

- Hepatobiliary Pancreat Sci. 2010 Nov;17(6):898-903.
8. Ishibashi H, Maruyama H, Takahashi M, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Assessment of hepatic fibrosis by analysis of the dynamic behaviour of microbubbles during contrast ultrasonography. *Liver Int.* 2010 Oct;30(9):1355-63.
 9. Yasui S, Fujiwara K, Yonemitsu Y, Oda S, Nakano M, Yokosuka O. Clinicopathological features of severe and fulminant forms of autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol.* 2010 Sep 7. [Epub ahead of print]
 10. Yang L, Kiyohara T, Kanda T, Imazeki F, Fujiwara K, Gauss-Müller V, Ishii K, Wakita T, Yokosuka O. Inhibitory effects on HAV IRES-mediated translation and replication by a combination of amantadine and interferon- α . *Virology.* 2010 Sep 3;7:212.
 11. Chiba T, Seki A, Aoki R, Ichikawa H, Negishi M, Miyagi S, Oguro H, Saraya A, Kamiya A, Nakauchi H, Yokosuka O, Iwama A. Bmi1 promotes hepatic stem cell expansion and tumorigenicity in both Ink4a/Arf-dependent and -independent manners in mice. *Hepatology.* 2010 Sep;52(3):1111-23.
 12. Imada H, Kato H, Yasuda S, Yamada S, Yanagi T, Kishimoto R, Kandatsu S, Mizoe JE, Kamada T, Yokosuka O, Tsujii H. Comparison of efficacy and toxicity of short-course carbon ion radiotherapy for hepatocellular carcinoma depending on their proximity to the porta hepatis. *Radiother Oncol.* 2010 Aug;96(2):231-5.
 13. Imada H, Kato H, Yasuda S, Yamada S, Yanagi T, Hara R, Kishimoto R, Kandatsu S, Minohara S, Mizoe JE, Kamada T, Yokosuka O, Tsujii H. Compensatory enlargement of the liver after treatment of hepatocellular carcinoma with carbon ion radiotherapy - relation to prognosis and liver function. *Radiother Oncol.* 2010 Aug;96(2):236-42.
 14. Maruyama H, Okugawa H, Ishibashi H, Takahashi M, Kobayashi S, Yoshizumi H, Yokosuka O. Carbon dioxide-based portography: an alternative to conventional imaging with the use of iodinated contrast medium. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010 Jun;25(6):1111-6.
 15. Aoki R, Chiba T, Miyagi S, Negishi M, Konuma T, Taniguchi H, Ogawa M, Yokosuka O, Iwama A. The polycomb group gene product Ezh2 regulates proliferation and differentiation of murine hepatic stem/progenitor cells. *J Hepatol.* 2010 Jun;52(6):854-63.
 16. Kanda T, Imazeki F, Nakamoto S, Okitsu K, Fujiwara K, Yokosuka O. Internal ribosomal entry-site activities of clinical isolate-derived hepatitis A virus and inhibitory effects of amantadine. *Hepatol Res.* 2010 Apr 1;40(4):415-23.
 17. Maruyama H, Okabe S, Ishihara T, Tsuyuguchi T, Yoshikawa M, Matsutani

- S, Yokosuka O. Long-term effect of endoscopic injection therapy with combined cyanoacrylate and ethanol for gastric fundal varices in relation to portal hemodynamics. *Abdom Imaging*. 2010 Feb;35(1):8-14.
18. Ito K, Arai M, Imazeki F, Yonemitsu Y, Bekku D, Kanda T, Fujiwara K, Fukai K, Sato K, Itoga S, Nomura F, Yokosuka O. Risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(2):243-9.
5. 新井誠人、今関文夫、横須賀收。HBe 抗体陽性 HBV キャリアにおける発癌スクリーニング。第 14 回日本肝臓学会大会 横浜、肝臓 51 巻、A496 頁、2010 年。
6. 新井誠人、今関文夫、横須賀收。高精度 HBs 抗原定量検査は、B 型肝炎ウイルスキャリアの治療戦略を変えるか。第 14 回日本肝臓学会大会 横浜 (2010/10/15)、肝臓 51 巻、A461 頁、2010 年。
7. 楊伶俐、神田達郎、今関文夫、藤原慶一、横須賀收。A 型肝炎ウイルスの翻訳、複製に対する Amantadine、IFN 併用効果の検討。第 14 回日本肝臓学会大会 横浜、肝臓 A605 頁、2010 年。
8. 石橋啓如、丸山紀史、横須賀收。門脈血栓症の治療効果予測におけるソナゾイド造影超音波の有用性。第 14 回日本肝臓学会大会、横浜、肝臓 A513 頁、2010 年。

2. 学会発表

1. 東郷聖子、新井誠人、沖津恒一郎、米満裕、千葉哲博、神田達郎、藤原慶一、金井文彦、深井健一、今関文夫、横須賀收。高感度 HBs 抗原定量と臨床的背景および発癌との関連の検討。第 46 回日本肝臓学会総会 山形、肝臓 51 巻、A141 頁、2010 年
2. 東郷聖子、新井誠人、沖津恒一郎、米満裕、千葉哲博、神田達郎、藤原慶一、金井文彦、深井健一、今関文夫、横須賀收。HBs 抗原量に着目した HBe 抗原陽性慢性 HBV キャリアの長期フォローアップ検討。第 46 回日本肝臓学会総会 山形、肝臓 51 巻、A141 頁、2010 年
3. 石橋啓如、丸山紀史、高橋正憲、横須賀收。急性門脈血栓症の治療効果予測におけるソナゾイド造影超音波の有用性の検討。第 46 回日本肝臓学会総会 山形、肝臓 51 巻、A222 頁、2010 年
4. 神田達郎、今関文夫、横須賀收。急性 A 型肝炎に対する新たな対策。第 14 回日本肝臓学会大会 横浜、肝臓 51 巻、A489 頁、2010 年。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

特記事項なし

2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書(平成 22 年度)

肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究

研究分担者:大平 弘正 福島県立医科大学消化器・リウマチ膠原病内科学講座 教授

研究協力者:阿部 和道 福島県立医科大学消化器・リウマチ膠原病内科学講座 助教

研究課題:自己免疫性肝炎における肝硬変進展に関する病態解析

研究要旨: 本研究に参加する4施設で登録されたAIH症例300例を対象とし、肝硬変(LC)進展例の実態と臨床病態について検討した。LC症例は62例(20.6%)であり、うち54例(87.1%)は初診時すでにLCであった。LC例、非LC例の2群間でAIH診断時の臨床検査値を比較検討すると、それぞれ、年齢、Alb、血小板数、PT、 γ -globulin値、AST、ALT、生存率で有意差を認めた。肝組織所見には、線維化以外は有意差を認めなかった。観察中のLC進展例は、非LC例と比較し有意に再燃率が高かった。さらに、ステロイド投与前に血清IgG4が測定可能であったAIH 69例を検討すると、血清IgG4高値(135 mg/dl以上)は5例(7.2%)であり、IgG4高値例と低値例と比較すると、LC率、血小板数、TBで有意差を認めた。門脈域にIgG4陽性形質細胞を認めた症例は、いずれも浸潤の程度は軽度であった。AIHにおけるLC症例の多くは、診断時にすでにLCへ進展しており、再燃するAIH症例は、LC進展の可能性が高く、早期診断し、速やかにステロイドや免疫抑制剤を導入することが重要である。血清IgG4高値例におけるLC率が高いことからIgG4とLC進展との関連が示唆され、今後更なる検討が必要と思われた。

A. 研究目的

自己免疫性肝炎(Autoimmune hepatitis, AIH)は、中年の女性に多く発症する肝炎で、血中 γ グロブリンの上昇と抗核抗体(ANA)といった自己抗体の出現を特徴とする。初診時にすでに肝硬変(LC)となっている症例も少なくない。経過観察中のAIHのうち約20%がLCへ進展し、再燃と関連があることが報告されている(Czaja A, et al.1980, Verma S, et al.2004)。LCへ進展するAIHの病態は未だ不明な点が多く、この病態解明には再燃に関する因子を解析することが重要である。

本研究の目的は、AIHにおけるLC進展例の実態を明らかとし、その臨床病態を解明することである。

B. 研究方法

本研究は、AIH 登録症例全てを対象とする

retrospective study である。診断時に肝生検が施行されている、または、I AHG スコアで疑診例以上の AIH 症例を対象に、調査項目を記載し、集計・解析した結果を公表する。久留米大学、大分大学、千葉大学、福島県立医科大学の 4 施設で約 300 例を目標とした。

(倫理面への配慮)

厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に基づいて匿名化した上で、登録患者のプライバシーに配慮し、調査、解析を実施する。

C. 研究結果

(1) AIH 症例の背景

各施設から登録された症例数は 300 例であった。男女比は 35:265、平均年齢 61 歳、平均観察期

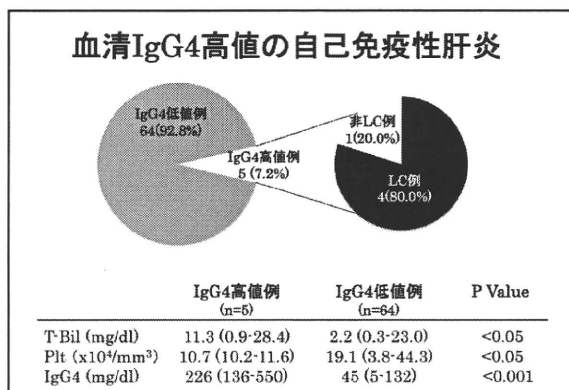
間は78ヶ月, AIHスコア15点であった。

(2) AIHにおけるLC例

LC症例は62例(20.6%)であり,うち54例(87.1%)は診断時すでにLCであった。LC例,非LC例の2群間でAIH診断時の臨床検査値を比較検討すると,年齢(66 vs 60, $p < 0.01$), Alb (3.2 vs 3.7 g/dl, $p < 0.01$), 血小板数 (14.3 vs 19.2 $\times 10^4/\text{mm}^3$, $p < 0.01$), PT (69 vs 85 %, $p < 0.01$), γ -globulin 値 (2.8 vs 2.2 g/dl, $p < 0.01$), ALT (183 vs 368 IU/L, $p < 0.05$), 生存率 (81.3% vs 97.5%, log-rank test; $p < 0.05$)で有意差を認めた。肝組織所見には,線維化以外は有意な差は認めなかった。観察中のLC進展例は,非LC例と比較し有意に再燃率,免疫抑制剤使用率が高かった。

さらに血清IgG4高値(135 mg/dl以上)は5例(7.2%)であり, IgG4高値例と低値例(135 mg/dl未満)で比較すると, LC率(80.0 vs 20.3%, $p < 0.05$), 血小板数(10.7 vs 19.1 $\times 10^4/\text{mm}^3$, $p < 0.05$), TB (11.3 vs 2.2 mg/dl, $p < 0.05$)で有意差を認めた。門脈域にIgG4陽性形質細胞を認めた症例は,いずれも浸潤の程度は軽度であった。血清IgG4高値例はいずれもステロイド反応性は良好であった(図1)。

図1:血清IgG4高値のAIH



D. 考察

AIH症例300例について検討した結果, LC症例は20.6%であり,うち87.1%は初診時すでにLCであった。LC例,非LC例の2群間でAIH診断時の臨床検査値を比較検討すると,年齢, Alb, 血小板数, PT, γ -globulin 値, AST, ALT, 生存率で有意差を認めた。初診時LCであることを反映している結果であった。肝組織所見には,特に有意差は認められなかった。観察中のLC進展例は,非LC例と比較し有意に再燃率,免疫抑制剤使用率が高かった。ステロイド抵抗性で再燃を起こす症例が多く含まれ,LC進展に関与していると思われる。さらに,血清IgG4が測定可能であったAIH 69例を検討してみると,血清IgG4高値5例(7.2%)であり, IgG4高値例と低値例より, LC率が有意に高かった。しかし門脈域にIgG4陽性形質細胞を認めた症例は,いずれも浸潤の程度は軽度であった。

