

201024025A

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22年度 総括・分担研究報告書

平成 23(2011)年 4 月

研究代表者 坪内 博仁

序

本年度は3年計画の3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疫学調査、ワーキンググループ（WG）研究、個別研究の研究成果と総括が報告された。

AIHではWG研究によりAIHの診断基準、治療指針が作成され、重症例および劇症化例の実態が明らかにされた。現在、これらの成果をもとに診療ガイドラインが作成されつつある。また、AIHにおける抑制性リンパ球、サイトカイン/ケモカイン、NKT細胞、Tfh、抗HLA抗体、sCTLA-4などの病態に関して最新の研究成果が報告された。

PBCではWG研究によりPSC、IgG4関連硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準案、オーバーラップ症候群（OLS）に対するステロイド投与のための診断指針案、PBC診療ガイドラインが作成された。全国調査の検討により、本邦PBCの予後が改善傾向にあり、ウルソデオキシコール酸の治療効果も予後の改善に寄与していることが示唆された。これは、これまでの疫学調査研究における貴重な報告と思われる。また、海外で報告された疾患特異的な遺伝子多型が日本人PBC患者においても確認され、今後の進展が期待される。

FHではWG研究により、本邦における急性肝不全の診断基準が作成された。今後は海外の基準と整合性をとりながら症例の集積や解析が進むと期待される。また、アシアロシンチグラフィによる客観的な劇症化予知やデータマイニング解析による成因不明例のクラスタリングなど新しい手法を用いた診断や予知に関する研究が進んでいる。

肝内結石症ではWG研究により胆石症診療ガイドラインの見直しが検討された。また、合併する胆管癌の早期診断にFDG-PETもしくはDiffusion MRIの有用性が報告された。胆管癌発癌関連マーカーや、発癌予測バイオマーカー候補となる胆汁中microRNAの解析などが進められている。

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、再発因子や再移植例の背景など、移植成績の向上につながる研究成果が報告された。臓器移植法改正により、劇症肝炎をはじめとする緊急度9点では脳死肝移植が現実的なものとなりつつあり、移植医療に関する研究は今後も重要な課題である。

本研究班は4つの分科会からなり、多くの研究分担者や研究協力者から構成されている。この3年間で各分科会のWG研究が精力的に行われ、全国調査や実態調査結果が明らかにされ、多数の診断基準や診療ガイドラインを作成することができた。これらは、今後の難治性の肝・胆道疾患の克服に大きく貢献するものと期待される。また、劇症肝炎や原発性胆汁性肝硬変の診療ガイドの出版など、研究成果を一般臨床医へ周知していく取り組みも行われた。これらは各分科会長やWGの研究代表者および構成員の精力的な活動や支援の賜物である。これまで自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、劇症肝炎、肝内結石症という比較的稀な疾患の克服のために協力いただいた研究分担者、研究協力者の皆様に厚くお礼を申し上げたい。本研究班の成果が、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いたい。

平成23年3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	1
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	7
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	9
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学	中沼 安二
3. 劇症肝炎に関する研究	11
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	13
金沢大学大学院医学系研究科 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	15
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	17
東京慈恵会医科大学大学院医学系研究科 器官病態・治療学 消化器内科	錢谷 幹男
3. 治療 WG	20
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. 自己免疫性肝炎における BAFF とインスリン抵抗性	22
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学	恩地 森一
2. 自己免疫性肝炎患者における末梢リンパ球抑制性マーカーの検討	23
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. 自己免疫性肝炎の病態とサイトカインネットワークの解析	25
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	27
東京慈恵会医科大学大学院医学系研究科 器官病態・治療学 消化器内科	錢谷 幹男
5. 自己免疫性肝炎におけるエストロゲンレセプターの解析	29
福井県立医科大学 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：3 因子スコア加算モデルによる複数の疾患を想定する場合	30
国際医療福祉大学 塩谷病院	森實 敏夫
7. 自己免疫性肝炎の病態と予後の解明	33
慶応義塾大学医学部 消化器内科	日比 紀文
8. 自己免疫性肝炎治療難治例の解析	36
虎の門病院分院 臨床検査部	鈴木 義之
9. 自己免疫性肝炎における抗 HLA 抗体に関する研究	38
新潟大学大学院 医歯学総合研究科 消化器内科学	青柳 豊

10. AIH 例の血清中可溶性 CTLA-4 値と臨床像の関連	41
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科 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	43
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子	
2. 診断基準 WG	45
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二	
3. 治療 WG PBC-AIH オーバーラップ症候群：副腎皮質ステロイド投与のための診断指針	48
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	51
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	56
国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 中村 稔	

【分担研究報告】

1. 原発性胆汁性肝硬変全国調査（第31報）－全国調査にみる30年間の予後の変遷－	59
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子	
2. 肝移植後原発性胆汁性肝硬変再発の機序解明	63
九州大学大学院 消化器・総合外科学 前原 喜彦	
3. 肝移植後の中長期成績の解析および生体試料の収集に関する研究	65
京都大学 肝胆膵・移植外科 上本 伸二	
4. PBC 生体肝移植後再移植症例における組織検討	67
朝日大学附属村上記念病院 外科 江川 裕人	
5. 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	68
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	
6. 日本人 PBC 患者における疾患感受性遺伝子の検討	71
帝京大学医学部 内科 滝川 一	
7. PBC の病態形成に関わる自然免疫異常の研究	73
帝京大学医学部附属病院溝口病院 第四内科 宮川 浩	
8. PBC の胆管破壊の免疫学的機序	
①胆管細胞における estrogen-related receptor 発現と病態形成への関与	74
②原発性胆汁性肝硬変の胆管病変におけるオートファジー異常	76
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二	
9. 原発性胆汁性肝硬変で胆管破壊に関与する細胞の同定	78
九州大学大学院医学系研究院 病態修復内科学 下田 慎治	
10. 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	80
福岡大学医学部 消化器内科 向坂彰太郎	
11. PBC におけるコリン代謝の検討	82
国立病院機構九州医療センター 消化器内科 中牟田 誠	
12. PBC における脂質代謝の検討 (4)：ベザフィブラート治療が胆汁酸代謝に与える影響	85
東京医科大学茨城医療センター 松崎 靖司	
13. 免疫抑制剤・UDCA 抵抗性慢性 GVHD における胆管上皮傷害低減に関する研究	87
高知大学医学部 消化器内科学 西原 利治	
14. レトロウイルス感染症と原発性胆汁性肝硬変	89
東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学 上野 義之	

