

201231041A

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業  
(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24年度 総括・分担研究報告書

平成25(2013)年4月

研究代表者 坪内 博仁

# 序

本研究班の研究目的は、難治性の肝・胆道疾患について全国調査などにより最新の実態を把握し、適切な診療ガイドラインを作成することにある。また、難治例に対する新たな診断法または治療法の開発を目指している。本年度は、3年計画の2年目にあたり、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変・原発性硬化性胆管炎などの胆管障害、劇症肝炎、肝内結石症の4つの分科会において、診療ガイドラインの策定および改定が進められた。自己免疫性肝炎では、新たな診断基準および治療指針案が完成しつつある。PBC診療ガイドラインは、Mindsに掲載されるなど高い評価を受けている。劇症肝炎では、急性肝不全の新たな成因分類の診断基準が策定されつつある。新肝移植適応ガイドラインや免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドラインは、臨床で広く利用されている。肝内結石症では、胆管癌の前癌病変に関する研究班の病理組織分類がWHO blue blockに採用された。PBCのGWAS解析では、日本人PBC発症に関わる疾患感受性遺伝子が同定され、発症機序の解明が進んでいる。新しい血液浄化療法であるon-line HDFは、その高い意識覚醒効果から、急性肝不全に対する標準療法として今後の発展が期待される。研究班で発見された肝内胆管癌マーカーであるWFA-MUC1は簡易測定キットが製作され、臨床試験が実施される。また、肝内結石症胆汁からの新規バイオマーカー（microRNA）やHSPは、胆管癌の早期発見マーカーとしての有用性が期待されている。肝移植においては、劇症肝炎に対する脳死肝移植例は増加したものの、脳死ドナー数は頭打ちの状態であり依然生体肝移植に依存する割合も高いことなど、移植医療の問題点も明らかになった。

周知のように厚生労働省は、本年中の法制化を目指して難病対策事業の大幅な見直しを進めており、難病対策は大きな転換期を迎えようとしている。その中では、医療費助成の対象疾患の大幅な拡大、自己負担分の見直し、難病医療指定医（仮）による診断などの医療費助成の見直し、難病に対する治療法の開発、難病医療拠点病院（仮）の設置など医療の質向上が主な柱として位置づけられている。難病研究の推進では、研究分野の区分けを見直し、診断基準が確立されていない疾患の「領域別基盤研究分野（仮）」、診断基準が確立された疾患の病因・病態解明等を行う「領域別臨床研究分野（仮）」、医師主導治験で創薬等の治療法開発を目指す「実用化研究分野（仮）」、ゲノム解析研究等を行う「横断研究分野（仮）」の4分野に改変される予定である。難治性の肝・胆道疾患を対象とする本研究班においても、今後の展開を見据えた研究推進が求められるものと思われる。本研究班の研究成果が、新たな難病対策事業に反映されるように、班員の先生には、引き続き班研究の推進に協力をお願いしたい。

平成25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…………… 5  
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…………… 6  
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…………… 9  
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…………… 11  
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研究報告】

1. 病態解析ワーキング…………… 13  
福島県立医科大学 消化器・リウマチ膠原病内科 大平 弘正
2. 診断ワーキング…………… 15  
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 銭谷 幹男
3. 治療指針の作成ワーキング…………… 18  
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. 急性肝炎期 AIH への対応…………… 20  
愛媛大学大学院 先端病態制御内科学 恩地 森一
2. ①自己免疫性肝炎の長期予後 年代によるサブ解析…………… 22  
②自己免疫性肝炎の臨床経過における免疫学的解析…………… 22  
国立病院機構信州上田医療センター 吉澤 要
3. 自己免疫性肝炎の肝内遺伝子発現プロファイルの検討…………… 24  
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 銭谷 幹男
4. 自己免疫性肝疾患における miRNA の検討…………… 27  
福島県立医科大学 消化器・リウマチ膠原病内科 大平 弘正
5. 自己免疫性肝炎の診断－急性発症型および PBC overlap 症例の検討－…………… 29  
(公益財団法人) 日本医療評価機構 森實 敏夫
6. 自己免疫性肝炎の病態と予後の解明…………… 31  
慶應義塾大学医学部 消化器内科 日比 紀文
7. 自己免疫性肝炎の肝細胞傷害における MHC クラス II 分子の関与…………… 34  
新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科 青柳 豊
8. 自己免疫性肝炎の診断における抗 PD-1抗体の有用性…………… 38  
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

9. 自己免疫性肝疾患における転写抑制因子に関する研究	40
	福井大学医学部 第二内科 中本 安成
10. 新たに確立した動物モデルを用いた自己免疫性肝炎の病態解明と新規治療法の開発	42
	京都大学大学院医学研究科 消化器内科学講座 渡部 則彦
11. 小児期の AIH と PSC オーバーラップ例の検討	45
	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
12. 自己免疫性肝炎の長期予後に関わる因子の検討	47
	虎の門病院分院 臨床検査部 鈴木 義之

### Ⅲ-2. 原発性胆汁性肝硬変分科会

#### 【ワーキンググループ研究報告】

1. 疫学ワーキング	51
	関西医科大学 内科学第三講座 廣原 淳子
2. 病因・病態ワーキング	53
	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. 治療ワーキング ① PBC の薬物治療についてのアンケート結果	56
② PBC に対するベゼフィブラート投与症例の長期予後 (全国調査の結果から)	56
	帝京大学医学部 内科 滝川 一
4. PBC 診療ガイドラインワーキング 患者さん・ご家族のための原発性胆汁性肝硬変 (PBC) ガイドブック	58
	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ワーキング 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~	60
	国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 中村 稔

#### 【分担研究報告】

1. 原発性胆汁性肝硬変全国調査第33報 - 第15回原発性胆汁性肝硬変全国調査結果 -	63
	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 (続報)	68
	札幌医科大学医学部公衆衛生学講座 森 満
3. 原発性単純性肝硬変に対する肝移植症例における予後因子の調査研究: 全国集計	71
	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の長期予後予測のためのバイオマーカーの同定	72
	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. 硬化性胆管炎の全国調査結果	75
	帝京大学医学部 内科 滝川 一
6. 肝炎性変化の目立つ PBC と AIH の比較	78
	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. PBC モデルマウスにおける NK/NKT 細胞関与	81
	九州大学大学院医学系研究院 病態修復内科学 下田 慎治
8. PBC 患者肝におけるトランスポーターの変化	83
	福岡大学医学部 消化器内科 向坂彰太郎
9. PBC 病態形成におけるコリントランスポーター OCT1の関与	85
	国立病院機構九州医療センター 消化器内科 中牟田 誠
10. PBC における脂質代謝の検討(6): ベゼフィブラートの胆汁うっ滞改善機序	88
	東京医科大学茨城医療センター 松崎 靖司
11. 当科における原発性胆汁性肝硬変 (PSC) に対する肝移植の現状	90
	東京大学大学院医学系研究科臓器病態外科学 國土 典宏

12. 肝移植後原発性肝硬変再発の再発機序解明……………	92
	九州大学大学院 消化器・総合外科学 前原 喜彦
13. PBCにおける miRNA 発現の網羅的検討のための基礎検討 ……	93
	山形大学内科学第二講座 上野 義之
14. PDC-E2アミノ酸置換 peptide に対する AMA 反応性 ……	95
	帝京大学溝口病院第四内科 宮川 浩
15. 原発性胆汁性肝硬変患者に対する肝移植後再発についての臨床解析……………	96
	京都大学肝胆膵・移植外科 上本 伸二
16. 胆管上皮に発現する水移送チャンネル aquaporin の発現に関する研究……………	98
	高知大学医学部 消化器内科学 西原 利治

