

201128181A

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23年度 総括・分担研究報告書

【差し替え版】

平成24(2012)年4月

研究代表者 坪内 博仁

序

本研究班は、平成23年度から向こう3年間の継続が決まり、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変・原発性硬化性胆肝炎などの胆管障害、劇症肝炎、肝内結石症の4つの分科会で、引き続き研究を推進することとなった。班員の尽力により前年度までの3年間に、診断基準、治療指針、診療ガイドラインの作成など基本的な課題をほぼ達成することができた。今後の3年間においては、各疾患の実態の変化と医療の進歩に合わせて、これらを適切に改訂していく必要がある。

本年度は、昨年度までの各分科会のワーキンググループ（WG）が改編され、新たなWGも発足した。自己免疫性肝炎分科会では、肝細胞癌を含めた長期予後調査が開始された。診断WG、治療WGでは、診断基準、治療指針の改訂が行われている。また、本年度より発足した病態解析サブワーキング研究やGWAS研究といった新たな研究の成果も期待される。

原発性胆汁性肝硬変分科会では、診断基準、疫学調査、病因病態、治療、診療ガイドライン、抗gp210抗体の有用性検討の5つのWGにより、診断基準、治療指針、診療ガイドラインの作成を目指すこととなった。原発性硬化性胆管炎では、IgG4関連全身硬化性疾患を対象とする研究班との合同で、新しい診断基準が作成されつつある。研究課題によっては、分科会合同あるいは他の研究班との研究協力を推進したい。

劇症肝炎分科会では、急性肝不全の診断基準の作成がなされ、全国調査が開始された。今後のエビデンスの蓄積が期待される。免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化は依然、臨床的に重要な問題であり、ガイドラインの補足や啓蒙を行っていく必要がある。また、on line HDFなど新たな治療法の登場に対応し、血液浄化療法の指針を確立させる新たなWGも発足した。

肝内結石症分科会では、疫学・予後調査WGにより診療録ベースの全国調査が開始された。発癌WGでは、胆管癌の新規抗体検査法が開発され、臨床研究が開始された。その他の発癌予測バイオマーカーの研究成果も報告されている。

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、移植の問題点が明らかにされた。移植医療は、難治性の肝・胆道疾患に対して有効性の期待できる治療法であるが、臓器移植改正法により脳死肝移植の増加など、移植を取り巻く環境が変化している。これまでに作成された移植適応ガイドラインの評価と適正化が進められている。

これまでの実績をふまえて、各分科会WGを中心に診断基準、治療指針、診療ガイドラインの改訂が着実に進められている。また、今年度より発足したWG研究により新しい知見が得られることが期待される。今後も、臨床応用につながる基礎研究の進展が望まれる。本研究班による研究成果が臨床現場に活用され、新たな診断法や治療法の開発につながることを期待したい。

平成24年4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
埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科	持田 智
4. 肝内結石症に関する研究	14
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. 病態解析 WG	17
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学	恩地 森一
2. 診断 WG 総括：全国集計結果に基づく新診断指針作成	18
東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科	銭谷 幹男
3. 治療指針の作成 WG 治療指針の作成	19
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骨髄由来抑制細胞の機能	21
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 消化器内科	笹川 綾子
3. 自己免疫性肝炎の臨床経過とサイトカインネットワーク	25
国立病院機構信州上田医療センター	吉澤 要
4. 自己免疫性肝炎の肝内遺伝子発現動態の検討	27
東京慈恵会医科大学大学院 消化器内科	銭谷 幹男
5. 自己免疫性肝疾患における miRNA の検討	29
福島県立医科大学 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 - 慶応関連施設症例集積での検討	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	32
慶應義塾大学医学部 消化器内科	日比 紀文
8. 自己免疫性肝炎の長期予後 - 国立病院機構肝疾患ネットワークの成績 -	35
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
9. 自己免疫性肝炎進行例の解析	38
虎の門病院分院 臨床検査部	鈴木 義之

10. 自己免疫性肝炎における抗 HLA 抗体に関する研究	40
新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科学 青柳 豊	
11. 自己免疫性肝炎の診断マーカーとしての新規自己抗体	43
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	
12. 自己免疫性肝疾患における転写抑制因子に関する研究	45
福井大学医学部 第二内科 中本 安成	

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. 原発性胆汁肝硬変疫学 WG	47
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子	
2. 病因・病態 WG	49
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	52
① UDCA 効果が不十分な PBC への対策 (特にベザトール使用について)	
② PSC・硬化性胆管炎についての全国調査	
帝京大学医学部 内科 滝川 一	
4. PBC 診療ガイドライン WG	54
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	
原発性胆汁性肝硬変の疾患感受性遺伝子による病態の解明 ～日本人 PBC-GWAS 共同研究～	56
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 肝臓病学講座 中村 稔	
6. IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準 WG	59
広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進	

【分担研究報告】

1. 原発性胆汁性肝硬変全国調査 (第32報) - 全国調査にみる肝移植症例の検討 -	62
関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子	
2. 北海道における原発性胆汁性肝硬変の空間疫学的検討	64
札幌医科大学医学部公衆衛生学 森 満	
3. PBC 生体肝移植後長期経過例における死因調査	67
東京女子医科大学 消化器外科 江川 裕人	
4. 原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植に関する臨床研究	68
京都大学医学研究科外科学講座 肝胆膵・移植外科学分野 上本 伸二	
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	69
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. PBC における自己抗原特異的 T 細胞の分子機構の検討	72
帝京大学医学部 内科 滝川 一	
7. いわゆる PBC + AIH overlap 症例の臨床的位置づけ - 10年以上の観察例から -	74
帝京大学溝口病院 第四内科 宮川 浩	
8. 原発性胆汁性肝硬変の胆管病変におけるミトコンドリア蛋白の発現	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. PBC での胆管破壊機序の解明	78
九州大学 病態修復内科学 下田 慎治	
10. PBC 患者におけるトランスポーターの変化	80
福岡大学 消化器内科 向坂彰太郎	
11. PBC におけるコリントランスポーター OCT1の重要性	82
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(5): 脂肪酸代謝の異常	85
	東京医科大学茨城医療センター 松崎 靖司
13. エストロゲン肝障害における肝細胞膜トランスポーターの動態	87
	高知大学医学部 消化器内科 西原 利治
14. 肝移植後原発性肝硬変再発の機序解明	89
	九州大学 消化器・総合外科 前原 喜彦
15. 原発性胆汁性肝硬変(PBC)のウイルス感染の基礎検討	90
	山形大学 内科学第二(消化器内科学)講座 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	
急性肝不全における成因分類の診断基準の確立	93
	埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智
2. WG II	
①B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(前向き研究)	97
②B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪による重症肝炎に対する早期免疫抑制療法の劇症予防に関する調査研究(後ろ向き研究)	98
	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
3. WG III	
急性肝不全に対する血液浄化療法の有効性評価急性肝不全に対する人工肝補助療法の現状に関するアンケート(中間報告)	99
	千葉大学大学院医学研究院 腫瘍内科学 横須賀 収

