

遺伝性胆汁うっ滞疾患：PFIC3の電子顕微鏡所見による診断の可能性

分担研究者 乾あやの 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 担当部長
研究協力者 藤澤知雄 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 小児肝臓部門長

研究要旨

遺伝性胆汁うっ滞疾患はまれな疾患であるが、内科的治療で改善するものから肝移植へ至る症例まで多岐にわたる。しかし、確定診断のシステムは確立されていない。我々は原因不明の胆汁うっ滞症例に電子顕微鏡学的所見と MDR3 抗体を用いて PFIC3 と臨床的に診断し、治療が奏効した。現時点における PFIC3 の診断はこれらの手法により比較的簡便に行える可能性がある。

A. 研究目的

進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 3 型 (progressive familiar intrahepatic cholestasis type 3、以下 PFIC3 と略)の簡便な診断法の検討。

B. 研究方法

原因不明の肝内胆汁うっ滞症の症例において、電子顕微鏡学所見から PFIC3 を疑い、肝細胞内の蛋白発現を検討した。

[症例]8 歳、女児。主訴：皮膚掻痒感、黄疸。原病歴：突然皮膚掻痒感があり、3 日後に眼球結膜に黄染がみられたため、前医へ入院となった。入院時、AST 444 IU/l、ALT 575 IU/l、T.bil 7.0 mg/dl、D.bil 5.4 mg/dl、 γ GTP 383 IU/l と肝胆道系酵素異常をみとめた。肝炎ウイルス、ヘルペス属ウイルス、パルボウイルスなどの感染症は否定的で、各種自己抗体の上昇も認めなかった。グリチルリチン製剤、ウルソデオキシコール酸を開始したが、軽快しなかった。1 か月経過しても改善しないため肝生検を行ったところ、胆管炎と診断された。制御性 T 細胞の低下がみとめられたため、自己免疫性肝疾患を疑い、プレドニゾロンを投与されるも改善しないため、精査加療目的に当科紹介入院と

なった。入院時検査所見：T.Bil 2.1mg/dl、D.Bil 1.4mg/dl、AST 232U/l、ALT 412U/l、LDH 267U/l、 γ GTP206U/l、ALP877U/l、TBA 30.2 μ mol/l で改善傾向はみられたものの胆汁うっ滞は残存していた。

前医で施行された第 34 病日の肝生検では、門脈域の線維化と変性した小葉間胆管の増生を認めた(図 1)。

当科で施行した第 108 病日の内視鏡的逆行性胆道膵管造影検査(図 2)では、肝内胆管の描出が不良であった。同時期に施行した肝生検では門脈域の軽度拡大と炎症細胞浸潤がみられ(図 3)、前回より組織学的には改善していた。電子顕微鏡学的に検討したところ、肝細胞の細胞質内に、電子密度の高い小型のミエリン様構造物の沈着が多数みられ、形態学的にリン脂質が示唆された(図 4)。以上の結果から PFIC3 を疑い、肝生検のパラフィン切片を用いて MDR3 抗体染色を行ったところ、肝細胞の MDR3 抗体は染色されなかった(図 5)。

(倫理面への配慮)

本研究について、患児の両親に検査の必要性を説明し、書面で同意を得た。

C. 研究結果

肝組織の電子顕微鏡所見と肝細胞の MDR3 抗体の発現から、本症例の胆汁うっ滞は MDR3 蛋白発現異常によると考え、ウルソデオキシコール酸の投与を行ったところ、速やかに胆汁うっ滞は消失し、第 269 病日には正常化した。

D. 考察

PFIC3 では、7 番染色体の *ABCB4* の異常によって、肝細胞の毛細胆管側に局在する MDR3 蛋白が欠損し、リン脂質が毛細胆管に排出されなくなり、このため胆汁酸をミセル化できず、胆管障害を来すと考えられている。しかし、わが国では遺伝子レベルで確定診断できるシステムが確立されていない。電子顕微鏡学的検討や MDR3 抗体による肝細胞の染色は、一般病院でも比較的簡便にできる検査法であり、システムが確立されるまでは、本法による診断は PFIC3 症例を把握する上で重要と考えられた。

E. 結論

遺伝性胆汁うっ滞疾患の確定診断ができない現状において、PFIC3 の診断は肝組織の電子顕微鏡学検討および MDR3 抗体の発現が診断の一助になる可能性がある。

F. 研究発表

学会発表

菅原秀典、乾あやの、日衛嶋栄太郎、十河剛、小松陽樹、伊藤貴美子、長坂博範、藤澤知雄。電子顕微鏡所見が診断に有用であった進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 3 型 (PFIC 3) と考えられた 1 例。第 36 回日本小児消化器肝臓学会 (2009/10/9-11 札幌)