### Ⅲ-3. 劇症肝炎分科会

#### 【ワーキンググループ研究報告】

1. ワーキンググループⅠ 急性肝不全における成因分類の診断基準の確立……………	101
	埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智
2. ワーキンググループⅡ	
B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪による重症肝炎の劇症化予防に対する早期免疫抑制療法の有効性評価(前向き研究)……………	104
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(後ろ向き研究) ……	105
	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. ワーキンググループⅢ 急性肝不全に対する OnlineHDF の安全性・有効性の評価(中間報告) ……	106
	千葉大学大学院医学研究院 消化器・腎臓内科学 横須賀 收

#### 【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 (LOHF) の実態 (2011年)	
－平成24年度全国調査－……………	108
②劇症肝炎における高精度予後予測システムの実用化……………	125
	埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 持田 智
2. 劇症肝炎予後予測における Prothrombin index slope の有用性の検討 ……	129
	鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 坪内 博仁
3. 急性肝障害の劇症化率と劇症化予防に対する N-アセチルシステインの効果に関する研究 ……	131
	岩手医科大学 消化器・肝臓内科 鈴木 一幸
4. 劇症肝炎スコアリングからみた臨床病態の検討……………	135
	岐阜大学大学院医学研究科 消化器病態学 森脇 久隆
5. 脳死肝移植待機リストにおける劇症肝炎患者の現状……………	138
	順天堂大学医学部附属静岡病院 消化器内科 市田 隆文
6. ウイルス性急性肝不全に対する免疫抑制療法の有用性の評価……………	140
	千葉大学大学院医学研究院 消化器・腎臓内科学 横須賀 收
7. Fas 型劇症肝炎における Bcl-2ファミリー蛋白の意義……………	144
	大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 竹原 徹郎
8. 障害肝の再生・修復におけるマクロファージの役割に関する研究……………	146
	鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学 井戸 章雄
9. ヒト iPS 細胞の肝細胞分化誘導に関する研究……………	148
	鳥取大学大学院 遺伝子医療学部門 汐田 剛史
10. 肝不全、肝硬変症に対する骨髄由来マクロファージ投与療法の可能性……………	149
	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
11. 劇症肝炎成因不明例の免疫応答の解析……………	151
	昭和大学藤が丘病院 消化器内科 井上 和明

12. 急性肝不全に対する on-lineHDF の有用性 .....	154
	横浜市立大学 荒田 慎寿
13. 急性肝不全における ADAMTS13の動態 .....	155
	奈良県立医科大学 第三内科 福井 博

### Ⅲ-4. 肝内結石症分科会

#### 【ワーキンググループ研究報告】

1. 疫学・予後調査ワーキング 肝内結石症全国調査－新規横断調査－ .....	157
	杏林大学医学部 消化器・一般外科学 森 俊幸
2. 診断治療ワーキング .....	161
	広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進
3. 発癌ワーキング .....	165
	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. 発癌予知ワーキング 肝内結石症に合併する肝内胆管癌の診断 .....	167
	自治医科大学 消化器一般外科 佐田 尚宏

#### 【分担研究報告】

1. 肝内結石に対する腹腔鏡下肝切除術 .....	169
	大阪医科大学 一般・消化器外科 内山 和久
2. 胆石症の手術既往を有する肝内結石症の検討 .....	171
	名古屋大学大学院医学研究科 腫瘍外科学 榎野 正人
3. 肝内胆管癌を併発した肝内結石症例の検討 .....	173
	長崎上五島病院 外科 八坂 貴宏
4. 肝内胆管癌偽陽性症例の調査研究 .....	176
	杏林大学医学部 消化器・一般外科学 森 俊幸
5. 無症状肝内結石症 .....	177
	千葉大学大学院医学研究院 消化器・腎臓内科学 露口 利夫
6. 胆管周囲付属腺の上皮層内増殖性病変に関する病理学的検討 .....	179
	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 lysophosphatidylcholine の胆管上皮細胞に与える細胞障害とそのメカニズムの解明 .....	182
	広島大学病院 総合内科・総合診療科 田妻 進
8. 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 .....	184
	筑波大学医学医療系医療科学 正田 純一
9. 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 .....	187
	金沢大学大学院病態検査学講座 本多 政夫
10. 胆汁酸投与マウス肝における細胞膜トランスポーターおよび代謝酵素の蛋白発現解析 .....	189
	東北大学大学院医学系研究科 消化器外科学 海野 倫明

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	191
V. 班員名簿 .....	219
VI. 平成24年度班会議総会プログラム .....	221

# I. 総括研究報告

# 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (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、診断WGによりAIHの診断指針と重症度分類案が作成された。病態解析WGによりAIHの長期予後調査結果が報告された。治療WGにより薬物療法と予後に関する班内調査が実施された。個別研究では、急性発症型AIH、AIH+PSC オーバーラップ例、肝硬変進展例の臨床背景が報告された。NK/NKT細胞、サイトカイン、miRNA、抗HLA抗体、PD-1抗体と病態との関連性が示された。原発性胆汁性肝硬変（PBC）では、疫学調査WGにより第15回PBC全国調査結果が報告された。病因・病態WGによりUDCAによるフラクタルカイン産生抑制効果が示された。治療WGによりPBC薬物治療についてのアンケート調査結果が報告された。診療ガイドラインWGによりPBC診療ガイドライン（2011）の患者向けガイドブックが作成された。抗gp210抗体の有用性を検討するWGにより日本人PBC発症に関わる新規疾患感受性遺伝子が同定された。個別研究では、PBCおよびPSCの長期予後と肝移植成績、北海道における疫学像、PSCおよびIgG4関連硬化性胆管炎の全国調査結果が報告された。病因および病態に関する遺伝子多型、NK/NKT細胞、Gd-EOB-DTPA MRIの信号強度、ベザフィブラートの作用機序、miRNA、AMA反応性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2011年発症の急性肝不全の実態が報告された。WG Iにより急性肝不全の成因分類（案）が策定された。WG IIIによりOn-line HDFの現状と課題が報告された。劇症肝炎の予後予測、ステロイドパルス療法、N-アセチルシステイン療法、脳死肝移植の実態が明らかにされた。急性肝不全の病態とオステオアクチビン、ADAMTS13、BakおよびBaxとの関連性が示された。iPS細胞、自己骨髄細胞を用いた新規治療法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により多施設全国調査結果が報告された。診断・治療WGにより診療ガイドラインの改定が行われている。発癌WGにより胆管内乳頭状腫瘍の病理学的特徴が示された。発癌予知WGにより肝内胆管癌合併肝内結石症のアトラスが作成されている。個別研究では、肝内胆管癌偽陽性例、肝内胆管癌合併例、胆石症の手術既往例、無症状肝内結石症例、腹腔鏡下肝切除例の解析結果が報告された。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に関する研究成果が報告された。胆管癌細胞に対するHER2-lytic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
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・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定を行う。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。

#### 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、改定する。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（miRNA）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) では, AIH の長期予後を明らかにする目的で, 班内調査を実施した。また, 急性肝炎発症 AIH の診療指針を作成する目的で, 班内調査を実施した。診断 WG (代表: 銭谷研究協力者) では, AIH の診断指針と重症度分類案を作成した。治療 WG (代表: 山本研究協力者) では, AIH の薬物療法と予後に関する班内調査を実施した。病態解析サブ WG (代表: 大平弘正) では, 第2回会合を開催した。GWAS 研究は, 班所属の施設以外の協力も得て検体を集積し, 解析を継続中である。