【分担研究報告】

1. ①我が国における急性肝不全および遅発性肝不全の実態(2010年) -平成23年度全国調査-	101
②急性肝不全成因不明例の病態解析と肝移植の予後予測に関するシステムの実用化に向けた検討	113
	埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智
2. ①劇症肝炎に対する肝移植適応ガイドラインの有用性と問題点	118
②de novo B型肝炎におけるHBV遺伝子解析および病態解明	120
	鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁
3. 新ガイドラインの小児劇症肝不全への適応 第2報	122
	済生会横浜市東部病院こどもセンター 肝臓消化器部門 藤澤 知雄
4. 肝疾患患者におけるProthrombin time測定と表記法の妥当性に関する研究	124
	岩手医科大学 消化器・肝臓内科 鈴木 一幸
5. 劇症肝炎に対する肝移植の成績: 移植手術適応時期についての客観的な評価	129
	東京大学大学院医学系研究科 臓器病態外科学 國土 典宏
6. 新劇症肝炎肝移植ガイドラインの治療効果判定への応用	132
	岐阜大学大学院医学研究科 消化器病態学 森脇 久隆
7. 脳死肝移植待機リストにおける劇症肝炎患者の現状	134
	順天堂大学医学部附属静岡病院 消化器内科 市田 隆文
8. 自己免疫性急性肝不全の画像的heterogeneityを用いた診断の試み	136
	千葉大学大学院医学研究院 腫瘍内科学 横須賀 収
9. 急性肝不全におけるADAMTS13の動態	141
	奈良県立医科大学 第三内科 福井 博
10. Fas型劇症肝炎におけるBcl-2ファミリー蛋白の意義	143
	大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 竹原 徹郎
11. 急性肝障害におけるマクロファージの役割の役割	146
	鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 井戸 章雄

12. テトラサイクリン応答性 HNF3 β 導入マウス iPS 細胞による肝細胞分化誘導の試み	149
鳥取大学大学院 遺伝子医療学 汐田 剛史	
13. 自己骨髄細胞による肝硬変治療～脾摘の効果について～	150
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	
14. 人工肝補助療法から見えてきたもの	152
昭和大学藤が丘病院 消化器内科 井上 和明	

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・予後調査 WG 肝内結石症全国調査－新規横断調査－	155
杏林大学医学部 外科 森 俊幸	
2. 診断治療 WG	158
広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進	
3. 発癌 WG 肝内結石症からの発癌－病理学的, 生化学的アプローチ－	160
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. 発癌予知 WG－肝内結石症に合併する肝内胆管癌の診断－	164
自治医科大学 消化器一般外科・鏡視下手術部 佐田 尚宏	

【分担研究報告】

1. 肝内結石症全国調査－肝内胆管癌の危険因子について－	166
杏林大学医学部 外科 森 俊幸	
2. 肝内結石症と胆道癌のリスク～集団ベースの追跡研究～	168
長崎県上五島病院 外科 八坂 貫宏	
3. 肝門部胆管癌との鑑別が困難であった肝内結石症の検討	171
名古屋大学大学院医学研究科 腫瘍外科 椰野 正人	
4. 原発性硬化性胆管炎類似の画像を呈した肝内結石症－新たな成因による肝内結石症の可能性について－	173
千葉大学医学研究院 腫瘍内科学 露口 利夫	
5. 肝内結石における胆管狭窄部位別の手術治療とその遠隔成績	175
大阪医科大学 一般・消化器外科 内山 和久	
6. 肝内結石症からの発癌過程における S100ファミリータンパク質の発現動態	177
金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 中沼 安二	
7. 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	180
金沢大学大学院 先端医療技術学講座 本多 政夫	
8. LC-MS/MS を用いた肝細胞トランスポーター発現の解析	182
東北大学 消化器外科 海野 倫明	
9. 肝内胆管障害と G タンパク共役型受容体	184
広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進	
10. 胆管癌を標的とするハイブリッドペプチドによる新しいバイオ療法の開発	185
筑波大学医学医療系 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	187
V. 班員名簿	209
VI. 平成23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、病態解析 WG により原発性肝癌を含めた長期予後調査が開始された。診断 WG では、AIH 診断基準の見直しが進められており、治療 WG では、PSL、AZP、UDCA の使用指針が示された。個別研究では、肝硬変進展例、原発性肝癌合併例の臨床背景が明らかにされた。骨髄由来抑制細胞、抑制性リンパ球、NK 細胞、サイトカイン/ケモカイン、miRNA、抗 HLA 抗体、PD-1 抗体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、病因病態 WG により血清中のフラクタルカインの解析が行われた。治療 WG では PSC・硬化性胆管炎について 2 つの臨床研究計画が立案された。診療ガイドラインの作成 WG は、昨年度完成した PBC の診療ガイドライン 2011 を難病情報センターホームページ上に公開した。個別研究では、PBC の疫学と移植例の実態と予後が明らかにされた。病態および治療に関する遺伝子多型、自己応答性 T 細胞、自然免疫、トランスポーター、脂肪酸代謝、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。劇症肝炎（FH）では、全国調査による新しい診断基準に基づく急性肝不全の実態が報告された。WG I では、急性肝不全の成因分類の診断基準の見直しが検討され、WG II では、HBV キャリアの急性増悪に対する早期免疫抑制療法の有用性を評価する retrospective 研究が開始された。WG III では、急性肝不全に対する人工肝補助療法の現状が示された。急性肝不全の診断、劇症肝炎の予知、内科的治療および臓器移植改正後の肝移植の実態、新規治療法の開発に向けた基礎的研究に関する研究成果が報告された。肝内結石症では、疫学・予後調査 WG により診療録ベースの全国調査（横断調査）が計画された。発癌 WG では、WFA-MY.1E12（レクチン-抗体）による簡易サンドイッチアッセイ系の解析結果が示された。発癌予知 WG では、肝内胆管癌合併肝内結石症および肝内胆管癌非合併肝内結石症のアトラス作成が着手された。個別研究では、BiIIN の診断補助マーカーとしての S100ファミリータンパク質の有用性、胆汁中の miRNA 発現、胆汁酸トランスポーター、lysoPC の胆管上皮細胞に対する細胞障害性などに関する研究成果が報告された。治療に関しては、膜融解性ハイブリッドペプチド IL-4lytic の抗腫瘍効果が示された。

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
廣石 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
井戸 章雄 鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学

A. 研究目的

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）などの肝内胆管障害・劇症肝炎（FH）・肝内結石症に関する全国調査と臨床試験成績をもとに、診断基準および治療指針の作成および改訂を行う。難治例に対する基礎的、臨床的研究を通じて、新規医薬品の開発を進める。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。

する。

B. 研究方法

①対象疾患に関する全国調査を実施し、最新の実態を把握する。調査結果に基づき診療ガイドラインを検証し、改訂する。急性型、重症型、治療抵抗例、小児例、肝移植例などに対する診療ガイドラインを作成する。

②ゲノムワイド関連解析、microRNA 解析などにより難治例の病態を解析する。疾患モデル動物や細胞を用いた基礎研究および骨髄由来細胞やヒト肝細胞増殖因子を用いた臨床応用研究を推進する。

③有用性が期待できる治療法および新規治療薬の臨床試験を行う。臨床試験により得られたエビデンスを診療ガイドラインに反映させる。

（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）

病態解析 WG（恩地研究分担者）：肝細胞癌合併を含む自己免疫性肝炎の長期予後を明らかにするとともに、急性肝炎発症自己免疫性肝炎の診療指針を作成することを目的とする。自己免疫性肝炎の予後調査表を

作成し、調査を開始した。また、病態解析に関するサブワーキンググループを発足させた。

診断 WG (代表：銭谷研究協力者)：ラット肝組織切片を用いた従来法に対して HEp-2細胞を用いた抗核抗体測定が診断上問題ないことを明らかにした。判別式の有用性、ことに病理組織所見を含まない場合の有用性を確認した。急性発症例、劇症化例を含めた診断指針の策定を進めている。

治療 WG (代表：山本研究協力者)：1) 治療開始後早期の ALT 正常化のための PSL の必要導入量は、0.9～1.2mg/kg/day である、2) 治療経過中の再燃には、診断時年齢や抗平滑筋抗体、組織中の centrilobular necrosis が関与している、3) 再燃例の61%で AZP が併用され、併用群では再燃時の PSL 投与量が5mg/day と高容量である、4) 免疫抑制療法中止後に67%で再燃がみられ、UDCA 併用により再燃を予防できる可能性などが示された。

