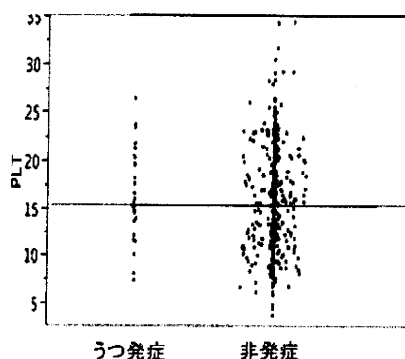


精神疾患の既往(うつ例：非うつ例=14.8% (4/23): 2.3% (11/476), $p=0.006$)であり、精神疾患の既往を有する例が有意にうつを発症した。

(4) うつ発症例と非うつ発症例の血小板数の分布

上述したように、血小板数はうつ例と非うつ発症例で平均値では優位差は認めなかったため、分布を検討した。図に示すように分布をみても、うつ例と非発症例で分布の違いは認められなかった。

うつ発症と非発症の血小板数の分布



D. 考察

C型慢性肝疾患における血小板数低値例では、肝組織進展例が多いと考えられるが、肝組織進展例では、高齢者が多いことや、肝癌に対する不安、インターフェロン治療効果に対する不安などからインターフェロン治療中にうつが発生頻度が高いと予測した。一方で血小板数とうつの発生と関連の検討の報告はまだない。しかしながら予想に反し、血小板数とうつの発生頻度に差を認めなかった。しかし精神疾患の既往には優位差をみとめたことから、うつの発症には肝疾患の進展度より精神的問題が大きく左右することが判明した。しかし症例数をみてもうつを発症した23例中、精神疾患を持った例は4例(14.8%)であり、残り19例は精神疾患の既往がなく、うつを発症しており、どのような例がうつを発症するのか単なる臨床データか

らは現時点では推測は困難と思われる。実際の臨床でも治療前はともうつになるように思えない患者がうつを発症することは経験する。今後は症状が発現していないが、うつを発症する要因にSNPs解析などの応用が期待される。

E. 結論

インターフェロン治療におけるうつ病発症と血小板数の間に関連は認められなかった。

F. 健康危険情報

特記すべき事なし

G. 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. *Hepatol Resear* 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), Boson, 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, Tatsuya Ide, Michio Sata, 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 IFN β 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.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
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

血小板低値に対する脾臓摘出の効果とインターフェロン治療成績に関する研究

研究分担者 林 純（九州大学病院 総合診療科 教授）

研究要旨：血小板低値 40 例に対し、脾臓摘出後にインターフェロン治療を行った。脾臓摘出に伴う肝機能改善、血小板数上昇は認められたが、インターフェロン治療効果は低く、特に難治例（HCV1 型高ウイルス量）では、著効率が 16.7 %と極めて低かった。

研究協力者

古庄 憲浩（九州大学病院総合診療科 准教授）
村田 昌之（九州大学病院総合診療科 講師）
貝沼 茂三郎（九州大学病院総合診療科 診療講師）
小川 栄一（九州大学病院総合診療科 特任助教）

A. 研究目的

血小板低値例は肝硬変症例も多く、インターフェロン治療効果も低いとされているが、本研究は脾臓摘出による血小板数増加あるいは肝機能の改善効果によるインターフェロン治療の安全性や治療効果評価を目的とする。

B. 研究方法

2000 年～2009 年までに血小板低値患者に脾臓摘出、インターフェロン治療を行った 40 例（男性 21 例、女性 19 例、平均年齢 54.6 歳、治療前平均血小板数 4.7 万）を対象とした。

（倫理面への配慮）

特になし

C. 研究結果

脾臓摘出により、有意な肝機能の改善が得られた（血清アルブミン値の上昇、プロトロンビン活性の上昇、血小板数の上昇）。また、インターフェロン治療効果は、HCV 遺伝子 1 型では著効率 36.8 %、2 型では 66.6 %とやや低目であり、特

に難治性と言われる 1 型高ウイルス量症例では、著効率が 16.7 %と極めて低かった。治療中止例は 4 例あり、いずれも著効は示さなかった。中止の原因は全て肝細胞癌の発症であった。