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 我が国における「急性肝不全」の概念 診断基準の確立91
埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智
2. WG-II B型肝炎ウイルスの急性増悪による劇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95
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:lateonsethepaticfailure) の全国集計 (2009年)96
②de novo B型肝炎におけるHBV遺伝子解析および病態解明 114
鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁
2. 小児の劇症肝不全 116
済生会横浜市東部病院こどもセンター 藤澤 知雄
3. 成因不明の肝不全症例における分類法の確立—データマイニングによる分類法の作成 118
埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智
4. 急性肝炎劇症化予知における画像診断の意義: CT 肝容積計測とアジアロシンチグラフィーの比較検討 121
岩手医科大学 消化器・肝臓内科 鈴木 一幸
5. 劇症肝不全の臨床研究 (改正臓器移植法後の脳死肝移植の現状) 126
順天堂大学医学部附属静岡病院消化器内科 市田 隆文
6. 自己免疫性急性肝不全の診断・治療に関する検討 128
千葉大学大学院 腫瘍内科学 横須賀 収
7. 急性肝不全における ADAMTS13の動態 132
奈良県立医科大学 第三内科 福井 博
8. 肝再生過程におけるアダプター蛋白質 Gab 1 の肝幹/前駆細胞への関与について 135
大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 竹原 徹郎
9. 感染培養系を用いた劇症 E 型肝炎ウイルス株の解析 137
自治医科大学 感染・免疫学講座ウイルス学部門 岡本 宏明
10. 劇症肝炎における Toll-likereceptor を介した免疫応答に関する研究 139
岐阜大学大学院 消化器病態学 森脇 久隆
11. HGF による骨髓造血前駆細胞の肝臓へのホーミング促進作用 141
鳥取大学大学院医学系研究科 遺伝子医療学 汐田 剛史
12. 急性肝障害マウスモデルにおける骨髓細胞投与の検討 142
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
13. 血漿交換と血液濾過透析を組み合わせた人工肝補助療法の除去能力 143
昭和大学藤が丘病院 消化器内科 井上 和明
14. 劇症肝炎に対する肝移植: 本邦の経験 145
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 - 肝内結石症のコホート調査 - 149
杏林大学医学部 消化器一般外科学 森 俊幸
2. ①診断治療 WG 156
②硬化性胆管炎・診断基準 (案) WG 159
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 - 162
自治医科大学 消化器一般外科 佐田 尚宏

4. 発癌 WG	164
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. 肝内結石における肝切除術後の手術部位感染症（SSI）の発生頻度と要因について	168
和歌山県立医科大学 第二外科 山上 裕機	
2. 無症状肝内結石症の自然経過	171
長崎県上五島病院 八坂 貴宏	
3. 肝内結石症からの発癌に関する病理学的研究：上皮内癌の出現様式に関する病理組織学的検討	173
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二	
4. 発癌から見た肝内結石症の取扱い－コホート調査の検討－	177
杏林大学医学部 消化器一般外科学 森 俊幸	
5. 肝内結石症の外科治療について	180
東北大学大学院医学系研究科 消化器外科 海野 倫明	
6. 肝内結石症に対する肝切除症例の治療成績	182
名古屋大学大学院 腫瘍外科学 榎野 正人	
7. 原発性硬化性胆管炎に肝内結石症を合併した症例の検討	184
千葉大学大学院医学研究院 腫瘍内科学 露口 利夫	
8. 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	186
金沢大学医薬保健研究域医学系 先端医療技術学講座 本多 政夫	
9. 肝内胆管障害の発症メカニズム～胆汁成分、特にリゾ・リン脂質に着目して～	188
広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進	
10. 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 InVivo モデルにおける有用性の検討	190
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	

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	193
--------------------	-----

V. 班員名簿	209
---------	-----

VI. 平成22年度班会議総会プログラム	211
----------------------	-----

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）では全国調査の解析結果が報告された。診療ワーキンググループ（WG）では、AIH診断におけるIgG値のカットオフ値が示された。診断WGではHep2細胞を用いたIF法の有用性が報告された。治療WGでは重症化・劇症化例において診断時プロトロンビン活性が予後因子として有用であることが報告された。AIHにおける抑制性リンパ球、サイトカイン/ケモカイン、NKT細胞、Tfh、抗HLA抗体、sCTLA-4と病態との関連性が報告された。原発性胆汁性肝硬変（PBC）では診断基準WGで、PSC、IgG4関連硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準案が作成された。診療ガイドライン作成WGでは、診療ガイドラインが作成された。治療WGではオーバーラップ症候群（OLS）に対するステロイド投与のための診断指針案が作成された。抗gp210抗体の有用性検討WGでは、抗gp210抗体と治療反応性、病理性活動性、予後との関連性が報告された。全国調査より、PBCの5年生存率は年代を経る毎に有意に改善していることが示された。日本人PBC患者においても海外で報告されたIKZF3とZBPB2遺伝子多型が発症に関与していることが報告された。病態および治療に関与する自然免疫、トランスポーター、脂質代謝、ミトコンドリア、エストロゲン、レトロウイルスなどの研究成果が報告された。PBCにおける肝移植の長期成績と再発率、再発危険因子、再移植の原因が報告された。劇症肝炎（FH）では全国調査により最新の実態が報告された。WG Iでは急性肝不全の診断基準が作成された。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の進捗状況が報告された。劇症化予知にアジアロシンチグラフィが有用であることが示され、データマイニング解析による成因不明例のクラスタリングモデルが作成された。劇症肝炎に対する肝移植では、病型や成因に関係なく移植成績は良好であることが報告された。臓器移植法改正により、劇症肝炎に対する脳死肝移植例が増加していることが明らかになった。劇症化の病態に関与するHEV遺伝子変異、サイトカイン、TLR、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た。診断治療WGでは胆石症診療ガイドラインの妥当性が検討された。画像WGでは、肝内結石症に合併する胆管癌の診断にFDG-PETもしくはDiffusion MRIが有効であることが示された。手術部位感染の頻度、原発性硬化性胆管炎の肝内結石合併例の病態が報告された。肝内結石症における上皮内癌の病理組織学的特徴が明らかにされ、リゾ・レシチンの発癌への関与などが報告された。腫瘍マーカー候補となる胆汁中microRNAが同定された。治療では肝内胆管癌に対するSorafenibの抗腫瘍効果が報告された。

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
國土 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
銭谷 幹男	東京慈恵会医科大学大学院医学研究科器官病態・治療学 消化器内科学
滝川 一	帝京大学医学部内科
上本 伸二	京都大学大学院医学研究科外科学

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。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。

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。今回の調査では、①診断時年齢の高齢化、②男性患者の比率が増加、③非黄疸例が増加、④抗核抗体陰性例・低力価例の増加、④血清 IgG 低値例の増加、⑤組織学的に急性肝炎例の増加、⑥ UDCA 投与症例の増加などの特徴がみられた。全国調査をもとに、診療ガイドの作成が行われている。

診療指針の作成 WG (代表: 恩地研究分担者): AIH 診断における IgG 値のカットオフ値について、ウイルス性 (HBV, HCV) 慢性肝疾患との比較検討を行い、AIH 診断には IgG 2g/dl が妥当とされた。

診断指針の作成 WG (代表: 銭谷研究分担者): IF 法では ELISA 法より感度が高く、特にリコンビナント抗原のみを固相化した ELISA では偽陰性が多くなった。Hep2細胞を用いた IF 法はラット肝組織切片を用いて IF 法と同様に臨床的に有用性と考えられた。

治療 WG (代表: 山本研究協力者): 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・劇症化例では、診断時プロトンポンプ活性が予後因子として有用であることが明らかになった。