図1:第34病日の肝病理組織

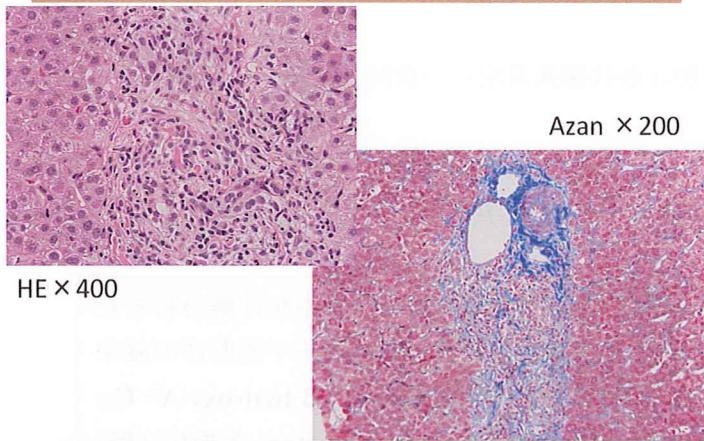


図2:第108病日のERCP所見



図3:第114病日の肝病理組織

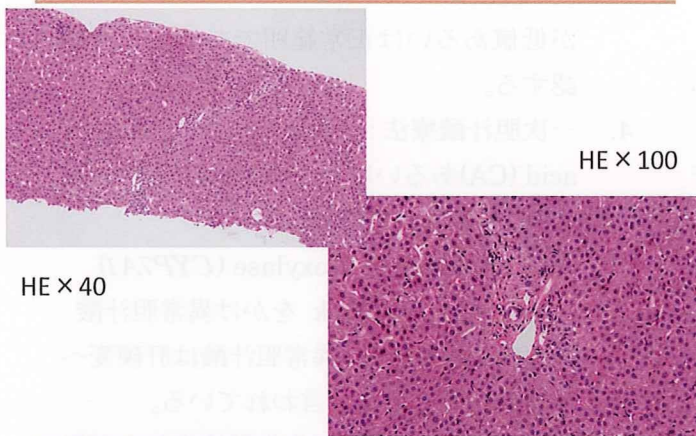


図4:第114病日の電子顕微鏡所見

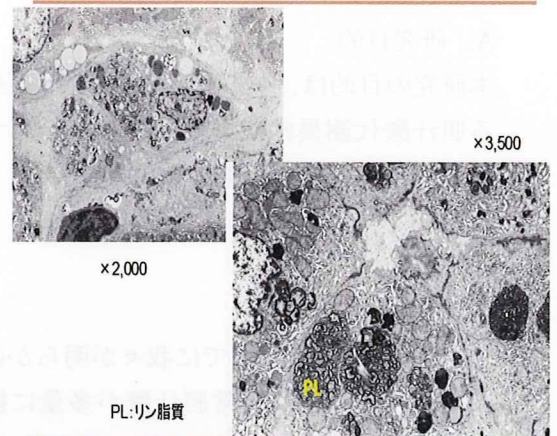
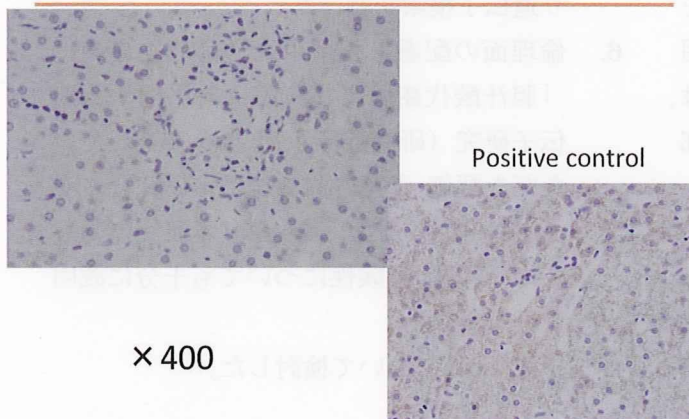


図5:第114病日のMDR3抗体染色



遺伝性胆汁うっ滞性疾患（胆汁酸代謝異常症）の診断と治療

研究分担者 木村昭彦 久留米大学小児科

研究協力者 水落建輝 久留米大学小児科

研究要旨 原因不明新生児・乳児期胆汁うっ滞症の生化学検査および尿中胆汁酸分析を行うことにより、胆汁酸代謝異常症を早期発見および治療をすると共に遺伝子診断法の確率を試みた。それにより、平成21年度は新たに3例の胆汁酸代謝異常症（ 3β -hydroxy- Δ^5 -C₂₇-steroid dehydrogenase/isomerase 欠損症1例、 3 -oxo- Δ^4 -steroid 5β -reductase 欠損症2例）を発見し、現在治療中である。

平成22年度は、さらに胆汁酸代謝異常症の発見に努め本診断法および治療法を確立したい。

A. 研究目的

本研究の目的は、遺伝性胆汁うっ滞性疾患である胆汁酸代謝異常症を早期発見し治療することにより肝移植を回避しQOLを高めることである。

B. 研究方法

1. 生体試料採取：すでに我々が明らかにしたように尿中に異常胆汁酸が多量に排泄されることより、原因不明の新生児・乳児期の胆汁うっ滞症の尿を採取し胆汁酸分析を行う。
2. 胆汁酸分析法：尿中胆汁酸を全て遊離型にし（脱アミノ酸および硫酸抱合）、それをシリル化、さらにTMS化しGC-MSを用いて分析定量した。個々の胆汁酸の標品は、シグマ製品および北海道医療大学薬学部で合成された物を使用した。
3. 検査結果の検討：原因不明の新生児・乳児期胆汁うっ滞症の生化学検査より、以前から報告されている胆汁酸代謝異常症に特徴とされる血清 γ -GTP および総胆汁酸値

が低値あるいは正常範囲であることを確認する。

4. 一次胆汁酸療法：一次胆汁酸である cholic acid (CA)あるいは chenodeoxycholic acid (CDCA)を用いて FXR を介して cholesterol 7α -hydroxylase (*CYP7A1*) に negative feedback をかけ異常胆汁酸の生成を抑制する。異常胆汁酸は肝硬変への進展を促進すると言われている。
5. 遺伝子検索：臨床的（生化学検査および胆汁酸分析結果より）に胆汁酸代謝異常症を強く疑われた症例において血液中のリンパ球より genomic DNA を採取し、これより遺伝子検索を行った。
6. 倫理面の配慮：久留米大学倫理委員会に「胆汁酸代謝および分泌機構に関する遺伝子研究（研究番号43）」を審査していただき評価・承認された後に本研究をスタートさせた。また、家族より本研究に対しての不利益、危険性についても十分に説明し同意を得た。
上記1-5について検討した。

C. 研究結果

本年度、我々の胆汁酸分析システム（十年前より原因不明の新生児・乳児期胆汁うっ滞症の尿中胆汁酸分析を行ってきた。これが浸透し全国より分析依頼がくるようになり、年間20-40例の胆汁酸分析を行ってきた）により、3例（1例は台湾症例）の胆汁酸代謝異常症疑いを経験した。3例とも従来の報告と同様血清 γ -GTPは正常値を示した。血清総胆汁酸値は2例で胆汁酸分析依頼時には測定されていなかったが1例は正常値であった（症例1：男児、6ヶ月、T.Bil 5.2 mg/dl、D.Bil 3.1 mg/dl、AST 362 U/L、ALT 384 U/L、 γ -GTP 33 U/L、総胆汁酸 0.7 μ mol/L。症例2（台湾症例）：男児、6ヶ月、T.Bil 4.4 mg/dl、D.Bil 3.4 mg/dl、AST 344 U/L、ALT 441 U/L、 γ -GTP 46 U/L。症例3：男児、7ヶ月、T.Bil 16 mg/dl、D.Bil 12 mg/dl、AST 1472 U/L、ALT 1177 U/L、 γ -GTP 55 U/L）。

GC-MSによる尿中胆汁酸分析結果は、1例が 3β -hydroxy- Δ^5 bile acidsの異常排泄（尿中総胆汁酸の75%以上）がみられ（正常児、一般的な胆汁うっ滞症では存在しないか極微量）、2例は 3 -oxo- Δ^4 bile acidsの異常排泄が確認され強く胆汁酸代謝異常症（症例1は、 3β -hydroxy- Δ^5 -C₂₇-steroid dehydrogenase/isomerase欠損症、症例2（台湾症例）、3は 3 -oxo- Δ^4 -steroid 5β -reductase欠損症）が疑われた。

以上より、直ちに2例については現在日本で薬剤として使用されているCDCA（5~10 mg/kg/day）の投与を開始した。この2例は現在のところ症状の改善（T.Bil、D.Bil、AST、ALTの改善）を見ている。1例（台湾症例）は診断がついた時はすでに肝硬変に進展しており肝移植が施行された。

遺伝子検索の結果は、3例共に責任遺伝子（*HSD3B7*、*SRD5B1*）にそれぞれ新規のmutationを確認した（図1-3）。以上より、これら3例は上記胆汁酸代謝異常症と診断した。

D. 考察

一般的に新生児・乳児期の胆汁うっ滞症は、黄疸、白色便で気付かれ肝機能検査が施行される。その結果、血清 γ -GTPおよび総胆汁酸値が高値を示す。しかしながら、本胆汁酸代謝異常症は、血清 γ -GTPおよび総胆汁酸値は低値もしくは正常値を示す。今回診断した3例の症例も同様の結果であり、したがって、この検査所見は大切であり、胆汁酸代謝異常症を発見する上で重要と考えられる。ただし、血清 γ -GTPの低値は進行性家族性肝内胆汁うっ滞症（PFIC）でもみられ注意を要する場合もある。PFIC場合総胆汁酸値が高値を示すので診断の手助けとなる。

現在まで胆汁酸代謝異常症は大きく分類すると7種類報告されている。その中で、少なくとも5種類（ 3β -hydroxy- Δ^5 -C₂₇-steroid dehydrogenase/isomerase欠損症、 3 -oxo- Δ^4 -steroid 5β -reductase欠損症、oxysterol 7α -hydroxylase欠損症、Zellweger症候群、Smith-Lemli-Opitz症候群）は尿中胆汁酸分析で疾患特異的な異常胆汁酸を検出し診断可能である。したがって、我々の分析方法は有用と考える。