D. 考察

脾臓摘出により肝機能の改善効果は認められたが、元々肝硬変症例が多いことも反映して、インターフェロン治療効果は一般的な成績よりも悪かった。脾臓摘出に伴う重症感染症のリスクもあることから、脾臓摘出する対象者を十分に吟味する必要がある。また、最近 IL28B 遺伝子多型測定により、高率でインターフェロン治療効果を予測することが出来るようになったため、今後は遺伝子解析も含めた検討が必要と思われる。

E. 結論

血小板数低値例に対し、脾臓摘出による肝機能改善効果は認められたが、その後のインターフェロン治療効果は通常より低く、特に HCV1 型高ウイルス症例では著効率が極めて低かった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Furusyo N, Murata M, Ogawa E, Toyoda K, Ihara T, Ikezaki H, Hyashi T, Koga T, Kainuma M, Hayashi J, Ribavirin concentration in the later stages of 48-week pegylated interferon-alfa 2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C is useful for predicting virological response, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (in press)
 - 2) Kainuma M, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamuta M, Kotoh K, Azuma K, Shimono J, Shimoda S, Hayashi J. Pegylated interferon α -2b plus ribavirin for older patients with chronic hepatitis C, *World Journal of Gastroenterology*, 2010;16(35):4400-4409.
 - 3) Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Taniai H, Otaguro S, Kainuma M, Murata M, Sawayama Y, Hayashi J, Excellent superiority and specificity of COBAS TaqMan HCV assay in an early viral kinetic change during pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin treatment, *BMC Gastroenterology*, 2010;10:38.
 - 4) 林 純, 古庄憲浩, C 型肝炎ウイルスの疫学的・臨床的研究, *福岡医学雑誌*, 2010;101(3): 46-52.
- ### 2. 学会発表
- 1) 古庄憲浩、居原毅、海野麻美、古賀恒久、永樂順三、迎 はる、貝沼茂三郎、村田昌之、澤山泰典、林 純. C 型肝炎に対するウイルス療法におけるウイルス血症モニタリングの検討 第 84 回日本感染症学会総会 京都 2010 年
 - 2) 貝沼茂三郎、古庄憲浩、迎 はる、古賀恒久、小川栄一、豊田一弘、村田昌之、林 純. C 型肝炎に対するペグインターフェロン α (PEG-IFN α)・リバビリン (RBV) 併用療法における漢方薬 (四逆湯類) の併用効果について 第 46 回日本肝臓学会総会 山形 2010 年
 - 3) 古庄憲浩、梶原英二、中牟田誠、丸山俊博、高橋和弘、野村秀幸、佐藤武顕、田邊雄一、古藤和浩、東 晃一、下野淳哉、下田慎治、道免和文、境浩徳、林 純. C 型肝炎に対するペグインターフェロン α (PEG-IFN α)・リバビリン (RBV) 併用療法の副作用の検討 第 46 回日本肝臓学会総会 山形 2010 年
 - 4) 古庄憲浩、貝沼茂三郎、迎 はる、海野麻美、小川栄一、前田晋至、村田昌之、三瀧忠道、林 純. C 型肝炎に対するペグインターフェロン α (PEG-IFN α)・リバビリン (RBV) 併用療法における漢方薬 (四逆湯類) の併用効果について 第 61 回日本東洋医学会学術総会 2010 年
 - 5) Furusyo N, Murata M, Ogawa E, Toyoda K, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Koga T, Kainuma M, Hayashi J. Ribavirin concentration in the later stages of 48-week pegylated interferonalpha-2b plus ribavirin treatment is useful for predicting the virological response of chronic hepatitis C patients 第 48 回米国感染症学会 IDSA カナダバンクーバー, 2010 年
 - 6) Murata M, Furusyo N, Kajiwara E, Nakamuta M, Maruyama T, Takahashi K, Nomura H, Sato T, Tanabe Y, Koto K, Azuma K, Domen K, Sakai H, Hayashi J. Insulin resistance is associated with the virological response to pegylatedinterferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy of Japanese patientswith genotype 1 chronic hepatitis C but is not associated with genotype 2. IDSA 48th ANNUAL