個別研究: 恩地研究分担者は AIH における B 細胞活性化因子 (BAFF) の役割を解析し、BAFF が自己免疫現象の発症・誘導のみならず、代謝異常、特にインスリン抵抗性の誘導にも関与していることを示した。広石研究分担者は、AIH 患者における末梢血リンパ球の抑制性マーカーについて解析し、CTLA-4, DR5, PD-1 の発現が増加していたことから、これらが炎症軽減に関与している可能性を報告した。吉澤研究協力者は、AIH の治療前後における 29 種類のサイトカイン・ケモカイン濃度を測定し、AIH では、Th17 細胞の活性化、炎症性ケモカインの増加、制御性 T 細胞の抑制が重要な役割を果たしていることを示した。銭谷研究分担者は、AIH モデルマウスにおいて肝内 NKT 細胞は炎症期に増加し、活性化していたことから NKT 細胞が肝障害の形成に関与していることを報告した。大平研究協力者は、AIH 患者の末梢血単核球 (PBMC) でのエストロゲンレセプター (ER) の発現は健常人に比し低下していることから、AIH の病態に ER が関与していることを示した。森實研究協力者は、すでに報告している血清 ALP, ALT, 抗ミトコンドリア抗体の 3 因子スコア加算モデルが AIH, PBC, C 型慢性肝炎の鑑別に有用であったと報告した。日比研究協力者は、AIH 患者の PBMC 中の follicular helper T 細胞 (Tfh) の頻度が低下し、CCR9+CD16+ 単球が増加していたことから、AIH の病態形成に Tfh が重要な役割を果たしている可能性を示した。鈴木研究協力者は、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るが、治療反応不良例では改善が乏しく、治療反応性は HLA-DR14 陽性例で良好であったことを報告した。青柳研究協力者は、AIH 発症時には血清中に抗 HLA 抗体が高頻度で検出され、自己 HLA class II 分子に対する抗体がみられた例もあることから、抗 HLA 抗体が AIH の病態に関与している可能性を報告した。山本研究協力者は、AIH 慢性肝炎例では sCTLA-4 が急性肝炎例より高かったことより、sCTLA-4 が AIH の慢性化を反映していることを報告した。

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 PBC の組織学的新病期分類を用いて検討し、患者予後を良く反映した分類であることを確認した。また、PSC, IgG4 関連硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準に関する草案を作成した。

疫学調査 WG (代表: 廣原研究協力者): 昨年度実施した第 14 回 PBC 全国調査の集計結果をデータベース化し、対象総登録症例は新規登録 702 例を含む 7376 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): 一昨年および昨年度の解析成果をもとに診療ガイドラインを策定し、最終案を作成した。

治療 WG (代表: 滝川研究分担者): 昨年度の収集した本邦 OLS 症例の解析データをもとに、OLS 症候群に対するステロイド投与のための診断指針案を作成した。

抗 gp210 抗体の有用性を検討する gp210 WG (代表: 中村研究協力者): ①抗 gp210 抗体陽性症例は陰性症例に比べて UDCA に対する治療反応性が不良であること、②抗 gp210 抗体、治療反応性、病理学的活動性はお互いに密接に関連して PBC の予後を規定していることを報告した。

疫学調査: 廣原研究協力者は第 14 回 PBC 全国調査を解析し、①5 年生存率は年代を経る毎に有意に改善していること、②無症候性、症候性ともに予後は改善していたが、診断時発黄例 (総ビリルビン値 5mg/dl 以上) や組織学的進行例の症候性 PBC では予後の改善は認めないことを報告した。

診断・治療: 石橋研究分担者は、抗 gp210 抗体、抗セントロメア抗体の測定に加えて免疫関連分子や胆汁酸代謝・線維化に関連した遺伝子多型が予後予測や病型分類に有用であることを明らかにした。滝川研究分担者は、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、イタリア人 PBC 患者を対象としたゲノムワイド解析にて明らかとなった候補遺伝子のうち、IKZF3 と ZBPB2 が日本人 PBC でも発症に関与していることを明らかにした。

病因・病態: 下田研究協力者は、ex vivo でヒトの体内を模倣する系を用いて PBC の原因を探索し、TLR3 リガンドと TLR4 リガンドで刺激後の肝臓浸潤単核球、特に NK 細胞が自己の胆管上皮細胞を傷害することを明らかにした。宮川研究協力者は、PBC の脾臓

リンパ濾胞内にCXCL13陽性細胞を伴いつつIgM陽性細胞の集簇を認めたことから、PBCの高IgM血症の発生機序として脾臓のリンパ濾胞由来の可能性を示した。向坂研究協力者は、PBC患者における胆汁うっ滞時の血清コレステロール値が上昇する機序として、ABCA1トランスポーターおよびその調節遺伝子として核内ホルモンレセプターLXR β が関わっている事を明らかにした。中牟田研究協力者は、PBC肝ではコリンが不足していることを明らかにし、フィブレート系薬剤の作用機序としてOCT1発現増強による細胞内コリンの供給が胆管障害を軽減している可能性を示した。松崎研究協力者は、ベザフィブラートがFXR非依存性のメカニズムによって胆汁酸合成を抑制することを明らかにし、UDCA治療効果を高める可能性、さらにCYP3A4の発現を促すことによって二次胆汁酸などの細胞傷害物質の解毒を促進する可能性を報告した。西原研究協力者は、細胞免疫応答による胆管障害のモデルとして慢性GVHDを対象とし、UDCAおよびベザフィブラートの効果について検討した。中沼研究分担者は、①PBC胆管におけるエストロゲン関連受容体 γ の発現亢進は、転写因子SP-1を介してアポトーシス感受性を亢進させ、胆管消失を来しやすい因子であること、②PBC胆管におけるp62蓄積はオートファジー異常により発生し細胞老化をおこす可能性を示した。上野研究協力者は、PBCの病態とレトロウイルス感染について検討し、ヒトPBCのPBMCに一部のHERV配列の活性化を認めるが、MMTV、XMRVの転写活性化は認めず、またMMTVなどのprovirusは検出されず病因との因果関係は証明できなかったことを報告した。

肝移植：前原研究協力者は、PBCによる再移植の原因として肝うっ血を主体とした過小グラフト症候群、veno-occlusive disease、慢性拒絶、原因不明の胆汁うっ滞であり、PBC再発を原因とするグラフト・ロスはなことを報告した。江川研究協力者は、PBC術後再移植症例9名を解析し、そのうちPBCの再発は3例のみであり、PBCの再発は再移植の主たる要因ではないことを報告した。上本研究分担者は、PBC患者の中で、黄疸・肝不全が進行し肝移植を受けるに至った患者を対象に、肝移植後のPBC再発や予後に関わる臨床データから中長期成績を解析した。

3. 劇症肝炎

全国調査(坪内研究代表者)：2009年は劇症肝炎91例(急性型38例、亜急性型53例)、LOHF 4例が登録され、成因はウイルス性43%、成因不明28%、薬物性17%、自己免疫性8%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2例を含めてB型例全体の18%(7/39)にみられた。肝移植非実施症例における救命率は急性型35%、亜急性型27%であった。肝移植は急性型9例(24%)、亜急性型20例(38%)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)：現在、我が国で使用されているPT測定キットでは、PT 40%に相当す