一次胆汁酸療法は欧米の文献では、CA療法が主体である。CAを用いた方がCDCAより肝毒性が少ないため有用であるが、残念なことに本邦ではCA製剤は生産されていない。しかし、CDCAは本邦で治療薬として手に入り、CAよりも肝毒性は強いが*CYP7A1*への胆汁酸合成に関するnegative feedback機構はCAよりも効果的である。したがって、効果は十分期待出来る。事実我々の症例でも肝機能の改善をみている。したがって、肝障害が長期間持続し進行（繊維化の進行がみられる場合）していなければCDCAの使用は可能である。

遺伝子診断は、遺伝子の大きさにより時間やコストがかかるが診断的価値が高い。現在は我々の施設で行っているが継続的に出来るか心配である。簡便などこでも出来る検査方法の確率が望まれる。

E. 結論

胆汁酸代謝異常症の診断は、生化学検査（血清 γ -GTP および総胆汁酸値は低値もしくは正常値）により本症と気付く事が最も重要である。次に速やかに尿中胆汁酸分析を行い、その結果本症の疑いがあれば直ちに一次胆汁酸療法を開始することを勧める。また、同時に遺伝子検索を行うべきである。

F. 研究発表

1. 論文発表

・木村昭彦, 水落建輝, 関 祥孝, 西浦博史. 乳児胆汁うっ滞症の診断アプローチ:胆道閉鎖症の早期診断. 日小栄消肝誌 2009;23:1-7.

・Ueki I, Kimura A, Chen H-L, Yorifuji T, Mori J, Itoh S, Maruyama K, Ishige T, Takei H, Nittono H, Kurosawa T, Kage M, Matsuishi T. SRD5B1 gene analysis needed for the accurate diagnosis of primary 3-oxo- Δ^4 -steroid 5 β -reductase deficiency. J Gastroenterol Hepatol 2009;24:776-785.

・Nittono H, Takei H, Unno A, Kimura A, Shimizu T, Kurosawa T, Tohma M, Une M. Diagnostic determination system for high risk screening for inborn errors of bile acid metabolism based on an analysis of urinary bile acids using gas chromatography-mass spectrometry: Results for 10 years in Japan. Pediatr Int 2009;51:535-543.

・Nishiura H, Kimura A, Yamato Y, Aoki K, Kurosawa T, Marsuishi T. Developmental pattern of urinary bile acid profile in preterm infants. Pediatr Int 2010;52:44-50.

・Kimura A, Kage M, Nagata I, Mushiake S, Ohura T, Tazawa Y, Maisawa S, Tomomasa T, Abukawa D, Okano Y, Sumazaki R, Takayanagi M, Tamamori A, Yorifuji T, Yamato Y, Maeda K, Matsushita M, Matsuishi T, Tanigawa K, Kobayashi K, Saheki T. Histological findings in the liver of patients with intrahepatic cholestasis

caused by citrin deficiency. Hepatol Res 2010;40:295-303.

2. 学会発表

・水落建輝, 関 祥孝, 西浦博史, 松下優美, 植木 勲, 牛島高介, 木村昭彦, 武井 一, 入戸野博, 黒沢隆夫. 胆汁酸代謝異常症～早期発見と遺伝子診断～. 第36回日本小児栄養消化器肝臓学会. 2009年10月9-11日 札幌.

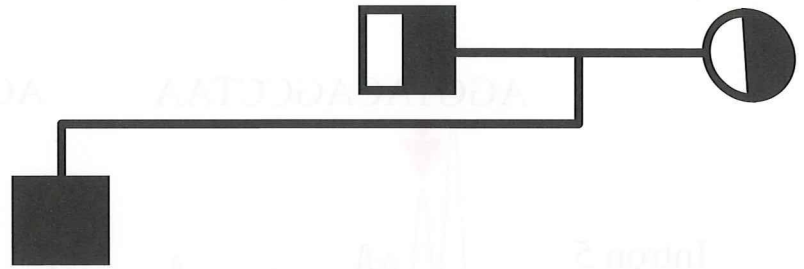
・水落建輝, 関 祥孝, 西浦博史, 植木 勲, 武井 一, 入戸野博, 黒沢隆夫, Chen H-L, 木村昭彦. 胆汁酸代謝異常症～早期診断と治療～. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009年11月5-7日 東京.