MEETING Vancouver 2010

- 7) Kainuma M, Furusyo N, Murata M, Toyoda K, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Eiraku K, Hayashi J. Pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination treatment for chronic hepatitis C patients with persistently normal ALT. IDSA 48th ANNUAL MEETING Vancouver 2010
- 8) Hayashi T, Furusyo N, Kajiwara E, Nakamura M, Maruyama T, Takahashi K, Nomura H, Sato T, Tanabe Y, Koto K, Azuma K, Shimoda S, Domen K, Sakai H, Hayashi J. The efficacy of pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination treatment for chronic hepatitis C patients with a history of hepatocellular carcinoma. IDSA 48th ANNUAL MEETING Vancouver 2010
- 9) 古庄憲浩、豊田一弘、小川栄一、居原毅、池崎裕昭、林武生、古賀恒久、迎はる、貝沼茂三郎、村田昌之、林純。塩酸ラロキシフェン併用は閉経後女性C型慢性肝炎におけるPEG-IFN α 2a・RBV療法の効果を上げる
日本消化器関連学会週間 横浜 2010年
- 10) 古庄憲浩、永樂順三、豊田一弘、小川栄一、池崎裕昭、居原毅、林武生、貝沼茂三郎、村田昌之、林純。C型慢性肝炎(CH-C)におけるヘリコバクター・ピロリ(HP)感染と除菌療法の功績 第80回日本感染症学会西日本地方会学術集会 松山市 2010年

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

C型慢性肝疾患における血小板減少の病態解析

研究分担者 富山 佳昭（大阪大学医学部 講師）

研究要旨：C型慢性肝疾患に合併する血小板減少機序に関しては、脾機能亢進による血小板分布異常とされているがその病態は未だ不明である。本研究では、C型慢性肝炎例において、PAIgG、網状血小板比率、血漿トロンボポエチン、さらには血小板に対する自己抗体である抗 GPIIb-IIIa 抗体を解析し、その病態を明らかにすることを目的とした。

研究協力者

柏木浩和 大阪大学大学院医学系研究科 助教

A. 研究目的

C型慢性肝疾患においてはしばしば血小板減少を伴うことがあり、この病態が肝炎のインターフェロン治療の障害となっている。血小板減少機序に関しては、その多くが脾腫に伴う脾機能亢進に伴う血小板分布異常と考えられるが、脾腫を合併していない例においても血小板減少を合併しており、その病態は未だ不明である。

血小板減少機序としては、脾機能亢進に加え、血小板自己抗体の存在、肝機能低下に伴う血漿トロンボポエチン（TPO）濃度の低下、などが示唆されているが、その詳細は明らかではない。

本研究では、未だ不明であるC型慢性肝炎に合併する血小板減少の機序を解析し、インターフェロン療法の対象患者の拡大に寄与することを目指す。

B. 研究方法

1. 対象

C型慢性肝炎患者（血小板減少を合併している患者およびインターフェロン治療予定患者を含む）46例。また疾患対照として特発性血小板減少性紫斑病患者を解析した。

2. 測定項目

PAIgG、網状血小板比率、血漿 TPO 濃度を測定。網状血小板比率はフローサイトメーターを用いた方法（FCM法）を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は臨床研究倫理委員会の承認を受け、対象者からは書面にてインフォームド・コンセントを得た。

C. 研究結果

慢性肝炎患者46例の血小板数は 8.6 ± 3.5 万/ μ l (mean \pm SD)であった。網状血小板比率は全例で検討したが、すべて正常範囲内であり、血小板の破壊亢進が示唆された例は認めなかった。一方、ITP55例では45例（82%）において網状血小板比率が増加していた。血漿 TPO 濃度測定は現在までに35例を解析したが、2例を除きすべて正常範囲（ <106 pg/ml）であった。1例では TPO が 1200 pg/ml と著増しており、再生不良性貧血などの疾患の合併が考えられた。もう1例はインターフェロン後の血小板減少出現時（ 4.4 万/ μ l）における測定であった。

PAIgG の測定はフローサイトメーターを用いて行なった。正常コントロール7名の PAIgG の MFI(mean fluorescent intensity)の mean および SD は 2.46 および 0.22 であり mean+3SD (3.13)

