

ところで脂肪肝 (NAFLD) においては、PBC 同様に MDR3 の遺伝子発現は増加しており、血清コリン値も上昇していた。しかしながら、PC 産生経路の遺伝子発現 (CCT, PEMT, NHMT) はいずれも正常肝にくらべてその発現は増加しており、全く逆の動きを示していた。

D. 考 察

血清コリン値が上昇しており、PC 合成関連遺伝子の発現が低下していることは、PBC 肝内のコリン含有量の低下を示唆している。一方、PBC 同様に血清コリン値が高値を示すにもかかわらず、全く PC 合成関連遺伝子の発現が逆のパターンをとる NAFLD では肝内コリン含有量が増加している可能性が示唆されており (野崎, 中島ら未発表データ)、NAFLD との比較においても PBC 肝ではコリンが低下 (欠乏) している可能性がある。

コリンは肝細胞においては、OCT (low affinity polyspecific organic cation transporters) と CTL: (choline-specific transporter-like proteins) により取り込まれると言われている。おそらく、PBC 肝においては、これらのコリントランスポーターの発現は低下していることが推測される。興味がある点としては、OCT1 の発現は、胆汁うっ滞、LPS で低下することが報告されている。また、ホルモンによってもその発現は影響を受け、女性ホルモンやステロイドホルモンにより負へ、男性ホルモンにより正へ制御されることが報告されている。PBC の女性での高発症やステロイド不応性などに関連するものかもしれない。さらに、CCT1 はフィブレート系薬剤がリガンドである PPAR α により MDR3 と同様に正に制御されている。従って、フィブレート系薬剤は MDR3 のみならず、CCT1 の発現を増強させ、コリンの取り込みを増加させ、PC 産生を増加させることにより効果を出している可能性も考えられる。

今後の検討課題として、① OCT1 や CTL1 などのコリントランスポーターの発現検討、② OCT1 には 18 の SNIP が報告されており、そのうち 6 つはアミノ酸変異を伴い、その発現を低下させるものであり、PBC における OCT1 の SNIP 解析、③ 血中リポ蛋白 (サイズ、リン脂質などの脂質含有量など)、などがあげられる。

E. 結 論

PBC 肝においては、PC 合成系の発現は低下しており、これはコリン取り込みの低下に起因する可能性があり、病態形成との関連も含めて、今後の検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Enjoji M, Yada R, Fujino T, Yoshimoto T, Yada M, Harada N, Higuchi N, Kato M, Kohjima M, Taketomi A, Maehara Y, Nakashima M, Kotoh K, Nakamuta M. The state of cholesterol metabolism in the liver of patients with primary biliary cirrhosis: the role of MDR3 expression. *Hepatol Int.* 2009;3(3): 490-496.

2) Nakamuta M, Fujino T, Yada R, Yasutake K, Yoshimoto T, Harada N, Yada M, Higuchi N, Kato M, Kohjima M, Taketomi A, Maehara Y, Nishinakagawa T, Machida K, Matsunaga K, Nakashima M, Kotoh K, Enjoji M. Therapeutic effect of bezafibrate against biliary damage: a study of phospholipid secretion via the PPAR α -MDR3 pathway. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2010;48:22-28.

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

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

研究協力者 松崎 靖司 東京医科大学茨城医療センター 消化器内科 教授

研究要旨：UDCA で効果が不十分な PBC 症例にベザフィブラートが有効な理由を、コレステロール・胆汁酸代謝の面から検討した。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ず、治療にも限界があるものと考えられた。一方、ベザフィブラートは、コレステロールと胆汁酸の合成抑制によって、これらの肝臓での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ものと考えられた。

A. 研究目的

PBC に対する治療としては UDCA が第一選択薬として用いられているが、効果が不十分な場合にはベザフィブラートの併用が有効な症例が多い。しかし、両者の併用が UDCA 単独よりも有効な理由に関しては、まだ十分な説明が行われていない。今回我々は、コレステロール・胆汁酸代謝の面から、上記の理由を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象：以下の3つの比較研究を行った。比較1：正常対照29例 vs. 未治療 PBC 患者 (Stage1 or 2) 27例。比較2：未治療 PBC 患者 (Stage1 or 2) 19例において UDCA 治療 (600mg/day) 前 vs. 3ヶ月後。比較3：UDCA 治療中 (600mg/day) の PBC 患者 (Stage1 or 2) 6例において、ベザフィブラート併用治療 (400mg/day) 前 vs. 1ヶ月後。

分析項目：In vivo でのコレステロール・胆汁酸代謝の評価のために、以下の血清マーカーを測定した。胆汁うっ滞のマーカーとして ALP, γ -GTP, 血清脂質として Total cholesterol, LDL cholesterol, TG, 内因性胆汁酸の腸管分泌マーカーとして、Fibroblast growth factor 19 (FGF-19), 胆汁酸合成のマーカーとして 7 α -Hydroxy-4-cholesten-3-one (C4), コレステロールの吸収マーカーとして Campesterol および Sitosterol, そしてコレステロールの合成マーカーとして Lathosterol である。C4, Campesterol, Sitosterol, Lathosterol は昨年度報告した LC-MS/MS によって、また FGF-19 は ELISA 法によって定量した。

C. 研究結果

PBC で上昇していた ALP と γ -GTP は、UDCA の投与によって有意に低下した。そこにベザフィブラートを追加投与すると、さらに有意な低下が認められた。

血清 Total cholesterol, LDL cholesterol, TG は、いずれも未治療の PBC 患者で有意に増加していた。これに UDCA を投与しても、これらの脂質の値には有意な変化を認めなかった。さらにベザフィブラートを追加投与すると、いずれの血清脂質も低下傾向を示したが、統計学的に有意な変化ではなかった。

内因性胆汁酸の腸管分泌マーカーである FGF-19 は、未治療 PBC と正常対照者との間で有意な差がなかった。しかし、UDCA を投与すると FGF-19 の有意な上昇を認め、ベザフィブラートを追加投与すると有意な低下を認めた。

胆汁酸合成マーカーの C4 濃度は、未治療 PBC と正常対照群との間で有意な差がなく、UDCA 投与によっても変化がなかった。しかし、ベザフィブラートの投与によって有意に低下した。

コレステロール吸収系の血清マーカーである Sitosterol および Campesterol 濃度は、未治療の PBC 患者と正常対照者との間に差がなかったが、UDCA 投与によって有意な上昇を認めた。ベザフィブラートを投与すると低下傾向を認めたものの、有意な変化ではなかった。

コレステロール合成系マーカーの Lathosterol 濃度は、正常対照と比べて未治療の PBC 患者で有意に低下していた。UDCA 投与では低下したまま変化せず、ベザフィブラート投与では、さらに有意に低下した。

D. 考察

PBC 患者に UDCA を投与すると、内因性胆汁酸分泌の有意な増加が認められた。このことは、胆汁酸の腸肝循環量が増えていることを示唆し、通常であれば肝臓の胆汁酸合成にフィードバックがかかるはずである。ところが、胆汁酸合成系には変化がなかった。この理由として、UDCA 投与下では腸管からのコレステロール吸収が亢進し、肝臓へのコレステロール負荷が増していることが考えられた。UDCA 投与下でもコレステロール合成が抑制されたままであるという事実は、この仮説を支持する所見である。