るINR値は1.6から2.12の間に分布していた。劇症肝炎以外の成因では、アルコール性と循環障害が大半を占め、循環障害は昏睡発現率は低いものの、非肝不全死による死亡率が高かった。昏睡発現の有無で、急性肝不全の予後は大きく異なっていた。これまでの検討をふまえ、本邦における「急性肝不全」の診断基準が作成された。

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」の登録は現時点で計3例にとどまっており、対象施設や登録方法の見直しが検討された。

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のPPV(陽性的中率)は高く、NPV(陰性的中率)は低いこと、正診率は肝性脳症発現時で57.5%、5日後で71.4%と、5日後の方が高いことを報告した。持田研究分担者はデータマイニングの手法を用いて、成因のクラスタリングを行った。また、成因不明例において各クラスターを予測する試行モデルを決定木法によって作成し、その有用性を報告した。鈴木研究協力者は、GSA-SによるLHL15[15分後の肝/(肝+心)]は昏睡発現群で有意に低値で劇症化予知に有用な客観的評価法であることを報告した。

治療：

1) 肝移植

国土研究分担者は、劇症肝炎全国調査の肝移植実施症例226例について、肝移植研究会のデータベースに照合し、212例の移植術後の成績を調査した。肝移植後の1年・5年・10年生存率は80%、73%、72%と良好であった。劇症肝炎の病型、成因分類、患者年齢、ドナー年齢による生存率に有意差はみられなかった。市田研究協力者は臓器移植法改正後の肝移植の実態を報告した。劇症肝炎をはじめとする医学的緊急度9点の帰結を検討すると、脳死肝移植は平均9.2日で受けることが出来ていた。現在法改正後平均5.6日に一例脳死ドナーの提供があり、平均6.2日で脳死肝移植が施行されていたことから、感染症やその他の合併症がない劇症肝炎患者は迅速に脳死肝移植に登録すると大半の患者は脳死肝移植を受けることが出来る状況にあることを報告した。

2) 肝補助療法

井上研究協力者は、成因不明の劇症肝炎患者の血液濾過透析では、数百 μ グラムのサイトカインが除去されること、サイトカインストームの改善には、血液浄化に加え免疫抑制療法によるトリガーポイントの抑制が重要であることを報告した。

病態と新規治療：岡本研究協力者は、感染培養系を用いた系によって、劇症肝炎患者由来の4型HEV株においてはC(3148C)やA(5970A)、あるいはT(5907T)変異がウイルス増殖能の亢進および肝炎の重症化に関与していることを報告した。横須賀研究協力者は、自己免疫性肝炎の重症・劇症例の肝組織所見ではprogenitor cellからhepatocyteへの分化の障害が認められ、特に治療不応例で著明であることを示した。

また、発病早期の診断未確定例においてSNMCの早期の単独投与がALT低下に有用であることを報告した。坪内研究代表者は、リツキシマブ+ステロイド併用によるde novo B型劇症肝炎の病理組織を解析し、炎症細胞浸潤は軽度で肝細胞の変性、腫大、空胞化が主な所見であること、免疫組織所見では肝細胞内にHBVコア抗原の著明な蓄積がみられることを報告した。福井研究協力者は、急性肝不全モデルにおいて血漿ADAMTS13活性の著減、超高分子VWFマルチマーの出現、消失とともに肝内、血管内、壊死組織周辺へのVWFの沈着がみられたことから、ADAMTS13活性の低下と肝微小循環障害との関連性を報告した。森脇研究協力者は、TLR1/2, TLR3, TLR4, TLR9が、TNF α の増加を介して、肝炎の進展に重要であることを報告した。竹原研究協力者は、アダプター蛋白質Grb2 associated binder-1 (Gab1)の肝特異的欠損マウスの解析より、Gab1がマウス肝幹/前駆細胞を介した肝再生を制御し、重篤な急性肝障害における肝再生の重要な分子である可能性を報告した。汐田研究協力者は、HGFは用量依存性に、造血幹細胞であるLin⁻c-kit⁺Sca-1⁺CD34⁺細胞を骨髄より末梢血に増員することが明らかにした。坂井田研究協力者は、急性肝障害マウスへのGFP陽性骨髄細胞投与モデルにおいて、投与骨髄細胞の肝内での生着は一時的であり、明らかな肝障害抑制効果や肝細胞増殖促進作用はみられなかったことを報告した。

4. 肝内結石症

疫学予後WG (代表: 森研究協力者): 本研究班で行われた第5期調査(1998年)登録症例のうち306例を対象にKaplan-Meier法(Log Rank test)で $p < 0.2$ となった項目に対してCox回帰分析を施行した結果、肝内胆管癌の合併は重要な予後規定因子であった。UDCAは発癌のリスクを下げ、UDCA内服による胆汁うっ滞の解消や肝細胞障害の抑制が発癌抑制に作用する可能性が示された。

診断治療WG (代表: 田妻研究協力者): 2007年に跡見班・画像診断ワーキンググループで提案された診断modalityならびに2009年に日本消化器病学会から提唱された胆石症診療ガイドラインの妥当性を検討したところ、全国実態調査からは内視鏡治療を主体とした非手術的治療の選択が増加していることが判明したが、疫学調査に基づく肝内胆管癌リスクの検討から、UDCA治療と肝切除の優位性を考慮する改訂の必要性が報告された。

画像WG (代表: 佐田研究協力者): 本研究班参加施設における28例の肝内胆管癌合併肝内結石症例を解析し、FDG-PETおよびDiffusion MRI施行率は低いものの肝内結石症早期診断に有効と判断された。

発癌WG (代表: 中沼研究分担者): 免疫染色による検討で、正常肝の胆管上皮にHSP70の発現はほとんどなく、肝内結石症ではBillINや浸潤癌でHSP70の発現増強を認めた。胆石症と胆管癌(結石非合併例)における胆汁HSP70は、胆管癌で有意に高値を示し、

以前に測定した胆汁HSP27と組み合わせることで、胆管癌マーカーとしての感度と特異性が上昇することが示された。さらに、HSPとは別の新規胆管癌マーカーとしてWisteria floribunda agglutinin (WFA)-sialylated MUC1が同定された。

疫学・予後: 森研究協力者は、1998年に行われた第5期調査登録症例を対象にコホート調査を行い、肝内胆管癌の予防には、①胆道手術既往例には切石のみでなく狭窄の解除が重要であること、②胆道手術既往がない症例に対しては肝切除が良い適応であること、③胆道手術既往なし・胆管狭窄なし・無症状例には経過観察が妥当であることを報告した。八坂研究協力者は、長崎県上五島地域において診断時無症状であった肝内結石症128例を対象としその自然経過を観察し、症状出現例は無症状例に比べてIE型、L型の頻度が高く、肝葉萎縮例が有意に多いことを示した。また、肝内結石症に関連する死亡は、症状出現例でのみみられ、肝葉萎縮が症状出現の危険因子であることを報告した。