以上を陽性とした。その結果、慢性肝炎患者 23 例中 18 例 (78%) が陽性であった。MFI の最高値は 18.4 であり、他に MFI5 以上の例が 3 例あったが、残りの 19 例では MFI は 5 以下であり弱陽性であった。血小板数と PAIgG の相関に関しては、有意差はないものの逆相関をしめした ($r=0.39$)。

D. 考察

C 型慢性肝炎 46 例に関して網状血小板比率、血漿 TPO 濃度、PAIgG の測定を行なった。血小板回転率の指標になる網状血小板比率において、その増加例は観察されず、C 型慢性肝炎においては血小板の破壊亢進とのデータは、現在までのところ得られていない。また、血漿 TPO 濃度に関しては著増していた 2 例を除き正常範囲であった。多くの例で PAIgG の上昇が見られたが、免疫性血小板減少である ITP に較べてその上昇の程度は軽微であった。今後、解析症例を増やすと共に、血小板結合 IgG をエーテルにて血小板から解離し、自己免疫反応特異的な抗 GPIIb-IIIa 抗体を測定し、自己抗体の有無を検討する予定である。

E. 結論

C 型慢性肝炎に伴う血小板減少機序において網状血小板比率、血漿 TPO 濃度、PAIgG を測定した。C 型慢性肝炎において、網状血小板比率の増加例は現在までの解析では認めなかった。免疫機序の関与に関する解析は今後の課題である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kashiwagi H, Kiyomizu K, Kamae T, Nakazawa T, Tadokoro S, Takiguchi S, Doki Y, Kanakura Y, Tomiyama Y: Molecular analysis of a patient with type I Glanzmann

thrombasthenia and clinical impact of the presence of anti- α IIb β 3 alloantibodies. *Int J Hematol* 93(1):106-111, 2011

- 2) Tadokoro S, Nakazawa T, Kamae T, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. A potential role for α -actinin in inside-out α IIb β 3 signaling. *Blood* 117(1):250-258, 2011
- 3) 富山佳昭: 特発性血小板減少性紫斑病. *小児科診療* 73(12):2193-2196, 2010
- 4) Bhavaraju K, Georgakis A, Jin J, Kent Gartner T, Tomiyama Y, Nurden A, Nurden P, Kunapuli SP: Antagonism of P2Y12 reduces physiological thromboxane levels. *Platelets*.21(8):604-609, 2010
- 5) Suzuki-Inoue K, Inoue O, Ding G, Nishimura S, Hokamura K, Eto K, Kashiwagi H, Tomiyama Y, Yatomi Y, Umemura K, Shin Y, Hirashima M, Ozaki Y. Essential in vivo roles of the C-type lectin receptor CLEC-2:Embryonic/Neonatal lethality of CLEC-2-deficient mice by blood/lymphatic misconnections and impaired thrombus formation of CLEC-2-deficient platelets. *J Biol Chem*. 285:24494-24507, 2010
- 6) 富山佳昭: 第 V 章 2. 血液・造血器系の検査. 看護学テキスト NiCE 疾病と検査 検体検査/生理機能検査/画像診断/内視鏡検査/その他 (松田 暉、萩原俊男、難波光義、鈴木久美、林 直子編)、南江堂、東京、2010、pp247-248
- 7) 富山佳昭: ITP に関する用語の標準化: 国際作業部会からの報告. *日本血栓止血学会誌* 21(3):278-282, 2010

2. 学会発表

- 1) Kamae T, Kiyomizu K, Nakazawa T, Tadokoro S, Honda S, Kashiwagi H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Bleeding tendency and impaired platelet function in a

patient carrying a heterozygous mutation In thromboxane A2 receptor. The 52st Annual Meeting of the American Society of Hematology. (2010.12.4-7, Orland, USA, Broxmeyer H)