一方、ベザフィブラートを投与すると、内因性胆汁酸分泌、胆汁酸合成共に低下が認められた。通常のフィードバック調節機構では、両者は相反する動きをすると考えられるが、今回のように両者が共に低下するのは、胆汁酸合成抑制がベザフィブラートによる一次的な変化で、内因性胆汁酸分泌低下は胆汁酸合成抑制による二次的な変化と考えることで説明できると考えられた。さらに、ベザフィブラート投与はコレステロール合成も抑制したが、これが胆汁酸合成抑制の原因か結果か、あるいは全く別の作用機序によるものか

は現時点では不明であり、今後の検討を要すると考えられた。

E. 結 論

UDCAによる胆汁うっ滞の改善には、内因性胆汁酸の腸管分泌増加（腸肝循環の増加）を伴い、コレステロールの吸収も増加させた。その結果、肝臓のコレステロール・胆汁酸分泌負荷は軽減されず、胆汁うっ滞治療にも限界があるものと考えられた。一方、ベザフィブラートは、コレステロール合成と内因性の胆汁酸合成を抑制し、肝臓のコレステロール・胆汁酸分泌負荷を軽減することによって、UDCAによる胆汁うっ滞治療を補助するものと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Honda A, Yamashita K, Ikegami T, Hara T, Miyazaki T, Hirayama T, Numazawa M, Matsuzaki Y. Highly-sensitive quantification of serum malonate, a possible marker for de novo lipogenesis, by LC-ESI-MS/MS. J. Lipid Res. 2009; 50: 2124-2130.

2. 学会発表

本多 彰, 中牟田 誠, 松崎靖司. 原発性胆汁性肝硬変におけるコレステロール代謝の解析. 第51回日本消化器病学会大会（ワークショップ）. 2009年10月, 京都.

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

PBCの病期進展におけるCPT-2遺伝子多型の関与

研究協力者 西原 利治 高知大学医学部 消化器内科学 教授

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変（PBC）の予後を明確に示す指標は乏しく，門脈圧亢進症やビリルビンの上昇が知られているのみである。今回，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が示唆された。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変（PBC）の発症素因としてMHC class IIの重要性は良く知られている。また，その疾患マーカーとされるAMAはALPや γ -GTと共に胆管病変の存在を示す有用な指標である。しかし，その予後を明確に示す指標には乏しく，症候性PBCの診断基準に示される門脈圧亢進症やビリルビンの上昇以上に強力な指標が得られていないのが現状である。治療においてもUDCAやベザフィブラートの有用性が示唆されたのみで，その作用機序の詳細は未だ明らかではない。

そこで今回，ベザフィブラートにより遺伝子発現が誘導されるミトコンドリア関連酵素CPT-2に着目し，その機能性遺伝子多型のPBCに与える影響について検討した。

B. 研究方法

PBC40例および健常者148例の末梢単核球より得たgenomic DNAを用いて，CPT-2の3つのエクソンに存在するアミノ酸変異を伴う遺伝子多型を基にCPT-2のハプロタイプを決定し，PBCの発症，病態，予後との関連を検索した。

C. 研究結果

CPT-2ではF352F-V368V-M647M，F352F-V368I-M647M，F352F-V368I-M647V，F352F-I368I-M647M，F352F-I368I-M647V，F352F-I368I-V647V，F352C-V368I-M647M，F352C-I368I-M647M，C352C-I368I-M647Mの9種類のハプロタイプが検出されたが，その頻度にはPBCと健常者間で差異を認めなかった。そこで，PBC症例についてCPT-2variantと野性型症例について臨床事項の検討を行ったところ，C352 variantを有する症例ではF352Fを有する野性型症例に比して，肝臓死ないし肝移植を必要とする頻度がodds ratio 6.2 (1.0-38.2)で明らかに高値であった。また，これらのvariantをCOS細胞にトランスフェクションしたところ，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ことが明らかとなった。

D. 考 察

CPT-2はミトコンドリア内膜に存在し，カルニチン

シャトルの最終段階で，脂肪酸に結合したカルニチンを遊離させる作用を有する酵素である。C352 variantを有する症例ではCPT-2の発現がドミナントネガティブに抑制されることから，脂肪酸を結合したカルニチンがミトコンドリアの内腔に異所性蓄積し，脂肪酸の β 酸化を競合阻害することが予想された。

ミトコンドリアにおける脂肪酸酸化能の低下は膜電位に潜在的低下をもたらすことから，障害を受けた肝細胞や胆管上皮細胞のアポトーシスを亢進させる可能性があり，病期の速やかな進展を通じてPBCの予後を危うくするものと考えられた。

E. 結 論

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が示唆された。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asanuma T, Ono M, Kubota K, Hirose A, Hayashi Y, Saibara T, Inanami O, Ogawa Y, Enzan H, Onishi S, Kuwabara M, Oben JA. Super paramagnetic iron oxide MRI shows defective Kupffer cell uptake function in non-alcoholic fatty liver disease. Gut published Online First: 16 Nov. 2009, doi 10.1136/gut2009.176641
- 2) Harada N, Soejima Y, Taketomi A, Yoshizumi T, Uchiyama H, Ikegami T, Saibara T, Nishizaki T, Maehara Y. Recurrent familial hypobetalipoproteinemia-induced nonalcoholic fatty liver disease after living donor liver transplantation. Liver Transpl. 2009;15:806-809.
- 3) Hidaka M, Iwasaki S, Matsui T, Kawakita T, Inoue Y, Sakai T, Harada N, Takemoto S,