E. 結論

AIHの血清IgG4高値例におけるLC率が高いことからIgG4とLC進展との関連が示唆され,今後更なる検討が必要と思われた。

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

1. 阿部和道 高橋敦史 大平弘正, 自己免疫性肝炎の肝硬変進展におけるIgG4の関与についての検討, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010

H. 知的所得権の所得状況

なし

肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究

研究分担者： 久留米大学医学部内科学講座 消化器内科部門 講師 井出達也

研究： 自己免疫性肝炎における発癌の検討

研究要旨：【目的】自己免疫性肝炎は、通常のウイルス性肝炎に比べ肝癌の発癌率が低いとされるが、肝癌発癌例の特徴や他臓器癌発症の頻度は不明である。今回当科の自己免疫性肝炎(AIH)における発癌状況を検討した。【方法】当科および関連病院で経過観察中の AIH 187 例を対象とした。【成績】187 例の平均年齢は 57.8 歳で、女性：男性=163:24 であった。肝癌発症例は 6 例と肝癌以外の癌発症例は 13 例であった。肝癌発症例の 6 例は、ALT 値、血小板数、AIH スコアが有意に低く、糖尿病を有する例、肝硬変である例が有意に多かった。PSL やアザチオプリンの使用歴と発癌率には差は認められなかった。肝癌以外の発癌例では、AIH スコアが低い例が有意に発癌例が多かった。【結論】AIH 症例において、肝癌発症例は少ないが存在し、肝癌以外の発癌率も高い可能性があり、特に長期治療症例に対しては発癌のリスクを念頭に注意深く観察する必要がある。

で倫理面は問題ないと考えられる。

A. 研究目的

自己免疫性肝炎は、通常のウイルス性肝炎に比べ肝癌の発癌率が低いとされるが、肝癌発癌例の特徴や他臓器癌発症の頻度は不明である。そこで今回当科の自己免疫性肝炎(AIH)における発癌状況を検討した。

B. 研究方法

対象は当科および関連病院において、診断され経過観察中の AIH(type1) 187 例である。検討項目は、発癌率、発癌時期、AIH score、ALT 値、IgG 値、血小板数、BMI、糖尿病・脂肪肝・肝硬変・HBc 抗体の有無、AIH に対する治療内容である。

(倫理面への配慮)

この研究は、retrospective な調査であり、また患者個人の情報も提示されないの

C. 研究結果

(1) 発癌率

対象の 187 例の平均年齢は 57.8 歳 (17-88 歳)で、女性：男性は 163 : 24 であった。

187 例中、癌の発症は 19 例(10.2%)であった。女性 17 例、男性 2 例で、AIH 発症から発癌までの平均観察期間は 87.3 ヶ月であった。うち 3 例は AIH 発症前に発癌していた。

(2) 発癌部位の内訳

発癌部位の内訳は、肝・胆道系が 7 例(35%)、胃 3 例(15%)、膵臓 2 例(10%)、肺 2 例(10%)、口腔癌 2 例(10%)、下咽頭・大腸・乳房・白血病が各 1 例(各 5%)であった。

(3) 発癌例と非発癌例の比較

発癌例 19 例と非発癌例 168 例の背景を比較すると、しかし発癌例では、有意に ALT 値低値 (発癌例 : 非発癌例 = 156 ± 149 IU/L : 450 ± 518 , $P=0.001$)、血小板数低値 (発癌例 : 非発癌例 = $12.1 \pm 7.2 \times 10^4/\text{mm}^3$: 17.5 ± 7.2 , $P=0.01$)、AIH score 低値 (発癌例 : 非発癌例 = 14.4 ± 2.7 : 16.0 ± 3.1 , $P=0.003$) であり、糖尿病有り (発癌例 : 非発癌例 = 58.3% (7/19) : 15.3% (22/166), $P=0.02$) の例が多かった。また AIH の治療別に発癌率をみると、PSL 治療例では、9.9% (15/152)、アザチオプリン治療例では、11.4% (4/35)、いずれでも治療していない例では、9.1% (3/33) であり、治療別に有意差は認められなかった。

(4) 肝癌例と非肝癌例の比較

肝癌発症例は 6 例であり、非肝癌例 181 例と背景を比較すると、肝癌発症例では、有意に ALT 値低値 (発癌例 : 非発癌例 = 46 ± 17 : 433 ± 504 , $P=0.0006$)、血小板数低値 (発癌例 : 非発癌例 = 6.2 ± 2.3 : 17.3 ± 7.2 , $P=0.002$) であり、糖尿病有り (発癌例 : 非発癌例 = 66.7% (4/6) : 14.0% (25/179), $P=0.02$)、肝硬変有り (発癌例 : 非発癌例 = 66.7% (4/6) : 16.8% (30/179), $P=0.002$) の例が多かった。また PSL やアザチオプリンの治療歴でも差は認められなかった。しかし肝癌以外の癌 13 例と癌がない例 168 例を比較すると、AIH score が癌有りでは 13.9 ± 2.9 、癌無しでは 16.0 ± 3.1 と有意に癌有りでは AIH score が低かった。

D. 考察

今回、我々は AIH 例で癌の発症について検討した。肝癌が最も多いことから、肝癌に最も注意を払いつつ診療を行うことが重要と考えられた。しかし一方で多臓器の癌の発症もあり、注意が必要である。今回の検討では、肝癌以外の部位の発癌の危険因子は明らかではなかった。AIH スコアが低い例が発癌率が高かったがこの理由については不明であった。

一方で、AIH では PSL やアザチオプリンを使用することが多いが、PSL やアザチオプリンを使用した例の方が発癌率が高いということではなく、発癌という観点からは使用を控える必要はないことが示唆された。

一方、肝癌発症例では、ALT 値低値、血小板数低値、肝硬変であることなど肝線維化進展例での肝癌発症が有意に多かった。今回はさらに糖尿病がある例の方が肝癌の発症率が高いことが判明した。研究分担者の川口が報告しているように、C 型肝炎でも、糖尿病が危険因子となることが判明しており、AIH においても同様のことが関与しているのかもしれない。

E. 結論

AIH における発癌は 10.2% (肝癌 3.2%、肝癌以外 7.0%) にみられた。AIH 症例は肝癌以外の発癌率も高い可能性があり、特に長期治療症例に対しては発癌のリスクを念頭に注意深く観察する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ide T, Hino T, Ogata K, Miyajima I, Kuwahara R, Kuhara K, Sata M. Peginterferon-alpha-2b plus

ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C as assessed by a multi-institutional questionnaire in Japan. *Hepatology* 2010; 40: 557-565.

