関してはクリニカルクエスチョンに従い文献検索を行い、指針作りを進めた。

治療ワーキング：滝川研究協力者を代表とする本WGでは、AIHとPBCが同時に発症する症例（オーバーラップ症候群；OLS）の病態や診断基準、治療法を確定することを目的とし、本年度はPBC全国調査のデータベースを利用してOLSの概略を把握した。その結果、5,358例中PouponらのOLS基準を満たす症例は43例であり、他のPBCに較べ有意に低年齢でT.Bilが高かった。さらに38例のOLS症例の詳細調査

にて、診断時症状であった症例が46%と高率であること、平均観察期間は7.1±5.7年、最終確認時のUDCA+PSLの併用が61%、肝機能正常かつ無症状であった症例が78.9%、10年生存率が88%であり、本邦OLS症例の予後は良好であることが確認された。

抗gp210抗体の有用性を検討するgp210WG：中村稔研究協力者を代表とした本WGでは、多施設共同研究にてPBC 190症例の登録、血清475検体の測定、肝生検組織307標本の評価を行った。その結果、①抗gp210抗体が黄疸・肝不全進行の強い危険因子であること、②抗セントロメア抗体が門脈圧亢進症進行の有意な危険因子であることが検証された。また、③胆管消失や肝炎の所見が高度であることが抗gp210抗体陽性症例の病理学的特徴であることも確認され、PBCにおける抗gp210抗体測定の意義が検証された。

・個別研究

疫学調査：廣原研究協力者は2009年8月に実施した第14回PBC全国調査の解析をした結果、既登録症例2129例と新規登録702例の報告が得られ、総登録症例は7376例となった。経過中肝移植が施行された症例は120例あり、移植後生存率は5年生存率86.7%、10年生存率84.5%で、前回調査時に比較して改善している事がわかった。

診断・治療：石橋分担研究者は、PBC進行の異なった危険因子である抗gp210抗体、抗セントロメア抗体におよぼすHLA-DRB1遺伝子多型の影響について検討した。その結果、抗gp210抗体はHLA-DRB1の遺伝子多型にかかわらず黄疸進行の危険因子であったのに対し、抗セントロメア抗体はHLA-DRB1*0405と*0803において門脈圧亢進症進行の有意な危険因子であった。HLA-DRB1遺伝子多型は、PBC発症・進行、抗gp210抗体や抗セントロメア抗体の産生と関連があるだけでなく、抗核抗体のPBC進行に対する相対危険度を規定していることを明らかにした。

滝川研究協力者は、日本人PBC患者における疾患感受性遺伝子を検討した結果、FCRL3・IL12A遺伝子の多型とPBCの疾患感受性との間に有意な関連性を見出した。

病因・病態：下田研究協力者は、Toll様受容体3リガンド、Toll様受容体4リガンドが各々胆管上皮細胞と単球に作用して、細胞間接触とその間に単球より産生されるTNF- α の刺激で胆管上皮細胞からCX3CL1が産生されることを明らかにした。自然免疫に対する反応性の亢進を制御することで新規治療の基盤となる可能性を示唆した。

宮川研究協力者は、PBCの高IgM血症にB cell

activating factor (BAFF) が果たす役割を検討した。その結果、PBCの単球膜上のBAFF (mBAFF) 発現が高いこと、PBCの単球はB細胞から多くのIgMを産生させること、単球のmBAFF発現の程度とIgM産生量は正の相関があることを明らかにし、単球由来のBAFFが高IgM血症をきたす要因である可能性を示唆した。

向坂研究協力者は、胆汁うっ滞時に血清コレステロール値が上昇する機序について検討した結果、ラットの胆管結紮モデル肝とPBC患者の生検肝ともに肝内ABCA1トランスポーターの発現が増強している事、またABCA1発現を抑制した培養肝細胞では上清中のコレステロール値が低下することを確認し、ABCA1トランスポーターが肝細胞からのコレステロール排出に関与していることを明らかにした。

中牟田研究協力者は、PBC肝におけるフォスファチジルコリン産生の解析として、コリンからCCTにより産生されるCDPコリン経路(Kennedy経路)とエタノールアミンからPEMTやBHMTにより産生されるメチル化経路について検討した結果、PBC肝においては正常肝に比べてCCT, PEMT, BHMTのいずれも発現は低下しており、血清コリン値は逆に増加していた。PBC肝ではコリンの取り込みが低下し肝内コリンが欠乏していることが示唆され、今後、コリン取り込みに関連するトランスポーターの解析も必要であることを示唆した。