G. 知的財産権の出願・登録状況

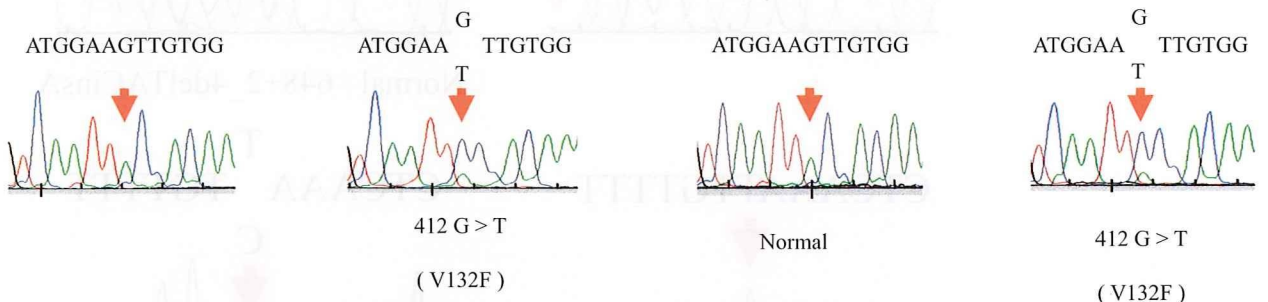
特になし。

☒ 1

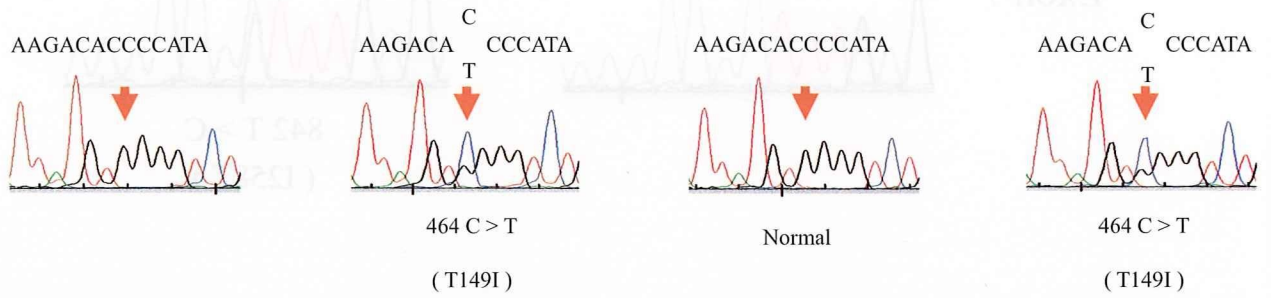
Control



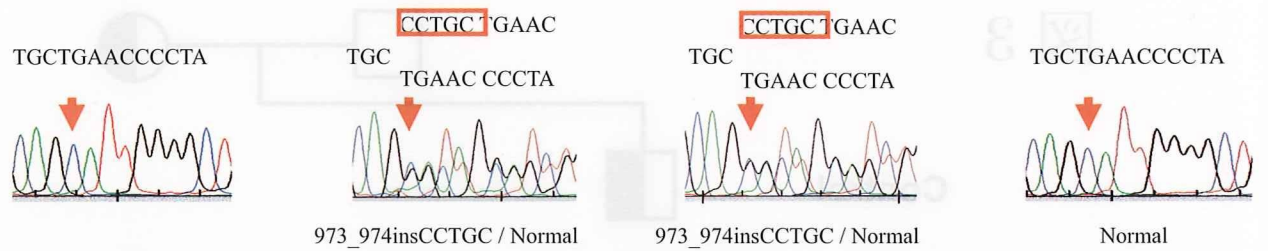
Exon 3



Exon 4



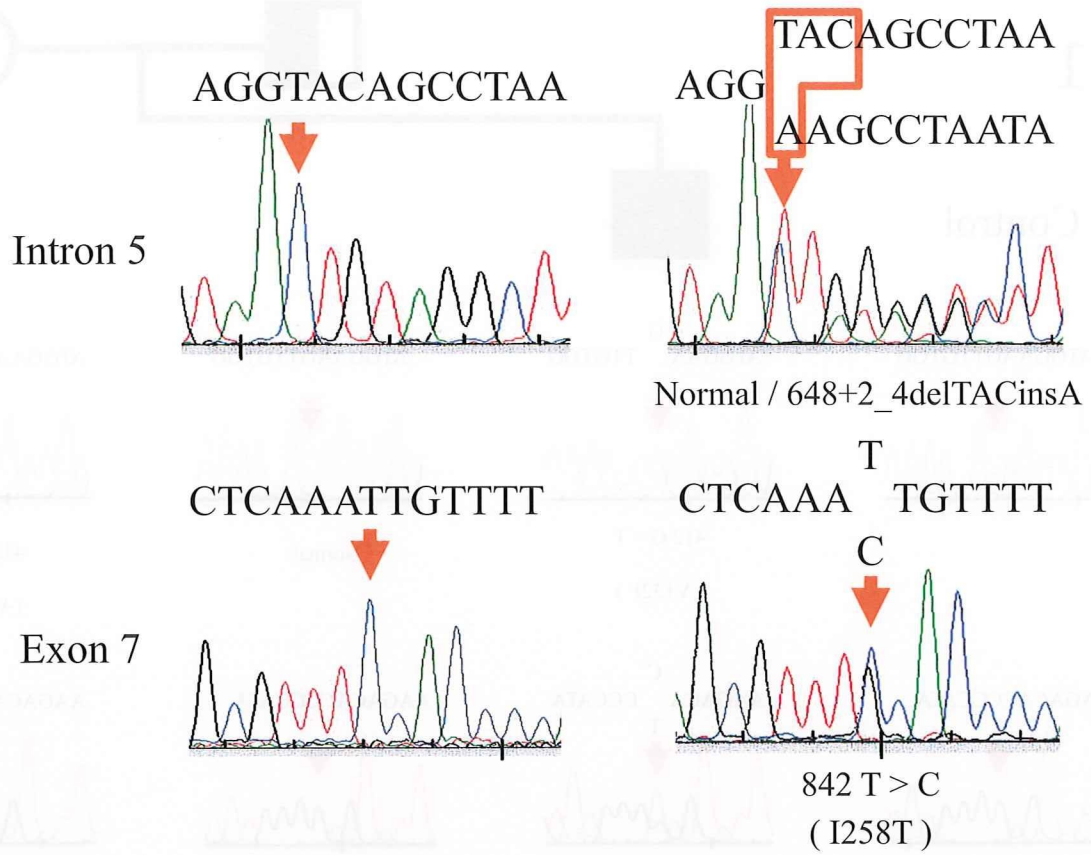
Exon 6



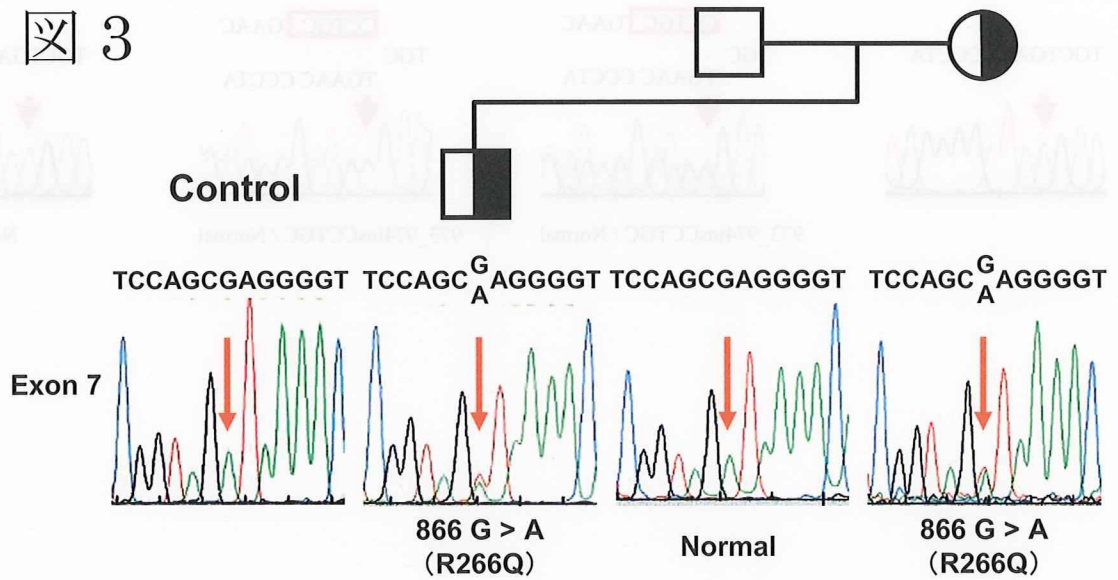
☒ 2

Control

Patient



☒ 3



図説明

図1：症例1（ 3β -hydroxy- Δ^5 -C₂₇-steroid dehydrogenase/isomerase 欠損症）の遺伝子変異である。図に示すように3カ所にヘテロをみつけコンパウンドヘテロと診断した。

図2：症例2（3-oxo- Δ^4 -steroid 5 β -reductase 欠損症）の遺伝子変異である。2カ所のヘテロをみつけコンパウンドヘテロと診断した。

図3：症例3（3-oxo- Δ^4 -steroid 5 β -reductase 欠損症）の遺伝子変異である。1カ所のヘテロをみつけた。両親の胆汁酸分析結果からコンパウンドヘテロと考えている。

Ⅲ. アラジール症候群診断基準(案)

「アラジール症候群」診断基準（案）

1. 主要な症候

- (1) 肝病理所見による小葉間胆管の減少
- (2) 臨床所見
 - ① 胆汁うっ滞
 - ② 心臓血管奇形（末梢性肺動脈狭窄が最も特徴的所見である）
 - ③ 骨格の奇形（蝶形椎体が特徴的所見である）
 - ④ 眼球の異常（後部胎生環が特徴的所見である）
 - ⑤ 特徴的な顔貌

2. その他の症候

腎臓，神経血管，膵臓などにアラジール症候群に特徴的な異常の認められる場合も本症の診断に重要な所見である。

3. 参考事項

- (1) 常染色体優性遺伝形式の家族歴
血族内にアラジール症候群と診断された者がおり、その遺伝形式が常染色体優性遺伝に矛盾しない。
- (2) 遺伝子診断
JAG1 遺伝子，または NOTCH2 遺伝子に変異を認める。

