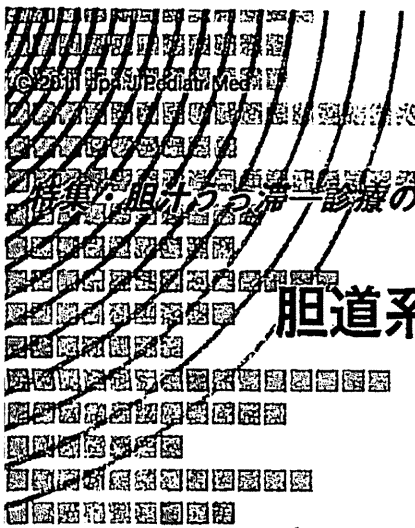


あろう。大血管の狭窄病変を伴う高血圧では、ステント治療や手術が行われる。高度の膀胱尿管逆流も手術の対象となる。胆汁うっ滞の強いALGSでは、著しい高コレステロール血症を伴いやすく、これが腎障害の進行に関連する可能性がある<sup>3)</sup>。動脈硬化の進行を考えて、抗コレステロール薬を使用する場合がある。尿細管機

能障害や腎不全の進行に対しても適切な治療を行う。腎移植の生体ドナーについては注意が必要である。ALGSは優性のため、両親のどちらかがALGSであることが多い。両親のどちらかが移植ドナーとなる場合には、症候が乏しく未診断のALGSが隠れていないか詳細な検討が必要である。

## 圖文 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) Watson GH, Miller V: Arteriohepatic dysplasia: familial pulmonary arterial stenosis with neonatal liver disease. *Arch Dis Child* 48: 459-466, 1973.
- 3) Habib R, et al: Glomerular mesangiolipidosis in Alagille syndrome (arteriohepatic dysplasia). *Pediatr Nephrol* 1: 455-464, 1987.
- 4) Oda T, et al: Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet* 16: 235-242, 1997.
- 5) Li L, et al: Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1. *Nat Genet* 16: 243-251, 1997.
- 6) 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.
- 7) Warthen DM, et al: Jagged1 (JAG1) mutations in Alagille syndrome: increasing the mutation detection rate. *Hum Mutat* 27: 436-443, 2006.
- 8) Krantz ID, et al: Alagille syndrome. *J Med Genet* 34: 152-157, 1997.
- 9) Shrivastava R, et al: An unusual cause of hypertension and renal failure: a case series of a family with Alagille syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 25: 1501-1506, 2010.
- 10) Guegan K, et al: JAG1 mutations are found in approximately one third of patients presenting with only one or two clinical features of Alagille syndrome. *Clin Genet*, 2011. [Epub ahead of print]
- 11) Jacquet A, et al: Alagille syndrome in adult patients: it is never too late. *Am J Kidney Dis* 49: 705-709, 2007.
- 12) 須磨崎 亮: 総括研究報告. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「Alagille 症候群など遺伝性胆汁うっ滞性疾患の診断ガイドライン作成, 実態調査並びに生体資料のバンク化に関する研究」, 平成 21 年度研究報告書, p1-8, 2010.
- 13) 須磨崎 亮: 総括研究報告. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「Alagille 症候群など遺伝性胆汁うっ滞性疾患の診断ガイドライン作成, 実態調査並びに生体資料のバンク化に関する研究」, 平成 22 年度研究報告書, p1-15, 2011.
- 14) Crosnier CA, et al: JAGGED1 gene expression during human embryogenesis elucidates the wide phenotypic spectrum of Alagille syndrome. *Hepatology* 32: 574-581, 2000.
- 15) McCright B, et al: A mouse model of Alagille syndrome: Notch2 as a genetic modifier of Jag1 haploinsufficiency. *Development* 129: 1075-1082, 2002.



# 胆道系の発生と Notch シグナル

須磨崎 亮\*

## はじめに

複雑な人体が形成されるときには、当然、多様な分子メカニズムが機能しているはずである。しかし実際に解析してみると、意外にも共通の分子シグナルがいろいろな臓器で、何度も使用されていることに気づかされる。しかも、このような発生過程で重要な分子は、進化の過程でよく保存され、昆虫からヒトまで種の違いをこえて共通のはたらきをしていることが多い。さらに近年、発生を制御しているこれらのシグナル伝達系が、成熟後には再生現象や発がんの過程でも重要な役割を果たしていることがわかってきた。Notch シグナルはまさに、このような多機能な分子システムの代表である。胆道系に即していえば、肝内胆管と肝外胆道系は初期には別々に発生するが、Notch シグナルはこの両者の発生過程で、また出生後には肝障害に対する再生修復の際に、さらには胆管がんの発がん過程でも、活性化していることが解明されつつある。胆道系における Notch シグナルの研究は、1997 年に Alagille 症候群 (ALGS) の原因として *Jagged-1* 遺伝子が発見されて始まった<sup>1,2)</sup>。*Jagged-1* は Notch 受容体のリガンドであり、ALGS の特徴は胆管の低形成にあることから、「Notch シグナルは胆管の発生に関連しているのではないか？」という仮説のもとにわれわれは研究を開始した<sup>3)</sup>。

## 1 多様な細胞の増殖・分化を制御する Notch シグナル

Notch の名は翅に切れ目 (ノッチ) のあるショウジョウバエの発生異常に由来し、Notch はハエの発生関連遺伝子として発見された。その後の研究により、Notch シグナルは細胞間の直接的な接触による情報交換のシステムとして、線虫からヒトまで種をこえて高度に保存されていることが判明した。また、このシグナル伝達系は神経、体節形成、造血や血管、心臓、リンパ球、消化器臓器などの発生過程でくり返し使用されている<sup>4)</sup>。

哺乳類の Notch シグナル経路は 5 種類のリガンド (*Delta-like 1, 3, 4* と *Jagged-1, 2*), 4 種類の Notch 受容体 (*Notch 1~4*), Notch シグナルの標的遺伝子群によって構成されている。複数のリガンドや受容体の使い分けや機能の相違は不明であるが、それぞれの分子は異なる発現パターンをとっていることから、各分子は異なる働きを担っていると考えられる。Notch シグナルの活性化の機構を図 1 に示す。特定の細胞にリガンドが発現して隣接する細胞表面の Notch 受容体に結合すると、受容体の細胞内ドメイン (Notch intracellular domain: NICD) が切断されて、細胞膜から遊離し、細胞核に移行する。そこで、NICD は複数の転写調節因子と複合体を形成し、Hes ファミリーや Hey ファミリーなどの標的遺伝子の発現を促す。これらの標的遺伝子は転写調節遺伝子として機能し、さらに下流の多数の遺伝子発現を調節することによって、細胞の増殖・分化の状態を制御している。

Sumazaki Ryo  
\* 筑波大学大学院人間総合科学研究科・小児科  
[〒305-8575 つくば市天王台 1-1-1]  
TEL 029-853-5635 FAX 029-853-8819  
E-mail: rsuma@md.tsukuba.ac.jp

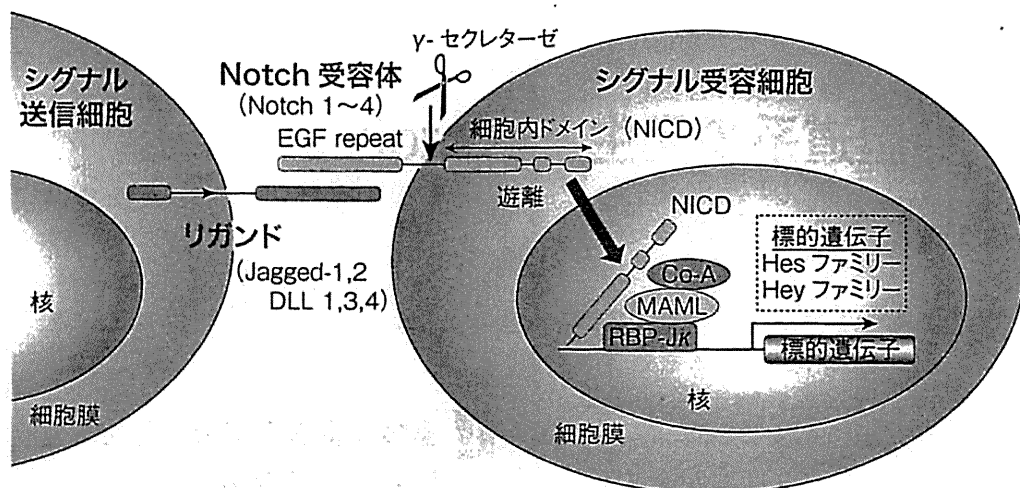


図 1 Notch 受容体の活性化によるシグナル伝達

シグナル送信細胞が Jagged1, 2 または Delta-like 1, 3, 4 などのリガンドを発現し、このリガンドが隣接するシグナル受容細胞の Notch 受容体と結合することで、Notch シグナルの活性化が始まる。Notch 受容体の細胞内ドメイン (NICD) は細胞膜から  $\gamma$ -セクレターゼによって切り出され遊離すると、核移行シグナルがあるため、核内へ移行する。さらに核内で複数の転写調節因子、たとえば RBP-J $\kappa$ , MAML (mastermind-like) およびヒストンアセチル転移酵素のような転写活性化因子 (Co-A) と結合してタンパク複合体をつくり、標的遺伝子 (Hes ファミリーや Hey ファミリー) の転写を促進する。これによりシグナル受容細胞の分化状態が規定される。

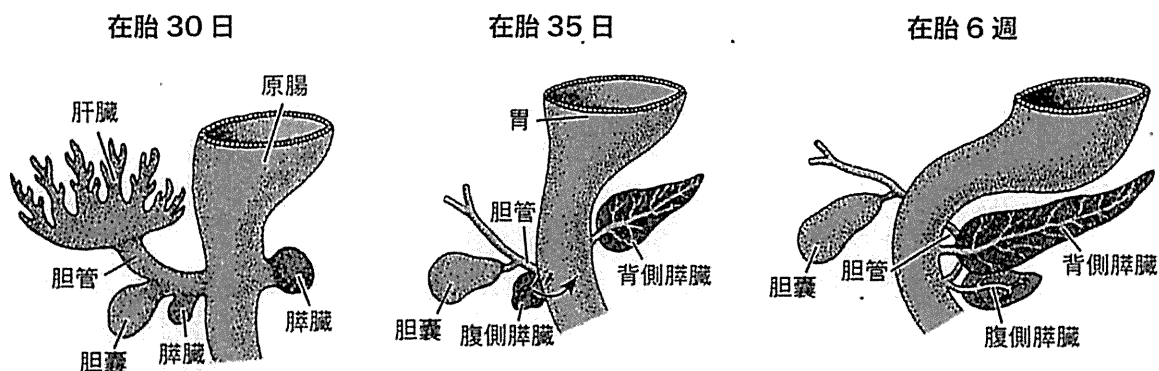


図 2 ヒトにおける肝臓、胆道系、膵臓の器官形成過程

(Gilbert SF : Developmental Biology, 6th ed, Sinauer Associates, p493, 2000 より引用)