- Nagakura S, Kiyokawa T, Takahashi M, Saibara T, Onishi S, Kawano F. Efficacy of bezafibrate for chronic GVHD of the liver after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2009
- 4) Yoshioka S, Hamada A, Jobu K, Yokota J, Onogawa M, Kyotani S, Miyamura M, Saibara T, Onishi S, Nishioka Y. Effects of *Eriobotrya Japonica* seed extract on oxidative stress in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *J Pharmacy and Pharmacology* 2010, 62: 1-6.
- 5) 大西三朗, 西原利治: NAFLD, NASHの病態と臨床 日本内科学会会誌98臨時増刊号:48-53,2009
- 6) 河田純男, 泉並木, 池田健次, 西原利治: 肝疾患診療の新しい展開 日本医師会雑誌 138:1061-1073,2009
- 7) 大西三朗, 西原利治: NAFLD, NASHの病態と臨床 日本内科学会雑誌 98:2101-2111, 2009
- 8) 岡上武, 西原利治, 小野正文, 角田圭雄, 橋本悦子, 田村信司, 山田剛太郎, 河田純男, 工藤正俊 日本肝臓学会コンセンサス神戸2009: NASHの診断と治療 肝臓 50:741-747,2009
- 9) 西原利治: C型肝炎のベスト治療(銭谷幹男, 八橋弘, 柴田実編) 脂肪肝 110-111頁, 医学書院, 東京, 2009
- 10) 西原利治: 2009 今日の治療指針(山口徹, 北原光夫, 福井次矢編) NAFLD 401-402頁, 医学書院, 東京, 2009
- 11) 西原利治: Annual Review 消化器 2009 (林紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹編) 非アルコール性脂肪肝炎の臨床の進展, 157-166頁, 中外医学社, 東京, 2009
- 12) 西原利治: 消化器疾患 最新の治療(菅野健太郎, 上西紀夫, 井廻道夫編) NAFLD 310-312頁, 南江堂, 東京, 2009
- 13) 西原利治, 小野正文: 病気と薬パーフェクトBOOK 2009(横田千津子, 池田宇一, 大越教夫監修) NASH(非アルコール性脂肪肝炎), 384-386頁, 南山堂, 東京, 2009
- 14) 西原利治: 薬の選び方・使い方のエッセンス(雨森正洋, 大生定義監修) NAFLD・NASH, 977-979頁, 南山堂, 東京, 2009
- 15) 西原利治, 大西三朗: 肝臓病診療Q&A(河田純男, 佐々木裕編) 自己免疫性肝疾患の実態はどう変化しているのか?, 17-18頁, 中外医学社, 東京, 2009
- 16) 西原利治, 小野正文: 肝臓病診療Q&A(河田純男, 佐々木裕編) NASHの治療はどこまで進歩しているのか?, 231-233頁, 中外医学社, 東京, 2009
- 17) 小笠原光成, 小野正文, 廣瀬享, 野崎靖子, 高橋昌也, 岩崎信二, 西原利治, 大西三朗: 酸化ストレスと肝疾患(谷川久一編) 防風通聖散投与による非アルコール性脂肪性肝障害 (NAFLD) 治療の有用性および作用機序の解明, 133-137頁, アークメディア社, 東京, 2009
- 18) 岩崎信二, 高橋昌也, 西原利治: 原発性胆汁性肝硬変に対する bezafibrate の効果 *Bio Clinica* 24:83-87,2009
- 19) 高橋昌也, 小野正文, 西原利治: NASH患者のインスリン抵抗性の特徴と肥満対策 消化器内科47:369-376,2008
- 20) 小野正文, 小笠原光成, 西原利治, 大西三朗: NASHモデル動物における発癌リスク 消化器科 48:97-104,2009
- 21) 廣瀬享, 宮本敬子, 西原利治: 肥満とNASH治療学 43:1048-1050,2009
- 22) 西原利治: NASHの早期診断およびマジンドールの適応と使用上の注意 日本医事新報 4470:76-77, 2009
- 23) 宮本敬子, 岡本宣人, 西原利治: NASH発症に関連する遺伝子多型 肝胆膵 59:1195-1199,2009
2. 学会発表
- 1) 小野正文, 西原利治, 大西三朗: NASHの発症機序 第45回日本肝臓学会総会 コンセンサスミーティング4: NASH 神戸, 2009/6/4
- 2) 西原利治: 非アルコール性脂肪肝炎の病態 基調発言, 第12回日本病態栄養学会 シンポジウムIV; 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の病態栄養と栄養管理, 京都, 2009/01/10
- 3) 小野正文, 西原利治, 大西三朗: 検診受診者におけるNASHの高リスク群の解析, 第51回日本消化器病学会大会シンポジウム4「メタボリック症候群における肝障害」2009/10/14 京都
- 4) 小野正文, 廣瀬享, 西原利治: 123I-BMIPP 脂肪酸代謝シンチを用いた非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の脂肪酸β酸化の解析とその有用性について, 第38回日本肝臓学会西部会 シンポジウム「NASH研究の最前線」2009/12/4 米子
- 5) 越智経浩, 小野正文, 西原利治: メタボリックシンドロームにおけるNASH線維化進展への影響 第13回日本肝臓学会大会パネルディスカッション7: 消化器疾患と生活習慣病, 京都, 2009.10.15
- 6) 小野正文, 西原利治, 大西三朗: ゴルジ装置の機能に影響を与える遺伝子の遺伝子多型は風船様肝細胞の危険因子である, 第95回日本消化器病学会総会 ワークショップ12: NAFLDの経時的進展, 札幌, 2009/05/09
- 7) 廣瀬 享, 小野正文, 野崎靖子, 高橋昌也, 岩崎信二, 西原利治, 大西三朗: NASH肝線維化におけるアンギオテンシンIIタイプ1レセプター活性化機序の解明, 第45回日本肝臓学会総会 ワークショップ1: NASH・NAFLDの基礎, 神戸, 2009/06/04.
- 8) 西原利治: 閉経が惹起する高コレステロール血症の制御とNASHの予防 脂肪肝を取り巻く新し

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

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

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

研究協力者 上野 義之 東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学 准教授

研究要旨：発性胆汁性肝硬変におけるレトロウイルス感染症の関与が提唱されているが、その実態は不明である。抗ミトコンドリア抗体産生と胆管病変を認める NOD.C3C4マウスは、胆汁うっ滞動物モデルでもあり、このマウスとヒト PBC における内因性レトロウイルス由来遺伝子の検索を行った。雌の NOD.C3C4マウス肝臓より内因性レトロウイルス遺伝子断片が検出されたが、病因との関連はまだ断定するに至らなかった。今後、さらにこの内因性遺伝子の機能解析を行う必要がある。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の原因は不詳であり、遺伝的要因ともに、環境要因が示唆されている。環境要因にはウイルス等想定されているが、まだ特定するにはいたっていない。近年、原発性胆汁性肝硬変におけるレトロウイルス感染症の関与が報告されるも、その実態は不明である。ウイルスとして Mouse Mammary tumor virus が報告されているが、これを否定する意見も強い。一方、抗ミトコンドリア抗体産生と胆管病変を認める NOD.C3C4マウスは、病変を NOD-SCID マウスに transfer するなど感染症の要素も併せ持つため、このマウスモデルを用いて検索を行うと主に、ヒト PBC における内因性レトロウイルス由来遺伝子の検索を行った。

B. 研究方法

ヒト PBC 末梢血と肝組織、また、NOD.C3C4マウス末梢血、リンパ球、各種組織より型のごとく RNA の抽出を行い、既報のプライマーセットを用いて RT-PCR 法で検討した。

C. 研究結果

ヒト血清について、HERV-K については PBC, control 双方で PBMC で gag 領域の転写が認められ、W についても同様の結果であった。MMTV については血清中では認められず、同様に MMTV gag 領域の転写が PBC, control 双方の PBMC 前例で認められ、差を認めなかった。

一方、PBC モデルマウスである NOD.C3C4については雌の肝臓は特異的に MMTV 及び XMRV について gag, env, pol の発現が認められたが、血清中には認めなかった。

D. 考察

これらのマウスモデルの病態とレトロウイルスとの関連としていくつかの機序が想定される。LTR 配列にはプロモーター活性が存在するため、host genome の転写に影響を与え、また、integration site によっては host の遺伝子に障害を与える可能性がある。さらに、rec や np9 は oncogenesis に関連し、gag や envelope は免疫、炎症に影響を与えることが知られ