2. 学会発表

1. Ide T, Arinaga T, Ogata K, Miyajima I, Kuhara K, Kuwahara R, Sata M. Type IV collagen as predictive factor of relapsers in elderly women with chronic hepatitis C, genotype 1b, treated with peginterferon and ribavirin. The 7th APASL Single Topic Conference "Hepatitis C Virus" Chiba, Japan, 2010.
2. Ogata K, Ide T, Arinaga T, Miyajima I, Kumashiro R, Kuwahara R, Sata M. Comparative study of mutations of HCV IRES is useful for the prediction of the effectiveness of the pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C. The 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), Boston, USA, 2010.
3. Goto T, Yoshida H, Miyase S, Fujimaya S, Imazeki F, Yokosuka O, Matsumura H, Moriyama M, Yamamoto Y, Nishiguchi S, Kondo Y, Ueno Y, Sindo M, Yasutake A, Yamada G, Genda T, Ichida T, Ide T, Sata M, Shibuya A, Omata M, Koike K. Prospective randomized controlled "Head to Head" trial of peginterferon alpha-2a versus peginterferon alpha-2b in combination with ribavirin (IHIT-II) study: the second report. 20th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL), Beijing, China 2010.
4. Ogata K, Kashiwagi T, Ide T, Hamada N, Watanabe H, Sata M. Strong correlation between mutations in internal ribosome entry site (IRES) domain III region of hepatitis C virus and sensitivity to anti-viral therapy for chronic hepatitis C. BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会) 神戸 2010.
5. Miyajima I, Ide T, Arinaga T, Ogata K, Kuwahara R, Kuhara K, Sata M. Management for younger patients with chronic hepatitis B in Japan. The 8th JSH Single Topic Conference, Tokyo, Japan, 2009.
6. 井出達也、有永照子、宮島一郎、緒方啓、久原孝一郎、桑原礼一郎、佐田通夫. 高齢女性におけるC型慢性肝疾患のインターフェロン治療効果の検討. 第46回日本肝臓学会総会 山形 2010.
7. 井出達也、有永照子、宮島一郎、緒方啓、桑原礼一郎、佐田通夫. C型慢性肝炎難治例に対するIFNβ 1日2回投与および二重濾過血漿交換療法の応用とHCVアミノ酸

- 変異. 第 14 回日本肝臓学会大会
横浜 2010.
8. 井出達也、C型慢性肝炎における
インターフェロン治療. - 治療の
工夫とウイルス側要因 - 第 22
回肝臓フォーラム(西部)大阪
2010.
 9. 有永照子、井出達也、宮島一郎、
緒方 啓、久原孝一郎、桑原礼一
郎、古賀郁利子、鳥村拓司、神代
龍吉、佐田通夫 自己免疫性肝炎
における診断基準としての IAIHG
改訂版と simplified criteria の
評価検討. 第 14 回日本肝臓学会大
会 横浜 2010.
 10. 阿部和道、菅野有紀子、斉藤広信、
高橋敦史、横川純子、有永照子、
井出達也、西村順子、井上 恵、
清家正隆、佐田通夫、入澤篤志、
大平弘正 自己免疫性肝炎の肝硬変
進展における IgG4 の関与につい
ての検討. 第 46 回日本肝臓学会総
会 山形 2010.
 11. 宮島一郎、井出達也、桑原礼一郎、
久原孝一郎、緒方 啓、有永照子、
佐田通夫 B 型慢性肝疾患に対する
核酸アナログ製剤投与中止例の検
討. 第 14 回日本肝臓学会大会 横
浜 2010.

G. 知的所得権の所得状況

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(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書(平成 22 年度)

肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究

研究分担者： 清家 正隆 大分大学医学部 肝疾患相談センター 講師
研究協力者： 井上 恵 大分大学医学部 総合内科学第一講座 大学院
後藤 孔郎 大分大学医学部 総合内科学第一講座 医員

研究課題： 過栄養性脂肪肝から脂肪肝炎への進展過程における脾臓の関与

研究要旨：近年、肥満症およびメタボリック症候群と免疫との関係が注目されている。脾臓は生体内の主要な免疫臓器であり、肝臓と門脈を介して密接な関係にある臓器であるにも関わらず、脂肪性肝疾患における脾臓機能の役割については明らかとされていない。そこで、本研究では脂肪性肝疾患とその進展過程における脾臓の関与について検討してきた。これまでの結果から、肥満ラットの肝臓は脾臓摘出により単純性脂肪肝から脂肪肝炎へ進展することが明らかとなった。本年度は、この進展が脾臓摘出という脾臓機能の「喪失」が原因で生じるのか、あるいは脾臓機能が究極に「低下」した状態としての結果であるのかを、脾臓全摘群、シャム手術群とともに脾臓部分(半)摘出群を作成して検討した。シャム手術群、脾臓半摘群、脾臓全摘群の順に残存脾臓容積が減少するに従って、末梢血の脂質異常は悪化し、肝臓の脂肪沈着は増加した。また、残存脾臓容積の減少とともに、肝臓クッパー細胞数は増加し、肝臓内サイトカイン値は上昇していた。以上より、脾臓部分切除により脾臓機能を低下させると、脾臓全摘出時同様、肝臓の脂肪化は増悪し、炎症が惹起されるという結果が得られた。脾臓の喪失ではなく、脾臓機能低下状態が過栄養性脂肪肝から脂肪肝炎への進展をきたす原因であることが示唆され、ヒトにおける非アルコール性脂肪肝炎の病態形成においても慢性的な脾臓機能低下状態が関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