## II 肝外胆道系と膵臓の器官分化を制御する Notch シグナル

胆道系は、肝芽細胞に由来する肝内胆管と前腸から直接発生する肝外胆道系が肝門部で結合して形成される。このように、当初は別々に生じる肝外胆道系と肝内胆管であるが、両方の発生過程で Notch シグナルは重要な役割を果たしている。本項では、まず肝外胆道系の発生について記す。総胆管や胆嚢などの肝外胆道系と膵臓はいずれもほぼ同時期にごく近傍から、すなわち原始消化管の将来十二指腸になる領域から発生する (図 2)。

このように肝外胆道系と膵臓の発生原基は類似しているが、できあがった臓器はまったく異なる。この器官分化を決定する分子機構は、従来まったく不明であった。われわれは ALGS の病態を解析中に、Notch シグナルの下流に位置する転写因子 *Hes1* が、胆道になるか膵臓になるかを決定する分子スイッチとして働いていることを見出したので、その概要を記す<sup>3)</sup>。

まず、正常マウスで Notch シグナルの発現状況を調べると、*Jagged-1*, *Jagged-2*, *Notch1*, *Notch2* ならびに Notch シグナルの標的遺伝子 *Hes1* が胆道と膵臓の原基で検出された。

次に、Notch シグナルの遺伝子欠損マウスで胆

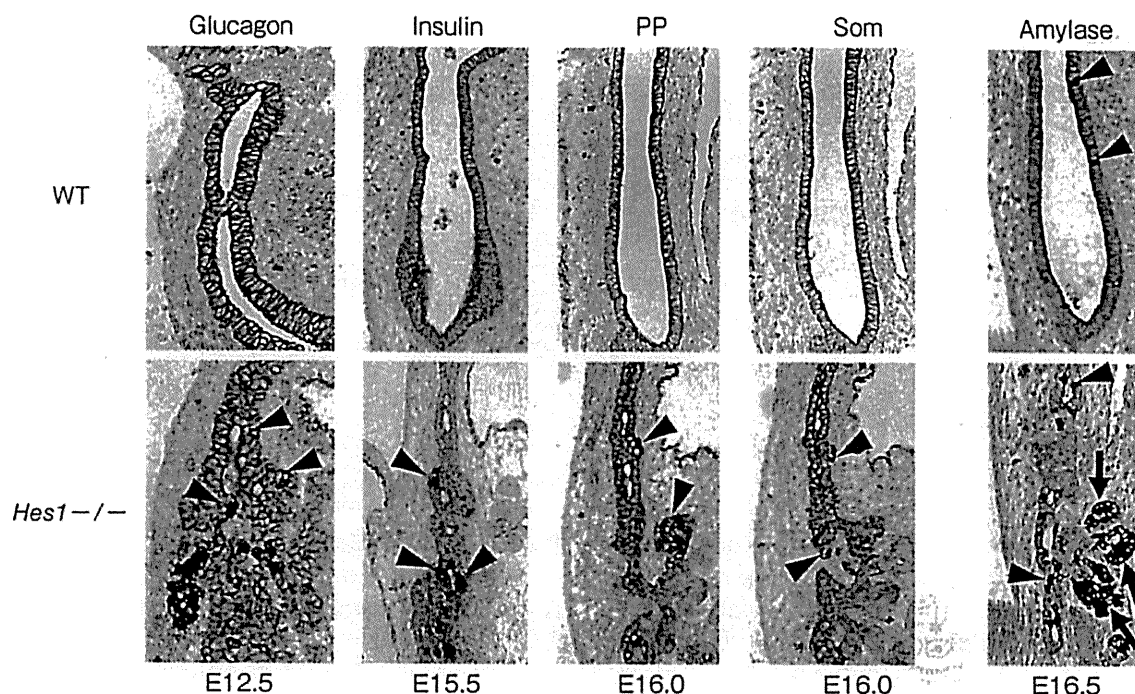


図3 Hes1 遺伝子欠損マウスにおける肝外胆管の発生 (Sumazaki ら<sup>3)</sup>, 2004)  
 胎生 E12.5~16.5 日にかけて、胆管の構造が発生途中で徐々に膵臓組織様に分化する。上段は正常マウスの、下段は Hes1 遺伝子欠損マウスの肝外胆管を示す。  
 WT: 正常マウス (wild type), Hes1<sup>-/-</sup>: Hes1 遺伝子欠損マウス

管系の異常を検索すると、胎生期の後期から周産期まで生存する Hes1 ノックアウトマウスでは、総胆管や胆嚢など肝外胆道系がまったく形成されていなかった。また、このマウス胎仔を組織学的に検索すると、胆道系の上皮細胞の配列は膵臓組織様で管腔を形成せず、この部位に膵内分泌マーカーであるグルカゴン・インスリンなどのホルモン産生細胞ならびに膵外分泌マーカー陽性の細胞が見出された。さらに、膵外分泌腺に特徴的な腺房構造や膵内分泌細胞がクラスターを形成して分布するランゲルハンス島類似の構造も観察された(図3)。

以上から、Hes1 が欠損すると、肝外胆道組織が発生の途中で膵臓組織様に変化することが判明した。これは発生初期には、肝外胆道と膵臓の前駆細胞はともに膵臓に分化する能力を有しているが、正常胆道では Hes1 が膵臓へ分化するプログラムを抑える機能をもっている一方、Hes1 ノックアウトマウスではこの抑制機能が失われて胆道が膵臓の方向へ分化したと推測される。Hes1 はともに発生学的に類似した原基から形成される肝外胆道系と膵臓の器管分化を可能にする、いわば

分子スイッチとして働いていると解釈できる。その後、実際に試験管内で胆道系の細胞からインスリンを産生する膵臓内分泌細胞が誘導できることが確認された<sup>5)</sup>。

また、胆道系と膵臓の発生過程における密接な関係はがん研究の面からも注目されている。最近、胆道がんと膵臓がんの腫瘍発生が病理学的にきわめて類似していることが判明した<sup>6)</sup>。さらに、両方の癌組織で Notch シグナルが再活性化されおり、Notch シグナルを抑制する薬剤が抗がん作用をもつ分子標的薬になるとの期待から、研究が急ピッチで進められている<sup>7)</sup>。

### III 胆管細胞への分化と肝障害の修復における Notch シグナル

次に、肝内胆管系の発生の模式図を図4に示す。肝内胆管の上皮細胞と肝細胞はともに胎生期の肝芽細胞に由来する。まず、門脈周囲の肝芽細胞が胆管上皮細胞に分化して、ductal plates とよばれる管腔構造をつくるようになり、最終的に肝内胆管に分化する。胎生期の肝芽細胞が、肝細胞

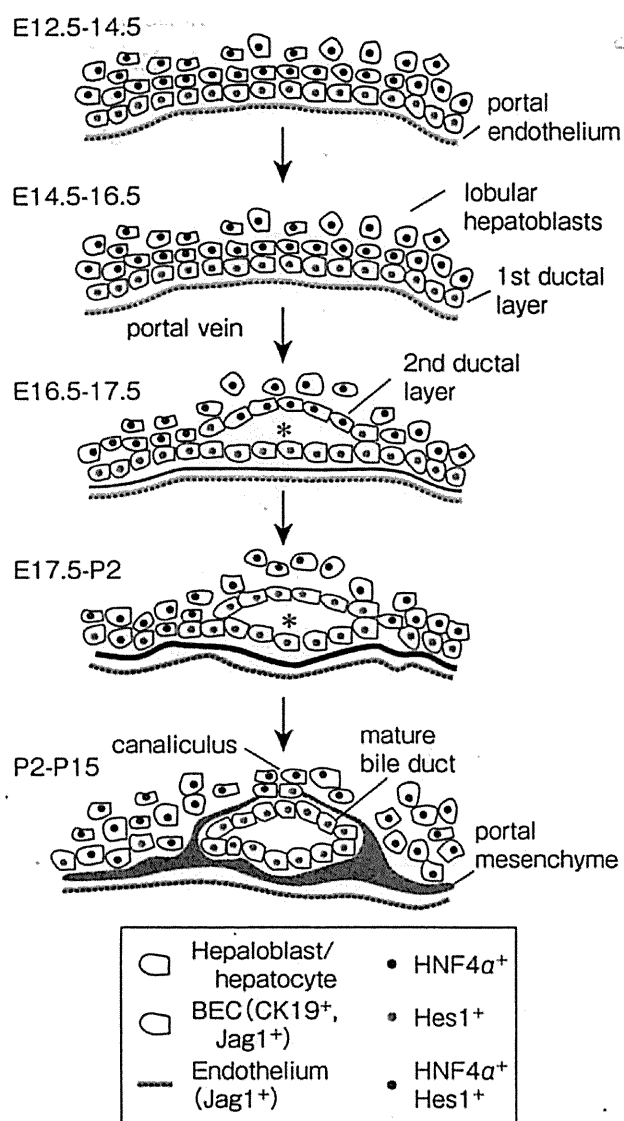


図 4 Notch シグナルによる肝芽細胞から胆管上皮細胞への分化 (Zong ら<sup>8)</sup>, 2009)

肝臓発生の初期、マウスでは在胎 12.5-14.5 (E12.5-14.5) には、門脈内皮細胞 (portal endothelium, 青点ライン) に発現している Jag1 が隣接する肝芽細胞の Notch 受容体を刺激して Hes1 (淡青色核) を発現させる。E14.5-16.5 には、肝芽細胞 (hepatoblast) はサイトケラチン 19 (CK19) 陽性の胆管上皮細胞 (BEC, 青色) に分化する。E16.5-17.5 には、とくに Notch シグナルの活性化が高度な部分で、隣接する肝芽細胞にも HNF4 $\alpha$  に加えて Hes1 が誘導され (灰色核)、管腔構造 (\*) が出現し、胆管板 (ductal plate) が形成される。HNF4 $\alpha$  単独陽性 (青色核) の肝芽細胞は肝細胞に分化する。E17.5-出生 2 日 (P2) には、桃色核の細胞が HNF4 $\alpha$  陰性となり、さらに Hes1 単独陽性の胆管上皮細胞へと分化が進む。P2-P15 には、成熟肝内胆管 (mature bile duct) が出現する。Jag1 は門脈内皮細胞のみならず、門脈周囲の肝芽細胞にも発現し、周囲の肝芽細胞で Notch シグナルを活性化させて、胆管上皮細胞への分化を促進する。