ており、Superantigen は V β 特異的な T リンパ球の活性化を誘導する可能性報告されている。したがって、今回認められた内因性レトロウイルスの機能解析をして、病態と関連するかについて更なる検討が必要である。

E. 結論

雌の NOD.C3C4マウス肝臓より内因性レトロウイルス遺伝子断片が検出された。しかし、末梢血ではコントロールと差を認めなかったため、今後、さらにこの内因性遺伝子の機能解析を行う必要がある。

F. 健康危険情報

特に無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Onori P, DeMorrow S, Gaudio E, Franchitto A, Mancinelli R, Venter J, Kopriva S, Ueno Y, Alvaro D, Savage J, Alpini G, Francis H. Caffeic acid phenethyl ester decreases cholangiocarcinoma growth by inhibition of NF-kappaB and induction of apoptosis. *Int J Cancer* 2009;125:565-76.
- 2) Mancinelli R, Onori P, Gaudio E, Franchitto A, Carpino G, Ueno Y, Alvaro D, Annarale LP, Demorrow S, Francis H. Taurocholate feeding to bile duct ligated rats prevents caffeic Acid-induced bile duct damage by changes in cholangiocyte VEGF expression. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009;234:462-74
- 3) Kido O, Fukushima K, Ueno Y, Inoue J, Jefferson DM, Shimosegawa T. Compensatory role of inducible annexin A2 for impaired biliary epithelial anion-exchange activity of inflammatory cholangiopathy. *Lab Invest* 2009;89:1374-86.
- 4) Kakazu E, Ueno Y, Kondo Y, Fukushima K, Shiina M, Inoue J, Tamai K, Ninomiya M, Shimosegawa T. Branched chain amino acids enhance the maturation and function of myeloid

dendritic cells ex vivo in patients with advanced cirrhosis. Hepatology 2009;50:1936-1945.

5) Fukushima K, Ueno Y and Shimosegawa T. Treatment of Primary Biliary Cirrhosis: A new challenge? Hepatol Res 2010; 40: 61-68

2. 学会発表 特に無し

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 特に無し

2. 実用新案登録 特に無し

3. その他

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

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－

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

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変（PBC）発症の性差に関する基礎的研究として、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（ERR）について検討した。ヒト胆管細胞はERR α と γ を発現しており、エストロゲン存在下ではERR 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ERR 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ERR γ 発現が亢進していた。ERと高い相同性を示すERRはエストロゲンと結合することなくエストロゲン応答を示すが、PBC女性、特に閉経後女性における胆管病変の発生にERR γ の関与が示唆された。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変（PBC）は中高年女性に好発し、胆管細胞を標的とする自己免疫性疾患である。組織学的に、免疫介在性の胆管炎およびアポトーシス促進による胆管消失を特徴とし、傷害胆管におけるFasやBcl-2などのアポトーシス関連分子の発現異常が報告されている。また、明らかな罹患率の性差があることよりエストロゲンなどのホルモンの関与が示唆されており、ラット胆管細胞でのエストロゲン受容体（ER）の発現とエストロゲンによる細胞増殖活性の亢進が報告されている（Alvaroら, Gastroenterology, 2000）。しかし、ヒト培養胆管細胞を用いた我々の検討では、17 β -Estradiol（E2）刺激による明らかな細胞増殖効果は見られず、むしろアポトーシスに対する感受性が亢進することを昨年度に報告した。さて、エストロゲン関連受容体（ERR）はERと高い相同性を示す受容体で、エストロゲン非依存性にエストロゲン様効果を示し、またER介在性のエストロゲン応答を競合的に抑制することによりエストロゲン作用を調節する。今年度の検討課題として、胆管細胞におけるERR発現とエストロゲンによる影響を検討し、PBC胆管の病態形成におけるエストロゲン環境について考察した。

B. 研究方法

in vitro study: PBCおよび肝内結石症の末梢肝より樹立したヒト培養胆管細胞を用いて、ERR(α , β , γ)のmRNA発現をRT-PCRで検出した。また、血清およびフェノール赤不含有の培養液で1日培養後、E2（10-200pg/ml）存在下におけるERR α , γ 発現の挙動をリアルタイムPCRで定量した。

in vivo study: PBC 18例（全例女性、42-72歳）および対照として非PBC女性22例（33-64歳）と非PBC男性12例（35-74歳）の肝組織を用いて、ERR γ の免疫染色を施行し、小葉間胆管における発現を半定量評価した。

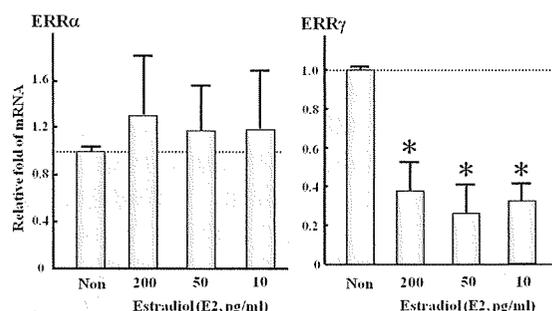
C. 研究結果

1) 培養ヒト胆管細胞はERR α と γ を発現していた

が、明らかなERR β のmRNAは検出されなかった。また、ERR α の発現はE2の有無にかかわらず変化しなかったが、ERR γ 発現はE2の存在下で有意に抑制された（図1）。

2) 肝組織を用いたERR γ の免疫染色では、胆管細胞、肝細胞、炎症細胞などの核に発現を認めた（図2）。小葉間胆管および細胆管レベルの多くの胆管細胞は陽性であったが、非PBCの若年女性では陰性の胆管が目立った。胆管における発現を半定量した結果、若年女性（ ≤ 50 歳）では中高年女性（ >50 歳）や男性に比べて発現の低下が見られ、また中年女性をPBCと非PBCに区別して解析した結果、PBC症例の胆管では発現が高かった（図3）。

図1 エストロゲンによるERR発現の変化



D. 考察

PBCは明らかに女性に好発することから、古くよりエストロゲンはPBCの病態を悪化させる因子と考えられていた。しかし、Alvaroらはラットを用いた検討にて胆管細胞はER α , ER β ともに発現し、エストロゲン作用にて細胞増殖活性が亢進することを報告し（Gastroenterology, 2000）、エストロゲン欠乏によるPBC病態の発生、さらにはエストロゲン補充治療が病態を軽減するとの見方も示している。しかし、ヒト胆管細胞を用いた昨年度の我々の検討では、ヒト胆管細胞はERを発現しているもののエストロゲン刺

図2 ERR γ の免疫染色 PBC症例(62歳,女性)