脂肪性肝疾患を含むメタボリック症候群の発症には、肥満が有する“慢性炎症状態”が深く関与しているとされ、肥満症およびメタボリック症候群と免疫との関係が注目されている。また、脾臓は生体内の主要な免疫臓器であり、肝臓と門脈を介して密接な関係にある臓器である。しかし、脂肪性肝疾患における脾臓機能の関与については明らかではない。そこで、脂肪性肝疾患とその進展過程における脾臓の関与を調べるために、本研究では、高脂肪食負荷にて作成した脂肪肝ラットの脾臓を摘出し、その肝臓における影響を検討してきた。これまでの結果から、肥満ラットの肝臓は脾臓摘

出により単純性脂肪肝から脂肪肝炎へ進展することが明らかとなった。本年度は、この進展が脾臓摘出という脾臓機能の「喪失」のために生じたのか、あるいは脾臓機能が究極に「低下」した結果であるのかを、脾臓全摘群、シャム手術群に加え、脾臓部分(半)摘出群を作成して検討した。

B. 研究方法

8週齢の雄性SDラットに60%高脂肪食を4週間給餌して単純性脂肪肝を有する肥満ラットを作成した後、3群に分けてそれぞれ脾臓摘出術(T-SPX群)、シャム手術(Sham群)、脾臓半摘

出術(H-SPX 群)を施行した。術後も引き続き高脂肪食を負荷し、術後 12 週目に血液採取、臓器を摘出した。末梢血では脂質マーカー(中性脂肪、遊離脂肪酸、総コレステロール)と血清 ALT 値を測定した。摘出肝臓では HE 染色を用いて組織学的変化を観察し、さらに組織中の中性脂肪含有量を測定して脂肪化を評価した。また、CD68 免疫染色と western blot 法にてクッパー細胞への影響を評価し、組織中の炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1)含有量を測定した(ELISA 法)。

C. 研究結果

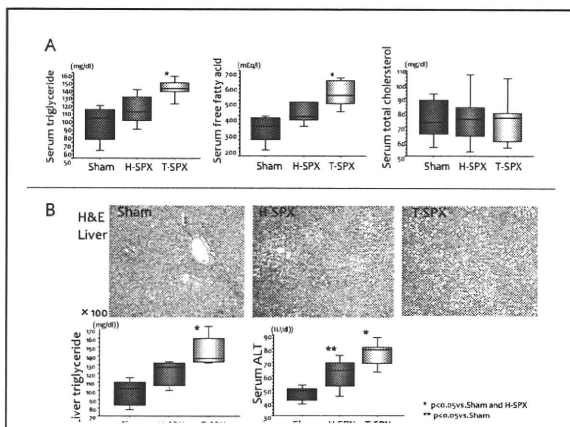
(1) 末梢血の脂質マーカー

脾臓残存容積が減少するにしたがって、末梢血中の中性脂肪、遊離脂肪酸は上昇した(図 1A)。

(2) 肝組織、肝臓内中性脂肪含有量および血清 ALT 値

高脂肪食負荷による肝臓の脂肪沈着および血清 ALT 値は、脾臓残存容積の減少とともに悪化傾向にあった。これらはいずれも T-SPX で他の群と比較して有意な増加を示しており、Sham 群と H-SPX 群の間には有意差は認めなかった(図 1B)。

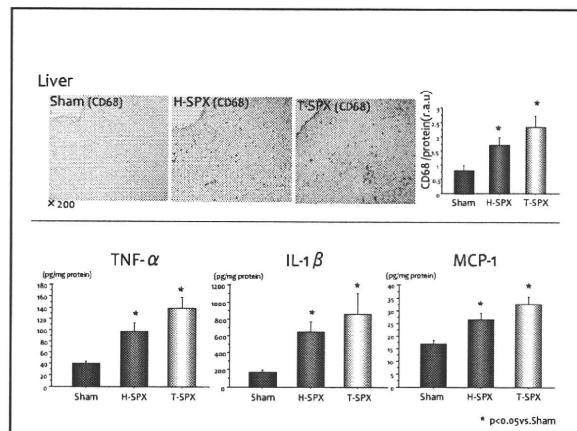
図1: 血中脂質マーカーおよび肝臓における変化



(3) 肝臓クッパー細胞数および炎症性サイトカイン濃度の変化

クッパー細胞数、および肝臓組織中の炎症性サイトカイン濃度も、脾臓の残存容積の減少に伴って増加・上昇する傾向にあった。そして、これらは Sham 群と比較して脾臓切除した他の2群ともに有意な上昇を示しており、H-SPX 群と T-SPX 群間には有意差は認められなかった(図2)。

図2: クッパー細胞数および炎症性サイトカイン濃度の変化



D. 考察

脾臓部分切除により脾臓機能を低下させた肥満ラットの肝臓は、脾臓摘出時同様の所見(肝臓の脂肪化増悪、炎症の惹起)を呈していた。以上の結果より、脾臓摘出後の単純性脂肪肝から脂肪肝炎への進展は、脾臓組織の完全喪失によるものではなく、脾臓機能低下状態が原因であると考えられた。

E. 結論

非アルコール性脂肪肝炎の病態形成およびその進展過程に、慢性的な脾臓機能低下状態が関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

(1) 井上恵, 清家正隆, 後藤孔郎, 正木孝幸, 本田浩一, 加隈哲也, 吉松博信 単純性脂肪肝から脂肪肝炎への進展過程における脾臓の役割
第46回日本肝臓学会総会 山形 2010

(2) Inoue M, Gotoh K, Seike M, Masaki T, Kakuma T, Yoshimatsu H. The role of spleen in regulating diet-induced steatohepatitis in rats. 14th International Congress of Endocrinology. Kyoto 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特記事項なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書(平成 22 年度)

肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究

研究分担者: 久留米大学バイオ統計センター 教授 角間辰之

研究課題: 肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究における生物統計学的解析

研究要旨: Non HBV- and non HCV-related Hepatocellular Carcinoma の The Milan criteria によるステージングと13のリスク因子の関連性を、樹形モデルおよびグラフィカルモデリング手法を用い、リスク因子間の非対称な交互作用のモデル化、リスク因子を用いた臨床的プロファイリング作成を通して検討した。グラフィカルモデリングから、病期進展と直接関連のあったリスク因子は diagnostic year of HCC, diagnosis of liver cirrhosis, serum AST, ALT, alpha-fetoprotein (AFP), and des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) levels であった。樹形モデルでは、6つの臨床プロファイルを作成した。例えば、AFP \leq 200 ng/mL, 肝硬変, AST $<$ 93 IU/mL の患者の69%が Milan criteria 基準内であったが、AFP $>$ 200 ng/mL 且つ ALT \geq 17 IU/mL の患者のわずか18%が Milan criteria 基準内であった。

A. 研究目的

近年、非 B 非 C 肝細胞癌の増加傾向が見られるが、advanced stage まで発見されないケースが多く病理がよく解明されていない。そこで、本研究は既存データの活用を通し臨床仮説を生み出す (clinical hypotheses generation) ことを目的に、非 B 非 C 肝細胞癌の病期進展に関与するリスク因子の検討及びリスク因子を用いた患者の臨床的特徴プロファイルの作成を行った。

B. 研究方法

1995 年から 2006 年に九州 23 施設で非 B 非 C 肝細胞癌と診断された 1,363 名の患者のうち、13 のリスク因子 (Diagnostic Year of HCC, AST, ALT, AFP, DCP, LC, DM, Alcohol Intake, Liver Disease, age, sex, Family History of Liver Disease, History of Blood Transfusion) の欠損値がない 663 名からのデータを用いた。今回用いたデータは、(A) 具体的な仮説の検証を行う目的で収集された

データでなく、(B) 更に具体的な治療効果などの介入効果の影響を検討するために収集されたデータでもなく、(C) 治療が無作為割付は行われておらず、比較群も設置されていない、特徴を持つデータである。このようなデータの解析では、交絡因子を考慮しないことによる見せ掛けの相関が生じたりするが、臨床的根拠に基づくリスク因子モデルが存在しないので、病期進展に関与するリスク因子の検討はあくまで探索的観点から行った。具体的には、graphical modeling と classification tree といった探索的データ解析の手法を用いて、リスク因子間の非対称な交互作用のモデル化、更には 13 のリスク因子を用いた臨床的プロファイリング作成をおこなった。

(倫理面への配慮)

個人が特定できる情報が既に削除された解析用データセットを用いたので、データ解析における倫理的問題は発生しないと考えた。更に、解析データ及びプログラム・解析結果はセキュリティーの

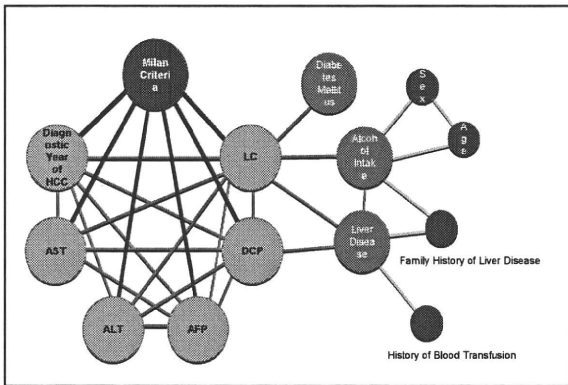
高いコンピュータに保存され、外部への情報流失の危険性は極めて低いと考える。

C. 研究結果

(1) グラフィカルモデリングの結果

統計ソフト MIM (<http://www.hypergraph.dk/>) を用いグラフィカルモデリングを行った。その結果、6つのリスク因子 {diagnostic year of HCC, diagnosis of liver cirrhosis, serum AST, ALT, alpha-fetoprotein (AFP), and des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) levels}、と病期進展度 (Milan criteria) の間に直接関連性が見られた(図1)。

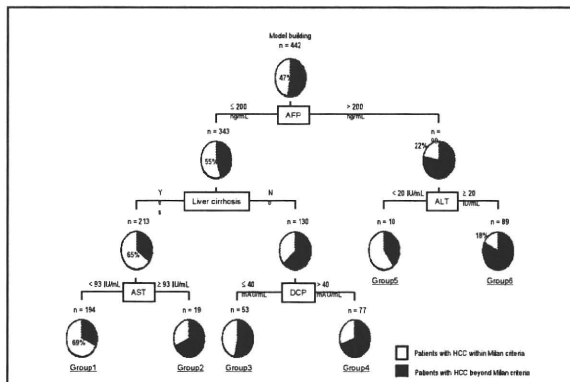
図1: Milan criteria とリスク因子の関係



(2) 樹形モデルの結果

663名のデータを学習データ(n=442)とテストデータ(n=221)に無作為に分け、Milan criteriaを2値の反応変数、13個のリスク因子を説明変数にとって樹形モデルを学習データにあてはめた。

図2: 非B非C肝細胞癌の臨床プロファイル



樹形モデルでは APF, Liver cirrhosis, AST, DCP,ALTの5つのリスク因子が用いられ6つの臨床プロファイルが作成された(図2)。この臨床プロファイリングの精度を検証するために、テストデータを用い感度、特異度、誤判別率を求め、それぞれ73%,67%,30%であった。

E. 結論

グラフィカルモデリング・樹形モデルを用いた探索的データ解析を行い、複雑なリスク因子間の相関関係や、非対称な相互作用に基づいた臨床プロファイルの作成ができた。この解析結果を基に臨床仮説が設定され、検証的な臨床試験がデザインされれば、探索的データ解析の有用性が示されると考える。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Data Mining Revealed Complex Interactions of Risk Factors and Clinical Feature Profiling Associated with Staging of non-HBV non-HCV-Hepatocellular Carcinoma. (Submitted for publication) Takumi Kawaguchi, Tatsuyuki Kakuma Hiroshi Yatsushashi, Hiroshi Watabebe, Hideki Saito, Kazuhiko Nakao, Akinobu Taketomi, Satoshi Ohta, Akinari Tabaru, Kenji Takenaka, Toshihiko Mizuta, Kenji Nagata, Yasuji Komorizono, Kunitaka Fukuizumi, Masataka Seike, Shuichi Matsumoto, Tatsuji Maeshiro, Hirohito Tsubouchi, Toyokichi Muro, Osami Inoue, Motoo Akahoshi, Michio Sata, The Liver Cancer Study Group of Kyushu.