個別研究：恩地研究分担者は、免疫応答を抑制する骨髄由来抑制細胞 (MDSC) の機能解析を行い、AIH の病態との関連性を示した。廣石研究分担者は、末梢血リンパ球の抑制性マーカーである CTLA-4, DR-5, PD-1分子の発現が炎症軽減に関与している可能性を示した。吉澤研究協力者は、AIH に対する治療介入により IL-12p40, IP-10は速やかに低下し、劇症化例では IFN- γ は一時上昇し、感染合併例では IL-6, IL-10 が上昇することを示した。銭谷研究分担者は、AIH の肝内では Th1細胞が産生するサイトカイン、マスター転写因子の遺伝子発現が増加し、制御性 T 細胞の機能発現に関わる分子、マスター転写因子の遺伝子発現増加もみられることを示した。大平研究協力者は、AIH の末梢血では miR 132, miR 99a 発現が増加、miR299-5p 発現が減少するのに対し、PBC では miR-299-5p と miR-99a の発現は、AIH と相反する増減を呈することを示した。森實研究協力者は、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 AIH の診断能は、国際自己免疫性肝炎グループの1999年度版スコアリングシステムとほぼ同等で、簡便で有用であることを示した。日比研究協力者は、急性発症型 AIH では、亜急性の経過と肝萎縮・地図上パターンといった画像所見に加えて、血清中の好炎症サイトカイン・ケモカイン値が高値であり、強力な免疫抑制療法の必要性を示した。石橋研究分担者は、多施設共同前向きコホート研究により、AIH の10年生存率は94.2%と予後良好であったが、経過中3.6%に HCC の発生があり、肝硬変の合併が HCC 発生のリスクファクターであることを示した。青柳研究協力者は、AIH 患者血清中には抗 HLA 抗体が高率に検出され、自己 HLA class II allele に対する抗体が存在し、肝組織では interface hepatitis 周囲の肝細胞を中心に HLA class II 分子の発現がみられることを示した。鈴木研究協力者は、1) 治療反応性の不良が肝硬変への進展因子である、2) 高齢で再燃例において肝細胞癌合併が多い、3) 免疫抑制療法による肝炎の鎮静化が、予後改善や発癌抑制に有用であることなどを示した。

山本研究協力者は、AIH 患者血清中の抗 PD-1抗体陽性率は63%、薬物性肝障害患者では8%であり、抗 PD-1抗体は AIH と薬物性肝障害の鑑別診断に有用であること、抗 PD-1抗体価はビリルビン値やトランスアミナーゼ値と相関することを示した。中本研究協力者は、NK 細胞および NKT 細胞の分化や維持に重要な転写因子である Id2 のノックアウトマウスでは、肝内 NK 細胞数が低下することを示した。

2. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC)

疫学調査 WG (代表：廣原研究協力者)：第14回 PBC 全国調査の集計結果 (対象総登録症例は7376例) をデータベース化し、本研究班に所属する研究機関内で共同利用し、PBC の病因・病態の解明および診断および治療指針の策定に用いた。

病因・病態 WG (代表：中沼研究分担者)：PBC 患者血清中のフラクタルカイン (FRK) について臨床病理学的に検討し、FRK は PBC の慢性炎症を制御するケモカインであること、PBC の治療効果マーカーおよび治療分子標的の候補分子であることを示した。

治療 WG (代表：滝川研究分担者)：① UDCA 効果が不十分な PBC への対策 (特にベザトール使用について)、② PSC・硬化性胆管炎についての全国調査の2つの臨床研究計画を立案した。昨年度に収集した本邦 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。

診療ガイドラインの作成 WG (代表：石橋研究分担者)：昨年度完成した「原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の診療ガイドライン2011」を難病情報センターホームページ上に公開し、一部修正を行った。また、「PBC-AIH overlap 症候群 (Overlap 症候群)」および「PBC 治療薬の効果判定」に関する文献を検索し、長崎医療センターにおける PBC 症例を用いた予備調査ならびに判定案を提唱した。

抗 gp210抗体の有用性を検討する gp210WG (代表：中村研究協力者)：PBC の疾患感受性遺伝子による病態解明を目的に、日本人 PBC-GWAS 共同研究を行い、本 WG で収集した PBC 患者血清600例、および国立病院機構より収集した600例の遺伝子解析を終了しつつある。

IgG 4 関連硬化性胆管炎の診断基準 WG (代表：田妻研究協力者)：厚労省「IgG 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究班」(岡崎班) と共同で、IgG4関連硬化性胆管炎臨床診断基準を策定した。現在まで、3回の WG 委員会および公聴会が開催され、疾患概念と診断基準の案が作成された。

個別研究：

疫学調査：廣原研究協力者は、PBC 全国調査で登録されている120例の肝移植症例を解析し、肝移植群は予測死亡率約80%の段階で施術され、移植時の余命は約2～3ヶ月と推定されることを示した。移植後5年生存率は86.7%、10年生存率は84.5%と良好な成績であった。また、本研究班による「PBC の診療ガイド

ライン (2011年)」における移植適応決定の推奨基準が、移植医への紹介時期として妥当と結論した。森研究協力者は、北海道における PBC の罹患率、有病割合は全国に比べやや高く、地域差がみられることを明らかにした。

診断・治療：石橋研究分担者は、欧米の GWAS で PBC 疾患感受性遺伝子として報告された遺伝子多型 (IL12A, IL12RB2, IRF5, 17q12-21 領域) や胆汁酸代謝関連分子 (OCT1) と PBC の発症・進展・自己抗体産生との関連について検討し、日本人でも 17q12-21 領域の遺伝子多型が PBC の発症と関連することを明らかにした。宮川研究協力者は、PBC と AIH の overlap 例の 10 年以上の長期観察例 6 例を解析し、ステロイド治療による ALT の持続正常化例は半数に過ぎず、肝炎の活動性の強い例では通常の AIH と同様にアザチオプリンの併用治療が必要であったことを示した。

病因・病態：滝川研究分担者は、PBC 患者より樹立された自己抗原 PDC-E2 特異的 T 細胞クローンを解析し、側副刺激なしで自己抗原に応答する T 細胞は転写因子 CEBPA, CEBPB, MEIS1, TGIF1 で制御されており、さらに上流に位置する遺伝子 ADAM10 と PTPN2 が PBC の疾患感受性遺伝子または自己応答性 T 細胞の責任遺伝子である可能性を示した。下田研究協力者は、Toll like receptor (TLR) 3 リガンドで刺激された単球が産生する IFN- α と、TLR4 リガンドからの刺激とが相俟って NK 細胞が活性化され、自己胆管細胞を破壊することを見出し、PBC の病初期を模倣する系を確立した。向坂研究協力者は、PBC のステージを Gd-EOB-DTPA MRI 法を用いて評価することを目的とし、PBC 患者の OATP1B3 トランスポーターの動態検討した結果、OATP1B3 は肝細胞の類洞側細胞膜に局在し、OATP1B3 mRNA の発現は進行した PBC 肝では減弱する傾向を明らかにした。中牟田研究協力者は、PBC におけるコリン〜フォスファチジルコリン合成およびコリンの取り込みに関与するトランスポーター OCT1 を検討し、PBC 肝では亢進したフォスファチジルコリン消費のために細胞内コリンが欠乏した状況にあることから、OCT1 の機能不全を示した。また、PBC の進行に関与する OCT1 の SNP の存在も明らかにした。中沼研究分担者は、PBC における胆管障害の機序を検討し、PBC の胆管病変におけるミトコンドリア蛋白のオートファジーが自己免疫性病態形成に関与する可能性を示した。松崎研究協力者は、PBC 患者血清中の脂肪酸代謝に関する分析により、PBC 患者では脂肪酸合成の亢進、脂肪酸 β 酸化が低下していることを示した。また、ベザフィブラートは血清中性脂肪を低下させたが、脂肪酸の合成と β 酸化のマーカーには明らかな変化を認めなかった。西原研究協力者は、エストロゲン肝障害マウスモデルにおいて、肝細胞膜トランスポーター (NTCP, OATP1b, MRP2) の発現低下、胆汁酸産生系酵素 (FXR α , SHP) の発現亢進がみられることより、