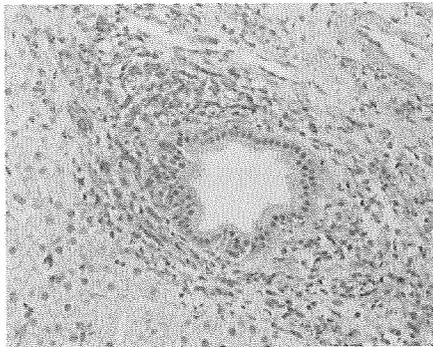
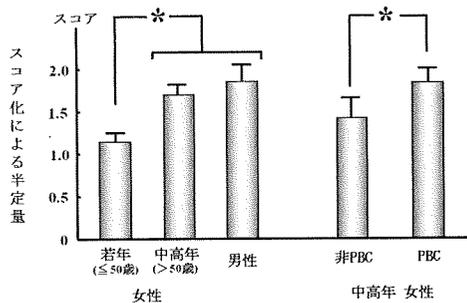


図3 胆管におけるERR γ の発現



激にて明らかな増殖活性の亢進は確認できなかった。むしろエストロゲン存在下での胆管細胞は Bcl-2ファミリー分子を介したアポトーシス誘導の感受性が亢進していることを示唆した。男女の性差を説明するにはエストロゲン作用についての検討が一助となるが、閉経後の PBC 患者にあてはめることはできない。

ER と高い相同性を示す ERR はエストロゲンと結合することなくエストロゲン応答を示し、エストロゲン存在下では ER と競合することにより ER 介在性のエストロゲン応答を抑制する。今回、胆管細胞における ERR 発現および PBC の胆管病変形成における関与について検討した。その結果、胆管細胞は ERR α と γ を発現しており、胆管におけるエストロゲンシグナル伝達系に介在に調節していることが明らかとなった。さらに、エストロゲン存在下では胆管細胞は ERR γ の発現が低下し、中高龄に較べ若年女性の胆管で ERR γ 発現が低下していることから、若年女性の胆管ではエストロゲン効果が出やすい状態と推測された。また、中高龄女性では胆管での ERR γ は発現が亢進し、特に PBC の胆管では特に亢進していた。中高龄女性のエストロゲンが低下した状態では、ERR γ によるエストロゲン効果が現れているものと考えられ、特に PBC の胆管では ERR γ によるエストロゲン効果がアポトーシス感受性の亢進に関与していると推測された。

E. 結 論

エストロゲンおよび ERR によるエストロゲン様作

用はヒト胆管細胞に対してアポトーシス誘導への感受性を亢進させ、PBC 女性の胆管消失を来しやすい因子として作用していることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Harada K, Nakanuma Y, et al. Periductal interleukin-17 production in association with biliary innate immunity contributes to the pathogenesis of cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. Clin Exp Immunol.2009;157 (2) :261-70.

2) Shimoda S, Harada K, Nakanuma Y, et al. CX3CL1 (fractalkine) : A signpost for biliary inflammation in primary biliary cirrhosis. Hepatology. 2010; 51 (2) :567-75.

2. 学会発表

1) 原田憲一, 中沼安二. シンポジウム7「肝胆膵領域における分子形態学的研究の潮流」ヒト胆管細胞におけるエストロゲン作用と病態への関与. 第41回日本臨床分子形態学会総会

2) 原田憲一, 中沼安二ら. ヒト培養胆管細胞の細胞動態におけるエストロゲンの影響. 第45回日本肝臓学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

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

PBC の病態形成に関わる自然免疫異常の研究

研究協力者 宮川 浩 帝京大学医学部附属溝口病院 第四内科 非常勤講師

研究要旨：PBC の高 IgM 血症に B cell activating factor (BAFF) が果たす役割を検討した。PBC の単球膜上の BAFF (mBAFF) 発現は健常人より高かった。健常人と PBC から単球を単離し、他の健常人から単離した B 細胞と CpG 刺激下で共培養した結果、PBC の単球は B 細胞から多くの IgM を産生させた。単球の mBAFF 発現の程度と IgM 産生量は正の相関を認めた。以上から PBC は単球由来の BAFF の影響で高 IgM 血症をきたす可能性があると考えた。

共同研究者

菊池健太郎 帝京大学医学部附属溝口病院
第四内科 講師

A. 研究目的

我々は PBC の高 IgM 血症の原因としてバクテリアに対する自然免疫反応の亢進が関与していると報告してきた (Gastroenterology, 2005)。非メチル化 CpG DNA で末梢血単核球細胞 (PBMC) を刺激した際、B 細胞の Toll-like receptor 9 (TLR9) 発現増強、IgM 産生を特に PBC で認めたが、その効果は単離した B 細胞へは乏しく、B 細胞に影響する他の因子の存在が考えられた。そこで今回 B cell activating factor (BAFF) に着目した。

BAFF は TNF ファミリーに属する分子で単球などの細胞膜上に発現し、可溶型として分泌され、B 細胞の生存、抗体産生などに役割を果たす。SLE や RA、Sjogren 症候群などで血清中 BAFF の上昇が報告されていることから自己免疫性疾患との関連が示唆されている。

我々は PBC の高 IgM 血症に BAFF が関わると仮説し、昨年は基礎的検討として CpG 刺激による B 細胞の IgM 産生に単球由来の BAFF が関わることを報告した。今回は健常人と PBC の血清 BAFF 濃度、単球膜上の BAFF (mBAFF) 発現、B 細胞の BAFF receptor 発現を比較し、PBC の単球と高 IgM 血症の関係を検討した。

B. 研究方法

健常人10名とPBC10名の血清 BAFF 濃度を ELISA で、単球の mBAFF、B 細胞の BAFF receptor 発現をフローサイトメーターで測定した。また、それぞれの単球を microbeads で単離し、他の健常人1名の単離した B 細胞と 2 μ M の CpG-B 刺激下で4日間それぞれ共培養し、上清中への IgM 産生を検討した。なお、本研究は研究者の所属する帝京大学医学部倫理委員会の審査・承認を得ている（平成21年4月8日付、帝医倫08-120号）。

C. 研究結果

健常人と PBC で、血清 BAFF 濃度、B 細胞の

BAFF receptor 発現に差を認めなかったが、単球の mBAFF 発現は PBC で高かった。CpG 刺激培養の結果、PBC の単球は、健常人の単球よりも B 細胞から IgM を多く産生させた。単球の mBAFF 発現の程度と IgM 産生量は正の相関を認めた。

D. 考察

PBC は SLE などの高 BAFF 血症をきたす疾患とは異なるが、バクテリアの DNA 刺激により単球などの細胞表面から cleave された BAFF が誘因となり、高 IgM 血症が生じる可能性が示唆された。今後、PBC の単球はなぜ mBAFF の発現が高いのかを検討していく必要がある。

E. 結論

CpG 刺激による B 細胞の IgM 産生に BAFF が関わり、PBC は単球由来の BAFF の影響で高 IgM 血症をきたす可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 論文発表 なし
- 学会発表
 - 菊池健太郎, 河井敏宏, 梶山祐介, 高井敦子, 速水絵里子, 細谷直美, 宮川浩. 原発性胆汁性肝硬変と BAFF : Toll-like receptor 9発現への関与について (基礎的検討). 第45回日本肝臓学会総会, 神戸. 肝臓50 Suppl.(1): A161 (O-75). 2009.
 - Kikuchi K, Kajiyama Y, Kawai T, Takai A, Hosoya N, Moritoki Y, Miyakawa H. BAFF from monocytes enhances B cell innate immune response in primary biliary cirrhosis. The 20 Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL). Beijing. 2010. 3/25-28. (PP-470).