個別研究: 恩地研究分担者は, 急性肝炎期 AIH の臨床像について解析し, 適切な診療体制の確立による早期診断・治療の重要性を明らかにした。銭谷研究分担者は, AIH 患者の肝内 miRNA, mRNA 発現プロファイルを網羅的に解析し, Th1, Treg の増加, 門脈内浸潤 CD4陽性細胞における機能発現に関わる miRNA の発現増強を報告した。吉澤研究協力者は, 2回目以降の再発防止が AIH の長期予後の改善に重要で, AIH の病態に IL-12, IP10 など Th1 および Th17 系が重要であることを示した。大平研究協力者は, PBC では miR-155, miR-146a の発現増加, AIH では miR-155 の増加と miR-26a の減少がみられることを報告した。森實研究協力者は, 急性発症型 AIH は国際診断基準スコアリングシステムでは約半数は確診に至らず, 多変量 3 因子モデルまたは 7 因子モデルによりほぼ 100% 診断が可能であることを示した。日比研究協力者は, 急性発症型 AIH 患者における IL-10 の重症化への関与を示し, 免疫抑制モデルにおいて IL-10 産生 CCR2 陽性マクロファージの増加がみられたことより, 免疫寛容の破綻における IL-10 の重要性を報告した。青柳研究協力者は, AIH 発症時に抗 HLA 抗体が高率に検出されることより, 抗 HLA 抗体の出現が AIH の肝細胞傷害の進展・増悪に関与している可能性を示唆した。山本研究協力者は, AIH のバイオマーカーとしての血清中抗 PD-1 抗体の検証試験を実施中である。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 ノックアウトマウスでは, 野生型に比し ConA による肝障害が抑制されることを示した。渡部研究協力者は, 新生仔期胸腺摘除を施行した PD-1 遺伝子欠損マウスでは, マウスの系統に依存して劇症肝炎から慢性肝炎にわたる多彩な病態が生じること, ステロイド治療では脾臓における自己反応性 T 細胞の活性化が完全には抑制できないことを示した。藤澤研究協力者は, 小児 AIH・PSC オーバーラップにおいて免疫抑制剤の効果は限定的であることを報告した。鈴木研究協力者は, AIH の肝硬変への進行に寄与する因子が, 特に治療開始後 8 週までの治療反応性であることを示した。

### 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): 2012年 8 月

に施行した第15回 PBC 全国調査を実施集計しデータベース化し, 総登録例数は8509例となった。

病因・病態 WG (代表: 中沼研究分担者): UDCA は血管内皮細胞に作用し, 自然免疫応答性フラクタルカイン (FRK) 産生を抑制的に制御し, 血清中 FRK 値低下に関与していた。

治療 WG (代表: 滝川研究分担者): PBC 薬物治療についてのアンケート調査により, UDCA の投与開始基準, 初期投与量については肝臓専門医の間でコンセンサスが得られているが, 投与効果判定時期, 効果不十分例の治療方針については見解が分かれていることを明らかにした。

診療ガイドラインの作成 WG (代表: 石橋研究分担者): ①一般内科医, 消化器, 肝臓専門医向けの診療ガイドライン (2011) を作成し, Minds ホームページに収載された。②英語版を作成した。③患者向け診療ガイドブックを作成した。

抗 gp210 抗体の有用性を検討する gp210WG (代表: 中村研究協力者): 国立病院機構肝ネットワーク研究班, 本研究班に登録された PBC 症例と健常者を対象に GWAS を実施し, 日本人 PBC 発症に関わる新規疾患感受性遺伝子を 2 個 (TNFSF15, POU2AF1) 同定した。これら遺伝子は欧米人の疾患感受性遺伝子と同一の disease-pathway に位置していた。

個別研究:

疫学調査: 廣原研究協力者は第15回 PBC 全国調査の解析結果を報告した。5年/10年/20年生存率は, 無症候性-PBC, 症候性-PBC とも予後は改善していた。肝移植後生存率は良好であった。森研究協力者は, 臨床調査個人票を基に北海道の PBC の臨床疫学像およびその地域性の検討を行い, 予後不良の PBC サブタイプが混在している可能性を示唆した。

診断・治療: 石橋研究分担者は, コリンのトランスポーターである OCT1 の遺伝子多型が黄疸型進行に関連すること, 胆汁酸代謝に関連した分子 (CTP7A1, HNF4A, PPARGC1A) の遺伝子多型が PBC の進行に関連していることを明らかにした。

病因・病態: 滝川研究分担者は, 全国調査により PSC と比較して自己免疫性肝炎非合併の IgG4 関連硬化性胆管炎 (IgG4-SC) は有意に男性, 高齢者に多いこと, IgG4-SC の診断に対する血清 IgG4 値の感度・特異度が高いこと, PSC より IgG4-SC の方が予後良好であることを報告した。下田研究協力者は, NK/NKT 細胞除去 PBC 発症マウス群は, 抗ミトコンドリア抗体の出現やミトコンドリア抗原に反応する T 細胞からのサイトカイン産生が遅れることから, NK/NKT 細胞は PBC の病初期に抗体産生と獲得免疫系の亢進に関与していることを示した。向坂研究協力者は, PBC 肝硬変患者の Gd-EOB-DTPA MRI 検査での信号強度: RE 値は正常者に比べて有意に低下し, EOB の取り込み (OATP1B) に関わるトランスポーターの発現低下がその機序であることを示した。中牟田研究協力者は, コリンのトランスポーターである OCT1 の 4 つの SNPs を解析し, PBC の発症には

rs683369, 病態の進行(黄疸の有無)には rs683369, rs2282143, rs622342が関与すること, 肝移植症例では rs683369, rs622342が関与していることを明らかにした。中沼研究分担者は, PBCでは実質炎, ロゼット形成, エンペリポレーシスおよび炎症細胞浸潤の程度が軽度であること, 門脈域周囲における形質細胞は IgM 優位であること, 門脈域における CD38+ 細胞の浸潤程度と AST が相関することを明らかにした。松崎研究協力者は, ベザフィブラートは PPARs と PXR のデュアルリガンドであること, ベザフィブラートの抗胆汁うっ滞効果に関する機序を明らかにした。上野研究協力者は, PBCでは他のウイルス性肝炎とは全く異なる miRNA 発現プロファイルを持つことを明らかにした。宮川研究協力者は, PDC-E2の主要な epitope を含む19アミノ酸の mutated recombinant peptide による AMA の反応性を検討し, mutated peptide に対する反応性が減弱したことから, AMA 反応性における PDC-E2の立体構造の重要性を明らかにした。

肝移植: 前原研究協力者は, PBC に対する生体肝移植後グラフト死亡の危険因子は HLA mismatch 数が 4 以上, 男性ドナーであること, 移植後 1 年以上経過してグラフト死亡となった 5 症例中 3 例で慢性(線維形成性)炎症を中心とした多彩な病理像を示したこと, 肝移植後の晩期グラフト死亡には慢性炎症性疾患症候群が関与していることを報告した。江川研究協力者は, PBC に対する肝移植症例における予後因子を調査する全国集計アンケートを準備中である。国土研究分担者は, 自施設における PSC に対する成人生体肝移植例を検討し, 欧米の脳死肝移植と異なり, 血縁ドナー由来の肝移植では高率に再発する可能性があること, 移植後 PSC 再発を高頻度に認めるものの 5 年生存率は良好であったが, 脳死肝移植待機・移植断念例の予後は不良であることを報告した。

### 3. 劇症肝炎

全国調査(持田研究分担者): 急性肝不全282例と LOHF 7 例が登録され, 肝炎症例が230例(非昏睡型106例, 劇症肝炎急性型71例, 亜急性型53例), 肝炎以外の症例が52例であった。急性型におけるウイルス性症例の比率が減少し, 成因不明例, 薬物性症例, 自己免疫性症例が増加していた。B 型キャリアおよび既往感染例における再活性化症例, 治験中の分子標的薬が原因の薬物性症例が報告された。非昏睡型症例, 肝炎以外の症例の病態, 治療法および予後が報告された。