4. 診断の判定基準

以下に挙げた 2 つの場合のいずれかを満たす場合を、アラジール症候群と診断する。

○典型例：

1 の (1) を満たし、かつ、(2) の①から⑤のうち、3 項目以上を満たすもの。

○非典型例，または変異アリルを有するが症状の乏しい不完全浸透例：

- ・ 1 または 2 に挙げたアラジール症候群に特徴的な症候が、1 項目以上見られる。
- ・ 常染色体優性遺伝に矛盾しない家族歴がある。
- ・ 遺伝子診断で上記の所見が認められる。

上記の 3 項目のうち、2 項目以上を満たすもの。

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
田澤雄作	Infantile cholestatic jaundice associated with adukt-onset citrullinemia type II. ほか	田澤雄作	小児期胆汁うっ滞性疾患の臨床: Alagille症候群など遺伝性胆汁うっ滞性疾患の診断	高橋印刷	仙台	2010	1-120

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版
岩淵敦, 須磨崎亮	小児の症候群 肝・胆・膵 Alagille症候群 (解説/特集)	小児科診療	72増刊	305	2009
岩淵敦, 須磨崎亮	小児の症候群 肝・胆・膵 Aagenaes症候群 (解説/特集)	小児科診療	72増刊	304	2009
木村昭彦, 水落建輝, 関 祥孝, 西浦博史	乳児胆汁うっ滞症の診断アプローチ: 胆道閉鎖症の早期発見	日小栄消肝誌	23	1-7	2009
Ueki I, Kimura A, Chen H-L, Yorifuji T, Mori J, Itoh S, Maruyama K, Ishige T, Takei H, Nittono H, Kurosawa T, Kage M, Matsuishi T.	SRD5B1 gene analysis needed for the accurate diagnosis of primary 3-oxo-D4-steroid 5b-reductase deficiency.	J Gastroenterol Hepatol	24	776-785	2009
Nittono H, Takei H, Unno A, Kimura A, Shimizu T, Kurosawa T, Tohma M, Une M.	Diagnostic determination system for high risk screening for inborn errors of bile acid metabolism based on an analysis of urinary bile acids using gas chromatography-mass spectrometry: Results for 10 years in Japan.	Pediatr Int	51	535-543	2009
Nishiura H, Kimura A, Yamato Y, Aoki K, Kurosawa T, Marsuishi T.	Developmental pattern of urinary bile acid profile in preterm infants.	Pediatr Int	52	44-50	2010
Kimura A, Kage M, Nagata I, Mushiake S, Ohura T, Tazawa Y, Maisawa S, Tomomasa T, Abukawa D, Okano Y, Sumazaki R, Takayanagi M, Tamamori A, Yorifuji T, Yamato Y, Maeda K, Matsushita M, Matsuishi T, Tanigawa K, Kobayashi K, Saheki T.	Histological findings in the liver of patients with intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency.	Hepatol Res	40	295-303	2010

V. 研究成果の刊行物・別刷

Alagille 症候群

Alagille syndrome

いわぶち かつ すまざき りょう
岩淵 敦 須磨崎 亮 筑波大学附属病院小児科

■ 定義・概念

Alagille 症候群(AGS)は、肝内胆管の減少による肝内胆汁うっ滞、心疾患、椎体の異常、眼の異常、特徴的な顔貌の五つを主徴とする常染色体優性遺伝疾患である。五徴候がそろったものを完全型、胆汁うっ滞を含めた三徴候がみられる症例を不全型とよぶ。

■ 病因・病態生理

AGS の病因遺伝子には、いずれも NOTCH シグナル伝達系に属する *JAG1* 遺伝子と *NOTCH2* 遺伝子があり、前者に変異がある場合を1型(AGS1)、後者の遺伝子変異を2型(AGS2)とよぶ。いずれの遺伝子も、発生段階における細胞間相互作用を介して多種類の細胞の分化を制御しており、このため AGS では多臓器の異常が出現する。肝内胆管の減少を伴う胆汁うっ滞が特徴的所見である。また近年、血管形成の障害から全身、とくに頭蓋内の血管異常を伴うことが予後の点から注目されている。

■ 発生頻度

家族性肝内胆汁うっ滞の中でもっとも高頻度に経験され、70,000 出生に1例以上と考えられている。発端者の60～70%が *de novo* 変異であり、散発例が多い。臨床的に診断された AGS のうち、94%が AGS1 によるとされる。AGS2 はこれまでに2家系が報告されている。

■ 症状・診断

1. 胆汁うっ滞 85%の症例では生後6カ月以内に閉塞性黄疸を生じる。胆汁うっ滞による痒痒感、脂溶性ビタミン吸収障害による出血傾向(ビタミンK)やくる病(ビタミンD)がみられることがある。検査所見上は、直接型ビリルビン、 γ -GTP、ALP、血清リポ蛋白質Xの上昇を伴う。肝生検による小葉間胆管の減少の確認が確定診断に有用だが、生後6カ月未満では減少のみられない場合もある。

2. 心血管系 8割以上に肺動脈弁や末梢性肺動脈の狭窄、その他の先天性心疾患を合併する。9%に心臓外の血管障害(脳動脈瘤・もやもや病・腎血管狭窄など)がみられ、頭蓋内出血に至る症例もある。

3. 顔貌変化 9割以上に広い前額、幅広い鼻梁、彫りの深い眼、小さなオトガイなどがみられる。

4. 骨格系 約半数に椎体の正中での癒合不全による butterfly vertebra がみられる。

5. 眼病変 約8割に後部胎生環がみられ、診断に有用である。

腎の異常(尿細管アシドーシス、腎機能低下など)が4～7割にみられるが、AGS2では腎障害が全例にみられ、重症なことが特徴的とされる。

このほか、発達障害、思春期遅発、脾機能不全、難聴などが認められる。症例ごとの臨床像は、新生児期胆汁うっ滞から無徴候まで多彩である。

胆道閉鎖症・新生児肝炎との鑑別診断が問題となるが、肝生検を施行しても鑑別がむずかしいことがあり、他の臓器症状の観察が重要である。

■ 治療・予後

新生児期の胆汁うっ滞に対しては脂溶性ビタミンの補充を十分に行い、出血・骨折に注意する。また、MCT(中鎖脂肪酸トリグリセリド)ミルクを用いて脂肪の吸収障害に対処する。痒痒感に対してコレステラミンが有効なことがある。新生児期の肝門部空腸吻合術は無効で、黄疸を伴う例の1/3は肝硬変に進展し、肝移植の適応となる。1歳を過ぎても顕性黄疸が続く例では、肝予後は不良である。

20歳時点での生存率は75%である。小児期・成人期を通じて血管イベントが死因の1/3を占め、ほかには複雑心奇形、肝硬変などが死因となる。

■ 文献

- 1) Alagille D et al.: Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases. *J Pediatr* 110: 195-200, 1987
- 2) McDaniel R et al.: *NOTCH2* mutations cause Alagille syndrome, a heterogeneous disorder of the notch signaling pathway. *Am J Hum Genet* 79: 169-173, 2006
- 3) Kamath BM et al.: Vascular anomalies in Alagille syndrome: a significant causes of morbidity and mortality. *Circulation* 109: 1354-1358, 2004

著者連絡先

〒305-8576 茨城県つくば市天久保2-1-1

筑波大学附属病院小児科

岩淵 敦 須磨崎 亮

Aagenaes 症候群

Aagenaes syndrome

いわぶち かつら すまざき りょう
岩淵 敦 須磨崎 亮 筑波大学附属病院小児科

■ 定義・概念

新生児期に発症して寛解・増悪を繰り返す肝内胆汁うっ滞と、小児期以降の下肢のリンパ浮腫を主徴とする常染色体劣性遺伝疾患である。1968年にAagenaesによって最初に報告され、cholestasis-lymphedema syndrome-1 (CLS1)は本症と同義である。