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
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし

Ⅲ . 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
Kawaguchi T, Nagao Y, Sata M.	Taste Alteration in Palliative Care	Victor R Preedy	Handbook of Nutrition and Diet in Palliative Care	Taylor & Francis Group, LLC.	Boca Raton, FL 33487 , USA	2011	In Press
長尾由実子、 佐田通夫	肝炎ウイルスに よる肝外病変.	幕内雅敏・ 菅野健太 郎・工藤正 敏	今日の消化 器疾患治療 指針 第3 版	医学書院	東京	2010	592-595
長尾由実子、 佐田通夫	九州X町の疫学 研究～肝疾患並 びに肝外病変の 病態と治療の方 策～	河田純男・ 佐田通夫・ 新澤陽英・ 齋藤貴史	HCV感染の natural courseを探 る：わが国 におけるコ ホート研究	山形大学 出版会	山形	2010	23-32

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawaguchi T, Shiba N, Maeda T, et al.	Hybrid-Training of Voluntary and Electrical Muscle Contractions Reduces Steatosis, Insulin Resistance and IL-6 Levels in Patients with NAFLD: A Pilot Study.	J Gastroenter ol		In Press.	2011
Kawaguchi T, Shiba N, Takano Y, Maeda T, Sata M.	Hybrid-Training of Voluntary and Electrical Muscle Contractions Decreased Fasting Blood Glucose and Serum Interleukin-6 Levels in Elderly People: A Pilot Study.	Appl Physiol Nutr Metab		In Press.	2011
Itou M, Kawaguchi T, Taniguchi E, et al.	Supplementation before Endoscopic Therapy for Esophageal Varices Reduces Mental Stress in Patients with Liver Cirrhosis.	Hepatogastr oenterology		In Press.	2011
Kawaguchi T, Itou M, Taniguchi E, et al.	Serum Level of Free Fatty Acids is Associated with Nocturnal Hypoglycemia in Cirrhotic Patients with HCV Infection: A Pilot Study.	Hepatogastr oenterology		In Press.	2011
Fujimoto K, Kawaguchi T, Nakashima O, Ono J, Ohta J, Kawaguchi A, Tonan T, Ohshima K, Yano H, Hayabuchi N, Izuhara K, Sata M.	Periostin, a matrix protein, has potential as a novel serodiagnostic marker for cholangiocarcinoma.	Oncology Report		In Press	2011

Taura N, Fukushima N, <u>Yatsuhashi H</u> , Takami Y, Seike M, Watanabe H, Mizuta T, Sasaki Y, Nagata K, Tabara A, Komorizono Y, Taketomi A, Matsumoto S, Tamai T, Muro T, Nakao K, Fukuizumi K, Maeshiro T, Inoue O, Sata M	The incidence of hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C infection decreased in Kyushu area	Med Sci Monit.	17(2)	PH7-11	2011
Takahashi M, Maruyama H, Ishibashi H, Yoshikawa M, <u>Yokosuka O</u>	Contrast-enhanced ultrasound with perflubutane microbubble agent: evaluation of differentiation of hepatocellular carcinoma.	AJR Am J Roentgenol.	196	W123-131	2011
Sogawa K, Kodera Y, Satoh M, Kawashima Y, Umemura H, Maruyama K, Takizawa H, <u>Yokosuka O</u> , Nomura F.	Increased Serum Levels of Pigment Epithelium-Derived Factor by Excessive Alcohol Consumption-Detection and Identification by a Three-Step Serum Proteome Analysis.	Alcohol Clin Exp Res.	35	211-217	2011
Fujiwara K, Kojima H, Yasui S, Okitsu K, Yonemitsu Y, Omata M, <u>Yokosuka O</u> .	Hepatitis A viral load in relation to severity of the infection.	J Med Virol.	83	201-207	2011
Bekku D, Arai M, Imazeki F, Yonemitsu Y, Kanda T, Fujiwara K, Fukai K, Sato K, Itoga S, Nomura F, <u>Yokosuka O</u> .	Long-term follow-up of patients with hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B.	J Gastroenterol Hepatol.	26	122-128	2011
<u>Nagao Y</u> , Matsuoka H, Kawaguchi T, Sata M.	Aminofeel® improves the sensitivity to taste in patients with HCV-infected liver disease.	Med Sci Monit	16	7-12	2010
<u>Nagao Y</u> , Sata M.	Dental problems delaying the initiation of interferon therapy for HCV-infected patients.	Virol J	7	192	2010
<u>Nagao Y</u> , Sata M.	Serum albumin and mortality risk in a hyperendemic area of HCV infection in Japan.	Virol J	7	375	2010
佐田通夫、 <u>長尾由実子</u> 、大坪維範、岡村 孝.	C型肝炎. HCV感染とB cell clonality、口腔癌、インスリン抵抗性についての検討	犬山シンポジウム記録刊行会	27	137-142	2010
<u>長尾由実子</u> 、佐田通夫.	C型肝炎の臨床最前線. IFN治療普及のための戦略.	肝胆膵	61	28-35	2010