と胆管上皮細胞の 2 種類の細胞へ分化する過程は、肝幹細胞のモデルとして詳細に解析されてきた。Notch や Wnt/ $\beta$ -catenin, *Hnf6*, *Hnf1 $\beta$* , *Cilium*, *TGF $\beta$* , *Sall4* などのシグナル伝達系や分子が肝芽細胞の分化を制御する因子として重要である。門脈の血管上皮に発現する Jagged-1 が血管周囲に存在する肝芽細胞の Notch 2 受容体を活性化させて、胆管上皮細胞に分化させる。この胆管上皮細胞が門脈域周辺の胆管板や肝内胆管を形成する<sup>8)</sup>。

出生後の肝臓内にも胎生期の肝芽細胞と同様に、肝細胞と胆管上皮細胞の 2 分化能を有する肝幹細胞が存在する。この 2 分化能も Notch シグナルによって制御されており、さらに肝障害時の修復機構にもこの肝幹細胞の 2 分化能が関わっている。ALGS では *Jagged-1* や *NOTCH2* の欠失によって、Notch シグナルの伝達が障害される。乳児期の胆汁うっ滞性疾患として胆道閉鎖症と ALGS を比較すると、胆汁うっ滞の程度に関係なく、後者で肝線維化の進行が明らかに少ない (図 5)。この差異は、以下のように考えられている<sup>9)</sup>。胆汁うっ滞が起こると、通常は修復機構として細胆管反応 (ductular reaction) が起こり、障害が続く場合はさらに胆汁性肝硬変に進行する。細胆管反応の本態は oval cell とも称される肝幹細胞や胆管上皮細胞の増加、細胆管の増生、線維化の進行である。ALGS では血管内皮細胞に発現する *Jagged-1* から肝幹細胞や肝細胞の *NOTCH2* へのシグナル伝達がうまくいかず、胆管上皮細胞への分化が障害され、細胆管の増生が乏しく、肝線維化の進行も少ない。このことから生後の胆汁うっ滞に対する修復反応にも Notch シグナルが大きな役割を果たしていることがわかる。

#### IV Notch シグナルの異常による Alagille 症候群

ALGS は、肝内胆管減少による胆汁うっ滞に種々の奇形を伴う常染色体優性遺伝病である。本項では Notch シグナルに関係することを記す。他の事項は本号の「症候性・非症候性胆管低形成

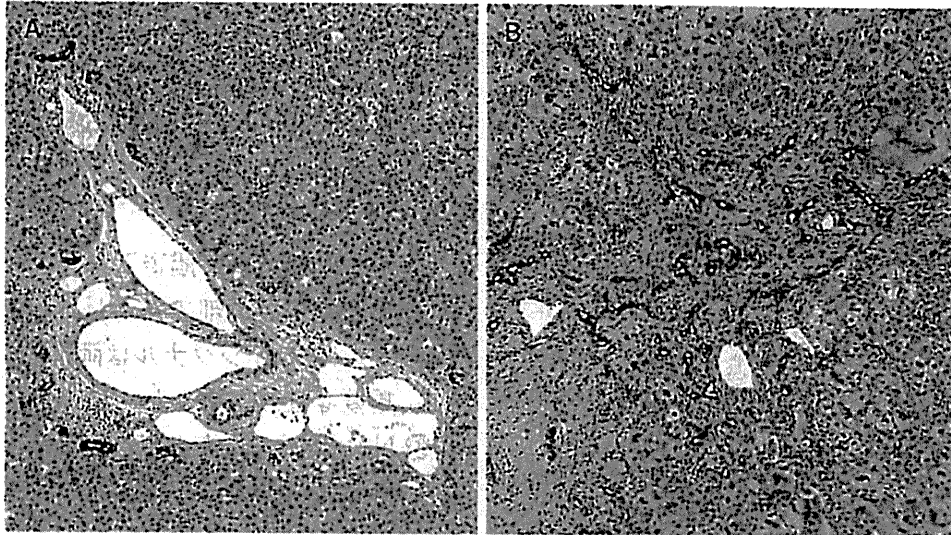


図 5 Alagille 症候群と胆道閉鎖症の肝組織所見

サイトケラチン 19 の染色により胆管構造を示す。A: Alagille 症候群患児は総ビリルビン値が 15 mg/dL 以上の高度の黄疸が 7 か月続いている。B: 胆道閉鎖症患児の総ビリルビン値は 10 mg/dL 以下で、出生後 3 か月しか経過していない。胆汁うっ滞の程度と期間は Alagille 症候群患児より胆道閉鎖症患児が少ないにもかかわらず、胆道閉鎖症のほうが細胆管反応 (ductular reaction) と肝線維化は高度である。

表 「アラジール症候群」診断基準 (案)<sup>10)</sup>

<p>1. 主要な症候</p> <p>1) 肝病理所見による小葉間胆管の減少</p> <p>2) 臨床所見</p> <p>① 胆汁うっ滞</p> <p>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)</p> <p>③ 骨格の奇形 (蝶形椎体が特徴的所見である)</p> <p>④ 眼球の異常 (後部胎生環が特徴的所見である)</p> <p>⑤ 特徴的な顔貌</p> <p>2. その他の症候</p> <p>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。</p> <p>3. 参考事項</p> <p>1) 常染色体優性遺伝形式の家族歴</p> <p>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。</p>	<p>2) 遺伝子診断</p> <p><i>JAG1</i> 遺伝子、または <i>NOTCH2</i> 遺伝子に変異を認める。</p> <p>4. 診断の判定基準</p> <p>以下にあげた 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。</p> <p>○ 典型例:</p> <p>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。</p> <p>○ 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:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 1 または 2 にあげたアラジール症候群に特徴的な症候が、1 項目以上みられる。</li> <li>・ 常染色体優性遺伝に矛盾しない家族歴がある。</li> <li>・ 遺伝子診断で上記の所見が認められる。</li> </ul> <p>上記の 3 項目のうち、2 項目以上を満たすもの。</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

症」を参照されたい。本症は *Jagged-1* 遺伝子に変異のみられる ALGS1 (OMIM #118450) と *NOTCH2* 遺伝子の異常が検出される ALGS2 (OMIM #610205) に分類される。*NOTCH2* と *Jagged-1* は Notch 受容体とそのリガンドであり、ALGS の本態は Notch シグナルの遺伝的障害にある。実際、胎児期の *Jagged-1* 発現部位は、ALGS の障害臓器に一致しており、原因遺伝子産物の量的異常 (haploinsufficiency) や質的異

常が Notch シグナルの活性化を障害し、多彩な発生異常をひき起こす。

ALGS は臨床・病理所見によって診断されてきたが、発端者の家系を調べると、遺伝子変異は有していても胆汁うっ滞などの典型的な症候を欠く不完全浸透例が多いことがわかってきた。たとえば、家系内で同一の *Jagged-1* 遺伝子変異を有する者でも、無症状者から肝移植の必要な患者まで、重症度には大きな違いがある。これは、

Notch シグナル伝達系の機能に多数の調節因子が影響しており、これらの調節因子の微妙な違いによって、症状が修飾されるためと考えられる。通常、このような不完全浸透例は医療の対象にならないが、両親が生体肝移植ドナーになる場合や、遺伝相談を受ける場合は非典型例として診断が必要となる。このような非典型例も含めた ALGS の診断基準 (案) を表に示した。

## おわりに

Watson, Alagille らの鋭い観察から、ALGS という疾患概念が確立された。基礎遺伝学的な研究によって原因遺伝子が発見されると、非典型例の存在や遺伝学的診断法の導入など、本症の臨床概念は大きく広がった。同時に、胆道系の発生を制御する分子メカニズムの探求といった新しい基礎研究も始まった。これらを土台にして、さらに難治がんの代表である胆道がんや膵臓がんに関する新たな挑戦が開始された。また、胆管細胞からインスリン分泌細胞をつくり、糖尿病の細胞治療、再生医療をめざす研究も始まっている。臨床研究と基礎研究は相互に刺激しあってダイナミックに進歩しており、これらの研究のなかから新しい診断・治療法が生まれてくることが期待される。

## 文献

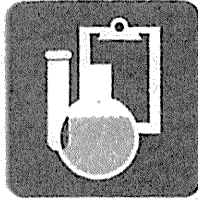
- 1) Li L, Krantz ID, Deng Y, et al : Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1. *Nature Genet* 16 : 243-251, 1997
- 2) Oda T, Elkahoulou AG, Pike BL, et al : Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet* 16 : 235-242, 1997
- 3) Sumazaki R, Shiojiri N, Itoyama S, et al : Conversion of biliary system to pancreatic tissue in Hes1-deficient mice. *Nat Genet* 36 : 83-87, 2004
- 4) Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ : Notch signaling : cell fate control and signal integration in development. *Science* 284 (5415) : 770-776, 1999
- 5) Eberhard D, Tosh D, Slack JMW : Origin of pancreatic endocrine cells from biliary duct epithelium. *Cell Mol Life Sci* 65 : 3467-3480, 2008
- 6) 中沼安二 : 胆道の病理—胆道と膵臓の潜在的可塑性

## Key Points

- ① Notch シグナル伝達系は多種類の臓器の発生過程で機能し、昆虫からヒトまで種をこえて保存されている、重要な分子システムである。
- ② 肝内胆管と肝外胆道系は当初は別々に発生し、後に肝門部で結合して胆道系が完成する。Notch シグナルは両者の発生過程で、重要な機能を果たしている。
- ③ Notch シグナルの標的遺伝子である Hes1 によって、胆道系の前駆細胞が膵臓細胞に分化するのを抑えられ、胆嚢や総胆管などの肝外胆道系が形成される。
- ④ 発生初期の肝臓にある肝芽細胞は、肝細胞と胆管細胞の両方に分化する能力をもつが、Notch シグナルが活性化されると胆管細胞へ方向づけられる。生後もこのシステムは機能しており、胆汁うっ滞によって肝細胞が障害されると胆管増生や線維化などの修復反応が起こるが、この現象にも Notch シグナルが関与している。
- ⑤ Alagille 症候群の原因遺伝子 *NOTCH2* と *Jagged-1* は Notch 受容体とそのリガンドであり、広汎な機能を有する Notch シグナルが障害されるために、さまざまな症状が出現する。