■ 病因・病態生理

基本的な病態は、リンパ管の低形成によると推測されている。下肢のリンパ浮腫は、リンパ管低形成による直接の症状である。胆汁うっ滞の原因としては、以下の二説が唱えられている。①肝および周囲のリンパ流の異常による二次的な病変、②リンパ管のみならず胆管も含めた脈管系などの発生異常による。

2000年Bullらは、患者および血縁者の遺伝子スクリーニングを行い、当疾患の病因遺伝子が15番染色体長腕のD15S979からD15S652の間であることを明らかにした。病因遺伝子の同定には至っていない。

■ 発生頻度

これまでに報告された症例のうち、75%以上がノルウェイ南西部出身者であり、2006年までに40人のノルウェイ人の症例が確認されている。症例の多くは家族例・散发例を問わず同一のハプロタイプを有しており、16世紀の1人の祖先に由来する遺伝子を受け継いでいると推測される。

一方、英国人の母娘例なども報告されている。現在のところ、日本人の報告例はない。

■ 症状・診断

乳幼児期には胆汁うっ滞と脂肪の吸収障害が主症状である。生後2カ月以内に顕性黄疸で発症し、高ビリルビン尿、淡黄色の脂肪便を伴う。過去には、ビタミンK欠乏に由来する出血傾向のために死亡する例が多かった。胆道閉鎖症と鑑別するため試験開腹される場合も多く、巨細胞性肝炎の病理像を呈する。生後6カ月以降に皮膚痒感が出現する。

一部の症例は肝硬変へ進展し、肝移植を必要とす

るが、それ以外の症例では胆汁うっ滞は1～2歳以降には消長・増悪を繰り返しながら次第に改善し、7歳までに消退する。その後は感染・妊娠・手術・外傷などを契機に、数カ月間続く胆汁うっ滞を反復するが、間歇期はまったく正常である。

γ GTPは正常上限から2倍程度に上昇する。高齢者では、血清アルブミンの低値が出現する。

下腿のリンパ浮腫は生下時発症の報告もあるが、学童期以降の発症例が多く、増悪することが多い。

■ 治療・予後

治療は、乳幼児期の胆汁うっ滞に対してはMCT(中鎖脂肪酸トリグリセリド)ミルクを使用し、脂溶性ビタミンを補給する。痒痒感にはコレステラミンやフェノバルビタールが有効である。リンパ浮腫に対しては、弾性ストッキングでの圧迫など理学療法や利尿薬投与を行う。

生命予後を規定するもっとも重要な因子は、肝硬変に進展するか否かである。2歳半までに胆汁うっ滞が寛解する症例は予後良好である。ノルウェイ人40症例の後方視的検討では、6例は肝硬変のために小児期に死亡または肝移植を受けており、3例は肝硬変へ進行しつつあり、2例では肝硬変への進行が疑われた。思春期以降には、下腿のリンパ浮腫が患者のQOLを低下させるので問題となる。

■ 文 献

- 1) Bull LN: Hereditary forms of intrahepatic cholestasis. *Curr Opin Genet Dev* 12: 336-342, 2002
- 2) Morris AA et al.: Parent-child transmission of infantile cholestasis with lymphedema (Aagenaes syndrome). *J Med Genet* 34: 852-853, 1997
- 3) Bull LN et al.: Mapping of the locus for cholestasis-lymphedema syndrome (Aagenaes syndrome) to a 6.6-cM interval on chromosome 15q. *Am J Hum Genet* 67: 994-999, 2000

著者連絡先

〒305-8576 茨城県つくば市天久保2-1-1
筑波大学附属病院小児科
岩淵 敦 須磨崎 亮

● 総 説

乳児胆汁うっ滞症の診断アプローチ：胆道閉鎖症の早期発見

(平成20年5月23日受付, 平成20年7月16日受理)

久留米大学 医学部 小児科

木村 昭彦・水落 建輝・関 祥孝・西浦 博史

Key Words : 胆道閉鎖症, progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC), Alagille症候群, 胆汁酸代謝異常症, neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD)

要 旨

最近20年間胆道閉鎖症の診断技術および方法は、画像技術を除いて進歩していない。したがって、我々はしばしば生後60日を過ぎて診断された症例を経験する。一方、臨床検査所見および分子生物学的アプローチにより、シトリン欠損に伴う胆汁うっ滞症、進行性家族性肝内胆汁うっ滞症および胆汁酸代謝異常症の診断が、確実にされるようになった。

そこで、乳児胆汁うっ滞症の診断アプローチ、特に胆道閉鎖症の早期発見について示した。この総説が、小児肝臓学者および若い小児科の先生に役立つことを望む。

はじめに

最近、遺伝性胆汁うっ滞症が発見・診断可能となり¹⁾、いわゆる新生児時期の胆汁うっ滞症は減少しているものの、胆道閉鎖症は疫学的にも発症例に変化がみられない²⁾。いいかえれば、昔も今も診断方法(能力)に進歩がみられないのである。すなわち、特異的検査(診断法)が未だないのである。しかし、胆道閉鎖症の発生原因に関しては新しい知見がみつがっている^{3)~5)}。原因がわかれば予防可能となるだろう(早期発見が可能となるだろう)。

胆道閉鎖症の診断は現在でも非常に困難であるが、早期発見は本症の予後を大きく左右する。われわれが、一般小児科外来で乳児期の胆汁うっ滞症に遭遇するのは、多くは1か月健診時あるいはその前後である。いわゆる胆道閉鎖症のゴールデンタイム(60生日)に迫った時期である。したがって、速やかに鑑別を行わな

いと予後を左右しかねない³⁾。

しかし、この時期の胆汁うっ滞症は表1に示すように多岐にわたる。これを全て鑑別するには時間がかかり、また、多くの検査を施行すればQOLを損ねる。そこで、表1に示す疾患を最小限の検査でいかに速やかに胆道閉鎖症と鑑別するかを検討した。

1か月の遷延性黄疸児を診たら何から始めるか？

1か月の遷延性黄疸の児を診たら、まず母親に便の色を聞く必要がある。これは最も重要なことであり、どのような色か母親の話だけではなく出来れば自分の目で確認すべきである。もしくは、茨城県(筑波大学の松井陽(現、国立成育医療センター)がスタートさせた)が行っている便色のサンプルをみせハッキリ便色を示させることを勧める^{6)~8)}。この便色のサンプルをみせる方法は、現在最も確実な方法と考える。除々にはあるがこの方法を採用する行政が増えている。そして、胆道閉鎖症発見に成果をあげている⁷⁾。この便色のサンプルで白色便(灰白色便)の訴えがあれば、直ちに胆道閉鎖症の鑑別をスタートさせる必要がある。