松崎研究協力者は、UDCA無効でベザフィブラート有効なPBC患者における作用機序について検討した。その結果、UDCAによる胆汁うっ滞の改善には胆汁酸腸肝循環の増大とコレステロール吸収の増加を伴うため、肝臓の胆汁酸とコレステロールの分泌負荷は軽減されないが、ベザフィブラートはコレステロールと胆汁酸の合成分泌負荷を軽減させUDCAによる胆汁うっ滞の改善を補助することを示唆した。

西原研究協力者は、PBCの予後を明確に示す指標について検討した。野性株のCPT-2の発現をドミナントネガティブに抑制するC352 variantを有する症例ではミトコンドリアにおける脂肪酸酸化能の低下を通じて、PBCの予後に悪影響を与える可能性があり、フェノフィブラートの持つCPT-2の発現亢進作用はC352 variantを有する症例の予後改善に寄与する可能性を示唆した。

中沼分担研究者は、胆管細胞におけるエストロゲンとエストロゲン関連受容体(ER)について検討した。ヒト胆管細胞はER α と γ を発現しており、エストロゲン存在下ではER γ の発現が抑制された。また、男性や中高年女性では肝内小型胆管におけるER γ の発現を認めたが、若年女性では発現を欠く胆管が散見された。さらに、中高年女性では非PBCに比べPBCの胆管ではER γ 発現が亢進していた。PBC女性、特に閉経後女性における胆管病変の発生にER γ の関与を示唆した。

上野研究協力者は、PBCにおけるレトロウイルス感染症の関与について検討した。抗ミトコンドリア抗

体産生と胆管病変を認めるNOD.C3C4マウスおよびヒトPBCの肝臓から内因性レトロウイルス遺伝子断片を検出し、病因との関連性について更なる検討の必要性を示唆した。

肝移植：前原研究協力者はPBCに対する生体肝移植症例で再移植あるいは再発が疑われた症例のPBC再発の組織学的機序解明を行った。PBC症例41例中、術後PBC再発の組織学的診断例が3例、5年再発率は4.1%であり、これまでの生体肝移植での報告よりも低頻度であった。PBC症例では再発を念頭においた管理が重要であること、またPBC再発に関する組織学的診断に問題が残ることも指摘した。

2. PSC

疫学調査：滝川研究協力者は、PSCにおけるステロイド有効例の検討を行った。昨年度、PSC全国調査結果より40歳以上でステロイドが著効した症例が19例存在することを報告し、本年度はアンケート調査によるステロイド効果の内容について検討した。回答を得た14症例中11症例は生化学的改善であり、3例は詳細不明であった。生化学的改善が得られた症例ではステロイド投与により胆道系酵素が著明に低下していた。高齢者のPSC症例の中にステロイドが著効し、肝機能が改善する症例が存在することを再確認した。

肝移植：国土研究分担者は、PSCに対する成人生体肝移植自験例を検討し、脳死肝移植と異なり血縁ドナー由来の肝移植では高率に再発する可能性を指摘した。しかし5年生存率は90%、グラフト生着率は81%であり、非PSC症例の生存率と差を認めなかった。一方、移植適応とならなかった紹介症例の予後は5年生存率約40%であり、今後、内科的加療継続の適応や肝移植のタイミングを含めた包括的な治療戦略の検討が必要である。

江川研究協力者は、PSCの肝移植後予後全国多施設共同調査により、初回生体肝移植114例における10年生存率57%、10年生着率34%。類似胆管病変をきたす12例を除く96例中PSC10年再発率は52%。また再発危険因子はMELDscore24以上、一親等ドナー、サイトメガロ感染、術後1年以内胆管合併症であり、再発は移植肝機能不全の有意な危険因子であることを示唆した。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

劇症肝炎に関する研究

研究分担者 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

全体研究ではワーキンググループ（WG）Ⅰで1）劇症肝炎の診断基準の見直し，2）急性肝不全の実態調査，3）新肝移植適応ガイドラインの検証結果などが報告された。WGⅡでは臨床試験「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」が進行中である。全国調査では2008年に発症した劇症肝炎，LOHFの動向が明らかになった。個別研究では劇症肝炎の予知，予後予測，肝移植成績などの臨床研究および劇症肝炎の病態および新規治療法に関する基礎研究成果が報告された。