から観察。胆道 24 : 73-81, 2010

- 7) 須磨崎亮 : 肝内胆管, 胆道, 膵 : 共通の視点に立った腫瘍発生 1. 発生の観点から。肝胆膵 62 : 7-15, 2011
- 8) Zong Y, Panikkar A, Xu J, et al : Notch signaling controls liver development by regulating biliary differentiation. *Development* 136 : 1727-1739, 2009
- 9) Fabris L, Cadamuro M, Guido M, et al : Analysis of liver repair mechanisms in Alagille syndrome and biliary atresia reveals a role for Notch signaling. *Am J Pathol* 171 : 641-653, 2007
- 10) 「アラジール症候群」診断基準 (案) 厚生労働科学研究補助金「Alagille 症候群など遺伝性胆汁うっ滞性疾患の診断ガイドライン作成, 実態調査並びに生体資料のバンク化に関する研究」21 年度研究報告, p27, 2010



I. 症候からみる臨床検査の進めかた

# 肝機能障害

Liver dysfunction

和田 宏来 工藤 豊一郎 須磨 崎 亮 筑波大学大学院人間総合科学研究科・小児科

## はじめに

小児の肝機能検査では、①小児期特有の肝・胆道疾患やそれらの好発年齢を念頭において診断すること、②年齢により正常値が異なること、の2点が重要である。病歴と身体所見をよく検討したうえで肝機能検査の項目を選択するが、同時に腹部エコー検査の必要性も考える。異常値を評価する際には、トランスアミナーゼ上昇が前景にたつ肝細胞障害と黄疸を伴う胆汁うっ滞に分けて考えると理解しやすい。トランスアミナーゼの著しい高値と黄疸やプロトロンビン時間 (prothrombin time : PT) 延長を伴う場合、原因不明の肝機能障害が3~6カ月以上続く場合は専門医に紹介する。

## 最初に行うべき検査

肝・胆道疾患の診断は、注意深い病歴聴取、黄疸や肝脾腫などの身体所見、検体検査、腹部エコー検査やその他の画像診断、そして時には肝生検による病理診断を総合して行う。日常診療でいう「肝機能障害」とは、主としてこの検体検査 (肝機能検査) の異常を総称する用語である。

肝障害のスクリーニング検査としては、トランスアミナーゼ (AST・ALT)、ALP、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase : LDH)、 $\gamma$ -GTP、総ビリルビン、直接ビリルビン、血清アルブミン、PT、腹部エコーなどが用いられる。

## 鑑別診断のための検査

スクリーニング検査で異常がみられたら、小児期に多い肝・胆道疾患、それらの好発年齢、黄疸や胆汁うっ滞の有無を参考に鑑別疾患を考え、追加の検査を行う (表1)。

小児におけるウイルス性肝炎は成人と異なり、A~E型肝炎など狭義の肝炎ウイルス感染症は比較的少なく、EBウイルス、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス6型などのヘルペス群ウイルスやパルボウイルスB19、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ロタウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルスなどによる肝障害が多い。

新生児~乳児期の肝障害では先天性代謝異常症の鑑別が重要である。新生児マススクリーニングの異常、血族婚などの家族歴、意識障害、精神運動発達遅滞、多臓器の障害、著明な肝腫大や肝脾腫、脂肪肝などが診断の契機となる。血糖、アンモニア、乳酸、ビリルビン、血液ガス分析が代謝異常のスクリーニングである。さらに鑑別を進めるために、遊離脂肪酸、血清ケトン体および分画、血漿遊離アミノ酸分析、尿中有機酸分析、カルニチン分画などの検査が用いられる。

近年、一部ではタンデムマス・スクリーニングの導入によって、新生児期に30種近い代謝異常症が発見されるようになった。これらが導入されていない地域では、乳幼児が発熱や飢餓状態の後に意識障害、低血糖、Reye症候群などの非特異



的症状で有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症を発症することがある。有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症の中には、急性期しか異常所見がみられないものもあるため、急性期の血清や尿を冷凍保存しておくことが大切である。

## 検査項目別の基準値

本項では、患者の年齢による基準値の推移について述べる。

①新生児～乳児期は成人と比較してトランスアミナーゼ値は高値を示し（AST 20～80 IU/L, ALT

表1 肝機能障害における検査計画の立てかた

肝障害のスクリーニング検査（肝障害の有無と重症度の判定）	AST, ALT, 総ビリルビン, 直接型（抱合型）ビリルビン, ALP, $\gamma$ -GTP, 血清アルブミン, 血算, 血糖, プロトロンビン時間（PT）, 腹部エコー検査
黄疸のスクリーニング検査	<ul style="list-style-type: none"> <li>・直接ビリルビン, 間接ビリルビン</li> <li>・（高直接ビリルビン血症）トランスアミナーゼ, 総胆汁酸</li> <li>・（高間接ビリルビン血症）血算, 網赤血球, ハプトグロビン, Coombs 試験, 赤血球形態の観察</li> </ul>
ウイルス性肝炎の検索	<p>肝炎ウイルスマーカーのスクリーニング</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・A型：IgM-HA 抗体</li> <li>・B型：HBs 抗原, HBc 抗体, HBV-DNA（PCR法）</li> <li>・C型：HCV 抗体, HCV-RNA（HCV 母子感染, RT-PCR法）</li> <li>・E型：HEV-IgG, -IgM 抗体（EIA法）</li> </ul> <p>ヘルペス群ウイルスマーカーのスクリーニング</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・EBウイルス（EBV）：VCA-IgG 抗体, EBNA 抗体</li> <li>・サイトメガロウイルス（CMV）：CMV-IgM 抗体（EIA法）, CMV 抗原血症</li> <li>・単純ヘルペス（HSV）：HSV-IgM 抗体（EIA法）, HSV-DNA（PCR法）</li> <li>・ヒトヘルペスウイルス6（HHV6）：HHV6-IgM, -IgG 抗体（EIA法）, HHV6-DNA（PCR法）</li> </ul>
代謝異常のスクリーニング	<ul style="list-style-type: none"> <li>・一次検査：血糖, アンモニア, 血液ガス, 乳酸, ビルビン酸, 一般生化学（尿酸, 中性脂肪など）</li> <li>・二次検査：血漿遊離アミノ酸分析, 遊離脂肪酸, ケトン体分画, カルニチン分画</li> <li>・尿検査：還元糖, ケトン体, アミノ酸分析, サクシニルアセトン, 胆汁酸分析, 有機酸分析</li> <li>・幼児以降：尿中銅, セルロプラスミン, フェリチン, 血清鉄</li> <li>・腹部エコー, 腹部CT：脂肪肝, 肝脾腫</li> </ul>
新生児肝障害, 乳児胆汁うっ滞	<ul style="list-style-type: none"> <li>・マススクリーニング：ガラクトース, メチオニン, チロシン, タンデムマス・スクリーニング</li> <li>・腹部エコー（胆嚢の大きさ, 胆道の拡張, 脂肪肝）</li> <li>・胆道閉鎖症：十二指腸液採取, リボプロテインX, 胆道シンチグラフィ</li> <li>・新生児肝炎症候群：尿培養, TORCHスクリーニング, 遊離サイロキシシン（FT<sub>4</sub>）, TSH, コルチゾール（朝測定）, 染色体分析</li> </ul>
3歳以上の慢性肝障害	<ul style="list-style-type: none"> <li>・腹部エコー検査（脂肪肝, 肝腫大, 肝硬変, 門脈圧亢進症のスクリーニング）</li> <li>・Wilson病：セルロプラスミン, 尿中銅, 血清銅,</li> <li>・自己免疫性肝胆道疾患：IgG, 抗核抗体, 抗平滑筋抗体, 抗LKM抗体</li> <li>・ウイルス性疾患：HBs 抗原, HCV 抗体, EBウイルス抗体（VCA-IgG, EA-DR IgG, EBNA 抗体）</li> </ul>

RT-PCR：reversed transcription-polymerase chain reaction, EIA：enzyme immunoassay, TSH：thyroid stimulating hormone, LKM：liver kidney microsome, EBNA：EB virus nuclear antigen

10~60 IU/L), 生後6カ月頃をピークに徐々に低下して, 1歳以降はほぼ成人と同様に評価できる。正常乳児でも, 時に100 IU/L前後まで上昇する場合もある。

②ALPは成長に伴う骨代謝の影響を受けるため, とくに乳児期と思春期に高値を示す。必ず年齢別の基準値を参照する。

③LDHも乳児期に高値を示し(300~800 IU/L)。その後, 漸減する。

④ $\gamma$ -GTP, 血清総胆汁酸,  $\alpha$ フェトプロテイン( $\alpha$ -fetoprotein: AFP), プロコラーゲンⅢペプチド(procollagen Ⅲ peptide: PⅢP)などは新生児期に高値を示す。

⑤新生児期の $\gamma$ -GTPの正常範囲は50~150 IU/Lである。

⑥総胆汁酸値は生後6~8週まで高値(40~50  $\mu$ mol/L)を持続し, その後, 低下して生後6カ月で健常成人レベル(<10  $\mu$ mol/L)となる。とくに低出生体重児では高値を示す。

⑦血清アルブミン値は乳児期早期まではやや低値(3.5~4.4 g/dL)を示すが, それ以降は成人と同様の基準値(3.9~4.9 g/dL)をとる。

⑧A/G比(アルブミン/グロブリン比)は生理的な免疫グロブリンの低下のため, 乳児期を通じて1.5~2.8と高値である。

⑨AFPは出生時50,000~500,000 ng/mL, 生後30日では500~10,000 ng/mL, 乳児期後半に健常成人レベル(10 ng/mL以下)へと急速に減少するので, 月齢ごとの基準値を参照する。

⑩ヒアルロン酸, PⅢP, Ⅳ型コラーゲンは肝線維化の指標として用いられるが, ヒアルロン酸は年齢による正常値の変動が少ないので小児期のマーカーとして有用である。

## 肝障害のスクリーニング検査の解釈

### 1. AST, ALT

AST, ALTは肝機能検査としてもっとも広く用

いられているが, 必ずしも肝疾患に特異的ではないため注意が必要である。トランスアミナーゼ値の上昇がみられても, LDH, CKなど他の逸脱酵素の上昇を認める場合は, 肝臓以外の臓器障害を考える。とくに, CKが同時に上昇している場合は筋疾患を考慮する。ASTやLDHは採血時の溶血によっても上昇する。LDHアイソザイムを測定すると, 肝疾患ではLDH<sub>1</sub>, LDH<sub>2</sub>が上昇する。

ALTはASTに比べると肝臓に特異性が高い。急性肝疾患では一般的に上昇が高度で, 初期はAST>ALT, 次いでAST<ALTとなる。慢性肝疾患ではALT, ASTともに軽~中等度増加または正常で, 慢性肝炎の急性増悪期ではAST<ALTを示すが, 慢性肝炎ではAST>ALTのパターンが多い。肝硬変になるとAST, ALT値はむしろ低下する。脂肪肝ではトランスアミナーゼ値の変動が少なく, 肥満児では減量により改善する。