妊娠に伴う胆汁うっ滞の発生にはエストロゲンレセプターが必要であり、胆汁酸やビリルビンの取り込み抑制、さらに FXR α を介する胆汁酸合成抑制が関与することを示唆した。上野研究協力者は、PBC の原因として、ウイルスもしくはウイルス関連因子の関与を解析するため、次世代シーケンサーを用いて、直接ウイルス genome をシーケンスする方法を確立した。

肝移植：前原研究協力者は、PBC 肝移植 43 例中 4 例の再移植例を解析した。摘出肝の診断は、過小グラフト症候群、慢性拒絶、veno-occlusive disease、二次性胆汁性肝硬変であり、肝生検による PBC 再発診断の困難性を示した。また、少量ステロイド継続が再発予防に重要である可能性を示唆した。江川研究協力者は、PBC 生体肝移植後長期経過症例の死因を調査し、①移植後再発はグラフトロスが要因ではない、②7 年までは生存率はなだらかに低下した後、10 年目から再び急激に低下していることなどを報告した。上本研究分担者は、PBC 肝移植症例を検討し、①生存率はドナー年齢が 50 歳以上の場合に低い傾向がある、②抗ドナー抗体陽性症例はすべて女性で 14% (9/64) に認められたが、抗体関連拒絶反応による死亡は 1 例のみ、③再発率は 23% であり、50 歳未満で有意に高いことなどを明らかにした。

3. 劇症肝炎

全国調査 (持田研究分担者)：急性肝不全が 211 例 (非昏睡型 96 例、急性型 61 例、亜急性型 54 例)、LOHF が 9 例登録され、急性肝不全は肝炎症例が 198 例 (非昏睡型 85 例、急性型 54 例、亜急性型 49 例)、肝炎以外の症例が 23 例 (非昏睡型 11 例、急性型 7 例、亜急性型 5 例) であった。これら症例のうち劇症肝炎に相当するのは 103 例であった。急性型でウイルス性症例が減少し、成因不明例が増加していた。内科的治療による救命率が低下しており、さらに肝移植実施例の死亡率も高かった。また、既往感染からの再活性化例は 9 例みられ、全例が内科的治療で死亡していた。

WG I (代表：持田研究分担者)：2011 年に作成した「我が国における急性肝不全の診断基準」に用いる「成因分類法」の確立を目指して、研究班に登録された劇症肝炎および LOHF 症例を対象に、成因診断の根拠となった検査所見を解析した。B 型症例では CLIA 法による HBc 抗体および IgM-HBc 抗体の力価を基に急性感染例とキャリア例の鑑別が行われているが、その cut-off 値の設定は困難であった。また、自己免疫性、薬物性ないし成因不明例の明確な区分は現状では困難な場合があった。

WG II (代表：坂井田研究協力者)：現行の臨床試験「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用性の評価」に加えて、retrospective な臨床試験を開始した。

WG III (代表：横須賀研究協力者)：on-line HDF などの人工肝補助療法の有用性を検証し、標準的な治療法を確立することを目的とする。日本消化器病学会と

日本肝臓学会の評議員施設、救急科専門医指定施設および救急救命センターを対象として、「急性肝不全の人工肝補助療法現状」に関するアンケート調査を実施し、本邦における血漿交換および血液濾過透析の実施状況を明らかにした。

個別研究：

急性肝不全の診断：鈴木研究協力者はプロトロンビン時間の%表記とINRの関連を解析し、測定試薬のISIがワルファリン投与例と肝疾患症例の血漿では差異が生じることを明らかにした。急性肝不全診断に際して、プロトロンビン時間の表記を標準化するためには、各施設で肝疾患症例のISIを設定してINRを算出することを提唱した。持田研究分担者はSOM法による病型クラスターを予測する決定木をvalidationが可能な実用モデルへと改編した。また、RBF法、BP法などのデータマイニングの手法による分類予測モデルも新たに発表した。横須賀研究協力者はウイルス性と自己免疫性の急性肝不全症例に比較検討から、自己免疫性例の組織学的特徴はheterogeneityであり、単純CTではこれを反映するheterogeneous hypoattenuationが認められることを報告した。

劇症肝炎、LOHFの予後予測：坪内研究代表者はスコアリングシステムによる劇症肝炎の肝移植適応ガイドラインを2004～2009年の症例を対象として再評価し、61歳以上の高齢者では正診率が低下することを報告した。同ガイドラインを肝移植の適応決定でなく予後予測に用いるためには、年齢を考慮したシステムに改編する必要があることが提唱された。藤澤研究協力者は、2008～2010年に発症した小児の劇症肝炎の全国集計を基に同ガイドラインの有用性を検証し、小児では死亡予測とするcut-off値を6点以上とするのが適当であることを報告した。森脇研究協力者は、2004～2009年に発症した全国調査の登録例を対象として、スコアリングシステムの総計スコアを昏睡出現後に適応し、治療効果との関連を検討した。内科治療による救命例は4点未満で推移することから、同システムは肝性脳症出現時の予後予測のみでなく、治療効果の判定にも有効であった。持田研究分担者はスコアリングシステムおよびデータマイニングの決定木法、RBF法、BP法による予後予測をWeb上のクライアント/サーバー・システムで提供するプロトタイプを発表し、臨床応用への現況と問題点を提示した。

内科的治療および肝移植の実態：井上研究協力者は、劇症肝炎超急性型の自験例を解析し、内科的集学的治療は短期間に集中し、反応が乏しい場合は可及的速やかに肝移植を実施すべきであることを提唱した。市田研究協力者は、2011年8月までに脳死肝移植待機リストに登録された18歳以上のレシピエント候補1,295例を解析し、うち劇症肝炎患者は142例(11.0%)であり、その待機中死亡率は高率で、全体の58.5%が死亡によって待機リストから除外されていることを報告した。改正臓器移植法の実施で、劇症肝炎患者の脳死肝移植施行例頻度はOdds比で約5倍と高率になったが、待機患者の転帰は生体肝移植実施数が減少したも

の、死亡数の減少がわずかであり、予後向上には待機日数の短縮が必須であると考えられた。国土研究分担者は1998～2008年に発症した劇症肝炎、LOHFの全国調査登録例のうち肝移植実施例を解析し、これら症例の予後は良好であり、成因は予後に影響しないこと、脳死肝移植実施例は移植時期が生体肝移植実施例に比較して遅いことを報告した。

新規治療法の開発に向けた基礎的研究：井戸研究分担者は、急性肝不全におけるマクロファージの役割を、その産生するオステオアクチビンとの関連で解析した。四塩化炭素肝障害モデルでは壊死巣にオステオアクチビンを発現するCD68陽性マクロファージが集簇するが、これを欠損させると肝障害は遷延化した。福井研究協力者は、ガラクトサミンとエンドトキシンによる急性肝不全モデルにおいて、肝不全の進行に従って血漿ADAMTS13活性およびVWF抗原量は減少するが、VWF抗原/ADAMTS13活性比は増加し、肝類洞および壊死巣内にはVWFの沈着が観察されることを示した。竹原研究協力者は、Fas刺激時の肝細胞におけるBakとBaxの意義を各因子および両因子とも肝細胞特異的にノックアウトしたマウスを用いて検討し、肝細胞アポトーシスはBaxの単独欠損では変化しないが、Bakの単独欠損で減弱し、両者の欠損では完全に抑制されることを明らかにした。汐田研究協力者は、内胚葉の発生に重要な転写因子であるHNF3 β をテトラサイクリン応答性に発現し、更にiPS細胞への遺伝子導入に際してサイレンシングを受けないRosa 26領域を標的としたノックインベクターを作製し、マウスiPS細胞へ安定導入したことを報告した。坂井田研究協力者は、骨髄由来細胞を用いた肝再生療法における炎症性サイトカインの意義を検討した。TNFR1由来にシグナルが阻害されたマウスでは肝障害、肝線維化が抑制されたが、同マウスをレシピエントとして骨髄細胞を投与すると、MMP-9の発現は増強せず、肝線維化の改善も認められなかった。