1. 劇症肝炎，LOHFの全国調査（坪内研究代表者）

2008年は劇症肝炎65例（急性型33例，亜急性型32例），LOHF5例が登録された。患者平均年齢は急性型に比べ，亜急性型，LOHFの順に高齢であった。生活習慣病などの基礎疾患および薬物服用歴を有する割合は増加傾向であった。成因はウイルス性が全体の41%を占めており，その内訳はB型（33%）が最多であった。B型では急性感染例（16%），キャリア例（16%）で，例年より急性感染例が少なかった。免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化肝炎はB型例全体の35%（8/23），キャリア例の73%（8/11）を占めた。成因不明例は急性型の27%，亜急性型の47%，全体では34%に相当した。また，薬物性は急性型の12%，亜急性型の13%，LOHF1例を含め全体で13%，自己免疫性は急性型の3%，亜急性型の16%を占め，LOHF2例を含めて全体では11%に相当した。肝移植非実施症例における救命率は急性型42%，亜急性型21%で，LOHF5例に救命例はなかった。肝移植は急性型7例（21%），亜急性型8例（25%）に行われ，これらを含めた救命率は，急性型55%，亜急性型38%であった。成因と予後との関連では，B型急性感染22%，B型キャリア11%，自己免疫性13%と救命率が低かった。HBV再活性化肝炎の救命例はなかった。

2. WGⅠ研究報告（代表：持田研究分担者）

1）劇症肝炎の診断基準

劇症肝炎の診断基準項目であるプロトロンビン時間（PT）を%表記からINR表記に変更する目的で全国調査が実施された。16種類のキットが使用されており，PT40%に相当するINR値は1.6から2.12の間に分布した。劇症肝炎の診断基準をプロトロンビン時間40%以下とともに，INRを1.6から2.12までの間の数値に暫定的に設定することについて，今後さらに検討することとなった。

2）急性肝不全の実態調査

劇症肝炎以外の急性肝不全の実態を明らかにするために，全国の救急救命センター及び救急科専門医指定施設を対象としてアンケート調査が実施された。劇症肝炎に分類されない成因は45.5%で，アルコール性が最も多く，循環障害が次いでいた。これらはacute-on-chronicないしは非昏睡型肝不全の病型を呈する症例が多く，肝不全に比して，多臓器不全など合併症が死因の症例が多かった。わが国における劇症肝炎以外の急性肝不全は，劇症肝炎とは病態が大きく異なることが示唆された。

3）新肝移植適応ガイドラインの検証

平成19年度に発表した新しい肝移植適応ガイドラインを用い，2004～2007年の登録症例でその有用性について検証が行われた。正診率74%，感度60%，特異度89%，陽性的中率85%，陰性的中率67%と良好な結果が得られ，従来のガイドラインに変わる予後予測法として有用であることが示された。

3. WGⅡ研究報告（代表：坂井田研究協力者）

臨床試験「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」が，山口大学を事務局として，登録が開始された。現在2例が登録されており，今後参加施設と症例を増やす予定である。

4. 肝炎劇症化の予知

藤澤研究協力者は小児の劇症肝不全の実態を調査し，その原因が多岐にわたり，ウイルス性肝炎が少なく，原因不明例が多いことを示した。2009年に研究班で作成した新肝移植適応ガイドラインを小児例で検証したところ，脳症Ⅱ度以上に進行した日の判定では正確に予後を判定できなかったが，5日後の判定では正診率87.5%と成人とほぼ同様の結果が得られた。小児では発症時のみならず，経時的な判定の必要性が示唆された。

持田研究分担者はデータマイニングの手法を用いた予後予測法を示した。昨年作成した決定木法とradial basis function（RBF）法を高精度のものに再構築した。また，back propagation（BP）法による予後予測法も確立した。これらを2004～2007年の症例で検証を行い，正診率，感度，特異度も高率で，多変量解析による従来法に比べ精度が高い予後予測法であることを報告した。今後はweb上でアクセスできる判定システムの構築が今後の課題であった。

鈴木研究協力者は，岩手医大を中心に近隣40施設と共同で急性肝障害患者の登録，搬送システムを構築し，劇症化予知・予防に関するプロスペクティブスタ

ディーを行った。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基づき、劇症肝炎成因例では良好な予測効果が得られたが、その他の成因では過剰予測の傾向がみられた。肝炎、搬送例において、劇症化例の昏睡発現までの日数がおおむね5日以上を確保できた点、第2高危険群以下の観察劇症化率が予測を下回った点から、本システムが早期予知、早期治療開始に有効であることを示した。また、予知式に加え、アジアロシンチグラフィー LHL15が肝萎縮の客観的評価方法として有用であることを明らかにした。