WG I (代表: 持田研究分担者): 自己免疫性肝炎分科会, 滝川研究分担者とも連携し, 「急性肝不全の成因分類(案)」をまとめた。

WG II (代表: 坂井田研究協力者): 後ろ向き研究である「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」を実施し, 今年度の登録数, 解析例が報告された。

WG III (代表: 横須賀研究協力者): On-line HDF に

関し, 血液濾過器膜面積の選択, 透析液流量, 濾過液流量の設定などの施行条件は施設によって大差はなく, 昏睡覚醒率は83%で high flow dialysate CHDF に比して高率であることを報告した。

#### 個別研究:

急性肝不全の診断: 鈴木研究協力者は, 急性肝不全非昏睡型における昏睡出現率はプロトロンビン時間が 40% 未満の症例で特に高率であり, 急性肝炎重症型も臨床的に意義がある病型であることを示した。

劇症肝炎, LOHF の予後予測: 坪内研究代表者は, 劇症肝炎, LOHF 症例における肝性脳症出現時を起点としたプロトロンビン index slope (PIS) を検討し, 96ないし120時間後の数値が予後と関連することから, 早期予後予測に利用できる可能性を示した。持田研究分担者は, データマイニングの手法である決定木法, RBF 法, BP 法を用いた 4 種類の予後予測モデル全てを複合した統合モデルを確立し, 各医療機関が患者データを E-mail で登録し, 埼玉医科大学のサーバーで 5 種類の予測死亡率を算出し返却するスタンドアローン・システムを確立した。森脇研究協力者は, 昏睡出現後の肝移植スコアリングシステムによる経時的スコアと LDH, IgG などの臨床マーカーとの関連性を明らかにした。

内科的治療および肝移植の実態: 井上研究協力者は, 副腎皮質ステロイドパルス療法抵抗性の成因不明劇症肝炎症例において, Th17 と Th1 が病態形成に重要であることを報告した。横須賀研究協力者は, ウイルス性急性肝不全の病初期において, 高用量のパルス療法は肝細胞障害を抑制することを報告した。鈴木研究協力者は N-アセチルシステインを投与した重症肝炎症例では, 昏睡出現率が低い傾向にあることを報告した。市田研究協力者は2012年8月末までに脳死肝移植待機リストに登録されたレシピエント候補患者を解析し, 劇症肝炎の比率は12%で, 改正法実施後はその約25%が待機10日で脳死肝移植が施行されていることを報告した。

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, オステオアクチビン欠損マウスでは四塩化炭素による肝障害に影響を与えないが, TGF- $\beta$ , MMP9, MMP13などの発現が低下し, 活性化星細胞の増殖も抑制されることを証明した。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ラット急性肝不全モデルにおいて, 肝障害成立前の早期に UL-VWF が著増し凝固亢進状態にあること, 肝内では ADAMTS13 の発現が亢進するが血中ではその活性が低下し, 多臓器不全に関与している可能性を示した。竹原研究協力者は, Bak および Bax の両者が欠損したマウスでは, 死亡率は軽度改善するが, 遅発性の肝細胞死は進行することから, Fas 型劇症肝炎の治療には Bak と Bax のみを標的とするのでは不十分であることを報告した。汐田研究協力者は, ヒト iPS 細胞を成熟した肝細胞へ分化誘導するアプローチとして, ミトコンドリア生合成を促進する PGC-1 $\alpha$  遺伝子に注目し, これを効率よく発現するアデノウイルスベクターの作製を目

指している。

坂井田研究協力者は、自己骨髄細胞投与療法に際して、局所麻酔下に採取した少量の骨髄液から骨髄由来細胞を培養増殖させる技術を開発するための基礎的研究を進め、マウスを用いて無血清培地でGMPグレードに対応できるシステムを確立した。

#### 4. 肝内結石症

疫学・予後調査WG（代表：森研究協力者）：新規の多施設全国調査（横断調査）により、①患者の高齢化が進行し、ビリルビン結石が減少傾向、②手術的治療が減少し、経乳頭的内視鏡治療をはじめとする非手術的治療が増加、③ERCPは他の治療に比べ結石遺残や再発が多い、などを報告した。

診断・治療WG（代表：田妻研究協力者）：肝内結石の診断・治療の現状（第3次調査）では、内科治療の増加、胆管手術の既往例の増加、新規Modalityの増加、肝内胆管癌・胆道炎合併例が明らかにされた。日本消化器病学会にて診療ガイドラインを改定作業中である。

発癌WG（代表：中沼研究分担者）：胆管内乳頭状腫瘍（IPNB）の病理学的特徴として、①胆管内発育型肝内胆管癌、乳頭膨張型胆道癌の多くはIPNBと診断された、②IPNBの多くでは先行疾患が不明であったが、4例に肝内結石症があった、③IPNBは表現型（胆嚢型、胃型、腸型、オンコサイト型）により病態の違いが示唆され、粘液産生は35%の症例に認められた、④IPNBは診断時、大部分は癌化しており、非浸潤癌、軽微浸潤癌が多くを占めることが明らかになった。

発癌予知WG（代表：佐田研究協力者）：手術症例、病理マクロ写真が画像と対比できる症例を対象とし、ERC、PTC(S)、FDG-PET、MRI(DWI)、Perfusion CTなどの画像診断を行った肝内胆管癌合併および非合併の肝内結石症アトラスを作成中である。

#### 個別研究：

疫学・予後：森研究協力者は、手術による最終病理診断で癌を認めなかった肝内胆管癌合併疑い肝内結石症例を「肝内胆管癌偽陽性症例」と定義し、その臨床病理像を検討する研究計画を提示した。八坂研究協力者は、①肝葉萎縮を伴う肝内結石症例では、肝切除を積極的に選択すべきである、②IE、LRあるいはL型の症例、截石術のみで経過観察されている症例、胆道再建手術症例は術後の癌発生が高率である、③フォローアップ時にCA19-9の感度は80%と高かったが、画像診断で癌の合併を早期に診断することは困難であることを報告した。

診断・治療：榑野研究協力者は、胆嚢摘出術後には肝内結石症を発症する可能性があり、総胆管や左右肝管に何らかの術中操作を加えた場合、術後の長期経過観察が必要であること、結石の局在、肝萎縮の有無、胆管狭窄の有無に配慮した治療を施行することで、良好な治療経過が得られることを報告した。露口研究協力者は、検診などで偶然に指摘された無症状肝内結石症の長期予後を解析し、その予後は概ね良好であるこ

と、胆道再建術後例（先天性胆道拡張症術後）は胆管炎の危険因子であり、治療介入が必要となる可能性が高いことを示した。内山研究協力者は、腹腔鏡下肝切除は開腹手術よりも安全に低侵襲で、特に左葉限局型の多い肝内結石症に対しては、完全肝左葉切除や単孔式外側区域切除の良い適応であることを報告した。

病態・発癌：中沼研究分担者は、胆管周囲付属腺にみられる嚢胞状拡張を伴う顕微鏡的な上皮の微小乳頭状の増生病変は腫瘍性の性格を有し、「分枝型」IPNBや傍肝門胆管癌の前駆病変である可能性を示した。本多研究協力者は、胆管癌症例の胆汁中に悪性腫瘍群と非腫瘍群を鑑別する2つのmiRNAを同定した。海野研究協力者は、胆汁酸投与後のマウス肝において血管側トランスポーターの発現低下を認めたが、休薬期間をおくことでトランスポーターや酵素の発現量は回復し、コル酸投与により肝細胞内GSH合成酵素の発現量および肝内GSHレベルが上昇することを報告した。田妻研究協力者は、胆汁中lysophosphatidylcholine (lysoPC)は胆管上皮細胞に対しapoptosisを主体とする細胞障害性を有すること、lysoPCはG2Aの発現を誘導し、G2Aのリガンドであるox-FFAはlysoPCとの併用で強い細胞障害性を有すること、胆汁中PLA2の上昇は病態形成に重要であることを報告した。正田研究協力者は、膜融解性ハイブリッドペプチドHER2-lyticは、用量依存性に胆管癌細胞の増殖を抑制すること、HER2-lyticの抗腫瘍効果は、gefitinibおよびGW2974のtyrosine kinase inhibitorであるとほぼ同等であることを報告した。