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

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

研究協力者 滝川 一 帝京大学医学部 内科 教授

研究要旨：① PSC のステロイド有効例の検討：我々は昨年度、PSC 全国調査において、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た。今回はこの症例にアンケート調査を行い、ステロイド効果の内容について検討した。16施設（19症例）中、12施設（14症例）から回答を得た。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。今回の調査により、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が再確認された。

②日本人 PBC 患者における疾患感受性遺伝子の検討：232例の日本人 PBC 患者、および年齢・性別のマッチした230例の対照を用いて、FCRL3・IL12A 遺伝子の多型と PBC の疾患感受性との関連につき検討した。FCRL3 (-169C/T) では OR=2.398[1.626-3.534], $p=6.50 \times 10^{-7}$, IL12A では OR=1.57 [1.09-2.24], $P=1.37 \times 10^{-2}$ となり、いずれも有意に関連していた。

共同研究者

田中 篤 帝京大学医学部内科

ありと判断した理由を、生化学的改善・組織学的改善・臨床症状の改善の中から選択してもらう形式とした。

1. PSC のステロイド有効例の検討

A. 研究目的

我々はかねてより、原発性硬化性胆管炎（primary sclerosing cholangitis; PSC）について全国調査を行い、高齢者の PSC 症例にはステロイドが著効する「IgG4関連硬化性胆管病変」が混入している可能性を指摘してきた。一方、特定疾患の疫学に関する研究班によって行われた全国調査においても、ステロイドが有効と報告された PSC 症例が存在することが判明した。本調査では、これらの症例を対象としてアンケートを行い、ステロイド効果を判定した根拠を集計することを通じて、ステロイドが奏功する PSC 症例の特徴を抽出することを目的とした。

B. 研究方法

本全国調査は、札幌医科大学公衆衛生学森満教授および自治医科大学公衆衛生学中村好一教授（特定疾患の疫学に関する研究班全国疫学調査事務局）によって実施された。全国の施設（内科、小児科、消化器内科）に調査用紙を送付し、PSC 患者の有無およびその臨床像について調査を行なった。平成20年度個別研究としてこの結果を解析し、253例の PSC 症例（男性152例、女性101例）が集計された。このうちステロイドを投与された症例は61例で、「効果あり」とされた症例は29例であった。

この「ステロイド効果あり」とされた29例は25歳までの症例と40歳以上の症例の2群に分かれ、40歳以上の症例については IgG4関連硬化性胆管病変の症例が混入している可能性があるとの仮説のもとに、40歳以上の症例19例が報告された施設（16施設）の回答者に対して「ステロイド効果あり」と判断した理由、についての追加アンケート調査を行った。具体的には、効果

C. 研究結果

16施設（19症例）中、12施設（14症例）から回答を得た。内訳は、11例が生化学的改善、2例が生化学的改善および臨床症状の改善、組織学的改善なし、詳細不明3例であった。臨床症状が改善した症例ではそれぞれ、黄疸消失、胆管炎軽快と記載されていた。しかし胆管炎軽快した症例では胆管ドレナージが施行されており、ステロイドのみによって胆管炎が軽快したとは考えにくい症例であった。

生化学的改善が得られたと報告された症例のステロイド投与前後の ALP・GGT の推移を示す（図1）。全例で ALP および GGT が低下している。また、1例では症例の詳細な経過を得ることができた（市立伊丹病院柏原赴先生より提供）。この症例は PSC との診断後 UDCA 投与を開始したが、肝機能が悪化したためステロイド30mg の投与を開始したところ ALP・GGT の著明な低下を認めた。ステロイドを漸減し中止したところ、ALP・GGT が再上昇したため、ステロイドを再投与しふたたび胆道系酵素は低下した。後になって血清 IgG4 を測定したが、30mg/dl と正常であった。

D. 考察

以前より、本邦の PSC 症例には IgG4関連硬化性胆管炎の症例が混入している可能性が指摘されている。このような症例ではステロイドが著効することから、治療開始時に IgG4関連硬化性胆管炎を PSC と鑑別しておくことは臨床に極めて重要である。この観点からわれわれは、平成20年度の本研究において、高齢かつステロイド効果ありとされた19例の特徴を詳細に解析した。しかし、診断時の症状、血液検査値、組織学的胆管病変、罹患胆管、さらにステロイド最大投与量などいずれの臨床・病理像をみてもこの19例における共

通項を見出すことは困難であった。IgG4値が測定されていればその両者を鑑別する上で有用と思われるが、IgG4が測定されている症例は5例にとどまっていた。そこで今回この19例を対象として、ステロイド効果を判定した基準についてアンケート調査を行ったが、やはり詳細な情報は得られなかった。

したがって、現在までわれわれが得た臨床情報では、ステロイドが著効する硬化性胆管炎の特徴を浮かび上がらせることは困難であると言わざるを得ない。しかし、今回のアンケート調査ではステロイド調査により少なくとも生化学的改善が得られる症例が、主に50歳以上の高齢者に存在することが再度確認された。

E. 結 論

今回のアンケート調査により、本邦のPSC患者にはステロイドにより著明な生化学的改善が得られる症例が存在することが再確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 滝川 一. 原発性硬化性胆管炎の診断・治療. 医学のあゆみ 228, 895-899, 2009
- 2) 滝川 一. 特集：胆膵診療における薬物療法のすべて. 原発性硬化性胆管炎. 胆と膵 30, 649-651, 2009
- 3) 滝川 一. 原発性硬化性胆管炎. 永井良三総監修. 消化器研修ノート, 診断と治療社, 東京, P537-540, 2009

2. 学会発表

田中 篤, 坪内博仁, 滝川 一. 本邦の原発性硬化性胆管炎患者における胆管癌の合併頻度～全国集計の結果から～. ワークショップ「硬化性胆管炎の病態と胆管がんの発生リスク」. 第45回日本胆道学会学術集会 (2009. 9. 19, 千葉)

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

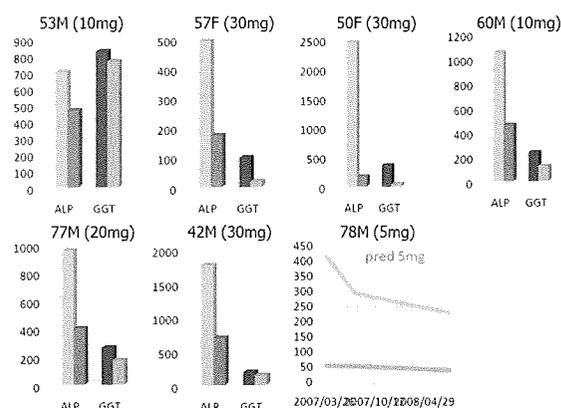


図1 プレドニン投与前後におけるALP/GGT値の推移

2. 日本人PBC患者における疾患感受性遺伝子の検討

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis; PBC) の病因は未だ不明であるが、遺伝的因子と環境要因の双方が関与していると推定されている。遺伝的因子については過去さまざまに報告されているが、未だ決定的なものは報告されていない。また、人種によって疾患感受性に関与している遺伝子が異なることもしばしば報告されており、欧米で関連があるとされている遺伝子についても日本人において再検討することが必要である。今回われわれは、他の自己免疫性疾患において疾患感受性との関与が報告されているFCRL3、およびカナダからPBCに対するゲノムワイド関連解析の結果強い関連があると報告されたIL12Aについて、日本人PBC患者、および比較のためイタリア人PBC患者を対象として検討した。