診断・治療: 榎野研究協力者は、肝切除を施行した肝内結石症の治療成績を検討し、手術部位感染(SSI)を60例中7例(11.6%)に認めたが、在院死はなく術後平均在院日数は28日であったことを示し、肝内結石症に対する治療法として肝切除術は適切であると報告した。山上研究協力者は、肝内結石症の肝切除施行例のSSI頻度は23.8%で、原発性肝癌の11.4%、転移性肝癌の2.8%に比べ、有意に高頻度であることを示した。肝内結石症では胆汁中細菌の検出頻度が83.3%と高いことが原因の1つであることを示した。露口研究協力者は、原発性硬化性胆管炎(30症例)の肝内結石の合併例では、高齢者や高度多発狭窄と末梢肝内胆管のびまん性拡張の合併例が多く、重症胆管炎合併のリスクが高いことを報告した。海野研究協力者は、手術術式の選択に難渋した肝内結石症治療例から「肝外側区域切除術後に残肝再発をきたし肝右葉切除を施行した症例」「胆道癌との鑑別に苦慮した肝内結石症の2症例」でその治療方針に関する検討を行った。

発癌・治療: 田妻研究協力者は、胆汁脂質成分変化に伴う肝内胆管障害からの発癌プロセスの可能性を検討し、リン脂質の分解産物であるリゾ・リン脂質がGPCR(G2A)発現増強を介して胆管上皮細胞のアポトーシスを誘導する可能性を報告した。中沼研究分担者は、肝内結石症における上皮内癌の出現様式を病理組織学的に検討し、肝内結石症で出現する上皮内癌の多くは多段階発癌に由来するBillIN-3と考えられたが、それとは異なる上皮内癌(IEC)の出現様式が存在し、両者はいくつかの異なる病理組織学的特徴を有することを明らかにした。正田研究協力者は、肝内胆管癌細胞に対するSorafenibの抗腫瘍効果をin vivoモデルにおいて検討し、Sorafenibは用量依存性に皮下腫瘍の増大を抑制し、腫瘍組織における血管新生をも抑制したことを報告した。本多研究協力者は、腫瘍群と非腫瘍群の胆汁中における380種のmicroRNA(miRNA)をTaqMan-PCR法を用いて測定した結果、クラスター解析により腫瘍群と非腫瘍群で概ね群別され、胆

汁中における miRNA 発現が腫瘍群と非腫瘍群で異なることを明らかにした。さらに有意変動の大きい miRNA から腫瘍群と非腫瘍群を分ける15個の miRNA を同定した。

E. 結 論

各分科会の WG 研究により最新の実態調査結果に基づいて診断基準, 治療指針, 診療ガイドラインが作成された。対象疾患の病態解析により, 新規診断法および治療法の開発が進められた。

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、3年間にわたり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の作業を行った。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行った。

1. 全国調査

全国調査は、日本肝臓学会の評議員と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。症例数の合計は1,056例であった。

今回の調査では、以前の調査と比較して以下の特徴があった。①診断時年齢の高齢化、②男性患者の比率が増加、③非黄疸例が増加、④抗核抗体陰性例・低力価例の増加、④血清IgG低値例の増加、⑤組織学的に急性肝炎例の増加、⑥UDCA投与症例の増加。今回の全国調査をもとに、診療ガイドの作成を行っている。

2. ワーキンググループ

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、全国調査の結果で前回調査に比し診断時血清IgG値の低下が顕著であったため、AIH診断におけるIgG値のカットオフ値を定めることを目的に検討を行った。ウイルス性（HBV, HCV）慢性肝疾患との比較を行い、AIH診断にはIgG 2g/dlが妥当であった。

ただし、IgG値が低値であってもAIHは否定できないことを念頭におく必要がある。

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、AIHにおける抗核抗体の測定方法について解析した。IF法ではELISA法より感度が高く、特にリコンビナント抗原のみを固相化したELISAでは偽陰性が多くなった。IF法のみで陽性となる例は抗核抗体80倍以下の低力価例が多かった。

一方、Hep2細胞を用いたIF法はラット肝組織切片を用いたIF法の結果とほぼ同等であり、Hep2細胞を用いたIF法が臨床的に有用性と考えられた。

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、UDCA、アザチオプリンの適応と重症例への対策について解析した。

UDCA単独使用例は主にトランスアミナーゼが低値の軽症例であり、PSLとの併用によりPSL維持量を少なくできる可能性が明らかになった。アザチオプリンは主に再燃例に用いられており、寛解維持率が高くなった。重症化・劇症化例では、診断時プロトロンビン活性が予後予測因子として重要であった。ステロイドパルス療法施行時には感染症、とくに真菌感染症の合併に十分な注意が必要である。

3. 個別研究

AIHにおけるB細胞活性化因子（BAFF）の役割を解析した。AIHで血清中に増加するBAFFは自己免疫現象の発症・誘導のみならず、代謝異常、特にインスリン抵抗性の誘導にも関与している。（恩地研究分担者）

AIH患者における末梢血リンパ球の抑制性マーカーについて解析した。AIHでは、CTLA-4、DR5、PD-1の発現が増加していた。特に、比較的安定した経過をとる症例で発現増強がみられたことから、炎症軽減に関与していると考えられた。（広石研究分担者）

AIHの治療前後における29種類のサイトカイン・ケモカイン濃度を測定した。治療により、血清IL-12 p40、IL-17F、IL-18、IL-23、IP-10、MIP-1a、MIP-1b濃度が低下した。AIHでは、Th17細胞の活性化、炎症性ケモカインの増加、制御性T細胞の抑制が重要な役割を果たしていると考えられた。（吉澤研究協力者）

AIHモデルマウスでのNKT細胞の動態について解析した。肝内NKT細胞は炎症期に増加し、活性化していた。また、Fusion細胞とa-GarCerを投与後に肝内にエフェクターメモリーCD8陽性が増加した。以上から、本マウスモデルではNKT細胞が肝障害の形成に関与していた。（銭谷研究分担者）

AIH患者の末梢血単核球（PBMC）でのエストロゲンレセプター（ER）の発現を解析した。AIHでは健常人に比しERαの発現量が低下していた。また、エストロゲンはPBMCのTNFαの産生を抑制することから、AIHの病態にERが関与していると考えられた。（大平研究協力者）

すでに報告している血清ALP、ALT、抗ミトコンドリア抗体の3因子スコア加算モデルがAIH、PBC、C型慢性肝炎の鑑別に有用であった。（森實研究協力者）

AIH患者では、PBMC中のfollicular helper T細胞（T_{fh}）の頻度が低下していた。また、ConA肝炎マウスモデルにおいてCCR9陽性マクロファージが増加、活性化していた。AIH患者でもCCR9+CD16+単球

が増加しており、AIHの病態形成に重要な役割を果たしている可能性がある。(日比研究協力者)