- 2) 富山佳昭、宮川義隆、岡本真一郎、勝谷慎也、木村昭郎、大越 靖、二宮治彦、小杉浩史、野村昌作、尾崎勝俊、池田康夫、小尾伸之、桂 幸一、金倉 讓. 治療抵抗性慢性特発性血小板減少性紫斑病(ITP)患者に対するエルトロンボパグの臨床試験成績. 第 33 回日本血栓止血学会学術集会(2010.4.24, 鹿児島, 丸山征郎)
- 3) 柏木浩和、富山佳昭. 血小板異常症における血小板抗体の臨床的意義とその対策. (シンポジウム：後天性止血・凝固異常と輸血療法) 第 58 回日本輸血・細胞治療学会総会.(2010.5.28-30, 愛知, 高松純樹)
- 4) 富山佳昭. 血小板の活性化機構：ADP の果たす役割. (シンポジウム：人工血小板の現状と将来) 第 17 回日本血液代替物学会年次大会. (2010.10.18-19, 熊本, 小田切優樹)

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

IFN 投与による副作用発現の PET および SPECT による臨床的検討

研究分担者 柏木 徹（兵庫医科大学 核医学・PET センター センター長）

研究要旨：慢性肝疾患における血小板減少の要因を明らかにすべく放射性コロイドによる肝脾シンチグラフィの動態解析を行った。その結果、血小板数と放射性コロイドの脾集積率の間に相関関係を見いだした。この指標が IFN 投与のための摘脾術や PSE の治療効果予測のよき指標になる可能性が示唆された。

A. 研究目的

血小板減少例に対して IFN 投与前に摘脾術や PSE が行われるが、その効果の予測に血小板減少の原因となる脾機能亢進の程度を把握する定量的指標をシンチグラフィを用いて検討する。

B. 研究方法

C 型慢性肝疾患例に放射性コロイドを用いた肝脾の動態シンチグラフィを行い、放射性コロイドの血中からの消失および肝脾への集積の程度をコンピュータ解析して定量化し、血小板数と比較検討した。

（倫理面への配慮）

検査の前に検査説明書を渡し、本人の承諾のもとに実施している。

C. 研究結果

放射性コロイドの血中消失率、肝への集積率と血小板数との間に有意の相関関係を認めなかった。一方、脾への集積率と血小板数との間には有意の相関関係が認められた。

D. 考察

慢性肝疾患の血小板減少には種々の要因が関与するが、その主たる要因は脾機能の一つである食食機能の亢進である。これを放射性コロイドを用いて定量化することは慢性肝疾患の血小板減少

の評価をするに際し有用と考えられる。

今年度の研究で放射性コロイドの脾への集積率と血小板減少との間に相関関係が認められたことから血小板減少を伴う C 型慢性肝疾患における摘脾や PSE を行うことの術前評価にこの指標が有用であることが期待される。

E. 結論

放射性コロイド肝脾シンチグラフィの動態解析から脾への集積率が慢性肝疾患の血小板数と相関することが見いだされた。この指標が血小板減少を伴う C 型慢性肝疾患における IFN 投与に際して摘脾術や PSE を行う妥当性の評価法としての発展が期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1) 放射性コロイドシンチグラフィによる脾機能の評価. 日本消化器病学会近畿支部第 94 回例会. 2011 年 2 月, 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

脾臓摘出術前後のサイトカインの分子イメージングによる検討

研究分担者 渡辺 恭良

（独立行政法人理化学研究所 分子イメージング科学研究センター センター長）

研究要旨：肝炎の治療に用いられるインターフェロンの脾臓摘出術前後での体内動態変化を PET で解析することを目的に、インターフェロンの PET プローブ化研究を行った。インターフェロン製剤およびその PEG 化製剤を標識することに成功し、マウス炎症モデルを用いて PET 撮像にも成功した。

A. 研究目的

脾臓摘出術によってインターフェロンの体内動態にどのような変化をきたすか PET を用いて解析するため、インターフェロンの PET プローブ化研究を行う。

B. 研究方法

インターフェロン製剤（イントロン®A）、およびその PEG 化製剤（ペグイントロン®）にキレーターである DOTA を修飾し、そこにポジトロン放出金属核種である ^{68}Ga または ^{64}Cu を標識し PET プローブ化した。