### 2. ALP, $\gamma$ -GTP

ALPは成長期には骨代謝の影響を受ける。ALPアイソザイムを測定すると, 正常児では骨由来のALP<sub>3</sub>が上昇している。閉塞性黄疸を呈する児ではALP<sub>1</sub>, ALP<sub>2</sub>, 慢性肝炎・肝硬変を呈する児ではALP<sub>2</sub>, ALP<sub>4</sub>が増加する。小児期の胆道系酵素としては $\gamma$ -GTPの特異性が高い。

### 3. ビリルビン

ビリルビンはヘモグロビンのヘムから合成され, 肝臓内でUDP-glycosyltransferaseにより抱合されて水溶性の直接ビリルビンとなり, 胆汁中に排泄される。この代謝経路がどこかで障害されると, 血清中の総ビリルビンが増加し黄疸を生じる。黄疸は重要な所見であり, 鑑別診断を急ぐ必要がある。まず直接ビリルビンと間接ビリルビンを測定し, 直接ビリルビン値が総ビリルビン値の20%以上または2 mg/dL以上の場合は高直接ビリルビン血症と判断する。間接ビリルビンは溶血性疾患により, また直接ビリルビンは胆汁うっ滞により増加する。溶血がなくトランスアミナーゼ値

の異常や高胆汁酸血症を伴わない黄疸では、体質性黄疸を考える。

#### 4. 胆汁酸

コレステロールの代謝産物で腸肝循環を繰り返す。血清総胆汁酸は胆汁うっ滞により増加する。軽度の胆汁うっ滞ではビリルビン値は上昇せず、高胆汁酸血症のみが認められる場合がある（無黄疸性胆汁うっ滞）。また、門脈体循環短絡によっても血清胆汁酸は増加する。この場合、ビリルビン値は正常で、トランスアミナーゼ値も正常ないし軽度増加にとどまる。一方、正常な胆汁酸の合成ができない胆汁酸代謝異常では、毒性の強い異常胆汁酸が蓄積して肝細胞障害をきたすため、高直接ビリルビン血症やトランスアミナーゼ高値がみられるが、血清胆汁酸値はほぼ正常である。血清総胆汁酸は食後に高値となるため、空腹時に測定する。

#### 5. 血清アルブミンやプロトロンビン時間 (PT)

肝細胞による蛋白合成能の評価に用いられる。半減期が20日のアルブミン値の低下は肝硬変など慢性の肝障害またはネフローゼ症候群、蛋白漏出性腸症などによる蛋白の喪失を示す。とくに血小板数の低下を伴う場合は、慢性肝炎の進行や門脈圧亢進症による脾機能亢進を考える。PTの延長は半減期が24時間未満と短い血液凝固因子の産生低下を反映しており、緊急処置を要する急性肝不全の重要なマーカーである。

#### 6. 腹部エコー検査

腹部エコーは低侵襲で簡便であり、診断に有用な情報を多く得ることができる。先天性胆道拡張症では、拡張した総胆管や囊腫状の総胆管が描出される。胆道閉鎖症では胆嚢が描出されないことが多く、描出されても哺乳後の収縮が不十分である。triangular cord signも有用である。肝不全ではエコーにて肝の萎縮、腹水などが認められる。脂肪肝では、肝実質の点状高エコー像、および肝実質エコーの深部減衰、肝内脈管の不明瞭像などの

所見を認める。

### 異常値へのアプローチ

小児の肝機能障害の診断にあたっては、まず好発年齢を考える。新生児期に肝障害を呈するものとしては、TORCH感染症、敗血症・尿路感染症、重症な先天性代謝異常症、循環器疾患（循環不全やうっ血による）が多い。乳児期早期では、胆道閉鎖症と新生児肝炎症候群の速やかな鑑別や先天性代謝異常症、下垂体や甲状腺機能障害による肝障害、中心静脈栄養による肝障害、B型肝炎ウイルスの母子感染など特異的な治療の必要な肝疾患の診断が重要である。乳児～幼児期には各種ウイルスによる肝炎、総胆管拡張症、先天性代謝異常症を考える。Wilson病は3歳以上で肝障害を呈する場合に鑑別する必要がある。血清セルロプラスミンや尿中銅を測定する。学童期の肝機能異常では脂肪肝がもっとも多い。

また、好発年齢とともに肝機能障害のパターンを区別する。トランスアミナーゼの上昇が目立つ場合は肝実質障害を、胆管上皮から漏出する酵素〔ALP、 $\gamma$ -GTP、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)〕の上昇や胆汁うっ滞が優位であれば肝・胆道系の疾患を鑑別する。表2<sup>1)</sup>に、小児期に肝機能異常を呈する重要な疾患を以下の①～③のパターンに分類し、具体的な検査項目と診断のポイントを示す。

①高トランスアミナーゼ血症（急性肝障害・慢性肝障害）。

②トランスアミナーゼの正常な肝疾患。

③乳児期の胆汁うっ滞性疾患。

#### 1. 高トランスアミナーゼ血症

##### 1) 急性肝障害

肝障害の既往がなく、突然のトランスアミナーゼ値の上昇がみられる場合、まずはウイルス性肝炎や薬剤性肝障害による急性肝障害を鑑別する。ウイルス感染に伴う肝障害では、各種ウイルス抗

表2 小児期の主要な肝・胆道疾患における鑑別のポイント (文献1) より引用, 一部改変)

	疾患 (病態)	検査項目・ポイント
急性肝障害 <sup>*1</sup>	急性肝炎	IgM-HA抗体, HBs抗原, IgM-HBc抗体, HCV抗体, HCV-RNA, E型肝炎ウイルス抗体, EBウイルス, サイトメガロウイルスなどのウイルス抗体
	薬剤性肝障害	服用中止による改善, 好酸球↑, DLST, チャレンジテスト (要注意), 薬剤性過敏症候群 (DIHS) では薬剤中止後も症状が続き, HHV6抗体↑
	劇症肝炎	PT↓, ヘパプラスチンテスト↓, 肝萎縮, 意識障害・脳波異常, 黄疸, ビリルビン抱合能↓, 広汎性肝細胞壊死
	Reye症候群 Reye様症候群	水痘・インフルエンザの先行感染, 低血糖, アンモニア↑, 脳浮腫, 肝生検による微細小脂肪滴とミトコンドリア膨化, 代謝異常の検索
	血球貪食症候群	発熱, 肝脾腫, 血球減少, LDH↑, 播種性血管内凝固 (DIC), フェリチン↑, 骨髓穿刺や肝生検で血球貪食像, EBウイルス感染マーカー
慢性肝障害	ウイルス性慢性肝炎	B型肝炎とC型肝炎ウイルスマーカーの検出 肝生検により肝炎の活動性と線維化を評価
	自己免疫性肝炎 (AIH)	赤沈・CRP↑, IgG↑, 抗核抗体, 抗平滑筋抗体陽性, 抗LKM抗体 肝生検で慢性活動性肝炎
	肝硬変	慢性肝疾患の存在, 手掌紅斑, くも状血管腫, 脾腫, 腹部エコー, TP↓, Alb↓, ICG試験, 上部消化管内視鏡, 肝生検・腹腔鏡で確定診断
	脂肪肝	肥満度, 体脂肪量↑, 腹部エコー, 腹部CT, コリンエステラーゼ↑ 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は肝生検で確定診断
	うっ血肝	うっ血性心不全, 肝脾腫, 浮腫・腹水, 胸部X線撮影, 心エコー
	Wilson病	家族歴, セルロプラスミン↓, 血清銅↓, 尿中銅↑, Kayser-Fleischer輪 肝組織銅含有率定量↑ (劇症型ではPT↓, 間接ビリルビン↑)
	肝型糖原病	肝腫大, 低身長, 人形様顔貌, 低血糖, 乳酸↑, 脂質異常症, 尿酸↑
ALP正常の肝疾患	肝外門脈閉塞症	肝脾腫や消化管出血などで発症, 総胆汁酸↑, ICG排泄率↓, 血球減少 腹部エコーで海綿状血管増生 (cavernous transformation) dynamic CTまたは門脈造影で確定診断, 上部消化管内視鏡で静脈瘤の検索
	門脈大循環短絡症	新生児マススクリーニングの高ガラクトース血症, 腹部エコー検査で発見 トランスアミナーゼはほぼ正常, 総胆汁酸↑, 食後アンモニア↑ dynamic CTまたは門脈造影で確定診断
筋疾患	筋肉疾患 (トランスアミナーゼの上昇する非肝疾患)	家族歴, 筋力の低下, CK↑, アルドラーゼ↑, LDH↑, LDHアイソザイム2・3↑, 筋電図異常, 筋生検
乳児胆汁うっ滞 <sup>*2</sup>	胆道閉鎖症	灰白色便, 腹部エコー, リホプロテインX↑, 十二指腸液検査, 胆道シンチグラム, 肝生検, 開腹胆道造影で確定診断
	先天性胆道拡張症	間歇的腹痛, 腹部腫瘤, 腹部エコー, 腹部CTにより診断 MRCP・胆道造影による膵胆管合流異常の検出
	新生児肝炎	外科的疾患, 感染症, 先天代謝異常, 内分泌異常, 染色体異常を除外 肝生検で巨細胞性肝炎
	Alagille症候群	特徴的顔貌, 末梢性肺動脈狭窄, 椎骨癒合不全, 眼科異常 (後部胎生環) 肝生検で肝内胆管の減少により確定診断
	成人発症II型高シトルリン血症	高ガラクトース血症, 高アミノ酸血症, 脂肪肝 SLC25A13 (シトルリン) 遺伝子診断により確定診断
	進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 (PFIC)	家族歴, 皮膚痒痒感, 黄色腫, 脂溶性ビタミン欠乏症状, 発育障害 I型と2型では胆汁うっ滞にもかかわらずγ-GPTが正常, 肝線維化の進行 PFIC1やBSEP遺伝子診断, 肝組織の免疫組織染色により確定診断
その他 <sup>*2</sup>	体質性黄疸	家族歴, トランスアミナーゼ正常, 間接ビリルビン↑はGilbert症候群, Crigler-Najjar症候群, 直接ビリルビン↑はDubin-Johnson症候群, Rotor症候群
	溶血性疾患	家族歴, 貧血, ハプトグロビン↓, LDH↑, LDHアイソザイム1・2↑