#### 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定された。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 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

## 分科会総括研究報告書

### 自己免疫性肝炎に関する研究

研究分担者 恩地 森一 愛媛大学大学院先端病態制御内科 教授

#### 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、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（AIH）の病態および診療の実態を明らかにした。この結果を受けて、各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を作成することを目的とした。また、病態解析については、個別研究に加えて、GWAS解析、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った。

#### B. 研究結果・考察

- 1) AIHの長期予後を明らかにする目的で、班内調査を実施し、解析した。
- 2) 急性肝炎発症 AIHの診療指針を作成する目的で、班内調査を実施した。
- 3) AIHの病態解析に関するサブワーキンググループの第2回会合を開催した。
- 4) 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、解析を継続中である。
- 5) AIHの診断指針と重症度分類の案を作成した。
- 6) AIHの薬物療法と予後に関する班内調査を実施した。
- 7) 個別研究

急性肝炎期 AIHの臨床像と早期診断の有用性について解析し、適切な診療体制の確立による早期診断・治療が重要であることが明らかとなった。（恩地分担研究者）

AIHの長期予後の改善には、2回目以降の再発を防ぐことが重要であった。また、サイトカインを包括的に測定したところ、AIHの病態にIL-12、IP10などTh1およびTh17系が重要な役割を果たしてい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肝内miRNA、mRNA発現プロファイルを網羅的に解析した。AIHの肝内ではTh1、Tregの増加、機能発現に関わるmiRNAの門脈内浸潤CD4陽性細胞における発現増強がみられ、これらが病態形成に関与していると考えられた。（銭谷分担研究者）

末梢血のmiRNA発現について検討した。PBCではmiR-155、miR-146aの発現が増加しており、AIHではmiR-155の増加とmiR-26aの減少がみられた。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）

急性発症型AIHは国際診断基準スコアリングシステムでは約半数は確診に至らず、特に簡易版の感度は低かったが、多変量3因子モデルまたは7因子モデル

によりほぼ100%診断が可能であり、これらのモデルの有用性が示された。（森實研究協力者）

急性発症型AIH患者では、血清IL-10がPT値と関連しており、重症化への関与が示唆された。また、ConA繰り返し投与免疫抑制モデルではIL-10産生CCR2陽性マクロファージが増加しており、免疫寛容の破綻におけるIL-10の重要性が示唆された。（日比研究協力者）

AIH発症時には血清中に抗HLA抗体が高率に検出され、自己HLA class II alleleに対する抗体が陽性である症例の存在が確認された。抗HLA抗体の出現がAIHの肝細胞傷害の進展・増悪に関与している可能性があると考えられた。（青柳研究協力者）

AIHのバイオマーカーとしての血清中抗PD-1抗体の検証試験を開始しており、現在症例集積中である。（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にConAを投与すると、野生型に比し肝障害の程度が抑制された。Id2はAIHの発症機序を解明する上で重要な分子である可能性がある（中本研究協力者）

新生仔期胸腺摘除を施行したPD-1遺伝子欠損マウスを用いて解析を行った。劇症肝炎から慢性肝炎にわたる多彩な病態がマウスの系統に依存して生じた。また、ステロイドの治療に限界が生じるのは、脾臓において自己反応性T細胞の活性化が完全には抑制できないことにあり、脾摘術の有用性が示された。（渡部研究協力者）

小児におけるAIHとPSCオーバーラップ11例を解析した。治療によりALT値が正常化した症例は3例のみであり、免疫抑制剤の効果は限定的であった。今後、診断基準および治療法の確立が必要である。（藤澤研究協力者）

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、治療早期（治療開始後8週まで）の治療反応性も肝硬変への進行に関わる重要な因子であった。（鈴木研究協力者）

#### 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、来年度は診療・診断・治療に関する指針を作成する予定である。

# 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

## 分科会総括研究報告書

### 原発性胆汁性肝硬変に関する研究

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理 教授

原発性胆汁性肝硬変（PBC）分科会は、PBCの疫学調査、診断基準の改訂、病因・病態の解明、新しい治療法の開発と肝移植の成績を検討課題としている。個別研究の他に、疫学調査ワーキング、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の5つのワーキンググループを立ち上げ、本年度の研究成果について議論し、以下に述べるワーキング研究および個別研究の成果が報告された。

#### ・ワーキンググループ（WG）

**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班に所属する研究機関内で共同利用し、効率的な活用を図ることで、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することを目的とし、2012年8月に施行した第15回 PBC 全国調査を実施集計しデータベース化し、総登録例数は8509例となった。

**病因・病態 WG：**中沼分担研究者を代表とし、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）値が、UDCA 治療反応性と相関する機序について検討した。その結果、UDCA は血管内皮細胞に作用し、自然免疫応答性 FRK 産生を抑制的に制御し、血清中 FRK 値低下に関与している事を示唆した。

**治療 WG：**滝川分担研究者を代表とする本 WG では、PBC 治療の現状を知るための PBC 薬物治療についてのアンケート調査を行い、PBC に対する UDCA の投与開始基準、初期投与量については本邦の肝専門医の間ではほぼコンセンサスが得られているが、投与効果判定の時期、および効果不十分と判断した際の治療方針については見解が分かれていることを明らかにした。また、全国調査の結果に基づき、PBC に対するベザフィブラート投与症例の長期予後を解析中である。

**診療ガイドライン WG：**石橋分担研究者を代表とする本 WG では、我が国における PBC 診療の標準化を目指し、1. 我が国の一般内科医、消化器、肝臓専門医向けの診療ガイドライン（2011）を作成し、本年度 EBM 普及推進事業医療情報サービス Minds 選定委員会の評価選定のうえ、Minds ホームページに収載された。2. その英語版を作成した。3. 患者さんの療養に役立つような患者向け診療ガイドブックを作成し、

治療法、長期予後、生活における留意事項などが詳細に記載された患者さんのみならず、医師の日常診療にも有用である内容となった。

**抗 gp210抗体の有用性を検討する WG：**中村稔分担研究者を代表とした本 WG では、国立病院機構肝ネットワーク研究班、厚生労働省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班”に登録された PBC1,327名と健常者1,120名を対象に GWAS を実施し、日本人 PBC 発症に関わる新規疾患感受性遺伝子を2個（*TNFSF15*, *POU2AF1*）同定した。この2つの遺伝子は欧米人で報告された PBC の疾患感受性遺伝子（*IL12A/IL12RB2*, *SPIB*）とは異なるものの、欧米人の疾患感受性遺伝子と同一の disease-pathway（Tリンパ球の Th1 への分化や Bリンパ球の形質細胞への分化経路）に位置することが明らかとなり、PBC の疾患感受性遺伝子には集団差を認めても共通した disease-pathway が存在することを明らかにした。

#### ・個別研究

**疫学調査：**廣原研究協力者は2012年8月に実施した第15回 PBC 全国調査を解析し、既登録症例2480例と新規登録1145例の報告があり総登録症例が8509例となったことを報告した。また、5年生存率は無症候性-PBC97.9%、症候性-PBC80.3%、10年生存率は各々93.7%、66.7%、20年生存率は各々84.2%、52.1%で各病期で予後は改善していることを明らかにした。さらに、経過中肝移植が施行された症例は141例あり、移植後生存率は5年生存率86.4%、10年生存率82.0%であることを明らかにした。