AIHの難治例について解析した。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るが、治療反応不良例では改善が乏しかった。また、治療反応性はHLA-DR14陽性例で良好であった。今後はSNPsを含めた宿主因子の解析が必要である。(鈴木研究協力者)

AIH患者における抗HLA抗体について解析した。AIH発症時には血清中に抗HLA抗体が高頻度で検出された。また、自己HLA class II分子に対する抗体がみられた例もあり、本抗体がAIHの病態に関与している可能性がある。(青柳研究協力者)

AIHにおける血清中sCTLA-4濃度を解析した。AIHと健常人には差がなかったが、AIH慢性肝炎例ではsCTLA-4が急性肝炎例より高く、AIHの慢性化を反映していると考えられた。(山本研究協力者)

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

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ている。個別研究の他に、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、本年度の研究成果について議論し、以下に述べるワーキング研究および個別研究の成果が報告された。

・ワーキンググループ（WG）

PBC診断基準WG：中沼研究分担者を代表とし、PBC、原発性硬化性胆管炎（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PBCの組織学的新病期分類を用いて検討した結果、患者予後を良く反映した分類であることを確認した。また、PSC、IgG4関連硬化性胆管炎を含めた硬化性胆管炎の診断基準に関する草案を作成した。

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。昨年度実施した第14回PBC全国調査の集計結果をデータベース化し、対象総登録症例は新規登録702例を含む7376例となった。

診療ガイドラインの作成WG：石橋研究分担者を代表とする本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、一昨年および昨年度の解析結果をもとに診療ガイドラインを策定し、さらに班員全員のコンセンサスを獲得して最終案が完成した。

治療WG：滝川研究分担者を代表とする本WGでは、自己免疫性肝炎（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、昨年度の収集した本邦OLS症例の解析データをもとに、OLS症候群に対するステロイド投与のための診断指針案を作成した。

抗gp210抗体の有用性を検討するWG：中村稔研究協力者を代表とした本WGでは、抗gp210抗体と治療反応性、病理学的活動性、予後との関連について検討し、①抗gp210抗体陽性症例は陰性症例に比べてUDCAに対する治療反応性が不良であること、②抗gp210抗体、治療反応性、病理学的活動性はお互いに密接に関連してPBCの予後を規定していることを示唆した。

・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全国調査を解析した結果、①5年生存率は年代を経る毎に有意に改善していること、②無症候性、症候性ともに予後は改善していたが、診断時発黄例（総ビリルビン値5mg/dl以上）や組織学的進行例の症候性PBCでは予後の改善は認めないことを示唆した。

診断・治療：石橋研究分担者は、PBCの長期予後予測のためのバイオマーカーの同定を目的とし、抗gp210抗体、抗セントロメア抗体の測定に加えて免疫関連分子や胆汁酸代謝・線維化に関連した遺伝子多型が予後予測や病型分類に有用であ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、イタリア人PBC患者を対象としたゲノムワイド解析にて明らかとなった候補遺伝子のうち、IKZF3とZBP2が日本人PBCでも発症に関与していることを明らかにした。

病因・病態：下田研究協力者は、*ex vivo*でヒトの体内を模倣する系を用いてPBCの原因を探索した結果、TLR3リガンドとTLR4リガンドで刺激後の肝臓浸潤単核球、特にNK細胞が自己の胆管上皮細胞を傷害することを明らかにした。

宮川研究協力者は、PBCの高IgM血症に単球由来のB cell activating factor（BAFF）が果たす役割を示唆した。また、PBCの脾臓リンパ濾胞内にCXCL13陽性細胞を伴いつつIgM陽性細胞の集簇を認めることから、PBCの高IgM血症の発症機序として脾臓のリンパ濾胞由来の可能性を示唆した。

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PBC患者肝を用いて検討した結果、ABCA1トランスポーターおよびその調節遺伝子として核内ホルモンレセプターLXR β が関わっている事を示した。

中牟田研究協力者は、PBC肝におけるコリン代謝を検討し、PBC肝ではコリンが不足していることを明らかにし、フィブレート系薬剤の作用機序としてOCT1発現増強による細胞内コリンの供給が胆管障害を軽減している可能性を示唆した。

松崎研究協力者は、ベザフィブラートがFXR非依存性のメカニズムによって胆汁酸合成を抑制することを明らかにし、UDCA治療効果を高める可能性、さらにCYP3A4の発現を促すことによって二次胆汁酸などの細胞傷害物質の解毒を促進する可能性を示唆した。

西原研究協力者は、細胞免疫応答による胆管障害のモデルとして慢性GVHDを対象とし、UDCAおよびベザフィブラートの効果について検討した。

中沼研究分担者は、PBCにおける胆管障害の機序について検討し、①PBC胆管におけるエストロゲン関連受容体 γ の発現亢進は、転写因子SP-1を介してアポトーシス感受性を亢進させ、胆管消失を来しやすい因子として作用していること、②PBC胆管におけるp62蓄積はオートファジー異常により発生し細胞老化をおこす可能性を示唆した。

上野研究協力者は、PBCの病態とレトロウイルス感染について検討した結果、ヒトPBCのPBMCに一部のHERV配列の活性化を認めるが、MMTV、XMRVの転写活性化は認めず、またMMTVなどのprovirusは検出されず病因との因果関係は証明できなかった。また、PBC動物モデルであるNODC3C4マウスでは肝臓ほぼ特異的にMMTVの転写活性化が認められ、NODC3C4での転写活性化は性差が関与している可能性を示唆した。

肝移植：前原研究協力者は、PBC再発が移植後の予後に与える影響を明らかにするため、再移植に至った症例を検討した結果、再移植の原因として肝うっ血を主体とした過小グラフト症候群、veno-occlusive disease、慢性拒絶、原因不明の胆汁うっ滞であり、PBC再発を原因とするグラフト・ロスはないことを示唆した。

江川研究協力者は、PBC肝移植後再発が予後に与える影響を明らかにするため、PBC術後再移植症例9名を解析し、そのうちPBCの再発は3例のみであり、PBCの再発は再移植の主たる要因ではないことを明らかにした。

上本研究分担者は、PBC患者の中で、黄疸・肝不全が進行し肝移植を受けるに至った患者を対象に、肝移植後のPBC再発や予後に関わる臨床データから中長期成績を解析した。さらに、遺伝子バイオマーカーを同定するために、PBCの進行に関与する遺伝子の解析(SNPs解析)を企画し、研究活動を開始した。

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

劇症肝炎に関する研究

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

ワーキンググループ (WG) I では、これまで劇症肝炎に分類されなかった成因をふくめた「急性肝不全」の診断基準が決定された。WG II 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」の進捗状況が報告された。全国調査では2009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）