次に便色を聞くと同時に次の検査を行う。それは、

別刷請求先：〒830-0011 福岡県久留米市旭町67

久留米大学医学部小児科

木村 昭彦

表1 新生児期胆汁うっ滞の鑑別診断

- I. 非家族性胆汁うっ滞症
- A. 感染症に伴う胆汁うっ滞症
1. 細菌性
 - a. 敗血症 (尿路感染症を含む)
 - b. リステリア
 - c. 梅毒
 - d. その他 (トキソプラズマなど)
 2. ウイルス性 (先天性を含む)
 - a. サイトメガロウイルス
 - b. ヘルペスウイルス (HHV-6を含む)
 - c. 肝炎ウイルス
 - d. エコーウイルス (レオウイルスを含む)
 - e. パルボウイルスB19
 - f. その他 (HIVなど)
- B. 毒素による胆汁うっ滞症
1. 完全中心静脈栄養に伴う胆汁うっ滞症
 2. 薬物
- C. 低酸素状態 (呼吸不全), 循環不全
- D. 特発性
- E. その他 (ヒスチオサイトーシスX, 新生児ループスなど)
- II. 家族性胆汁うっ滞症
- A. 遺伝性胆汁うっ滞症
1. 膜輸送と分泌異常 (トランスポーター異常)
 - a. 毛細胆管分泌異常
 1. Bile salt export pump欠損症
 - i. 持続性, 進行性 (PFIC type 2)
 - ii. 反復性, 良性 (BRIC type 2)
 2. Multi-drug resistance protein 3欠損症 (PFIC type 3)
 3. 嚢胞性繊維症
 - b. 複合型, 多臓器異常
 1. Progressive familial intrahepatic cholestasis
 - i. 持続性, 進行性 (PFIC type 1, Byler's病)
 - ii. 反復性, 良性 (BRIC type 1)
 2. Neonatal ichthyosis-sclerosing cholangitis症候群
 3. Arthrogryposis-renal dysfunction-cholestasis症候群
 4. Lymphedema cholestasis症候群 (Aagaens症候群)
 5. α 1-antitrypsin欠損症
2. 胆汁酸代謝異常症
 - a. 3-oxo- Δ^4 -steroid 5 β reductase欠損症
 - b. 3 β -hydroxy- Δ^5 -C27-steroid dehydrogenase/isomerase欠損症
 - c. Oxysterol 7 α -hydroxylase欠損症
 - d. Sterol 27-hydroxylase欠損症
 - e. Familial hypercholelanemia (BAAT and/or TJP2欠損症)
 - f. 2次性 (ペルオキシゾーム病: Zellweger症候群など)
3. 発生学的異常
 - a. Alagille症候群 (Jagged1欠損)
 - b. Ductal plate奇形 (Caroli's病など)
4. その他 (North American Indian childhood cirrhosisなど)
- B. 代謝性異常
1. 尿素サイクル異常
 - a. シトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞 (NICCD)
 - b. アルギナーゼ欠損症
 2. 金属代謝異常
 - a. 新生児鉄蓄積症 (Neonatal hemochromatosis)
 - b. Infantile copper overload (Wilson病以外)
 3. 脂肪代謝異常
 - a. Nieman-Pick病 type C
 - b. Cholesterol ester蓄積症
 - c. Wolman病
 4. 糖質代謝異常
 - a. ガラクトース血症
 - b. フルクトース血症
 - c. 糖原病IV型
 5. アミノ酸代謝異常
 - a. チロジン血症
 6. ミトコンドリア肝障害
- C. 内分泌異常
1. 甲状腺機能低下症
 2. 汎下垂体機構低下症
 3. トリゾミー症候群 (Down症候群など)
- D. 特発性

PFIC, progressive familial intrahepatic cholestasis; BRIC, benign recurrent intrahepatic cholestasis; BAAT, bile acid coenzyme A: amino acid N-acyltransferase; TJP2, tight junction protein 2; NICCD, Neonatal cholestasis caused by citrin deficiency.

直接ビリルビン, 間接ビリルビン, AST, ALT, γ -GTPであり, 可能であればヘパプラスチンテスト (HPT), PIVKA IIを行う。

間接ビリルビン優位であり, 他の項目に異常値がなければ, それは, 母乳性黄疸, 体質性黄疸 (Crigler-Najjar症候群, Gilbert症候群), 溶血性貧血を疑う。この場合は, 白色便 (灰白色便) にはならない。

直接ビリルビン優位の場合は, ほとんどの場合AST, ALTは上昇している。HPT低値, PIVKA IIが陽性的場合

は直にビタミンKを静注する (1mg/kg/day)。胆道閉鎖症ではしばしば頭蓋内出血で発症することがある⁹⁾。次に, γ -GTP値が問題となる。

γ -GTPが高値の場合? 低値 (正常値) の場合?

γ -GTPが高値の場合で白色便 (灰白色便) であれば, 胆道閉鎖症を念頭に置き鑑別を行う (後述)。また, 異常高値の場合は, 家族性肝内胆汁うっ滞症 (Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis: PFIC)

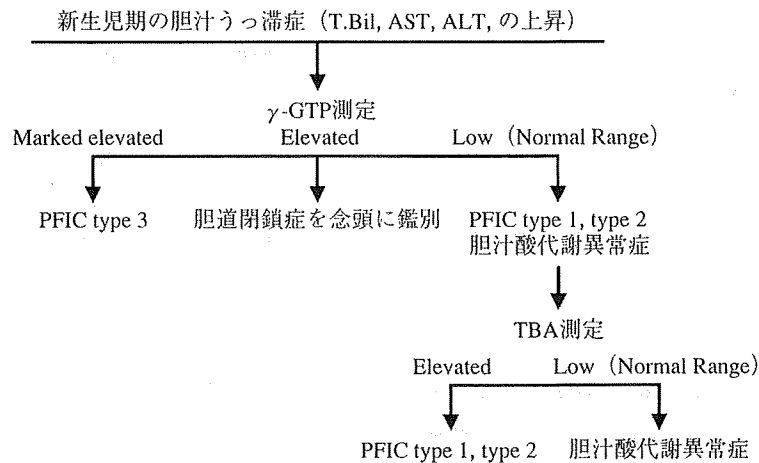


図1 γ-GTP, 総胆汁酸 (TBA) による胆道閉鎖症の鑑別

type 3を考慮する^{10)~12)}。

γ-GTPが低値 (正常値) の場合は, 次の疾患を疑う。すなわちPFIC type 1と2あるいは胆汁酸代謝異常症である^{13)~18)}。PFIC type 1は以前Byler病と呼ばれていたものである。PFICと胆汁酸代謝異常症の鑑別は, 臨床症状ではひどいかゆみ (掻痒感) があるかないかで鑑別できる。すなわち, PFICではひどいかゆみがみられ, 胆汁酸代謝異常症ではみられない。ただし, このかゆみは3か月以降に出現してくるので, 乳児期には鑑別困難な場合がある。

γ-GTPが低値 (正常値) の場合, 次に総胆汁酸値を測定する

一般検査室で行われる総胆汁酸値は, 3位のα位にOHを持つ胆汁酸の総和を示す。いわゆるusual bile acidsの総和である。したがって, 胆汁酸代謝異常でみられる異常胆汁酸 (unusual bile acids) は検出 (測定) されない。よって, 総胆汁酸値は, PFIC type 1あるいはtype 2では高値を示し, 胆汁酸代謝異常症では, 低値 (正常値) を示す。

ここまででPFICと胆汁酸代謝異常症の鑑別は可能であろう (図1)。PFIC type 1とtype 2の鑑別および胆汁酸代謝異常症の分類 (鑑別方法) については後述する。

さて, ここからは胆道閉鎖症の鑑別となる。なぜなら, 胆道閉鎖症には, 予後を左右するいわゆるゴールデンタイムがある⁹⁾。生後60日以内に外科的処置を行った場合明らかに予後が良い。最近の研究では, 生後30日以内に外科的処置を行うとさらに予後は良くなるといわれる¹⁹⁾。