\*1: 急性肝炎から筋肉疾患まではトランスアミナーゼの変動で分類, \*2: 黄疸を主訴とする主要疾患

HCV: hepatitis C virus, DLST: drug lymphocyte stimulation test, LDH: lactate dehydrogenase, MRCP: magnetic resonance cholangiopancreatography, ICG: indocyanine green

原、抗体価、PCR (polymerase chain reaction) 法によるウイルス遺伝子の検出などにより診断する。とくに乳児期は、感染症による肝機能障害を伴いやすい時期で、原因となるウイルスも多彩である。

トランスアミナーゼが400 IU/L以上の著明な高値を示す場合は、重症度を判定するためにPTやヘパプラスチンテストを行い、異常がみられれば急性肝不全への進行を考え、ただちに専門医に相談する。小児の急性肝不全の成因は、頻度の高い順に代謝性、ウイルス性、薬剤性、自己免疫性となるが、成因不明例が40%以上を占め、とくに乳幼児に多い。ウイルス性ではB型肝炎ウイルス、EBウイルスなどによる血球貪食症候群、単純ヘルペスの母子感染(新生児)、A型肝炎(年長児)が原因として多く報告され、代謝性ではWilson病が半数以上を占める。Wilson病による肝不全は年長児に多く、溶血発作を伴うため黄疸が強いといった特徴がある。一方、乳幼児では、新生児ヘモクロマトーシス、チロシン血症、尿素サイクル異常症、ガラクトース血症、ミトコンドリア異常症、Reye様症候群などの代謝異常、低心拍出量をきたす心奇形など多様な原因を鑑別する必要がある。

## 2) 慢性肝障害

トランスアミナーゼの上昇が数カ月以上続く場合は、B型肝炎ウイルスやC型肝炎ウイルスによる慢性肝炎、慢性活動性EBウイルス感染症、自己免疫性肝炎(autoimmune hepatitis: AIH)や原発性硬化性胆管炎、脂肪肝、うっ血肝、肝硬変、Wilson病や糖原病などの代謝異常を鑑別する。ウイルス性肝炎の診断のポイントを表1に、その他の疾患の診断のポイントを表2<sup>1)</sup>に示す。小児のAIHは炎症性腸疾患を伴いやすく、原発性硬化性胆管炎との鑑別や合併例に注意する。また小児でも、肥満児の増加に伴って肝病変が進展しやすい非アルコール性脂肪性肝炎(non-alcoholic steato-

hepatitis: NASH)が多くなっており注意を要する。乳幼児で脾腫を伴わない肝腫大と低身長を呈する場合があります。肝機能異常に加えて、低血糖、乳酸アシドーシス、高脂血症、高尿酸血症などがみられれば、肝型糖原病を考える。

乳児では、トランスアミナーゼ値が100 IU/mL以下の軽度の異常が数カ月続く場合がしばしばみられる。多様なウイルス感染が原因と推定されるが、病因を確定できないことも多い。乳児の肝機能障害で原因不明の場合、肝機能の増悪、黄疸や凝固異常がないことを確認し、肝機能異常が正常化するまで観察を継続する。通常は1~3歳までに正常化することが多く、予後良好である。トランスアミナーゼ値100 IU/mL以上が長期間続く場合、1歳以降になっても正常化しない場合、胆汁うっ滞を伴う場合、成長発達に異常がみられる場合は肝生検の適応であり、先天性代謝異常症や各種の乳児胆汁うっ滞性疾患を慎重に鑑別する。

## 2. トランスアミナーゼの正常な肝疾患

代償性肝硬変、肝外門脈閉塞症、門脈体循環短絡症などではトランスアミナーゼが正常値を示すことがあるので、注意が必要である。

## 3. 乳児期の胆汁うっ滞性疾患

乳児はいろいろな胆汁うっ滞性疾患の好発時期であり、正確な鑑別診断が求められる。黄疸のほかに脂溶性ビタミンの欠乏症状、とくにビタミンK欠乏による出血傾向に注意する。生後6カ月以上になると、皮膚掻痒が目立つようになる。

新生児~乳児期早期は生理的にも胆汁うっ滞を生じる。これは新生児の胆汁排泄機能が未発達なことによる。また、生理的黄疸(生後2週頃まで)や母乳性黄疸(生後2~3カ月まで)など間接ビリルビンが高値を示す症例が多いため、病的な高直接ビリルビン血症が見逃される危険性がある。新生児の遷延性黄疸や1カ月健診時の黄疸ではすぐに母乳性黄疸と断定せず、必ず灰白色または淡黄色便の有無を確認してから直接ビリルビンを

測定する。高直接ビリルビン血症であれば、まず胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症など外科的な疾患の鑑別を急ぐ。

この時期の内科的な胆汁うっ滞性疾患を新生児肝炎症候群と総称し、敗血症、尿路感染症、梅毒、その他の全身感染症、先天性代謝異常症、内分泌疾患、染色体異常など既知の原因疾患を除外できた症例を特発性新生児肝炎とよぶ。典型例では巨細胞性肝炎の病理像を呈する。仮死など周産期の異常が誘因となる例が多い。

近年、この新生児肝炎症候群の中からシトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症 (neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency : NICCD)、進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 (progressive familial intrahepatic cholestasis : PFIC) 1~3型、胆汁酸代謝異常症など多数の遺伝性胆汁うっ滞症が発見された。これらは、①胎児期の発生異常 (Alagille症候群など)、②特定の物質輸送にかかわるトランスポーターの異常 (PFIC, NICCD)、③胆汁酸代謝異常症、に大別される。胆汁うっ滞を認めるにもかかわらずγ-GTPが正常な場合に、PFIC1型/PFIC2型、胆汁酸代謝異常症、ARC (arthrogryposis-renal tubular dysfunction-cholestasis) 症候群などを考える。PFIC1型/PFIC2型は肝の病理学的検索や遺伝子検索によって診断

する。血清総胆汁酸が正常~低値を示す場合は胆汁酸代謝異常症を想定して、尿中胆汁酸の分析を行う。

NICCDはSLC25A13の遺伝子変異による常染色体劣性遺伝疾患で、この遺伝子産物がシトリンである。日本で発見された疾患であり、とくに日本を含む東アジアに多い。胆汁うっ滞、成長障害、低血糖など多彩な症状をきたし、多種の高アミノ酸血症、低蛋白血症、脂肪肝などが診断の手がかりとなる。遺伝子検索やシトリン蛋白の欠失によって診断が確定される。

## 文献

1) 須磨崎亮：検体検査－肝機能．小児科診療 68：779-785, 2005

## 参考文献

- ・入野野博, 武井 一：肝機能検査の読みかた, 診断の進めかた. 小児科診療 70: 1012-1019, 2007
- ・藤澤知雄：肝機能障害. 小児内科 42: 1107-1113, 2010
- ・田澤雄作：新生児胆汁うっ滞－新生児肝炎及びシトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞の臨床を中心として. 日児誌 111: 1493-1514, 2007

## 著者連絡先

〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1  
筑波大学大学院人間総合科学研究科・小児科  
和田宏来

## 発生の観点から

須磨崎 亮\*

索引用語: 胆道癌, 膵癌, 発生, Notch, Wnt, Hedgehog

### 1 はじめに

癌組織では細胞増殖, 血管新生, 転移・細胞の遊走など発生期と同様の現象がみられことから, 腫瘍の発生・進展と器官形成の密接な関係が推測される。実際, 発癌に関与する遺伝子群には, 発生過程で重要なシグナル伝達系と共通なものが多い。われわれは遺伝子欠失マウスで, 肝外胆管(胆道系)が膵臓様組織に分化転換することを見いだした<sup>1)</sup>。近年明らかにされた胆道癌と膵癌における腫瘍発生の類似性は, このような発生生物学の知見からみても興味深い。また, 膵臓の形成時に働くシグナル伝達系が膵癌組織で再活性化され, これらのシグナルを抑制する薬剤が膵癌治療に有効であるとの結果も得られている。本稿では, 膵臓や胆管系の発生過程を紹介しながら, 腫瘍発生との関連について考えてみたい。

### 2 肝胆膵の発生と細胞分化の系譜

肝臓, 肝外胆道系, 膵臓はいずれもほぼ同

時期に前腸末端部から内胚葉性上皮芽として発生する(図1)。胆管系と膵臓の機能は全く異なるが, 肝外胆道系と膵臓は類似した発生過程を経る。一方, 肝内胆管, 胆嚢, 肝外胆管は胆汁の流出路として連続した管腔構造を保っているが, 肝内胆管と肝外胆道系は別々に発生して, 後に接続する<sup>2)</sup>。最近の研究によれば, マウスでは胎生8~9日のほぼ24時間で, 内胚葉の均一な細胞集団が肝臓や膵臓の原基に分化する。分子レベルで解析した結果を細胞分化の系譜として表現すると(図2), 前腸の前駆細胞はまず肝芽細胞と膵臓や胆道系に共通の前駆細胞に分化し, さらに前者から肝細胞と肝内胆管が, 後者から肝管・胆嚢管・胆嚢・総胆管を含む肝外胆道系と腹側膵臓が発生する<sup>3)</sup>。腫瘍発生との関連でいえば, 膵管上皮内腫瘍性病変(PanIN)と胆管上皮内腫瘍性病変(BiIN)の類似性は, 発生過程における膵臓と肝外胆管の密接な関係を反映していると考えられる。

未分化な内胚葉前駆細胞は, このような系譜に沿って段階的に臓器特異的な実質細胞へ

Ryo SUMAZAKI: Tumorigenesis of pancreas and bile ducts: Lessons learned from development

\*筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻小児科 [〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1]

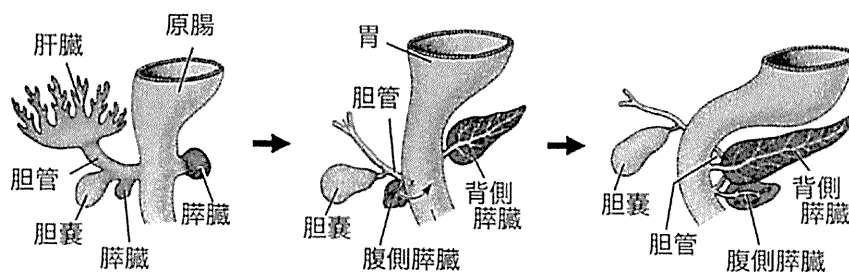


図1 肝臓，胆道系，膵臓の器官形成過程(Depvelopmental Biology, Gilbert 著より引用改変)