Sakata M, <u>Kawaguchi T</u> , Taniguchi E, et al.	Oxidized albumin is associated with water retention and severity of disease in patients with chronic liver diseases.	e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism	5	e247-e53	2010
Sakata S, <u>Kawaguchi T</u> , Taniguchi E, et al.	Redox state of albumin is not associated with colloid osmotic pressure.	Mol Med Rep.	3	685-7	2010
<u>Kawaguchi T</u> , Sata M.	Importance of hepatitis C virus-associated insulin resistance: therapeutic strategies for insulin sensitization.	World J Gastroenterol	16	1943-52	2010
<u>Kawaguchi T</u> , Taniguchi E, Itou M, Sumie S, Yamagishi S, Sata M.	The pathogenesis, complications and therapeutic strategy for hepatitis C virus-associated insulin resistance in the era of anti-viral treatment.	Rev Recent Clin Trials	5	147-57	2010
<u>Kawaguchi T</u> , Yamagishi SI, Sata M.	Structure-function relationships of PEDF.	Curr Mol Med	10	302-11	2010
Kanda T, Jeong SH, Imazeki F, Fujiwara K, <u>Yokosuka O</u> .	Analysis of 5' nontranslated region of hepatitis a viral RNA genotype I from South Korea: comparison with disease severities.	PLoS One.	5	e15139	2010
Fujiwara K, Yasui S, Okitsu K, Yonemitsu Y, Oda S, <u>Yokosuka O</u> .	The requirement for a sufficient period of corticosteroid treatment in combination with nucleoside analogue for severe acute exacerbation of chronic hepatitis B.	J Gastroenterol.	45	1255-1262	2010
Kasuga A, Mizumoto H, Matsutani S, Kobayashi A, Endo T, Ando T, Yukisawa S, Maruyama H, <u>Yokosuka O</u> .	Portal hemodynamics and clinical outcomes of patients with gastric varices after balloon-occluded retrograde transvenous obliteration.	J Hepatobiliary Pancreat Sci.	17	898-903	2010
Ishibashi H, Maruyama H, Takahashi M, Fujiwara K, Imazeki F, <u>Yokosuka O</u> .	Assessment of hepatic fibrosis by analysis of the dynamic behaviour of microbubbles during contrast ultrasonography.	Liver Int.	30	1355-1363	2010
Yasui S, Fujiwara K, Yonemitsu Y, Oda S, Nakano M, <u>Yokosuka O</u> .	Clinicopathological features of severe and fulminant forms of autoimmune hepatitis.	J Gastroenterol.			2010

Yang L, Kiyohara T, Kanda T, Imazeki F, Fujiwara K, Gauss-Müller V, Ishii K, Wakita T, <u>Yokosuka O.</u>	Inhibitory effects on HAV IRES-mediated translation and replication by a combination of amantadine and interferon- α .	Virology J.	7	212	2010
Chiba T, Seki A, Aoki R, Ichikawa H, Negishi M, Miyagi S, Oguro H, Saraya A, Kamiya A, Nakauchi H, <u>Yokosuka O.</u> , Iwama A.	Bmi1 promotes hepatic stem cell expansion and tumorigenicity in both Ink4a/Arf-dependent and -independent manners in mice.	Hepatology.	52	1111-1123	2010
Imada H, Kato H, Yasuda S, Yamada S, Yanagi T, Kishimoto R, Kandatsu S, Mizoe JE, Kamada T, <u>Yokosuka O.</u> , Tsujii H.	Comparison of efficacy and toxicity of short-course carbon ion radiotherapy for hepatocellular carcinoma depending on their proximity to the porta hepatis.	Radiother Oncol.	96	231-235	2010
Imada H, Kato H, Yasuda S, Yamada S, Yanagi T, Hara R, Kishimoto R, Kandatsu S, Minohara S, Mizoe JE, Kamada T, <u>Yokosuka O.</u> , Tsujii H.	Compensatory enlargement of the liver after treatment of hepatocellular carcinoma with carbon ion radiotherapy - relation to prognosis and liver function.	Radiother Oncol.	96	236-242	2010
Maruyama H, Okugawa H, Ishibashi H, Takahashi M, Kobayashi S, Yoshizumi H, <u>Yokosuka O.</u>	Carbon dioxide-based portography: an alternative to conventional imaging with the use of iodinated contrast medium.	J Gastroenterol Hepatol.	25	1111-1116	2010
Aoki R, Chiba T, Miyagi S, Negishi M, Konuma T, Taniguchi H, Ogawa M, <u>Yokosuka O.</u> , Iwama A.	The polycomb group gene product Ezh2 regulates proliferation and differentiation of murine hepatic stem/progenitor cells.	J Hepatol.	52	854-863	2010
Kanda T, Imazeki F, Nakamoto S, Okitsu K, Fujiwara K, <u>Yokosuka O.</u>	Internal ribosomal entry-site activities of clinical isolate-derived hepatitis A virus and inhibitory effects of amantadine.	Hepatology Res.	40	415-423	2010
Maruyama H, Okabe S, Ishihara T, Tsuyuguchi T, Yoshikawa M, Matsutani S, <u>Yokosuka O.</u>	Long-term effect of endoscopic injection therapy with combined cyanoacrylate and ethanol for gastric fundal varices in relation to portal hemodynamics.	Abdom Imaging.	35	8-14	2010
Ito K, Arai M, Imazeki F, Yonemitsu Y, Bekku D, Kanda T, Fujiwara K, Fukai K, Sato K, Itoga S, Nomura F, <u>Yokosuka O.</u>	Risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. Scand	J Gastroenterol.	45	243-249	2010

Komatsu N, Yutani S, Yamada A, Shichijo S, Yoshida K, Itou M, Kuromatsu R, Ide T, Tanaka M, Sata M, and Itoh K	Prophylactic effect of peptide vaccination against hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus	Experimental and Therapeutic Medicine	1(4)	619-626	2010
Imafuku S, Nakayama J	Questionnaire-based survey of the treatment of patients with psoriasis and hepatitis C in Japan.	J Eur Acad Dermatol Venereol	24	1114-1116	2010
Tonan T	Chronic hepatitis and cirrhosis on MR imaging	Magn Reson Imaging Clin N Am	18(3)	383-402	2010