2009年は劇症肝炎91例（急性型38例、亜急性型53例）、LOHF 4例が登録され、例年と比べ亜急性型が多かった。患者平均年齢は急性型と亜急性型は例年と変化なく、LOHFはやや低かった。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高率であった。成因はウイルス性が全体の43%を占めており、そのほとんどはB型（41%）であった。B型では急性感染例（16%）とキャリア例（19%）がほぼ同率であった。B型例の18%は免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化肝炎で、de novo B型肝炎は2例であった。成因不明例は急性型の21%、亜急性型の36%、全体では28%を占めた。薬物性は急性型の21%、亜急性型の13%を占め、何れの病型も例年より多かった。自己免疫性例は亜急性型の13%、LOHFを含めた全体では8%を占めた。肝移植非実施症例における救命率は急性型35%、亜急性型27%、LOHF50%であり、急性型の救命率が低かった。肝移植は急性型9例（24%）、亜急性型20例（38%）、LOHF 1例（25%）に行われ、これらを含めた救命率は、急性型45%、亜急性型45%、LOHF25%であった。成因と予後との関連では、B型急性感染が56%であったのに対しB型キャリアでは救命例はなかった。薬物性の救命率も8%と救命率が低かった。

2. WG I 研究報告（代表：持田研究分担者）

1) 急性肝不全の診断基準

現在、我が国で使用されているPT測定キットでは、PT40%に相当するINR値は1.6から2.12の間に分布していた。また、劇症肝炎以外の急性肝不全に関する実態調査では、アルコール性や循環障害によるものが多く、これらは劇症肝炎とは病態が異なっていることが明らかになった。これらの検討を基に、我が国における「急性肝不全」の診断基準が決定された。今後は、欧米と整合性のとれた劇症肝炎および急性肝不全症例の集積が可能になると思われる。

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が報告された。劇症肝炎以外の成因では、アルコール性と循環障害が大半を占めていた。アルコール性では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かった。また、循環障害は昏睡発現率は低いものの、非肝不全死による死亡率が高かった。昏睡発現の有無で、予後は大きく異なり、急性肝不全の定義として、昏睡発現が重要な要素であることが明らかになった。

3. WG II 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」の進捗状況が報告された。現時点では、劇症化2例、非劇症化1例の計3例の登録にとどまっております。対象施設や登録方法の見直しが検討された。

4. 肝炎劇症化の予知

藤澤研究協力者は、新肝移植適応ガイドラインを小児の劇症肝不全例で検証した。新ガイドラインのPPV（陽性的中率）は高く、NPV（陰性的中率）は低かった。正診率は肝性脳症発現時で57.5%、5日後で71.4%と、5日後の方が高く、経時的なスコアリングが有用であった。また、1歳以上の群では、1歳未満の群と比較して、正診率が低かった。日本小児肝臓研究会において全国規模で新ガイドライン小児への適応を調査し、最終的には小児劇症肝不全の診療指針をつくる予定となった。

持田研究分担者はデータマイニングの手法を用いて成因不明例のクラスタリングを行った。成因不明例は、自己免疫性および薬物性が多いクラスター、HAVないしHBVの急性感染例が多いクラスター、HBV急性感染例とキャリア例が多いクラスターの3群に分類された。各クラスターを予測する試行モデルを決定木法によって作成し、その正診率は昏睡出現時は68%、その5日後は75%であった。成因不明例に対する治療指針の決定に有用なシステムと考えられた。

鈴木研究協力者は、劇症化予知に重要な肝委縮の客観的評価法としてCTによる肝容積計測（CTLV）とアジアロシンチグラフィー（GSA-S）の有用性を検討した。昏睡発現群と非発現群を比較したところ、標準肝容積に対する計測肝容積の比（CTLV/SLV）に有意差はなかったが、GSA-SによるLHL15 [15分後の肝/（肝+心）] は昏睡発現群で有意に低値であった。ROC解析による曲線下面積は、劇症化予知式0.900、CTLV/SLV 0.758、LHL15 0.850で、それぞれのカットオフは50%、0.70、0.85が適切であることが報告された。

5. 劇症肝炎, LOHF の治療 (全国調査, 分担研究)

2009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90%で核酸アナログ投与が行われており, 2008年と同様に, エンテカビル使用例がラミブジンを上回った。

1) 肝移植

2009年の生体部分肝移植の実施頻度は, 急性型が24%, 亜急性型38%で, 救命率はそれぞれ78%, 75%であった。全体の移植率は例年より高かった。国土研究分担者は, 劇症肝炎全国調査の肝移植実施症例226例について, 肝移植研究会のデータベースに照合し, 212例の移植術後の成績を調査した。肝移植後の1年・5年・10年生存率は80%, 73%, 72%と良好であった。劇症肝炎の病型, 成因分類, 患者年齢, ドナー年齢による生存率に有意差はみられなかった。市田研究協力者は臓器移植法改正後の肝移植の実態を報告した。日本脳死肝移植適応評価委員会に申請登録し, 医学的緊急度9点と判断された症例には, ①劇症肝炎, ②生体肝移植後グラフト機能不全の劇症肝炎に準ずる症例と③非代償性肝硬変の劇症肝炎に準ずる病態があった。劇症肝炎36例中12例が肝移植を受け8例の生存(75%)を認めたが, 内科的治療では24例中6例(25%)が改善した。生体肝移植グラフト機能不全12例中6例は全例肝移植で生存を得たが, 内科的治療の6例は死亡した。

2) 肝補助療法

井上研究協力者は, 血液濾過透析のサイトカイン除去能力について検討した。成因不明の劇症肝炎患者の血液濾過透析では, 1セッションあたり数百 μ グラムのサイトカインが除去されることを報告した。サイトカインストームの改善には, 血液浄化に加え免疫抑制療法によるトリガーポイントの抑制が重要であることを示唆した。

6. 劇症肝炎の病態と新規治療

岡本研究協力者は, 感染培養系を用いて, 急性肝炎患者由来の3型HEV株と劇症肝炎患者由来の4型HEV株の増殖能を比較した。4型HEV株は3型HEV株と比べ活発な増殖パターンが見られ, ウイルス増殖と劇症化の関連性が示された。また, 劇症化4型HEV株の感染性cDNAクローンと非劇症型の4型HEVに見られるC(3148C)やA(5970A), あるいはT(5907T)に置換した変異cDNAクローンの培養細胞での増殖能を比較した。導入された変異により, 増殖効率が低下したことより, これらのゲノム変異によるウイルス増殖能の亢進が4型HEVによる肝炎の重症化に関与していることが示唆された。

横須賀研究協力者は, 自己免疫性急性肝不全の発症進展様式, 診断, 治療法について検討した。発症進展様式は症例により様々で, 重症・劇症例の肝組織所見ではprogenitor cellからhepatocyteへの分化の障害が認められ, 特に治療不応例で著明であることを報告した。また, 発病早期の診断未確定例においてSNMCを早期に単独投与した群とSNMCとステロイドを併用した群で治療効果を比較した。両群とも有意差なくALT低下効果を示し, ステロイド開始までのbridge useとし

てSNMCの有用性を示した。

坪内研究代表者は, de novo B型劇症肝炎のHBV遺伝子解析と肝病理所見を報告した。HBV遺伝子解析では, コアプロモーター変異とプレコア変異が見られ, S領域に1256塩基の欠失やS promoter領域のG3087T変異を認めていた。また, 病理所見では, 劇症肝炎に特徴的なmassive necrosisはなく, 炎症細胞浸潤は軽度で, 肝細胞の変性, 腫大, 空胞化が主な所見であった。また, 免疫組織所見では, 肝細胞内にHBVコア抗原の著明な蓄積を認め, 肝障害と関連する可能性を示唆した。