森研究協力者は、臨床調査個人票に記載された臨床症状・血液検査データなどを基に北海道の PBC の臨床疫学像およびその地域性の検討を行い、黄疸・食道胃静脈瘤・腹水・肝性脳症の臨床症状のうち2つ以上を認める例ではそうでない例と比べて極めて予後不良であることを明らかにし、あらかじめ経過が異なる PBC のサブタイプが混在している可能性を示唆した。

**診断・治療：**石橋分担研究者は、PBC の予後予測や病型分類に、自己抗体、免疫関連分子や胆汁酸代謝・肝線維化関連分子の遺伝子多型（SNPs）がバイオマーカーとして有用であることを報告してきたが、本年度さらに日本人 PBC-GWAS 多施設共同研究より日本人 PBC 発症に関わる新規疾患感受性遺伝子を2個（*TNFSF15*, *POU2AF1*）同定した。また、コリンのトランスポーターである OCT1 の遺伝子多型が黄疸型

進行に関連することや、胆汁酸代謝に関連した分子 (CTP7A1, HNF4A, PPARGC1A) の遺伝子多型が PBC の進行に関連していることも明らかにした。

病因・病態：滝川分担研究者は、2005年以降に診断された原発性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis; PSC)、および自己免疫性膵炎を合併していない IgG4 関連硬化性胆管炎 (IgG4-related sclerosing cholangitis; IgG4-SC) を対象として、アンケートによる全国調査を行った。その結果、PSC と比較して IgG4-SC は有意に男性、高齢者に多いこと、PSC の年齢分布が前回全国調査と同様に若年者・高齢者に2つのピークがあること、IgG4-SC の診断に対する血清 IgG4 値の感度・特異度は 89.5%・87.6% であることを明らかにした。また、病変部位は PSC では「肝内外」、IgG4-SC では「肝内のみ」が最も多かった。PSC における炎症性腸疾患の合併は 34% にとどまっておき、前回全国調査同様比較的低率であった。また、PSC の3年生存率は 85.0%、IgG4-SC の3年生存率は 90.0% で、IgG4-SC の方が予後良好であることを明らかにした。

下田研究協力者は、PBC モデルマウスを用いて NK/NKT 細胞の関与を検討した結果、NK/NKT 細胞除去群はコントロールとした PBC 発症マウスと比較して、抗ミトコンドリア抗体の出現やミトコンドリア抗原に反応する T 細胞からのサイトカイン産生が遅れることが明らかにし、NK/NKT 細胞は PBC の病初期に抗体産生と T 細胞反応性といった獲得免疫系を亢進させ病態に積極的に関与していること、また獲得免疫が完成された後には NK/NKT 細胞は病態に関与していない可能性を示唆した。

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 肝硬変患者と正常肝患者での Gd-EOB-DTPA MRI 検査での信号強度:RE 値 (Relative Enhancement 値) を比較検討した。その結果、PBC 肝硬変患者の RE 値は正常者に比べて有意に低下し、その機序として EOB の取り込み (OATP1B) に関わるトランスポーターの発現低下によることを明らかにし、EOB-MRI 検査は PBC の病期評価に有用である可能性を示唆した。

中牟田分担研究者は、PBC 肝細胞ではフォスファチジルコリン (PC) の過剰消費のために細胞内コリンが枯渇し、一方、血清コリン値は PBC 症例で上昇している機序を明らかにするため、コリンのトランスポーターである OCT1 の 4 つの SNPs (rs683369, rs2282143, rs622342, 1443844) を解析した。その結果、PBC の発症には rs683369、病態の進行 (黄疸の有無による比較) には rs683369, rs2282143, rs622342 が関与することを明らかにした。また、黄疸症例を肝移植症例に変えた replication study においても rs683369, rs622342 が関与していることを確認し、PBC の発症・病態進行にコリンの取り込み、コリンから PC 代謝が関与していることを示唆した。

中沼分担研究者は、インターフェイス肝炎を伴う PBC と AIH の肝炎所見の相違について組織学的、免疫組織学的に検討し、AIH と比較して PBC では実質炎、ロゼット形成、エンペリポレーシスおよび炎症細胞浸潤の程度が軽度であること、門脈域周囲における形質細胞は AIH では IgG、PBC では IgM 優位であることを明らかにし、両疾患の形質細胞サブクラスの違いを示唆した。また PBC 門脈域における CD38+ 細胞の浸潤程度と AST との相関も明らかにした。

松崎研究協力者は、PBC 患者血清バイオマーカーを用いたスクリーニング結果をもとに、ベザフィブラートの胆汁うっ滞改善機序を培養細胞系を用いて証明した。ベザフィブラートは peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) と pregnane X receptor (PXR) のデュアルリガンドであり、1) 主要な排泄トランスポーターの誘導、2) 内因性胆汁酸の合成抑制による UDCA 比率の増加、3) CYP3A4 の活性化による疎水性胆汁酸の親水化、の少なくとも3つの機序によって、抗胆汁うっ滞効果を発揮していることを明らかにした。

上野研究協力者は、PBC におけるマイクロ RNA (miRNA) について解析し、PBC では他のウイルス性肝疾患とは全く異なる発現プロファイルを持つことを明らかにし、今後、病型等の更なる解析の重要性を示唆した。

宮川研究協力者は、PDC-E2 の主要な epitope を含む 19 アミノ酸の mutated recombinant peptide を作成し、ELISA で AMA の反応性を検討した。その結果、wild type と比較し 5、12 番目のイソロイシン、15 番目のグルタミン酸をアラニン置換した peptide に対し PBC 患者血清の AMA の反応性は減弱したことから、AMA の反応性には PDC-E2 の立体構造が重要であることが明らかにした。

肝移植：前原研究協力者は、PBC に対する生体肝移植術後の予後因子・晩期死因に関する検討を行い、1) PBC に対する生体肝移植後グラフト死亡の危険因子は HLA mismatch 数が 4 以上、男性ドナーであること、2) 移植後 1 年以上経過してグラフト死亡となった 5 症例中 3 例で慢性 (線維形成性) 炎症を中心とした多彩な病理像を示したこと、3) PBC に対する肝移植後の晩期グラフト死亡には、慢性免疫反応を背景とする慢性炎症性疾患症候群 (CR, OPV, VOD) が関与していることを明らかにした。

江川研究協力者は、PBC に対する肝移植症例における予後因子の調査研究として全国集計のアンケートを準備し、現在 37 の調査依頼施設に送付を行った。

国土分担研究者は、東京大学における原発性硬化性胆管炎 (PSC) に対する成人生体肝移植自験例 14 例を検討し、欧米の脳死肝移植と異なり、血縁ドナー由来の肝移植では高率に再発する可能性を指摘した。また、14 例中、移植後 PSC 再発を高頻度 (43%) に認めるが、5 年生存率は 94% と非 PSC 症例と比しても概ね良好であった。しかし脳死肝移植待機・移植断念

例の予後は不良で、再発のリスクを考慮しても肝移植は妥当な選択肢であることを示唆した。



# 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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」を行ってきたが、平成23年度以降は2011年に完成した「急性肝不全の診断基準」に準拠して、「急性肝不全およびLOHFの全国調査」を実施している。平成23年度は2010年の発症例を集計し、肝炎以外の症例および非昏睡型も含めて、わが国における急性肝不全の全貌が明らかになってきた。また、劇症肝炎とLOHFに関しても、その実態と予後にも変化が見られていることが判明した。今年度は2011年に発症した症例を集計し、これら動向の行方を観察した。一方、ワーキンググループ（WG）としては、診断基準と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目指すWG-2、人工肝補助療法の実態調査を介してその標準化を図るWG-3が活動しており、これらによって、急性肝不全の診断と治療法に関するガイドライン作成を目指している。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）