5. 劇症肝炎、LOHF の治療（全国調査、分担研究）

2008年の症例において、治療内容に大きな変化はみられなかった。B型に対しては全体の91%で核酸アナログ投与が行われており、2007年同様、エンテカビル使用例がラミブジンを上回った。de novo B型3例を含めHBV再活性化肝炎8例の救命例はなく、引き続き「免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドライン」の周知が重要と思われた。

1) 肝移植

2008年の生体部分肝移植の実施頻度は、急性型が21%、亜急性型33%で、救命率はそれぞれ100%、88%であった。全体の移植率は例年とほぼ同じで、救命率も高かった。国土研究分担者は、劇症肝炎39例の累積生存率が85.4%と、その成績が良好であることを報告した。市田研究協力者は医学的緊急度9点の脳死肝移植症例の成績を解析し、劇症肝炎例の5年生存率68.5%に対し、グラフト機能不全例は34%と低率であることを明らかにした。

2) 肝補助療法

井上研究協力者は、大量の緩衝液で血液を洗浄する血液濾過透析（HDF）や high-flow の持続血液濾過透析（CHDF）による人工肝補助療法により、致死合併症である脳浮腫の頻度が5%以下に予防されることを報告した。また、グルタミン除去総量が人工肝補助の評価指標となり得る可能性が示唆された。

6. 劇症肝炎の病態と新規治療

横須賀研究協力者は、自己免疫性急性肝不全例では他原因に比較して重症化・劇症化までの経過が長く、また慢性例と比較してIgG正常例や自己抗体陰性例が多いことを明らかにした。組織学的な centrilobular necrosis, CT画像上の heterogeneous hypoattenuation が急性発症型自己免疫性肝炎に特徴的で、これらが診断率の改善に寄与することを示唆した。

坪内研究代表者は、de novo B型肝炎3例のHBV全長シーケンスの結果から、遺伝子変異と病態との関連性を検討した。HBV genotypeは全例Cで、全例にコアプロモーター変異があり、死亡例にはプレコア変異が認められた。HBs抗体陽性の1例はS領域の1256塩基が欠損し、他の2例もS領域に変異を認めていた。

福井研究協力者は、ラット急性肝不全モデルにおいて肝 Toll-like receptor 4 (TLR4) の発現増強に関連

してTNF- α の増加、肝障害の進展がみられることを示した。また、TLR4阻害剤の投与により肝障害の改善効果、致死急性肝不全での救命効果を認めた。さらに、合併症を伴う急性肝不全症例では血小板凝集を制御するADMTS13活性の著減とVWF抗原の著増がみられ、これらは血漿エンドトキシン（Et）濃度と相関することを明らかにした。劇症肝炎の発症、進展にEtと関連する高サイトカイン血症、血小板機能異常が関与している可能性が示唆された。

森脇研究協力者は、胆管結紮によるマウス胆汁鬱滞肝障害モデルにおいて、クッパー細胞除去により、肝障害と肝細胞のアポトーシス感受性が増加し、肝再生ならびに肝線維化が抑制されることを示した。慢性肝障害の肝臓ではクッパー細胞は肝細胞に対してAKT活性化を介した抗アポトーシス状態獲得および肝再生誘導による保護的作用を有することを明らかにした。

林研究協力者は肝再生過程で、IL-6受容体、HGF受容体およびEGF受容体の下流で共通に機能するアダプター蛋白であるGabファミリー蛋白を解析した。肝特異的Gab1欠損マウスでは野生型マウスに比べ、部分肝切除後の肝再生障害がみられることより、Gabファミリー蛋白を介したシグナルが肝再生過程に重要な役割を担うことを示唆した。

坂井田研究協力者は肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法（ABMi療法）において、局所麻酔下に採取した少量自己骨髄液から骨髄由来細胞を培養増殖させる技術を開発した。培養骨髄細胞を用いた新規の肝修復再生療法である骨髄由来肝臓修復（LR）細胞投与法の基礎研究について報告した。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分科会総括研究報告書

肝内結石症に関する研究

研究分担者 中沼 安二 金沢大学医学系研究科 形態機能病理学 教授

A. 研究目的

従来からの厚生労働省の肝内結石症に関する研究班を中心とした研究成果により、本症の診断や治療成績は向上しつつある。しかし、その成因や肝内胆管癌の発生要因については未だ不明な点が多い。肝内結石症分科会は、(1) 肝内結石症の現状把握、(2) 診断・治療成績の向上とそのガイドライン作製、(3) 発癌機序の解明と発癌予測を主要な検討課題とし、4つのワーキンググループ（疫学予後、診断治療、画像、発癌）を組織した。3年計画の2年次にあたる本年度の班会議では、以下に述べる班研究の進展状況と個別研究の成果が報告された。