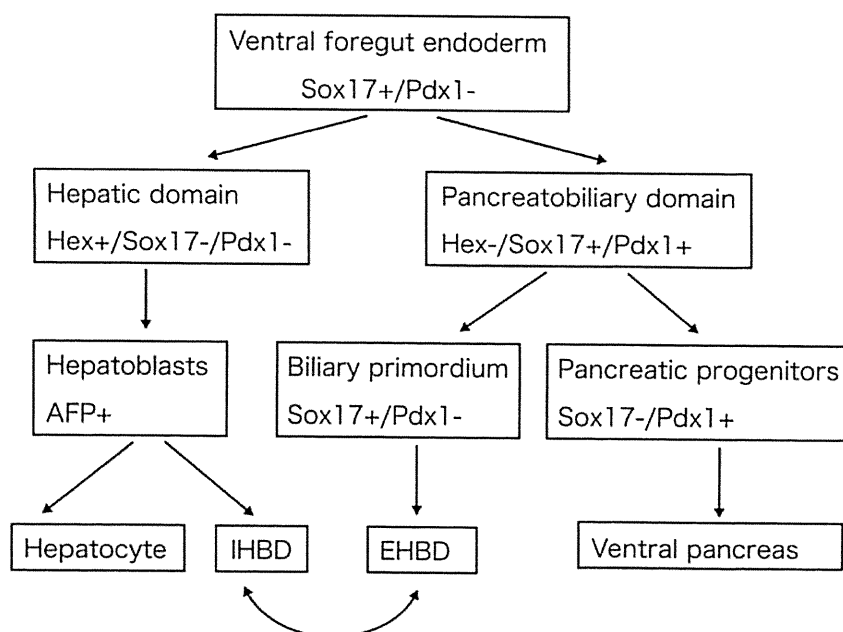


図2 肝臓，肝外胆道系，膵臓への細胞分化の系譜(文献18より引用) 肝臓，肝外胆管，腹側膵臓はすべて前腸腹側(ventral foregut)から発生する。マウスでは，胎生8.5日にHex陽性，Sox17とPdx1は陰性(Hex+/Sox17-/Pdx1-)の肝臓原基(hepatic domain)が出現する。それに隣接して，Hex-/Sox17+/Pdx1+の腹側膵臓と肝外胆道系の原基(pancreatobiliary domain)が存在する。前者は，肝芽細胞(hepatoblasts)を経て肝細胞と肝内胆管(IHBD)に分化する。後者は，Sox17陽性の肝外胆道系の原基(biliary primordium)とPdx1陽性の膵臓前駆細胞(pancreatic progenitors)に分化する。肝内胆管と肝外胆道系(EHBD)は二次的に結合する。

と分化する。一方，胎生期に転写因子 *Ptf1a* が欠失すると膵臓に分化すべき細胞が小腸に分化する<sup>4)</sup>。 *Hes1* が欠失すると肝外胆道系の代わりに膵臓様組織が形成される<sup>1)</sup>。これらのことから，内胚葉前駆細胞が分化する過程は連続的に進行し，分化プログラムのかなり後期に至っても，胆管，膵臓，腸管などの間で細胞分化の方向を変える能力(可塑性)が残されていると推測される。さらに従来は，

いったん分化した細胞が他種類の細胞に形質転換することは稀と考えられていたが，近年は例えば，膵臓内の外分泌，膵管，内分泌細胞間の転換が成熟後にも起こるとの概念が広まりつつある<sup>5)</sup>。特に，後述するように膵癌の発生過程で，膵外分泌細胞が膵管細胞様に転換することが判明した<sup>6)</sup>。



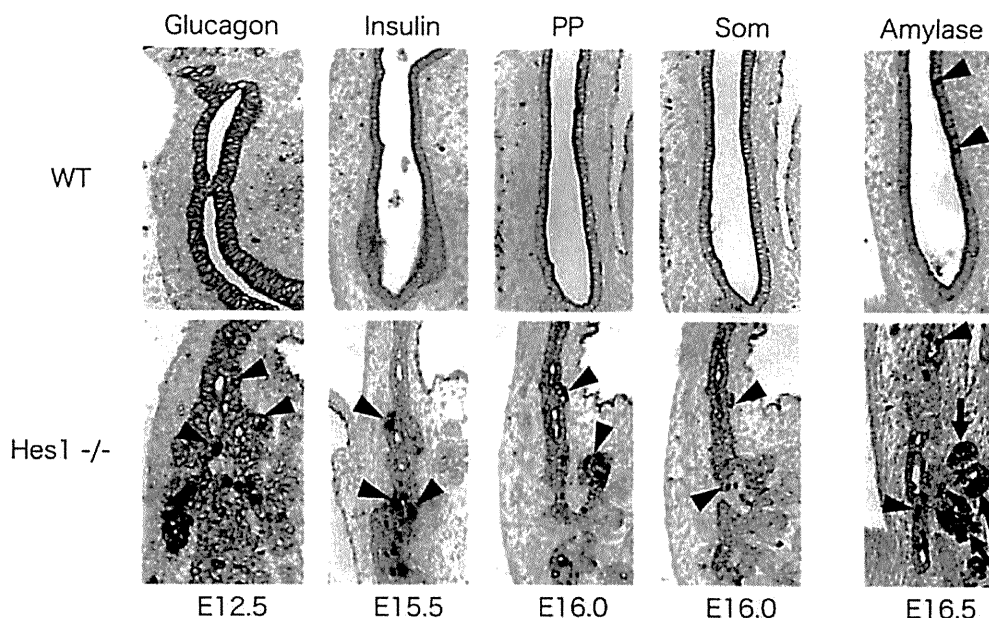


図3 Hes1欠損マウスにおける肝外胆管の発生(文献1より引用)  
胎生12.5～16.5日にかけて、胆管の構造が発生途中で徐々に膵臓組織様に分化する。WT：正常マウス(Wild Type), Hes1<sup>-/-</sup>：Hes1遺伝子欠損マウス。

### 3 胆道系と膵臓の発生：器官分化を制御するNotchシグナル

胆道系と膵臓の器官分化を決定する分子機構は、従来不明であった。筆者らは遺伝性胆汁うっ滞症として最も多いAlagille症候群の病態を解析中に、Notchシグナルの下流に位置する転写抑制因子Hes1が、胆管になるか膵臓になるかを決定する分子スイッチとして働いていることを見いだしたので、その概要を記す。

先天的に胆管の発生が障害されるAlagille症候群の原因遺伝子がNotchのリガンドJAG1であるとの報告を受けて、われわれはNotchシグナルの胆管発生に果たす役割について研究を始めた。まず正常マウスでNotchシグナルの発現を調べると、Jagged1, Jagged2, Notch1, Notch2とHes1が胆嚢と膵臓の原基で検出された。一方、Hes1は膵臓内分泌細胞の発生を抑制することにより、これらの細胞の分化のタイミングを制御して

いることが報告されている<sup>7)</sup>。この結果からNotch-Hes1シグナルは、膵臓発生だけでなく、胆管発生でも何らかの役割を果たしていると推測した。

次に、Notchシグナルの遺伝子欠損マウスで胆管系の異常を検索した。生後まで生存するHes1遺伝子ノックアウトマウスでは、総胆管や胆嚢が全く形成されていなかった。また、このマウスの組織学的検索では、胆管上皮の細胞配列は膵臓組織様で管腔形成がなく、この部位にグルカゴン・インスリンなどのホルモン産生細胞ならびに膵外分泌マーカー陽性の細胞が見いだされた。さらに、膵外分泌腺に特徴的な腺房構造や膵内分泌細胞がクラスターを形成して分布するランゲルハンス島類似の構造も観察された(図3)。以上からHes1が欠損すると、肝外胆道系が発生の途中で膵臓組織様に変化すると解釈した。その後実際に、試験管内で胆管細胞から膵臓内分泌細胞が誘導できることが確認された。また剖検組織の詳細な検討によれば、ヒト正

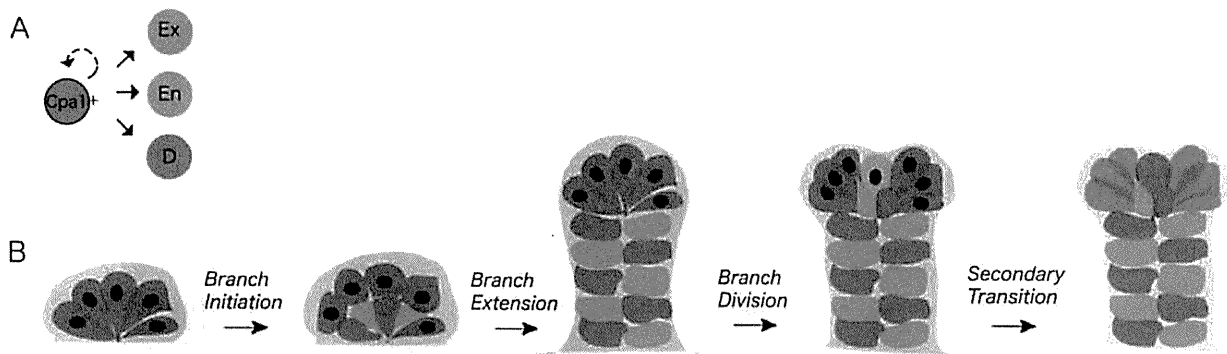


図4 膵前駆細胞から内分泌細胞，外分泌細胞，膵管細胞への分化(文献9より引用)

マウスの胎生10.5以前の膵臓原基には一様な膵前駆細胞が存在する。胎生10.5-13.5の間にCpa1陽性の多能性膵前駆細胞(赤)が伸長しつつある膵管分岐構造の先端に出現する。その前駆細胞が膵管細胞(青, D)や膵内分泌細胞(緑, En)に分化して膵管の基部を形作る。胎生14日頃には、先端の多能性前駆細胞は外分泌細胞(オレンジ, Ex)に変わり、三系統への細胞分化が終了する(Secondary Transitionとは、成熟した内分泌細胞や外分泌細胞が出現することをいう)。

常組織でも時に、大型胆管周囲に膵外分泌細胞が存在する<sup>8)</sup>。

#### 4 膵細胞の発生・分化と膵臓癌の発生・進展に関わるシグナル伝達系

Notch, Wnt, Hedgehogなどのシグナル伝達系は胎生期に働き、通常、成熟後は抑制される。本項ではこれらの胎生期シグナルの膵臓発生並びに膵癌発生における役割を記す。胎児マウスの膵臓内では、Carboxypeptidase A1とPdx1の両者を発現する多能性前駆細胞から内分泌細胞，外分泌細胞，膵管細胞の3者が分化する(図4)<sup>9)</sup>。多能性膵前駆細胞は胎生12.5日で最も多く、14日以降には多分化能が失われる。活性化したNotchシグナルはHes1の発現を誘導し、Neurogenin3の発現を抑制することで、膵臓内分泌細胞への分化を抑える<sup>7)</sup>。一方、Notchシグナルの下流にあるHes1はPtflaと結合することにより、外分泌細胞への分化も抑制する。これらのことから、Notchシグナルは膵前駆細胞の未分化能維持と分化のタイミング制御の役割を担っていると考えられている<sup>10)</sup>。一方、WntやHedgehogは分泌型シグナル分子ファミリー