2011年の発症例として、急性肝不全282例（非昏睡型136例、急性型92例、亜急性型54例）とLOHF 7例が登録され、急性肝不全は肝炎症例が230例（非昏睡型106例、劇症肝炎急性型71例、亜急性型53例）、肝炎以外の症例が52例（非昏睡型30例、急性型21例、亜急性型1例）であった。これら症例のうち劇症肝炎に相当する124例（急性型71例、亜急性型53例）である。

劇症肝炎、LOHFおよび非昏睡型の肝炎症例は、性別、年齢などの背景因子に関して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。一方、成因に関しては、2010年と同様に急性型におけるウイルス性症例の比率が減少しており、成因不明例、薬物性症例、自己免疫性症例が増加しており、2009年までの症例と実態に変化が見られた。また、2010年の症例では内科的治療例、肝移植実施例ともに救命率が低下していたが、2011年の症例は何れも2009年までの水準に回復していた。しかし、救命率はB型キャリア例と自己免疫性例では依然低率であり、これら症例の対策が急務である。また、B型ではキャリアおよび既往感染例における再活性化症例がそれぞれ2例と5例で、未だ登録が見られている。B型肝炎再活性化の予防ガイドラインを遵守するための啓発活動を継続する必要がある。なお、薬物性症例では、治験中の分子標的薬が原

因の症例が2例登録され、何れも死亡していた。今までにない登録例であり、今度の動向が注目される。

一方、急性肝不全の非昏睡型および肝炎以外の症例は、前年度に比して登録数が飛躍的に増加した。非昏睡型症例の臨床像は劇症肝炎急性型に類似したが、成因に差異が認められ、自己免疫性および薬物性の症例が高率であった。また、肝炎以外の症例は劇症肝炎と病態、治療法および予後が大きく異なるなることも明らかになった。これら症例の実態に関しては、さらに症例を増加して解析する必要がある。

## 2. WG-1研究報告（持田研究分担者）

WG-1では2011年に発表した「我が国における急性肝不全の診断基準」に準拠した成因分類法の確立を目指して、2004～2011年に発症した症例のデータを基に検討を重ねた。自己免疫性症例に関しては自己免疫性肝炎分科会の恩地分科会長、薬物性症例は滝川研究分担者とも連携して検討を行い、「急性肝不全の成因分類（案）」をまとめた。同案に関しては、劇症肝炎分科会の構成員以外からも意見を求めて、次年度中に完成する予定である。

## 3. WG-2研究報告（坂井田研究協力者）

前向き臨床試験である「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、後ろ向き研究である「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」を開始した。27施設が参加し、目標症例数は108例で検討を開始したが、今年度の登録数は41例で、解析対象は18例であった。症例数を更に追加し、各症例の臨床経過を詳細に解析することで、副腎皮質ステロイド投与の有用性と安全性を明確にする予定である。

## 4. WG-3研究報告（横須賀研究協力者）

On-line HDFを多数実施している3施設を対象に、血液濾過器膜面積の選択、透析液流量、濾過液流量の設定などに関する調査を行った。これら条件は施設によって大差はなく、昏睡覚醒率は83%でhigh flow dialysate CHDFに比して高率であることが明らかになった。次年度は安全性についても検討を加え、適応基準と施行条件を標準化する予定である。

## 5. 急性肝不全の診断

鈴木研究協力者は北東北の肝炎調査・治療研究会の

登録症例の検討で、急性肝不全非昏睡型における昏睡出現率はプロトロンビン時間が40%未満の症例で特に高率であることを明らかにした。急性肝不全の診断ではプロトロンビン時間50%に相当するINR 1.5を基準として採用したが、急性肝炎重症型も臨床的に意義がある病型であることが示された。

## 6. 劇症肝炎、LOHFの予後予測

坪内研究代表者は肝性脳症出現時を起点としたプロトロンビンindex slope (PIS)を劇症肝炎、LOHF症例で検討し、96ないし120時間後の数値が予後と関連することを明らかにした。PISは入院24時間後に算出のが一般的で、内科的治療による予後を予測できる指標として欧米で提唱されたが、わが国でも非昏睡例も含めて予後予測に利用できる可能性がある。

持田研究分担者はデータマイニングの手法である決定木法、RBF法、BP法を用いて4種類の予後予測モデルを作成したが、これら全てを複合して計算することで、更に高い精度で予後を予測する統合モデルも確立した。今年度はこれらモデルのCプログラムを利用して、各医療機関が患者データをE-mailで登録した場合は、埼玉医科大学のサーバーで5種類の予後死亡率を算出し、これを返却するスタンドアローン・システムを確立した。当面は研究班の構成委員に限定して活用し、有用性を評価した後に、クライアント/サーバー・システムないしブラウザ/サーバー・システムとして公開する予定である。

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経時的に算出し、内科的治療の効果との関連を検討してきた。今年度はLDH、IgGなどの臨床マーカーとの関連を評価し、劇症肝炎の臨床的背景が多様であることを示した。

## 7. 内科的治療および肝移植の実態

井上研究協力者は成因不明の劇症肝炎症例で、透析濾液と血清のサイトカイン濃度を網羅的に解析し、副腎皮質ステロイドのパルス療法に限界がある症例が存在することを示した。この検討ではTh17とTh1が病態形成に重要な役割を果たしていることが示唆され、その知見が新たな免疫抑制治療に繋がることが期待される。一方、横須賀研究協力者はウイルス性急性肝不全の病初期における副腎皮質ステロイド投与の有用性に関して検討し、高用量でのパルス療法は肝細胞障害を抑制することを報告した。ステロイド投与群ではコントロール群と比較して、生存率・肝再生率がやや高かったが、有意差は認めなかった。しかし、治療開始時に肝不全が進展している場合は効果が期待できないことも示され、その適応に関してはWG-2の検討結果も合わせて、一定の指針を提示することが、次年度の課題となる。また、鈴木研究協力者はN-アセチルシステインを投与した重症肝炎症例では、昏睡出現率が低い傾向にあることを発表した。肝庇護薬として有用である可能性があり、更なる検討が今後の課題となる。

市田研究協力者は2012年8月末までに脳死肝移植待機リストに登録されたレシipient候補患者を解析し、劇症肝炎の比率は12%で、改正法実施後はその約25%が待機10日で脳死肝移植を施行されていることを発表した。なお、ビリルビンのD/T比が低値の症例は登録後早期に死亡しており、これら症例での対応が今後の課題と考えられた。

## 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戸研究分担者、竹原研究協力者および福井研究協力者が、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Gpmnb(オステオアクチビン)との関連で検討している。本年度はその欠損マウスを用いた解析を行った。Gpmnb欠損は四塩化炭素による肝障害に影響を与えないが、TGF- $\beta$ 、MMP9、MMP13などの発現が低下し、活性化星細胞の増殖も抑制されことを証明した。急性肝不全におけるGpmnbの意義は、線維化との関連で更に追求する必要がある。

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ラット急性肝不全モデルにおける検討で、肝障害成立前の早期にUL-VWFが著増し、凝固亢進状態にあることを示した。また、肝内ではADAMTS13の発現が亢進するが、血中ではその活性が低下しており、これら現象が相まって多臓器不全の成立に関与している可能性がある。

竹原研究協力者はBakおよびBaxの両者を肝細胞特異的にノックアウトしたマウスを用いて、両因子の欠損によって死亡率は軽度改善するが、遅発性の肝細胞死が出現し、肝不全の進行は完全には抑制できないことを示した。Fas型劇症肝炎の治療にはBakとBaxのみを標的とするのでは不十分であり、遅発性肝細胞死への対応が重要と考えられた。

汐田研究協力者はヒトiPS細胞を成熟した肝細胞へ分化誘導するアプローチとして、ミトコンドリア生合成の誘導に関して検討している。ミトコンドリア生合成を促進する因子としてはPGC-1 $\alpha$ 遺伝子が注目され、これを効率よく発現するアデノウイルスベクターの作製を目指している。