（倫理面への配慮）

実験動物倫理に関しては、理化学研究所動物実験倫理委員会の承認後、動物に対するストレスを最小限にするようなルールに則った研究を行っている。

C. 研究結果

インターフェロン製剤、およびその PEG 化製剤のポジトロン標識に成功した。また炎症モデル動物を用いた PET 撮像にも成功した。

D. 考察

標識化に成功し、PET 撮像においても炎症部位への集積を確認した。しかしインターフェロンのようなタンパク製剤への標識は、活性部位へ標識

が一部された場合、その活性に影響を及ぼす可能性がある。炎症部位への集積は活性が変化したプローブが集積した可能性も考えられる。臨床応用するためには標識前の薬剤と標識後の薬剤の同等性を示す必要がある。そこでさらに受容体との結合能を評価する必要があると考えられた。

E. 結論

標識化に成功し、PET 撮像においても炎症部位への集積を確認した。しかし臨床応用という観点から考えて、そのプローブが intact のインターフェロン製剤と同等の活性を有するか確認する必要があることが判った。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 長谷川功紀、渡辺恭良

『バイオ医薬品開発への応用：マイクロドーズ臨床試験に向けたバイオ医薬品の PET プローブ化技術開発』

遺伝子医学 MOOK 別冊「創薬技術の革新 マイクロドーズから PET 分子イメージングへの展開」メディカルドゥ（大阪）132-138p、2010年10月20日

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

脾臓摘出による感染免疫防御に関する研究

研究分担者 筒井 ひろ子（兵庫医科大学 病原微生物学 教授）

研究要旨：脾摘後の生体防御機構の破綻メカニズムの解明と、破綻回避を目指したワクチンプロトコール作製を目的とする。今年度は、リンパ節には存在しない、脾臓特有の辺縁帯B細胞の重要性を肺炎球菌感染マウスモデルを用いて明らかにした。これを基盤に、摘脾における肺炎球菌ワクチンプロトコールを作製した。

A. 研究目的

荚膜多糖は、肺炎球菌、髄膜炎菌を含む特定の病原細菌の重要な病原因子である。荚膜多糖に対する抗体産生力は感染症の予後を規定する。この抗体は、脾臓の辺縁帯に定在する特殊な B 細胞が産生する。脾摘は、従って、これらの細菌に対して易感受性となる。当該年度では、脾摘に対する、予防的肺炎球菌ワクチンプロトコールの作製を目的とした。

B. 研究方法

C57BL/6 マウスに、肺炎球菌多価荚膜多糖 Pneumovax®を事前に投与し、脾摘による感受性亢進が阻止されるかを、抗 Pneumovax IgM 抗体量と、肺炎球菌感染後の生存率を指標に検討した。

（倫理面への配慮）

兵庫医科大学動物実験規程に基づき、動物実験計画書を担当委員会に提出して審査を受け、実験の承認を得た（A10-130, A10-236）。感染実験については、昨年末に病原体等安全管理委員会が制定され、現在同委員会で審査中である。

C. 研究結果

健常マウスに Pneumovax®を投与すると抗 Pneumovax®IgM が顕著に増加し、致死量の肺炎球菌を接種しても 100 %生存した。しかし、脾

摘マウスに Pneumovax®を投与しても、これらの効果はほとんど認められなかった。

D. 考察

Pneumovax®のワクチン効果には、脾臓が必須であることが判明した。

E. 結論

現在、脾摘後の Pneumovax®投与が推奨されている。しかし、予期出来ない場合を除き、脾摘前のワクチン投与が望ましい可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Pathogenic *Vibrio* activate NLRP3 inflammasome via cytotoxins and TLR/Nucleotide-binding oligomerization domain-mediated NF- κ B signaling. *J. Immunol.* 184:5287-5297, 2010.

2) IFN- γ is a master regulator of endotoxin shock syndrome in mice primed with heat-killed *Propionibacterium acnes*. *Int. Immunol.* 22:157-166 2010.