胆道閉鎖症の鑑別

γ-GTPが高値の場合で白色便 (灰白色便) であれば, 胆道閉鎖症を念頭に置きいわゆる胆汁うっ滞症 (表1) の鑑別を行っていく。次に行う検査は, (a) 十二指腸ゾンデにより十二指腸液を採取し, ビリルビンの存在の有無を確認, (b) 腹部超音波検査によるtriangular cord sign²⁰⁾, 胆嚢の有無を確認 (出来れば授乳による胆嚢の収縮を確認), (c) MRIなどの画像診断による肝外胆道系の検索²¹⁾, (d) 肝胆道系シンチにより腸管への胆汁排泄の有無を確認する, (e) 肝生検による肝病理診断 (肝実質の線維化および偽胆管の増生の有無) である。これにより積極的に胆道閉鎖症を疑うか否か明らかとなる。疑う場合は, 十分に家族に説明した後, 手術 (試験開腹を含む) を行うべきと考える。早期発見・診断は予後を左右する。

ここで一番注意することは, たとえサイトメガロ感染症や他の感染症 (レオウイルス, ロタウイルスなど) を強く疑う検査データが得られていても胆道閉鎖症を否定する根拠にはならないことを十分知っておくことである^{22)~24)}。サイトメガロ感染症は胆道閉鎖症や肝内胆管減少症の病因の一つに上げられている。また, 出生時 (早期新生児時期) は, 必ずしも白色便 (灰白色便) でないこともあり経過を追って観察が必要である。さらに, 初期には黄疸のないもの, あるいはALTの上昇がみられない胆道閉鎖症も報告されている。

肝内胆汁うっ滞の鑑別

NICCD (neonatal intrahepatic cholestasis caused by

citrin deficiency) : 最近, 疾患概念があきらかになり, 遺伝子診断が行えるようになった^{25)~27)}. 本疾患を疑う根拠と成る症状および検査所見は, 黄疸, 灰白色便, 体重増加不良, 低蛋白血症, 低アルブミン血症, AST > ALT, γ -GTP・citruline・a-fetoproteine・PSTI・ferritin 高値, 凝固能異常などである。これらの所見がそろえばNICCDを疑い遺伝子診断を行う。まれにはあるが, 重症例(肝不全へ進行する症例)が存在し肝移植が必要となる²⁸⁾. なおNICCDの約20%が成人になり高アンモニア血症を発症するといわれている。遺伝子診断は鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・発生発達成育学講座・分子病態生化学小林佳子先生, citrin蛋白診断法は大阪市立大学大学院医学研究科・発達小児科学岡野善行先生に相談されるとよい。

代謝性疾患: ガラクトース血症, アミノ酸代謝異常症(チロジン血症など), 体質性黄疸(Dubin-Johnson症候群, Rotor症候群)などがあるが, 経験する事は少ない。鑑別(診断)のための検査は, アミノ酸分析, 有機酸分析, 尿中還元糖などがある。最近話題になっている代謝異常症にミトコンドリア病(Pearson症候群, mtDNA欠損症候群, 乳児重症型ミトコンドリア複合体欠損症など)がある²⁹⁾. これらは, 遷延性黄疸, 肝腫大, 肝機能障害, 筋緊張低下, アシドーシス, 高乳酸血症, 凝固異常を示し, 肝病理所見は, 脂肪変性, 線維化, 胆汁うっ滞などを示す。診断に関して千葉県こども病院小児科代謝科高柳正樹先生に相談されるとよい。

MDR3 (multipul drug resistance 3, ABCB4) 欠損症: いわゆる進行性家族性肝内胆汁うっ滞症(PFIC) type 3である。本邦での報告(小児科領域)は無いが, 欧米では多数報告されている。乳児期には著明な胆汁うっ滞を示し, 成人では胆石症, 妊娠時肝内胆汁うっ滞症や肝硬変の原因とされている^{10)~12) 30) 31)}. リン脂質のトランスポーター(MDR3)欠損に伴う胆汁うっ滞により遷延性黄疸を起こす。したがって, 胆汁中にリン脂質が低値である。特徴的検査所見として, γ -GTPの著明な上昇がみられる。肝病理所見は, 胆管周囲の炎症性変化が著明で肝実質の線維化もみられる¹⁰⁾.

Alagille症候群を代表とする肝内胆管減少症: 肝内胆管減少症には, 症候性(Alagille症候群)と非症候性がある。Alagille症候群は, 特徴的な顔貌, 肺動脈狭窄を代表とする心疾患, 二分脊椎, 胎生環などがみられるので注意深く診察・検査すれば比較的容易に診断される³²⁾. 確定診断は, JAG1およびNOTCH2遺伝子の異常が参考になる^{33)~35)}. しかし, Alagille症候群は, 重症度がさまざまであり肝移植ドナーを選択する場合, 遺伝子診断

を行い完全にAlagille症候群を除外しなければならない。遺伝子診断は, 慶応義塾大学小児科小崎健次郎先生に相談されたい。

一方, 非症候性肝内胆管減少症は, 原因はサイトメガロウイルスなどのウイルス感染, 薬物によることが多く, 予後不良例も散見される。

肝内胆管減少症は, 肝生検組織でportal tractに対する毛細管胆管の比で評価される。したがって, 肝内胆管減少症を疑うのであれば開腹肝生検しwedge biopsyされた組織で評価するのが望ましい。一方, 経皮的肝生検で評価するのであれば少なくとも6個以上のportal tractを観察しなければならない³⁶⁾. さらに, 毛細管胆管とportal tractの比は0.5~0.75以下とされる^{37) 38)}. 新生児期にはこの割合が少ないので誤診される場合もある。また, 様々な疾患で肝内胆管減少が報告されている。たとえばPFICでもみられる¹³⁾.

サイトメガロ感染症を代表とするウイルス感染症に伴う肝炎(乳児肝炎): 生後3か月以内にみられるウイルス感染に伴う閉塞性黄疸を主症状とする肝炎は, ほとんどがサイトメガロウイルス肝炎であろう。確定診断は, 肝組織内のウイルスの証明で行われる^{39) 40)}. したがって, サイトメガロウイルス肝炎の診断は難しい。血清抗体価のみで診断すると胆道閉鎖症やNICCDを見逃すこともある。十分な注意が必要である。

いわゆる新生児肝炎: 上記鑑別疾患は否定されるも原因のわからない物の総称である。比較的未熟児に多くみられ, 肝組織はgiant cell transformationがみられる。ただし偽胆管の増生はみられない。

PFIC type 1とtype 2の鑑別

臨床的には鑑別困難なことが多い。PFIC type 2 [ABCB11: bile salt export pump (BSEP)] は, 比較的進行が早いと言われている。組織学的にはPFIC type 2は, 炎症細胞の浸潤がありgiant cell transformationをみることが多い¹³⁾. また, PFIC type 1 [ATP8B1: familial intrahepatic cholestasis (FIC1)] は電顕で毛細胆管内にbyler's bile (写真1)がみられることが特徴的な所見とされる。この2つのtypeの鑑別が何故必要か? それは, 肝移植後の予後が非常に異なるからである。type 1は肝臓だけでなく脾臓や腸にもトランスポーター(ATP8B1)が存在し肝臓以外の症状が出現する。そのため, 移植後全ての症状が改善するのではなく, 逆に新たな症状(難治性下痢, 脂肪肝など)が出現することもある⁴¹⁾. 一方, type 2は移植後症状の改善をみる。

結局, 現在の所明確にtype 1と2を鑑別するためには