B. 研究方法

日本人ではPBC 232例、性別・年齢をマッチさせた対照 230例、イタリア人ではPBC 216例、対照 180例を対象とした。末梢血からDNAを分離し、FCRL3 (プロモーター領域 -169 C/T) についてはライトサイクラーシステムを用いたmelting curve分析により、またIL12A (rs574808) についてはTaqman Assayにより遺伝子多型を決定した。本研究はヒトゲノムを対象とする遺伝子解析研究であり、本研究計画は帝京大学医学部遺伝子研究倫理委員会において承認されている (平成17年11月28日付)。

C. 研究結果

1) FCRL3

プロモーター領域 -169のマイナーアレルはCであるが、Cの頻度は日本人ではPBC/controlそれぞれ0.20/0.09、イタリア人では0.24/0.21であり、日本人では有意にPBCにおいて高頻度であったが ($\chi^2=20.33$, OR=2.398 [1.626-3.534], $p=6.50 \times 10^{-7}$), イタリア人では有意差は見られなかった ($\chi^2=0.80$, OR=1.166 [0.834-1.629], $p=0.370$)。一方、FCRL3の遺伝子多型は関節リウマチ患者において抗CCP抗体やリウマチ

因子とも関連があると報告されていることから、日本人PBC患者で抗ミトコンドリア抗体 (AMA) の有無及び抗体価と FCRL3 遺伝子多型との関連を検討したが、有意な関連は見られなかった (AMA は帝京大学溝口病院菊池健太郎先生に依頼)。

2) IL12A

ゲノムワイド関連解析の結果、IL12A (rs574808) は PBC の疾患感受性と強く関連すると報告されている ($n=536$, MAF 0.426, OR=1.47 [1.27-1.72], $P=3.81 \times 10^{-7}$)。日本人における今回のわれわれの検討では、MAF 0.184, OR=1.57 [1.09-2.24], $P=1.37 \times 10^{-2}$) という結果が得られ、P 値は高いものやはり有意差がみられた。

D. 考察

今回の検討では、日本人PBC患者の疾患感受性に検討した FCRL3, IL12A いずれもが関与しているという結果が得られた。FCRL3は関節リウマチ, SLE など他の自己免疫疾患でも関連が示唆されているが、興味深いことに日本人では有意となるものの欧米では必ずしも有意な関連が見出されていない。これは FCRL3 -169のマイナーアレルの頻度 (MAF) が日本人では0.09と低いのにに対し、欧米人では高い (今回のイタリア人での検討では0.21) ことが一因していると思われる。今回の検討でもやはり日本人のみで有意差がみられており、FCRL3は日本人において種々の自己免疫疾患に共通した自己免疫反応を惹起する遺伝子として働いていると考えられる。

一方、IL12Aはカナダでの有意な関連を日本人でも追認する形となった。日本人でのIL12AのMAFはCaucasianよりも低く、かつ今回の検討では検討した症例数が232例と少ないにもかかわらず $P=1.37 \times 10^{-2}$ と有意差が得られており、今後症例数を重ねるとさらにP値が低下してくる可能性が高い。すなわち、今回の結果は日本人でもIL12AがPBCの疾患感受性に関与していることを強く示唆しており、IL12のPBC発症における重要性が人種を超えて示されたものと考えられる。

E. 結論

日本人PBC患者において、FCRL3, IL12A という二つの遺伝子の多型が発症に関与している可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka A, Nezu S, Uegaki S, Kikuchi K, Shibuya A, Miyakawa H, Takahashi S, Bianchi I, Zermiani P, Podda M, Ohira H, Invernizzi P, Takikawa H, Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to

primary biliary cirrhosis in both Japanese and Italian populations. *J Hepatol* 50, 1202-1209, 2009

- 2) 田中篤, 高橋宏樹, 根津佐江子, 上野義之, 菊池健太郎, 渋谷明隆, 大平弘正, 銭谷幹男, Lorenzo Montali, Pietro Invernizzi, 滝川一. 日本人PBC患者における Fisk Fatigue Severity Score (FFSS) 日本語版の妥当性の検証. *肝臓* 50, 51-59, 2009

- 3) 田中 篤, 滝川 一. 原発性胆汁性肝硬変の薬物療法はUDCAだけでよいのか? 河田純男, 佐々木裕編, *肝臓病診療 Q&A*, 中外医学社, 東京, p 239-242, 2009

2. 学会発表

Tanaka A, Nezu S, Shibuya A, Kikuchi K, Ohhira H, Invernizzi P, Takikawa H. Genetic polymorphism of Fc receptor-like 3 (FCRL3) gene is associated with primary biliary cirrhosis in Japanese but not in Italian. (2009, American Association for the Study of Liver Disease, Annual Meeting).

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

原発性硬化性胆管炎に対する生体部分肝移植

研究分担者 國土 典宏 東京大学大学院医学系研究科 臓器病態外科学 教授

研究要旨：原発性硬化性胆管炎（PSC）の終末像である肝硬変肝不全に対し、肝移植は有効な治療法である。東京大学では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世界で初めて指摘した。しかしながら再発は生存率に現在までの経過観察期間では大きな影響がなく、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ていない。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%であった。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。

A. 研究目的

原発性硬化性胆管炎（PSC）に対する生体肝移植の再発の実態と、Survival benefitを検討する。

B. 研究方法

東京大学にて生体肝移植が検討された（PSC）の予後を検討した。

C. 研究結果

1996年から2009年の間に当院において12例のPSCに対する生体肝移植を施行。年齢は37（19-59）歳、男性5例女性7例。初回移植例11例、再移植例1例であった。潰瘍性大腸炎合併例は4例。移植術前におけるMayo PSC risk scoreは3.2（2.0-3.9）、MELD scoreは20（16-30）であった。

ドナーは全例血液型一致であり、続き柄は親5兄弟3子1非血縁3であった。HLAは非常に多様であり、共通点は見出せなかった。北欧から報告されているPSCに特異的とされるHLA B8-DR3症例は認めなかった。

術後経過観察期間の中央値は6.2年（0.3-11.4）。5年生存率は90%、グラフト生着率は81%であり、現在の時点では非PSC症例の生存率と差を認めていない。全体として生存率は良好である。5症例において、移植術後平均3.3年でPSC再発（rPSC）がGraziadeiらの基準（Hepatology 1999）に基づいて診断された。再発率は、3年、5年、7年でそれぞれ20%、41%、53%であった。再発例のうち生存する3例はrPSCによる胆管炎にて入退院を繰り返している。三例が移植後の経過中死亡。死因はPSCの再発（rPSC）による肝不全2例、遅発型動脈閉塞1例であった。