- 3) Contribution of IL-18 to eosinophilic air way inflammation induced by immunization and challenge with *Staphylococcus aureus* proteins. Int. Immunol. 22:561-570, 2010.
- 4) Neutrophil-dominant psoriasis-like skin inflammation induced by epidermal-specific expression of Raf in mice. J. Dermatol. Sci. 58:28-35, 2010.
- 5) Targeting solid tumors with non-pathogenic obligate anaerobic bacteria. Cancer Sci. 101:1925-1932, 2010.
- 6) J. Dermatol. Sci.59:129-135 2010.
- 7) The TLR4/TRIF-mediated activation of NLRP3 inflammasome underlies endotoxin-induced liver injury in mice. Gastroenterol. Res. Practice, 2010, 2010:641865
- 8) Allergol. Int. 59:137-141,2010.他

2. 学会発表

- 1) 14th International Congress of Immunology
2010.8 Kobe 他 12 件

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

肝障害モデルにおける脾臓摘出の有無によるマイクロRNAの発現変動についての解析

研究分担者 池田 一雄（名古屋市立大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：本研究において、マウス肝障害モデルにおける脾臓摘出の有無によるマイクロRNAの発現変動について、マイクロRNAアレイおよびTaqman MicroRNA Assayによる定量解析をおこない、それらを英国サンガー研究所のデータベースを用いて検索した。4週、8週の肝障害モデルで、摘脾によりその発現に差の認められたマイクロRNAについて検討し、細胞外マトリックスの産生分解の制御に関与する因子を見いだすことができた。

A. 研究目的

慢性肝障害、特に肝硬変時には、しばしば脾臓が腫大し、脾機能亢進症を合併し、この脾機能亢進による血小板減少をはじめとする汎血球減少症のため、抗ウイルス療法が困難な症例が少なくない。このようなウイルス性肝硬変患者に対しては、摘脾術や部分脾動脈塞栓術が施行されている。そこで、本研究においては、基礎的に摘脾術の意義を検討するため、摘脾術の肝障害への影響に関しマイクロRNA発現の変化とそれによる遺伝子発現制御に注目し、検討をおこなった。

マイクロRNAは、タンパク質をコードしていないと考えられる非翻訳性RNAのひとつで、21から25塩基程度の大きさで存在し、転写・翻訳レベルで遺伝子発現を制御していることがわかってきた。このマイクロRNAは、相補性のある数百のターゲットとなるmRNAに結合し、機能を発揮すると考えられている。そこで、我々は、肝障害時の肝線維化に対する脾臓の役割に関して、脾臓摘出の有無によるマイクロRNAの発現およびその機能について検討した。

B. 研究方法

8週齢C57BL/6マウスを左肋弓下線に沿って切開し、脾臓を摘出した。対照群は、左肋弓下線に沿って切開のみ施行した。施術後、チオアセトア

ミド 200 mg/kg body を週2回腹腔内投与して実験的肝障害モデルを作製した。4、8週後にマウス肝を摘出し、small RNAを抽出した。マイクロRNAアレイおよびアプライドバイオシステム社のTaqMan MicroRNA Assayにて定量的解析をおこなった。これらのデータをサンガー研究所のWeb siteで、In cirico解析をおこなった。さらに、4週、8週の脾摘により発現に変化のみられたmicroRNAを肝細胞癌のcell linesにlipofectamin2000をもちいて強制発現させ、線維化に関連する因子の発現を検討した。

C. D. 研究結果と考察

チオアセトアミド4週、8週投与によって誘導された障害肝における脾臓摘出の有無でのマイクロRNAの発現を網羅的に調べた結果、4週投与、8週投与それぞれで、10数個のマイクロRNAで発現の変動がみられた。4週投与、8週投与で、共通して変動がみられたマイクロRNAは、mir-200b、mir-200a、mir-429の3種類であった。これらのマイクロRNAは、上皮間葉移行に重要な役割を果たすSIP1の3'UTRに結合することをレポーター遺伝子であるシルフェラーゼアッセイによりあきらかとなった。さらに、これらのひとつmir-200bを肝癌細胞のcell lineに強制発現

させると肝線維化に関連する因子である TGFbeta1 や MMT-2 の発現に関与することが明らかとなった。

E. 結論

4 週、8 週の肝障害モデルで、摘脾の有無により、マイクロ RNA の発現の変化が確認された。これらのうちのひとつは、線維化に影響を及ぼす因子との関連が認められ、引き続き詳細に検討を加えていきたい。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. その他の発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