福井研究協力者は, 急性肝不全症例において血漿ADAMTS13活性の低下がVWFマルチマー, エンドトキシン, IL-6, IL-8, 好中球エラスターゼの上昇と関連していることを報告した。また, 急性肝不全モデルにおいて血漿ADAMTS13活性の著減, 超高分子VWFマルチマーの出現, 消失とともに肝内, 血管内, 壊死組織周辺へのVWFの沈着がみられた。ADAMTS13活性の低下と肝微小循環障害との関連性を示唆した。

森脇研究協力者は, 肝障害誘導におけるTLRの役割について検討した。wild typeマウスおよび腫瘍壊死因子 α (TNF α)ノックアウトマウスに, D-ガラクトサミンおよびそれぞれのTLRに対するリガンドを腹腔内投与し, 血清ALT値およびTNF α 値, 肝組織像の変化を解析した。TLR1/2, TLR3, TLR4, TLR9に対するリガンド投与において, TNF α の増加とともに著明な肝障害が認められ, これらのTLRが肝炎の進展に重要であることを報告した。

竹原研究協力者は肝再生過程で, 肝幹/前駆細胞を介した肝再生過程におけるアダプター蛋白質Grb2 associated binder-1(Gab1)の役割を解析した。肝特異的欠損マウスの解析より, Gab1がマウス肝幹/前駆細胞を介した肝再生を制御していた。また, マウス肝幹/前駆細胞株を用いた検討から, Gab1がその増殖を制御していることが明らかになった。Gab1が重篤な急性肝障害における肝再生療法の新規ターゲット分子になる可能性が報告された。

汐田研究協力者は劇症肝炎などの重症肝障害の際に肝臓へホーミングする細胞とその機序を検討した。HGFは用量依存性に, 造血幹細胞であるLin⁻kit⁺Sca-1⁺CD34⁺細胞を骨髄より末梢血に増員することが明らかになった。また, 動員作用にMMP-9は関与せず, HGFによるSCF誘導作用によるものであることが明らかになった。HGFによる誘導される細胞数は, G-CSF群に比較し, 1ヶ月では有意に増加したが, 2ヶ月後では同程度であった。

坂井田研究協力者は急性肝障害に対する自己骨髄細胞投与の治療効果を検討した。急性肝障害マウスへのGFP陽性骨髄細胞投与モデルにおいて, 投与骨髄細胞の肝内での生着は一時的であり, 明らかな肝障害抑制効果や肝細胞増殖促進作用はみられなかった。また, 骨髄細胞投与はAutophagyを亢進させ, 蓄積した不要な蛋白質処理や, 肝再生に必要なアミノ酸供給に関与し, 肝再生に促進的に作用している可能性を報告した。

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 金沢大学医薬保健研究域医学系 形態機能病理学 教授

A. 研究目的

肝内結石症分科会ではこれまでに、(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の3つを主要な課題とし班研究を進めてきた。具体的には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、各ワーキンググループ主導の下、該当する事業計画に関する検討を行ってきた。3年計画の最終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)

肝内結石症の予後、肝内胆管癌合併、結石再発に影響を与える因子を抽出することを目的とし、本研究班で行われた第5期調査（1998年）登録症例のうち306例を対象に検討した。Kaplan-Meier法（Log Rank test）で $p < 0.2$ となった項目に対してCox回帰分析を施行した結果、肝内胆管癌の合併は重要な予後規定因子であった。黄疸も予後規定因子の一つとして抽出されたが、その死因の多くは肝硬変や胆管炎・肝膿瘍であり、経過中の胆汁うっ滞の解消が重要であると思われる。発癌のリスクは高齢者と切石のみであった。切石のみは結石再発の危険因子でもあり、さらに詳細な検討を要すると思われる。UDCAは発癌のリスクを下げ、UDCA内服による胆汁うっ滞の解消や肝細胞障害の抑制が発癌抑制に作用する可能性が示唆された。

(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)

肝内結石症の診断と治療に関する modality は多彩である。診断治療ワーキンググループでは2007年に跡見班・画像診断ワーキンググループで提案された診断 modality ならびに2009年に日本消化器病学会から提唱された胆石症診療ガイドラインの妥当性を検討した。全国実態調査からは内視鏡治療を主体とした非手術的治療の選択が増加していることが判明したが、疫学調査に基づく肝内胆管癌リスクの検討から、UDCA治療と肝切除の優位性を考慮する改訂の必要性が浮上した。

(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)

肝内胆管癌合併肝内結石症を対象としたFDG-PETおよびDiffusion MRI診断能評価を行った。2001-2010年本研究班参加施設では28例の肝内胆管癌合併肝内結石症例が経験されていたが、FDG-PETおよびDiffusion MRI施行率は低く、FDG-PET施行5例、Diffusion MRI施行4例であった。対象症例数は限定されていたが、詳細にprofileを検討した6例中5例でFDG-PETもしくはDiffusion MRIが診断に有効と判断され、肝内胆管癌合併肝内結石症早期診断に有望な modality 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発癌予測マーカーを見出すことを目的とし、本年度はheat shock protein 70 (HSP70)に着目した検討を行った。免疫染色による検討で、正常肝の胆管上皮にHSP70の発現はほとんどなく、肝内結石症ではBillinや浸潤癌でHSP70の発現増強を認めた。血清HSP70をEIA法で測定した結果、健常人は全例がEIA kitの検出感度以下であった。肝内結石症での血清HSP70は、非癌症例で48例中20例(42%)、胆管癌合併例で8例中7例(88%)が検出感度をこえる測定値を示したが、その測定値が胆管癌症例で高いという傾向は明らかでなかった。胆石症と胆管癌（結石非合併例）で胆汁HSP70を測定した結果、胆管癌で有意に高値を示した。胆汁HSP70は以前に測定した胆汁HSP27と組み合わせることで、胆管癌マーカーとしての感度と特異性が上昇することが期待された。さらに、HSPとは別の新規胆管癌マーカーとしてWisteria floribunda agglutinin (WFA)-sialylated MUC1を同定し、その成果を論文発表した(Hepatology 2010;52:174-182)。

2. 個別研究

(1) 疫学・予後

森研究協力者は、1998年に行われた第5期調査登録症例を対象にコホート調査を行った。261例に対して比例ハザード分析を行い、肝内胆管癌の危険因子を①胆道手術既往例、②胆道手術既往がない症例、③胆道手術既往なし・胆管狭窄なし・無症状例の3群に分けて解析した。胆道手術既往例には切石のみでなく狭窄の解除が重要であった。胆道手術既往がない症例に対しては肝切除が良い適応であり、胆道手術既往なし・胆管狭窄なし・無症状例には経過観察が妥当であると思われる。肝内結石の病態は多彩であり、各病態により適切な治療を選択すべきと考えられた。

八坂研究協力者は、長崎県上五島地域において診断