4. 肝内結石症

疫学・予後調査WG(代表：森研究協力者)：多施設による診療録ベースの全国調査(横断調査)を準備中である。1次調査にて肝内結石症例の有無、胆嚢結石症・肝外胆管結石症例数を調査する。2次調査として患者背景、肝内結石の病状、合併症、肝内胆管癌の有無、治療内容、転帰など詳細な症例調査を行う。

診断・治療WG(代表：田妻研究協力者)：診療実績に基づくガイドライン改訂にあたり以下の観点からの検証を行う。(I)肝内結石の診断・治療の現状の把握-第3次調査によるガイドラインの課題検証(ハイボリュームセンター中心の継続的な実態調査)、(II)新規の診断・治療modalityの発掘と検証-診療ガイドラインの策定・改訂に向けて(日本消化器病学会診療ガイドラインと整合)、(III)データベース作成-診療指針の立案と改訂に向けた継続的な予後・合併症調査

発癌WG(代表：中沼研究分担者)：病理検体を用い

た胆管癌や前癌病変の診断に関する検討，ならびに病理診断マニュアルの作成を目指す。また，胆管癌診断のバイオマーカーの商品化の実現を目指し，胆汁と血清を用いた新規バイオマーカーを探索する。本年度は，WFA-MY.1E12（レクチン-抗体）による簡易サンドイッチアッセイ系の構築し，解析結果では，従来の胆管癌マーカーである CA19-9 と比較して感度の面で優れていることを示した。

発癌予知 WG（代表：佐田研究協力者）：従来型の診断 modality（ERC，PTC（S））は肝内胆管癌早期発見に有効ではなく，FDG-PET，Diffusion MRI，Perfusion CT などの新たな modality の有効性もいまだ確立されていない。鑑別診断に有用な肝内胆管癌合併肝内結石症および肝内胆管癌非合併肝内結石症のアトラス作成を行う。

個別研究：

疫学・予後：森研究協力者は，肝内胆管癌の危険因子について新規の多施設全国調査（横断調査）を行い，発癌および胆管癌合併からみた肝内結石症の取扱いに関する調査を開始した。八坂研究協力者は，肝内結石症と胆道癌のリスク集団ベースの10年間の追跡期間中，肝内結石症患者の15.4%および比較コホート患者の1.0%に胆道癌が発症し，肝内結石症患者の7.7%に肝内胆管癌が発症したことを示した。患者の人口統計学的特性，選択した併存疾患などの補正では，肝内結石症患者は対応する比較コホートの患者に比べて胆管癌発症リスクが18.2倍高かった。

診断・治療：柳野研究協力者は，術前に肝門部胆管癌と診断して根治切除を施行したが，実際は肝内結石症であった6症例を解析し，肝門部胆管癌との鑑別が困難な肝内結石症に対する肝切除術+肝外胆管切除術は妥当であるとした。露口研究協力者は，CT/MRCPで上部胆管～肝門部の胆管癌の鑑別が必要であった高齢発症の肝内結石症例を報告した。内山研究協力者は，肝内結石症の術式を決定する際に最も重要な因子である胆管狭窄の有無および部位に関して，大阪医科大学における肝内結石症手術症例を胆管狭窄の部位別に病型分類し，術式と遠隔成績（QOL）の観点から検討を行った。

病態・発癌：中沼研究分担者は，肝内結石症からの発癌過程において，BillIN-1,2,3から浸潤癌へと異型度が増すにしたがい S100ファミリータンパク質の発現が増加すること，さらに S100P の免疫染色が BillIN の組織診断における診断補助マーカーとして有用であることを示した。本多研究協力者は，胆汁を用いた miRNA 発現解析は，胆道癌の診断に有用である可能性を示した。海野研究協力者は，胆汁酸を投与したマウス肝では細胞増殖が生じたが，複数の血管側膜トランスポーターが低下し，基質薬剤の輸送および薬効に影響を与えること，胆汁酸投与による肝再生促進には合成酵素誘導による肝内 GSH 濃度の上昇と oatp1 の発現減少が寄与していることを明らかにし，肝内 GSH 増加作用のある薬剤は肝再生を促進する可能性があることを示した。田妻研究協力者は，肝内胆管癌

害と G タンパク共役型受容体に関する検討を行い，lysoPC は胆管上皮細胞に対し細胞障害性を示すこと，lysoPC は ox-FFA をリガンドとする G2A 受容体の発現を誘導し，lysoPC の作用に G2A が関与している可能性を示した。正田研究協力者は，膜融解性ハイブリッドペプチド IL-4-lytic は用量依存性に胆管癌細胞の増殖を抑制し，皮下腫瘍モデルにおいても IL-4-lytic の腫瘍内投与により容量依存性に腫瘍の増大を抑制したことから，IL-4-lytic は胆管癌に対する新しいバイオ治療薬として有用である可能性を示した。

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および改訂された。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学 教授

研究要旨：「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班（2008年～2010年）で行った全国アンケート調査をもとに、予後調査を継続している。各ワーキンググループでは診療・診断・治療に関する指針を作成する予定である。また、GWAS研究、病態解析に関するサブワーキンググループ、個別研究では、AIHの病態解析をすすめていく予定としている。

A. 研究目的・方法

「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班（2008年～2010年）では、日本肝臓学会の理事・評議員の所属する施設を対象に全国アンケート調査を施行し、現在の本邦における自己免疫性肝炎の病態および診療の実態を明らかにした（J Gastroenterol 46: 1136-1141, 2011）。この結果を受けて、本分科会では、全体研究として予後調査を行い、長期予後を明らかにする。3つのワーキンググループでは、診断指針、治療指針および急性発症例の診療指針の作成を目的とした。また、病態解析については、個別研究に加えて、1）GWAS解析、2）病態解析に関するサブワーキンググループでの検討を行う。

B. 研究結果・考察

1）自己免疫性肝炎の予後調査の調査表を作成し、愛媛大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を得た（愛大医病倫 1112007号）。「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班の班員・共同研究者の所属する施設に調査表を配布した。

2）自己免疫性肝炎の病態解析に関するサブワーキンググループの第1回会合を開催した。

3）GWAS研究は、班所属の施設以外にも協力を頂き検体を集積している。近日中にアッセイを行う予定としている。

4）個別研究

免疫応答を抑制する骨髄由来抑制細胞（MDSC）の機能解析を行った。マウス肝臓では脾臓に比べてMDSCの占める割合が多く、ConA肝炎マウスモデルではその数が増加していた。現在、臨床例での解析を進めており、AIHの病態との関連が示唆された。（恩地研究分担者）

AIHでは末梢血リンパ球の抑制性マーカーであるCTLA-4、DR-5、PD-1分子の発現が増強しており、これらの分子の発現が増強している症例では経過が比較的安定していた。抑制性マーカーが自己免疫性肝炎の炎症軽減に関与している可能性が示唆された。（広石研究分担者）

AIH治療の臨床経過でのサイトカインの動向を解析した。治療介入によりIL-12p40、IP-10は速やかに低下した。劇症化例ではIFN- γ は一時上昇後低下、感染を合併した2例では感染後IL-6、IL-10が上昇し、IL-