PSCに対する生体肝移植のsurvival benefitを検討するため、2001年から現在までに医学的適応の評価を行ったが肝移植非適応となった患者26例の予後について検討した。5年生存率は約40%であり、移植を受けた後の生存率と比較すると不良であった。

D. 考 察

PSCの臨床症状は、経過中の閉塞性黄疸や胆道感染症により消長があり、また胆道癌合併の診断も確定

診断に難渋することが多く、肝移植の適応症例および時期の判断は容易ではない。

我々は自験例を検討し、世界で初めてPSCが生体肝移植後高率に再発しうることを指摘した。PSCでは内科治療が奏功し安定した経過をたどる症例も有ることから、「移植適応時期」としての判断には慎重になるべきであると考え、積極的な生体肝移植の適応には躊躇する時期を経たが、移植し得なかった症例の予後を併せて対象とした今回の検討からは、生体肝移植のsurvival benefitが示された。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。

E. 結 論

PSCに対する生体肝移植の成績は良好であり、確立された治療法である。内科的治療が無効な胆道感染症および末期肝不全の症例については救命のための肝移植が現在のところ妥当な治療である。今後はを蓄積された我が国のデータに検討を加え、本邦におけるPSCの特徴や生体肝移植のタイミングや成績について包括的に評価する必要がある。生体肝移植でのドナーの負担は決して小さいものではなく、本邦に於ける脳死肝移植のさらなる発展が待たれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaneko J, Sugawara Y, Tamura S, Kokudo N, Makuuchi M. Left liver with right paramedian sector--can it be an option in living donor liver transplantation? Transplantation. 2009 Oct 15;88(7):952.
- 2) Tamura S, Sugawara Y, Yamashiki N, Kaneko J, Kokudo N. The urgent need for evaluating recurrent primary sclerosing cholangitis in living donor liver transplantation. Liver Transpl. 2009 Oct;15(10):1383-4.
- 3) Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J,

Matsui Y, Togashi J, Ohki T, Yoshida H, Omata M, Makuuchi M, Kokudo N. Noninvasive estimation of hepatic steatosis in living liver donors: usefulness of visceral fat area measurement. *Transplantation*. 2009 Aug 27;88(4):575-81.

- 4) Inoue Y, Sugawara Y, Tamura S, Ohtsu H, Taguri M, Makuuchi M, Kokudo N. Validity and feasibility of transient elastography for the transplanted liver in the peritransplantation period. *Transplantation*. 2009 Jul 15;88(1):103-9.
 - 5) Masuzaki R, Yamashiki N, Sugawara Y, Yoshida H, Tateishi R, Tamura S, Kaneko J, Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Omata M. Assessment of liver stiffness in patients after living donor liver transplantation by transient elastography. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(9):1115-20.
 - 6) Hashimoto M, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Matsui Y, Kokudo N, Makuuchi M. *Pseudomonas aeruginosa* infection after living-donor liver transplantation in adults. *Transpl Infect Dis*. 2009 Feb;11(1):11-9. Epub 2008 Sep 21.
2. 学会発表
- 1) 田村純人「東京大学における PSC に対する肝移植の経験」緊急討論「なぜ、原発性硬化性胆管炎の成績が悪いのか」司会：上野義之，中沼安二。特別発言：中沼安二。第27回肝移植研究会（会長市田隆文）2009.7.10-11 三島。

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

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

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

研究協力者 江川 裕人 朝日大学村上記念病院外科 教授

研究要旨：原発性硬化性胆管炎の肝移植後予後全国多施設共同調査により，肝移植後再発の有無，再発の危険因子，再発が長期予後に及ぼす影響を明らかにした。29施設132症例について調査した。初回生体肝移植114例における患者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%。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。再発は移植肝機能不全の有意な危険因子であった。

A. 研究目的

原発性硬化性胆管炎（以下PSC）に対する肝移植長期成績向上。

B. 研究方法

肝移植研究会2008年度調査に登録されたPSC肝移植施設に対して，術前状態，ドナー情報，手術内容，術後免疫抑制，術後合併症，長期予後に関してアンケート調査した。PSC長期成績，再発の現状，再発危険因子，再発が長期予後に及ぼす影響を明らかにした。

C. 研究結果

初回生体肝移植114例における患者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%。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。再発は移植肝機能不全の有意な危険因子であった。

D. 考察

欧米脳死肝移植におけるPSC肝移植後成績と比較し予後不良であり，術前状態が不良であること，生体肝移植のため血縁近親者が臓器提供していること，欧米に比較しサイトメガロ保有率が高いこと，胆管合併症が全肝移植に比較し部分肝移植で頻度が高いことが寄与していると考えられた。

E. 結論

成績向上のためには，術前状態が悪化する前に移植する，一親等ドナーを避ける，サイトメガロ感染予防対策を行う，より一層胆道再建に工夫をすることが肝要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Risk Factors for Recurrence of Primary Sclerosing Cholangitis

After Living Donor Liver Transplantation: A Single Center

Experience Egawa H et al. Digestive Diseases and Sciences 2009; 54:1347-1354（本研究に先立つ京都大学単独施設におけるPSC長期成績に関する研究）多施設共同研究本編は執筆中。

2. 学会発表

- 1) 伊豆カンファレンス 静岡 2010,1,23
- 2) 第11回肝移植術後管理検討会 京都 2010,1,30
- 3) 米国移植学会（予定）口演採択 米国サンディエゴ 2010,5,3

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

肝移植後原発性胆汁性肝硬変再発の機序解明

研究協力者 前原 喜彦 九州大学大学院 消化器・総合外科 教授

研究要旨：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うことを目的として本研究を行った。PBC 症例41例中、術後組織学的に PBC 再発と診断されたのは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。組織学的には他の病態との鑑別が難しく、診断の正確さに問題が残る。さらなる研究が必要と考えられた。PBC 症例では再発を念頭においた管理が重要である。今後も症例の蓄積が必要である。

A. 研究目的

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組織学的機序解明を行うことを目的とする。

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

B. 研究方法

1996年10月から2009年12月の間に当科で施行した生体肝移植347例（成人300例，小児47例）の内，PBC に対する初回移植症例41例を対象とした。レトロスペクティブに以下の因子を解析した。

1. 術前因子，術中因子
2. 患者生存率，グラフト生存率，PBC 再発率
3. 死因，グラフトロスの原因，PBC 再発症例の経過

C. 研究結果

平均観察期間は 4.5 ± 3.2 年（0.07 - 10.6），生存は31例（75.6%），PBC 再発は3例（7.3%），再移植は5例（12.2%）であった。5年生存率は77.2%，10年生存率は72.9%であった。

再移植症例のうち PBC 再発が疑われた1例の摘出肝所見は，PBC 再発より慢性拒絶や portal venopathy, veno-occlusive disease を疑う所見であった。

D. 考 察

生体肝移植後の PBC の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かった。

また脳死肝移植と比較しても低い頻度であった。

E. 結 論

PBC 症例では再発を念頭においた管理が重要である。今後も症例の蓄積が必要である。

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

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