B. 研究成果

1. ワーキンググループ

(1) 疫学予後ワーキンググループ

（代表：研究協力者、森俊幸、杏林大）

第6期全国調査（2006年度）334例を対象に胆管癌合併の危険因子を解析した（横断調査）。さらに第5期全国調査（1998年度）の登録症例に対しコホート調査（258例）を行い、胆管癌発生に影響を与える因子を抽出した。横断調査では胆管癌の危険因子は胆道再建の既往例、肝萎縮例であった。また、コホート調査では発癌リスクを上げる因子として治療としての切石が抽出され、発癌リスクを下げる因子としてUDCA内服が抽出された。初発例を対象にすると左葉例は発癌リスクを上げ、肝切除術は有意に発癌のリスクを下げる因子であった。発癌からみた肝内結石症の取扱いとしては、肝切除は肝萎縮例には積極的にを行い、胆道再建は可能な限り避けるべきと考えられた。

(2) 診断治療ワーキンググループ

（代表：研究協力者、田妻進、広島大）

本症の診断と治療成績の向上を目的として、前年度に以下の3つの作業工程を立案し、その実践に向けた取り組みを推進した。

- 1) わが国の肝内結石症診療の現状把握
- 2) その問題点の拾い上げと診療指針の立案－学会診療ガイドラインとのすり合わせ
- 3) 新規の診断 modality と治療発掘・開発－多施設研究によるエビデンス創り

特に、2009年11月に日本消化器病学会から胆石症診療ガイドラインが作成されたことを受けて、実態調査を中心に肝内結石症診療指針の策定に向けて作業を進めた。アンケート調査から肝内結石症の診療実態を確認し、上記1)と2)の成績を踏まえ、次年度は、3)新規の診断 modality と治療発掘・開発を多施設研究

により推進する予定である。

(3) 画像ワーキンググループ

（代表：研究協力者、佐田尚宏、自治医大）

1990-2009年本研究班参加施設を対象に、肝内結石症に合併する肝内胆管癌 Profile 調査を行った。全施設合計で肝内結石症症例は696例、そのうち肝内胆管癌合併症例は37例（5.3%）であった。肝内胆管癌合併症例の肝内結石症罹患期間は10年以上の症例が37%と最多であったが、肝内結石症とほぼ同時に発見された0-6か月の症例が36%とほぼ同数認められ、その頻度は2000年以降増加していた。肝内結石症に合併する肝内胆管癌の治療成績は不良でその切除率は低かった。診断法は従来の直接造影法もしくは胆管内視鏡による細胞診と生検が主体で、新たな診断手段の評価は困難であった。今後さらに症例を集積しMD-CT、MRI、FDG-PETなどの新たなModalityを含め肝内胆管癌早期発見のための診断方法についての検討が必要と考えられた。

(4) 発癌ワーキンググループ

（代表：研究分担者、中沼安二、金沢大）

肝内結石症における胆管癌の早期発見に有効な分子マーカーを同定することを目的とした検討を行った。肝内結石症に合併したBillINと胆管癌（浸潤癌）では、免疫組織化学的にheat shock protein 27（HSP27）の発現が高率にみられることをこれまでに報告したが、今回は肝内結石症患者の血清HSP27濃度の測定を行った。その結果、癌合併例の肝内結石症での血清HSP27は、肝内結石症の非癌症例や健常人より高い傾向にあった。次いで、胆汁中のmicroRNAを解析した結果、胆管癌で異常を示すいくつかの候補が同定された。これらのマーカーは肝内結石症からの発癌予測バイオマーカーとなる可能性を有し、レクチン糖鎖を含む複数のマーカーを組み合わせることで、肝内結石症からの発癌マーカーとしての精度が高まると考えられた。なお、本研究班から発信したBillIN分類ならびにIPNB分類は、本年中に改訂予定のWHO Classification（WHO blue book）に採用されることが決定した。

2. 個別研究

(1) 疫学・予後

森研究協力者は、第5期全国調査（1998年度）の登録症例に対しコホート調査（258例）を行い胆管癌発生に影響を与える因子を抽出した際、特に無症例に対する取扱いが問題となったため、未回収例167例を