を構成し、初期発生では濃度依存性に細胞運命を決定する。例えばWnt/ $\beta$ -カテニン系やHedgehogは原腸で活性化しており、これらが抑制されることによって膵臓が形成される。また膵臓原基形成後もWntシグナルは外分泌や内分泌系への分化、ランゲルハンス島の形成、生後の膵臓の成長促進、インスリン分泌の維持などの重要な作用を担っている<sup>10)</sup>。このように、胎生期の膵臓形成シグナルは、膵前駆細胞の増殖、分化に深く関わっている。

膵臓の発生メカニズムは、膵臓モデルマウスの利用によって近年、急速に解明されてきた。ヒト膵臓では大部分の症例でKras遺伝子コドン12の変異がみられる。一方、この変異型Kras蛋白を膵臓特異的に発現させたトランスジェニックマウスでは、ヒト膵臓の前癌病変PanINが観察される<sup>11)</sup>。このマウスに、さらにヒト膵臓で認められるさまざまな遺伝子異常を組み合わせることで、膵臓における多段階発癌の過程をモデルマウスで再現できるようになった。

Notchシグナルの活性化はPanIN，進行したヒト膵臓，膵臓マウスモデルのいずれでも

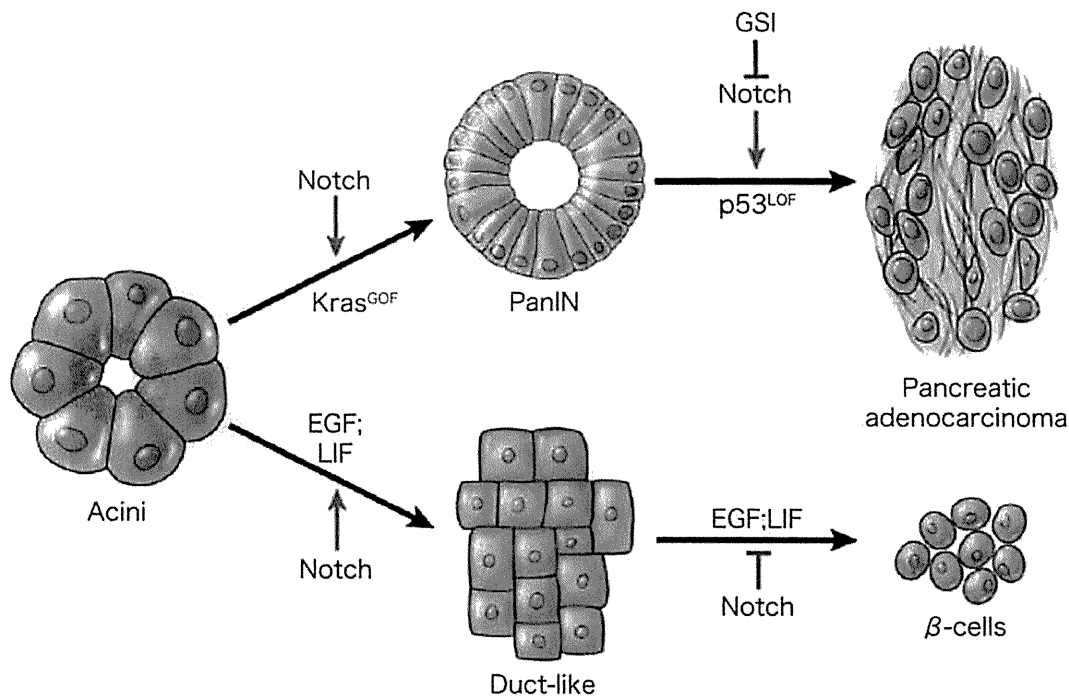


図5 Notchシグナルによる膵臓外分泌(腺房)細胞の形質転換と膵癌の発生(文献13より引用)  
 <上段>腺房細胞(Acini)にKras遺伝子変異があり(Kras<sup>GOF</sup>), Notchが活性化されると膵管内上皮性腫瘍(PanIN)の形成が促進される. さらに癌抑制遺伝子であるp53の変異が加われる(p53<sup>LOF</sup>)と, 膵癌が発生する. Notchシグナルを遮断するγセクレターゼ阻害剤(GSI)を投与すると, 膵癌の形成が抑えられる.  
 <下段>正常な腺房細胞が傷害されると, Notchが活性化され, 形質転換が起こり, 膵管細胞(Duct-like)に脱分化する. さらに, インスリンを分泌するβ細胞に再分化する可能性も想定されている.

確認されている. 上記の膵癌モデルマウスにNotchシグナルを遮断するγセクレターゼ阻害剤を投与すると, 膵癌の発生が抑えられる<sup>12)</sup>. このメカニズムとして, 図5が想定されている. 正常な膵臓ではNotchシグナルは膵外分泌細胞が脱分化してβ細胞に形質転換する過程を促進する. もしKras遺伝子変異が存在するとNotchシグナルはPanINから膵癌が発生する過程を促進する<sup>13)</sup>. 実際, モデルマウスの解析によれば膵癌は外分泌細胞が起源であり<sup>14)</sup>, Notchシグナルの活性化は膵癌の発生を促進する<sup>13)</sup>. これらの結果から, Notchシグナルを抑制する薬剤は膵癌の分子標的薬として大きな期待を集めている.

一方, 胎児期に働くWntシグナルによって安定化されるβ-カテニンが, モデルマウス

の系で膵癌の発生を阻止することが報告された<sup>15)</sup>. 膵外分泌細胞が傷害を受けて再生する過程で, β-カテニンがゲートキーパーとして働き, 正常であれば脱分化は一過性で再び外分泌細胞に再分化する. Kras遺伝子変異が存在すると, β-カテニンが安定化されず, 脱分化の過程が永続して, PanINが発生する(図6). Hedgehogも, 転移性のヒト膵癌やモデルマウスの系で, 膵癌の進行にかかわる因子とされ, ヒト膵癌の癌幹細胞でsonic hedgehogの発現亢進が報告されている<sup>16)</sup>.

膵癌で胎生期のシグナルが再活性化される機序としては, 膵炎などによって膵細胞が傷害され, 治癒過程で脱分化・再生が起こる時に, これらのシグナル伝達系が再利用されるためと考えられている<sup>13)</sup>. また, 膵癌の

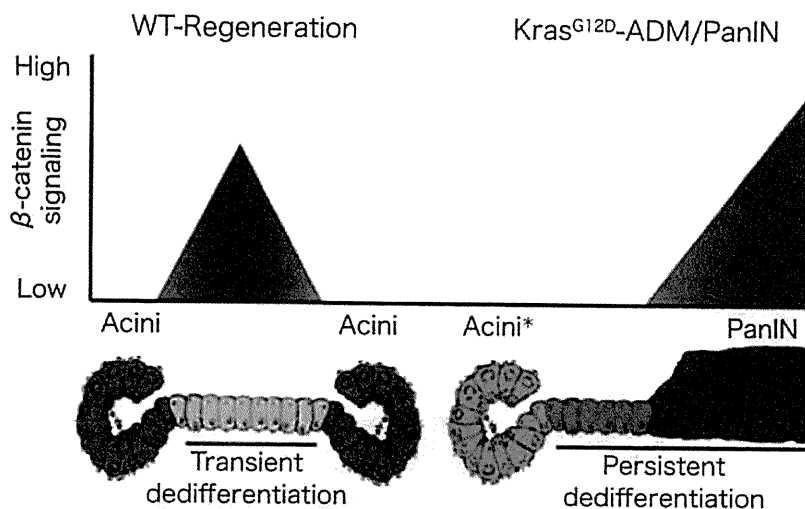


図6  $\beta$ カテニンによる膵腺房細胞(Acini)の脱分化制御と膵管内上皮性腫瘍(PanIN)の発生(文献15より引用)

正常マウス(WT)では、腺房細胞が傷害されると、いったん脱分化して再生される。胎生期シグナルであるWntによって安定化される $\beta$ カテニン( $\beta$ -catenin)の量によって、腺房細胞の脱分化過程は制御されている(左側)。腺房細胞にKras遺伝子変異がある(KrasG12D)と、 $\beta$ カテニン量が閾値以下に留まり、脱分化過程が継続してしまう。膵管内上皮性腫瘍(PanIN)が発生すると、 $\beta$ カテニンは増加して、腫瘍の成長を促す(右側)。すなわち、 $\beta$ カテニンは腫瘍発生の初期にはこれを抑え、後期には腫瘍の成長を促進する(ADM:acinar-to-ductal metaplasia)。

網羅的な遺伝子解析によれば、HedgehogやWnt/Notchシグナルの遺伝子変異はほぼ全例で検出される<sup>17)</sup>。すなわち多段階発癌の過程で引き起こされた遺伝子変異によって胎生期シグナルが恒常的に再活性化される可能性がある。いずれにしても、胎生期シグナルの再活性化は、膵癌の発生・進展の過程で重要な役割を果たしている。

## 5 胆道と胆道癌の発生の分子機構、膵胆管合流異常と胆道癌

ヒトでは在胎3~4週、マウスでは胎生8日ごろに、前腸腹壁が肥厚して肝憩室が形成され、肝胆道系の発生が始まる。肝憩室頭部から肝臓が、尾部からは肝外胆道系と腹側膵臓が発生する。肝外胆道と肝臓内に発生する肝内胆管は後に二次的に結合し、その連結部

は左右肝管の第一分枝のレベルとされる<sup>2)</sup>。このような肝外胆道系と肝内胆管との細胞系譜の相違は、胆道癌と肝内胆管癌の相違に対応していると想像される。

胆道系と膵臓の分化には、上記のようにHes1シグナルが分化スイッチとして働いているが、その際にHes1はSox17とフィードバックループを形成する。肝外胆道系の発生に重要な転写因子として*Hhex*、*Hnf6*、*Hnf1 $\beta$* 、*Inv*などが知られているが、これはいずれもSox17の下流に位置する分子である<sup>18)</sup>。

次に肝内胆管系の発生の模式図を図7に示す。肝内の胆管上皮細胞と肝細胞は共に肝芽細胞に由来する。門脈周囲の肝芽細胞が胆管上皮細胞に分化し、ductal plates(胆管板)と呼ばれる構造をとるようになり、最終的に肝