12p40、IP-10は変化しなかった。サイトカインネットワークの解析が、重症化、劇症化の機序解明に重要であることが示唆された。（吉澤研究協力者）

AIH患者の生検肝組織を用い、Expression microarrayによる肝内遺伝子発現プロファイル解析を行った。AIHの肝内ではTh1細胞が産生するサイトカイン、マスター転写因子の遺伝子発現増加する一方で、制御性T細胞の機能発現に関わる分子、マスター転写因子の遺伝子発現増加もみられた。これらが発症時の免疫病態形成に関わる可能性が示唆された。（銭谷研究分担者）

AIH、PBC患者におけるmiRNAの末梢血での発現について検討した。AIHではmiR 132、miR 99aが増加、miR299-5pが減少していた。miR-299-5pとmiR-99aの発現は、PBCとAIHは相反する増減を呈しており、miRNAの解析は自己免疫性肝疾患の病態解明に寄与する可能性がある。（大平研究協力者）

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AIHの診断能は、国際自己免疫性肝炎グループの1999年度版スコアリングシステムとほぼ同等で、簡便で有用と考えられた。（森實研究協力者）

急性発症型AIHでは、亜急性の経過と肝萎縮・地図上パターンといった画像所見に加えて、ウイルス性急性肝炎と比べると血清中の好炎症サイトカイン・ケモカイン値が高値であり、強力な免疫抑制療法を行う必要があると考えられた。（日比研究協力者）

多施設共同前向きコホート研究により、AIHの10年生存率は94.2%と予後良好であった。また、経過中3.6%にHCCの発生があり、HCC合併のリスクファクターは肝硬変の合併であった。（石橋研究分担者）今後、分科会として班内調査を進めていく予定している。

AIH患者血清中には抗HLA抗体が高率に検出され、自己HLA class II alleleに対する抗体の存在が確認された。また、肝組織ではinterface hepatitis周囲の肝細胞を中心にHLA class II分子の発現がみられた。自己のHLA class II分子に対する抗体がAIHの発症・進展に関与している可能性がある。（青柳研究協力者）

AIHの肝硬変への進行を寄与する因子は、治療反応性が不良であることであった。また、肝細胞癌合併

症例は高齢で再燃がみられる症例が多かった。免疫抑制療法により肝炎の活動性を安定化させることが、予後改善や発癌抑制に有用と考えられた。(鈴木研究協力者)

AIH 患者血清中の抗 PD-1抗体陽性率は63%、薬物性肝障害患者で8%であった。抗 PD-1抗体価は AIH においてビリルビン値やトランスアミナーゼ値と相関していた。抗 PD-1抗体は AIH と薬物性肝障害の鑑別診断に有用であった。(山本研究協力者)

NK 細胞および NKT 細胞の分化や維持に重要な転写因子である Id2 のノックアウトマウスを用い、AIH の発症機序の解明と新規治療法の解析を計画している。Id2 ノックアウトマウスでは肝内 NK 細胞数が低下していた。(中本研究協力者)

C. 結 論

全体研究、ワーキンググループおよび個別研究によって、AIH の病態解析を進めていくとともに、診療・診断・治療に関する指針を作成し、臨床に結び付く成果を上げていきたい。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

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（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 形態機能病理学 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、病因・病態ワーキング、治療ワーキング、診療ガイドラインワーキング、抗gp210抗体の有用性の検証ワーキング、IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準ワーキングの6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）

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。2009年8月に実施した第14回 PBC 全国調査の集計結果（対象総登録症例は7376例）をデータベース化したものを作成し、本研究班に所属する研究機関内で共同利用し、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の本研究班の課題達成に寄与した。

病因・病態 WG：中沼研究分担者を代表とし、PBC の病因・病態を研究班全体で解析することを目的とした WG である。本年度は、PBC 患者血清中のフラクタルカイン（FRK）について臨床病理学的に検討し、FRK は PBC の慢性炎症を制御するケモカインであること、さらに PBC の治療効果マーカーおよび治療分子標的の候補分子であることを示唆した。

治療 WG：滝川研究分担者を代表とする本 WG では、① UDCA 効果が不十分な PBC への対策（特にベザトール使用について）、② PSC・硬化性胆管炎についての全国調査、の2つの臨床研究計画の立案を行った。①では、UDCA 治療効果を判断する時期及びその基準、治療方針について何らかの recommendation を作成することを目的とする。②では、PSC と IgG4 関連硬化性胆管炎の両者についての全国調査を行い、その実態を把握すべく、研究計画はほぼ完成した。

診療ガイドライン WG：石橋研究分担者を代表とする本 WG では、昨年度完成した「原発性胆汁性肝硬変（PBC）の診療ガイドライン2011」を難病情報センターホームページ上に公開し、一部修正を行った。また、当 PBC 分科会よりの情報発信が要請されている「PBC-AIH overlap 症候群（Overlap 症候群）」および「PBC 治療薬の効果判定」に関し文献を検索し、また、長崎医療センターの PBC 症例を用いた予備調査ならびに判定案の提唱を行って、分科会内で議論した。

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ている。現在、PBC の疾患感受性遺伝子による病態を解明すべく、日本人 PBC-GWAS 共同研究を行い、本ワーキングで収集した PBC 患者血清600例、および国立病院機構より収集した600例の遺伝子解析を終了しつつある。

IgG4関連硬化性胆管炎の診断基準 WG：本研究班に加え、厚労省「IgG 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究班」（岡崎班）の班員とともに IgG4関連硬化性胆管炎臨床診断基準を策定すべく WG を立ち上げ、田妻研究協力者より報告がなされた。現在まで、3回の WG 委員会および公聴会が開催され、疾患概念と診断基準の案が完成した。

・個別研究

疫学調査：廣原研究協力者は PBC 全国調査で登録されている120例の肝移植症例を解析し、肝移植群は予測死亡率約80%の段階で施術されており、移植時の余命は約2～3ヶ月であったと推定された。本邦における PBC の肝移植は適切な時期に実施されており、移植後5年生存率は86.7%、10年生存率は84.5%と良好な成績を納めていることを示した。また、本研究班による「PBC の診療ガイドライン（2011年）」における移植適応決定の推奨基準に相当する時期は実際の施術7～12ヶ月以上前であったが、移植医への紹介時期として妥当と結論付けた。

森研究協力者は、北海道における PBC の空間疫学的検討を行い、北海道における PBC の罹患率、有病割合は全国に比べやや高く、双方がともに高い地域あるいはともに低い地域が存在することを明らかにした。また、国際的データとの比較により、罹患率、有病割合ともに各国の PBC 集団とのある程度の同等性が示された。

診断・治療：石橋研究分担者は、欧米の GWAS で PBC 疾患感受性遺伝子として報告された遺伝子多型（IL12A, IL12RB2, IRF5, 17q12-21領域）や胆汁酸代謝関連分子（OCT1）と PBC の発症・進展・自己抗体産生との関連について検討し、日本人でも17q12-21領域の遺伝子多型が PBC の発症と関連することが明らかとなるとともに、OCT1の遺伝子多型が PBC の黄疸型進行と関連することを明らかにした。

宮川研究協力者は、PBC と自己免疫性肝炎（AIH）の overlap 例の10年以上の長期観察例6例を解析した。その結果、ステロイド治療により ALT の持続正常化

例は半数に過ぎず、肝炎の活動性の強い例では通常の AIH と同様にステロイド治療に加え、アザチオプリンの併用治療が必要であったことから、本疾患は臨床的に AIH の subtype として位置づけて対応することが妥当と結論した。

病因・病態：滝川研究分担者は、PBC 患者より樹立された自己抗原 PDC-E2 特異的 T 細胞クローンを解析し、側副刺激なしで自己抗原に応答する T 細胞は転写因子 CEBPA, CEBPB, MEIS1, TGIF1 で制御されており、さらに上流に位置する遺伝子 ADAM10 と PTPN2 が PBC の疾患感受性遺伝子または自己応答性 T 細胞の責任遺伝子である可能性を示唆した。