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

西口 修平 兵庫医科大学 内科学肝胆膵科 教授

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
西口修平, 松田二子	慢性C型肝炎		内科	南江堂	東京	2010	1102-5
山本晃久, 中村秀次	黄疸	西口修平 編	疾病と治療Ⅱ	南江堂	東京	2010	24-7
中村秀次	ウイルス性肝炎	西口修平 編	疾病と治療Ⅱ	南江堂	東京	2010	105-13
康典利	劇症肝炎	西口修平 編	疾病と治療Ⅱ	南江堂	東京	2010	113-5
榎本平之, 西口修平	C型肝炎治療の新展開-プロテアーゼ阻害剤・ポリメラーゼ阻害剤への期待	小俣政男 監修, 河田純男, 横須賀収, 工藤正俊, 榎本信幸 編	肝疾患Review 2010-2011	日本メディカルセンター	東京	2010	65-170

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
西口修平, 泉並木, 日野啓輔, 鈴木文孝, 熊田博光, 伊藤義人, 朝比奈靖浩, 田守昭博, 平松直樹, 林紀夫, 工藤正俊	C型肝炎の診断と治療	肝臓	50	665-77	2009
榎本平之, 西口修平	海外の開発(STAT-C)からみたわが国の特殊性、肝疾患診療における彼我の違い：黒船は来るのか？	肝胆膵	60	193-201	2010
會澤信弘, 西口修平	肝癌進展抑制を目的としたPEG-IFN単独長期投与	肝胆膵	61	134-41	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
今西宏安, 西口修平	ペグインターフェロン α -2a	消化器の臨床	13	249-55	2010
西口修平, 松田二子	慢性C型肝炎	内科	106(6)	1102-5	2010
Noguchi T, Tamori A, Ogura N, Hori Y, Ikeda S, Nishiguchi S	Investigation of Interferon- α Response by a Single Amino Acid Substitution of Nonstructural Protein 5A in Hepatitis C Virus-Infected Patients	J Interferon Cytokine Res	Epub ahead of print		2011
Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M	ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C	Hepatol Res	40(11)	1063-1071	2010
西口修平	C型肝炎に対してPEG-IFN α 2aとPEG-IFN α 2bの有用性と安全性は本当に同等か	Therapeutic research	31	1021-7	2010
Enomoto H, Nakamura H, Nishiguchi S	Role of Hepatoma-derived Growth Factor in hepatocyte proliferation and differentiation	Current Research in Gastroenterology & Hepatology	4	79-88	2010
Namiki I, Nishiguchi S, Hino K, Suzuki F, Kumada H, Itoh Y, Asahina Y, Tamori A, Hiramatsu N, Hayashi N, Kudo M	Management of hepatitis C	Hepatol Res.	40(4)	347-68	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsuhashi H, <u>Nishiguchi S</u> , Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M	ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C	Hepatol Res.	40(11)	1063-1071	2010
Michitaka K, <u>Nishiguchi S</u> , Aoyagi Y, Hiasa Y, Tokumoto Y, Onji M	Etiology of liver cirrhosis in Japan: a nationwide survey	J Gastroenterol	45(1)	86-94	2010
Liu W, Nakamura H, Deng H, <u>Enomoto H</u> , Yamamoto T, <u>Iwata Y</u> , Koh N, <u>Saito M</u> , <u>Imanishi H</u> , <u>Shimomura S</u> , <u>Nishigushi S</u>	A higher expression of hepatoma-derived growth factor in hepatocellular carcinoma cells and more tumor growth in vivo	Trends in Cancer Research	5	29-36	2010

山本 和秀 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

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
岩崎良章, 池田房雄, 山本和秀	慢性ウイルス肝炎に対する抗ウイルス療法 C型肝硬変のインターフェロン療法	カレントセラピー	28(8)	735-40	2010
岩崎良章, 池田房雄, 山本和秀	C型慢性肝炎(1型高ウイルス量)に対する peg-IFN/RBV療法における非著効例の解析と対策	消化器内科	50(6)	565-8	2010
岩崎良章, 池田房雄, 山本和秀	C型肝炎 症例別にみたインターフェロン治療の実際 高齢者	消化器の臨床	13(3)	277-82	2010