下田研究協力者は、Toll like receptor (TLR) 3 リガンドで刺激された単球が産生する IFN- α と、TLR4 リガンドからの刺激とが相俟って NK 細胞が活性化され、自己胆管細胞を破壊することを見出し、PBC の病初期を模倣している系を確立した。

向坂研究協力者は、PBC のステージを Gd-EOB-DTPA MRI 法を用いて評価することを目的とし、PBC 患者の OATP1B3 トランスポーターの動態検討した結果、OATP1B3 は肝細胞の類洞側細胞膜に局在し、OATP1B3 mRNA の発現は進行した PBC 肝では減弱する傾向を明らかにした。

中牟田研究協力者は、PBC におけるコリン〜フォスファチジルコリン合成およびコリンの取り込みに関与するトランスポーター OCT1 につき検討した結果、PBC 肝では、亢進したフォスファチジルコリン消費のために細胞内コリンが欠乏した状況になっており、OCT1 の機能不全が示唆された。また、PBC の進行に関与する OCT1 の SNP の存在も明らかにした。

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、PBC の胆管病変におけるミトコンドリア蛋白のオートファジーは自己免疫性病態形成に関与する可能性を示唆した。

松崎研究協力者は、PBC 患者において高コレステロール血症と共にしばしば認められる高中性脂肪血症のメカニズムを明らかにするために、患者血清中の脂肪酸代謝に関する分析を行い、PBC 患者では脂肪酸合成の亢進、脂肪酸 β 酸化の低下していることを明らかにした。また、ベザフィブラートは血清中性脂肪を有意に低下させたが、脂肪酸の合成と β 酸化のマーカには明らかな変化を認めなかったことを明らかにした。

西原研究協力者は、エストロゲン肝障害における肝細胞膜トランスポーターの動態をマウスモデルを用いて検討し、肝細胞膜トランスポーター (NTCP, OATP1b, MRP2) の発現低下、胆汁酸産生系酵素 (FXR α , SHP) の発現亢進を来すことを示し、妊娠に伴う胆汁うっ滞の発生機序にはエストロゲンレセプターが必要であり、胆汁酸やビリルビンの取り込み抑制、さらに FXR α を介する胆汁酸合成抑制が関与していることを示唆した。

上野研究協力者は、PBC の原因として、ウイルスもしくはウイルス関連因子の関与を解析するため、次

世代シーケンサーを用いて、直接ウイルス genome をシーケンスする方法を確立した。また、血清内の遊離 miRNA を大量解析することで原因解明の一助になり得る可能性を示した。今後の PBC の病態解析に、次世代シーケンサーが有用である可能性を示唆した。

肝移植：前原研究協力者は、PBC 肝移植 43 例を解析し、術後肝生検 20 例、60 回のうち 3 回、2 例は PBC 再発を疑われ、再移植に至った。また、4 例の再移植症例の摘出肝の診断は、過小グラフト症候群、慢性拒絶、veno-occlusive disease、二次性胆汁性肝硬変であったことを明らかにした。肝生検による PBC 再発の診断の困難性および少量ステロイド継続が再発予防に重要な可能性があることを示唆した。

江川研究協力者は、PBC 生体肝移植後長期経過症例における死因調査を行い、① PBC 移植後再発はグラフトロスが要因ではないこと、② 2009 年末までの 517 症例の検討では 7 年までは生存率はなだらかに低下した後 10 年目から再び急激に低下している事を明らかにした。

上本研究分担者は、PBC 肝移植症例を検討し、① 生存率はドナー年齢が 50 歳以上の場合に低い傾向あり、② 抗ドナー抗体陽性症例はすべて女性で、9/64 例、14% に認めたが、抗体関連拒絶反応による死亡は 1 例のみ、③ 再発率は肝移植後 PBC 症例では 23% であり、50 歳未満の症例に有意に高い、ことを明らかにした。

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

研究分担者 持田 智 埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 教授

劇症肝炎分科会は平成22年度までは劇症肝炎および遅発性肝不全（LOHF）の全国調査を行ってきた。しかし、平成23年度は2011年に完成した「急性肝不全の診断基準」に準拠して、2010年に発症した急性肝不全の全国調査を実施した。肝炎以外の症例および非昏睡例も含めて、わが国における急性肝不全の実態が明らかになったが、劇症肝炎およびLOHFの実態と予後にも変化が見られており、今後の動向が注目される。また、ワーキンググループ（WG）としては、診断基準および肝移植適応ガイドラインを検討するWG-1、B型キャリア症例における治療法の標準化を検討するWG-2とともに、人工肝補助療法の実態を調査するWG-3が新たに発足した。これら3つのWGの活動によって、急性肝不全の診断と治療法を標準化することを目指している。また、個別研究としては劇症肝炎の診断、予後予測、肝移植成績の検討などの臨床的研究と、急性肝不全の病態解析と新規治療法の開発に関連した基礎的研究が報告された。

1. 急性肝不全、LOHFの全国調査（持田研究分担者）

急性肝不全が211例（非昏睡型96例、急性型61例、亜急性型54例）、LOHFが9例登録され、急性肝不全は肝炎症例が198例（非昏睡型85例、急性型54例、亜急性型49例）、肝炎以外の症例が23例（非昏睡型11例、急性型7例、亜急性型5例）であった。これら症例のうち劇症肝炎に相当する103例であった。劇症肝炎およびLOHFは性別、年齢などの背景因子は前年までと差異がなく、生活習慣病などの基礎疾患および薬物歴を有する症例の比率も同様に高率であった。しかし、急性型でウイルス性症例が減少し、成因不明例が増加するなど実態に変化が見られた。また、病型、成因、合併症の有無を問わず、内科的治療による救命率が低下しており、さらに肝移植実施例の死亡率も高かったことが明らかになった。また、同年はB型症例が64例で全体の29%を占めており、このうちキャリア例は25例であったが、既往感染からの再活性化例は9例で、2009年までに比して症例数が多かった。また、再活性化例は前年までは全例が亜急性型であったが、本年は急性型、LOHFの症例も見られた。しかし、その予後は不良で、全例が内科的治療で死亡していた。再活性化例には悪性リンパ腫でリツキシマブを含む化学療法を実施している症例が相変わらず多く、また、関節リウマチ、膠原病で免疫抑制療法を実施している症例も存在した。一方、B型キャリア例で免疫抑制・化学療法を施行後に再活性化を生じた症例も7例と多かったが、何れもガイドラインに従っていなかった症例であり、その遵守を徹底する啓蒙活動を継続することが重要と考えられた。なお、

非昏睡型および肝炎以外の症例に関しては、今年度になって初めてその実態を解析することが可能になったが、これら症例に関しては、来年度以降さらに症例数を増加させ、詳細な検討を進める必要がある。

2. WG-1研究報告（持田研究分担者）

WG-1は2011年に薬物中毒、循環障害、術後肝不全、妊娠脂肪肝など肝炎像を呈しない急性肝不全も加えて、プロトロンビン時間のINRも併記した「我が国における急性肝不全の診断基準」を発表した。今年度は、その際の用いる「成因分類法」の確立を目指して、研究班に登録された2004～2009年に発症した劇症肝炎およびLOHFの計488例を対象に、成因診断の根拠となった検査所見を解析した。B型症例ではCLIA法によるHBc抗体およびIgM-HBc抗体の力価を基に急性感染例とキャリア例の鑑別が行われているが、そのcut-off値の設定は困難であることが判明した。また、自己免疫性、薬物性ないし成因不明例の明確な区分は現状では困難な場合があることが明らかになった。今後、これら症例を増加させて検討を行うことで、明確な成因分類の体系を確立する予定である。

3. WG-2研究報告（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用性の評価」を実施し、副腎ステロイドのパルス投与の有効性をprospectiveに評価してきた。しかし、登録症例数が少ないため、同試験に加えて、retrospectiveな検討として「B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪による重症肝炎に対する早期免疫抑制療法の劇症化予防に関する調査研究」を企画した。同研究は既に山口大学の倫理委員会における承認を得ており、今後はWG参加施設でも倫理委員会に申請し、承認後は短期間に多数例を集積して、パルス投与の有効性を解析する予定である。

4. WG-3研究報告（横須賀研究協力者）

人工肝補助療法としては、on-line HDFの有用性が報告されているが、同法を含めた標準的な治療法は確立されていない。そこで、日本消化器病学会と日本肝臓学会の評議員施設、救急科専門医指定施設および救急救命センターを対象として、「急性肝不全の人工肝補助療法現状」に関するアンケート調査を実施した。987施設中201の施設から返答があり、わが国における血漿交換および血液濾過透析の実施状況が明らかになった。On-line HDFを既に8施設で導入されていることが判明した。今後、これら施設を対象に治療効果を含む更

に詳細な調査を実施して、標準的な血液浄化法の指針を確立する予定である。

5. 急性肝不全の診断

鈴木研究協力者はプロトロンビン時間の%表記とINRの関連を解析し、測定試薬のISIがワルファリン投与例と肝疾患症例の血漿では差異が生じることを明らかにした。急性肝不全診断に際して、プロトロンビン時間の表記を標準化するためには、各施設で肝疾患症例のISIを設定してINRを算出することを提唱した。

一方、成因診断に関しては、持田研究分担者がSOM法による病型クラスターを予測する決定木を、validationが可能な実用モデルへと改編した。また、RBF法、BP法などのデータマイニングの手法による分類予測モデルも新たに発表した。SOM法のクラスター分類は成因予測に繋がるため、これらモデルは成因不明例における治療方針の決定に利用できる可能性がある。また、横須賀研究協力者はウイルス性と自己免疫性の急性肝不全症例に比較検討から、自己免疫性例の組織学的特徴はheterogeneityであり、単純CTではこれを反映するheterogeneous hypoattenuationが認められることを報告した。同所見は自己免疫性症例に成因診断に有用と考えられる。

6. 劇症肝炎、LOHFの予後予測

坪内研究代表者はスコアリングシステムによる劇症肝炎の肝移植適応ガイドラインを2004～2009年の症例を対象として再評価し、61歳以上の高齢者では正診率が低下することを報告した。同ガイドラインを肝移植の適応決定でなく、予後予測に用いるためには、年齢を考慮したシステムに改編する必要があることが提唱された。また、藤澤研究協力者は2008～2010年に発症した小児の劇症肝炎の全国集計を基に、同ガイドラインの有用性を検証した。スコアリングシステムを成人症例に用いる際は、総計スコアが5点以上を死亡予測とするが、小児症例に適用する場合は、このcut-off値を6点以上とするのが適当であることを報告した。同システムは総計スコア毎の予測死亡率を提供するものであり、cut-off値を決定するのは趣旨に反するが、高齢者ないし小児では、年齢を考慮してシステムを柔軟に運用することを、今後検討する必要がある。

一方、森脇研究協力者は2004～2009年に発症した全国調査の登録例を対象として、スコアリングシステムの総計スコアを昏睡出現後に適応し、治療効果との関連を検討した。内科治療による救命例は4点未満で推移することから、同システムは肝性脳症出現時の予後予測のみでなく、治療効果の判定にも有効であった。スコアを経時的に評価することで、予後予測の精度は向上すると考えられる。

なお、持田研究分担者はスコアリングシステムおよびデータマイニングの決定木法、RBF法、BP法による予後予測をWeb上のクライアント/サーバー・システムで提供するプロトタイプを発表し、臨床応用への現況と問題点を提示した。

7. 内科的治療および肝移植の実態

井上研究協力者は劇症肝炎超急性型の自験例を臨床経過を解析し、内科的集学的治療は短期間に集中し、反応が乏しい場合は、可及的速やかに肝移植を実施すべきであることを提唱した。また、これら症例は感染症のリスクが高く、周術期の感染対策は、内科と外科が協力して講じる必要がある。

市田研究協力者は2011年8月までに脳死肝移植待機リストに登録された18歳以上のレシピエント候補1,295例を解析し、うち劇症肝炎患者は142例(11.0%)であり、その待機中死亡率は高率で、全体の58.5%が死亡によって待機リストから除外されていることを報告した。改正臓器移植法の実施で、劇症肝炎患者の脳死肝移植施行例頻度はOdds比で約5倍と高率になったが、待機患者の転帰は生体肝移植実施数が減少したものの、死亡数の減少がわずかであり、予後向上には待機日数の短縮が必須であると考えられた。

国土研究分担者は1998～2008年に発症した劇症肝炎、LOHFの全国調査登録例のうち肝移植実施例を解析し、これら症例の予後は良好であり、成因は予後に影響しないこと、脳死肝移植実施例は移植時期が生体肝移植実施例に比較して遅いことを報告した。改正臓器移植法の実施に伴って、待機期間中の治療法、特に人工肝補助療法の標準化を目指したWG-3の検討が重要になると考えられる。

8. 新規治療法の開発に向けた基礎的研究

肝障害の成立機序に関しては井上研究分担者、福井研究協力者および竹原研究協力者が、肝再生医療に関しては汐田研究協力者と坂井田研究協力者が発表した。

井戸研究分担者は急性肝不全におけるマクロファージの役割を、その産生するオステオアクチビンとの関連で解析した。四塩化炭素肝障害モデルでは壊死巣にオステオアクチビンを発現するCD68陽性マクロファージが集積するが、これを欠損させると肝障害は遷延化した。壊死・炎症の持続は肝再生不全の要因であるため、その対処法として、オステオアクチビンは検討する価値があると考えられる。

福井研究協力者はガラクトサミンとエンドトキシンによる急性肝不全モデルでADAMTS13の動態を検討した。肝不全の進行に従って、血漿ADAMTS13活性およびVWF抗原量は減少するが、VWF抗原/ADAMTS13活性比は増加しており、肝類洞および壊死巣内にはVWFの沈着が観察された。肝障害の進展における微小循環障害の関与を、これら指標によって評価できる可能性がある。

竹原研究協力者はFas刺激時の肝細胞におけるBakとBaxの意義を、各因子および両因子とも肝細胞特異的にノックアウトしたマウスを用いて検討し、肝細胞アポトーシスは、Baxの単独欠損では変化しないが、Bakの単独欠損で減弱し、両者の欠損では完全に抑制されることを明らかにした。従って、Fas型劇症肝炎の治療では、BakとBaxの両者を抑制することが有用であると考えられた。

汐田研究協力者は、内胚葉の発生に重要な転写因子である HNF3 β をテトラサイクリン応答性に発現し、更に iPS 細胞への遺伝子導入に際してサイレンシングを受けない Rosa 26 領域を標的としたノックインベクターを作製し、マウス iPS 細胞へ安定導入したことに報告した。本細胞は単独では肝細胞への誘導能は乏しかったが、サイトカインを添加することで、分化誘導能が向上する傾向があり、臨床応用に向けて検討が進められている。

坂井田研究協力者は骨髄由来細胞を用いた肝再生療法における炎症性サイトカインの意義を、TNFR1 との関連で検討した。TNFR1 由来にシグナルが阻害されたマウスでは肝障害、肝線維化が抑制されたが、同マウスをレシピエントとして骨髄細胞を投与すると、MMP-9 の発現は増強せず、肝線維化の改善も認められなかった。TNFR1 は骨髄細胞を移植した際には、通常の状態下と異なった役割を果たしていると考えられた。