坂井田研究協力者は自己骨髄細胞投与療法に際して、局所麻酔下に採取した少量の骨髄液から骨髄由来細胞を培養増殖させる技術を開発するための基礎的研究を進めている。マウスを用いた実験では、無血清培地でGMPグレードに対応できるシステムが確立されており、ヒトへの臨床応用が期待される。

# 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分科会総括研究報告書

## 肝内結石症に関する研究

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科 形態機能病理学 教授

### A. 研究目的

肝内結石症分科会は、肝内結石症の現状把握、診断・治療成績の向上と診療ガイドライン作成、発癌機序の解明と発癌予測を主要な研究課題とし、4つのワーキンググループを組織し、研究を遂行してきた。3年次計画の2年目にあたる本年度は(1)疫学・予後調査ワーキング、(2)診断・治療ワーキング、(3)発癌ワーキング、(4)発癌予知ワーキングの各ワーキンググループ、および個別研究での進捗状況、研究成果が報告された。

### B. 研究成果

#### 1. ワーキンググループ

##### (1)疫学・予後調査ワーキング

(代表：森研究協力者)

本研究班によって過去6回の全国調査が行われているが、前回調査から5年が経過していることから、本WGでは新規の多施設全国調査(横断調査)を行った。患者背景に大きな変化はなかったが、高齢化が進行し、ビリルビン結石が減少傾向にあった。治療法に関しては、手術的治療が減少し、非手術的治療が増加していたが、特に非手術的治療において経乳頭の内視鏡治療の増加が目立った。ERCPは他の治療に比べ結石遺残や再発が多く、胆道狭窄や胆道拡張に対する治療効果も高くない。乳頭切開などの乳頭機能と成績の相関は、今後検討を要する重要な課題と考えられた。

##### (2)診断・治療ワーキング

(代表：田妻研究協力者)

肝内結石症と肝内胆管病変の診療実績に基づくガイドライン改訂に関して、以下の進捗状況が報告された。

##### 1. 肝内結石の診断・治療の現状(第3次調査):

- ・症例は減少していない(内科治療の増加)
- ・胆管手術の既往例の増加
- ・新規Modality(DBによる治療など)の増加
- ・肝内胆管癌・胆道炎合併(死亡例3例)

(現在、疫学・予後調査WGによる調査中)

##### 2. 診療ガイドラインの策定・改訂の動向:

- ・診療ガイドラインへの新規Modalityの組み入れ→日本消化器病学会改定作業中(2014年完了予定)
- ・肝内胆管病変に対する診療指針→硬化性胆管炎(胆道2013, J HBPS 2012; 19: 536)

##### 3. データベース作成:

- ・日本消化器病学会実施中

##### (3)発癌ワーキング

(代表：中沼研究分担者)

肝内結石症からの発癌における前癌病変の一つとして胆管内乳頭状腫瘍(IPNB)がある。本WGでは発癌に関する病理学的アプローチとして、乳頭状病変からの発癌と進展に関する多施設研究を行った。胆管内発育型肝内胆管癌と乳頭膨張型胆道癌の外科的切除材料(計154例)の病理組織学的な観察により、以下の成績を得た。

- ・胆管内発育型肝内胆管癌、乳頭膨張型胆道癌の多くはIPNBと診断された。
- ・IPNBの多くでは先行疾患が不明であったが、4例に肝内結石症があった。
- ・IPNBは表現型(胆臍型、胃型、腸型、オンコサイト型)により病態の違いが示唆された。IPNBで粘液産生は35%の症例に認められた。
- ・IPNBは診断時、大部分は癌化しており、非浸潤癌、軽微浸潤癌が多くを占めた。

現在、これらの成績と胆道系のflat lesionに関するconsensus paperを英文論文として投稿中である。

##### (4)発癌予知ワーキング

(代表：佐田研究協力者)

実臨床に寄与する鑑別診断情報を提供すべく、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継続して遂行中である。手術症例、病理マクロ写真が画像と対比できる症例を対象とし、US, CT, MRI, ERC, PTC(S), FDG-PET, MRI(DWI), Perfusion CTなど、多くの画像診断を行った症例を検討し、多角的に病変部がみられるよう、画像中心のアトラスを作成する予定である。2001-2010年の10年間を対象としたアンケート調査では、11施設から肝内胆管癌合併症例を有するとの回答を得た。今後、PETまたはMRI(DWI)を施行している症例を有する施設に原稿依頼を行う予定としている。

#### 2. 個別研究

##### (1)疫学・予後

森研究協力者は、術前に肝内胆管癌を強く疑い手術を施行し、術後の最終病理診断で癌を認めなかった症例を「肝内胆管癌偽陽性症例」と定義し、その臨床病理像を検討する研究計画を提示した。

八坂研究協力者は、肝内胆管合併肝内結石症(16例)を検討し、(1)肝葉萎縮を伴う肝内結石症例では、肝内胆管癌併発の可能性を念頭に置き結石の存在部位診断を行い、肝切除を積極的に選択すべきであること、(2)

IE, LR あるいは L 型の症例, 截石術のみで経過観察されている症例, 胆道再建手術症例は術後の癌発生を高率であり, 嚴重なフォローアップが必要であること, (3)フォローアップ時に CA19-9の感度は80%と高かったが, 画像診断で癌の合併を早期に診断することは困難であることから, 新たな診断法を確立する必要性を強調した。

### (2)診断・治療

棚野研究協力者は, 胆石症の手術既往を有する肝内結石症(8例)を検討し, 胆嚢摘出術後には肝内結石症を発症する可能性があり, 総胆管や左右肝管に何らかの術中操作を加えた場合, 術後の長期経過を注意深く観察する必要があること, および肝内結石症と診断した場合, 結石の局在, 肝萎縮の有無, 胆管狭窄の有無に配慮した治療を施行することで, 良好な治療経過が得られることを報告した。

露口研究協力者は, 検診などで偶然に指摘された無症状肝内結石症の長期予後を解析し, 手術や内視鏡的治療などの介入が必要かどうかを検討した。無症状肝内結石症の予後は概ね良好であり, 経過観察が妥当であること, 胆道再建術後例(先天性胆道拡張症術後)は胆管炎の危険因子であり, 治療介入が必要となる可能性が高いことを示した。

内山研究協力者は, 完全腹腔鏡下肝切除術症例と従来の開腹例との比較検討を行った。腹腔鏡下肝切除は従来の開腹手術よりも安全に低侵襲で施行することが可能で, 特に結石の左葉限局型の多い肝内結石症に対しては, 完全肝左葉切除や単孔式外側区域切除の良い適応と考えられることを報告した。

### (3)病態・発癌

中沼研究分担者は, 胆管周囲付属腺にみられる嚢胞状拡張を伴う顕微鏡的な上皮の微小乳頭状の増生病変の特徴を病理組織学的に検討した。同病変は腫瘍性の性格を有し, 「分枝型」IPNB や傍肝門胆管癌の前駆病変である可能性を示した。

本多研究協力者は, 胆汁中に存在する microRNA(miRNA)に着目し, 腫瘍マーカーとしての可能性を検討した結果, 胆管癌症例の胆汁中に悪性腫瘍群と非腫瘍群を鑑別する2つの miRNA を同定した。これらは診断及び病態解析において有用と考えられた。

海野研究協力者は, 胆汁酸投与マウス肝における細胞膜トランスポーターおよび代謝酵素の蛋白発現解析を行った。胆汁酸投与後のマウス肝において血管側トランスポーターの発現低下を認めたが, 休薬期間をおくことでトランスポーターや酵素の発現量は回復し, 臨床応用への可能性が示唆された。また, コール酸投与により肝細胞内で酸化ストレスが誘因と考えられる GSH 合成酵素の発現量上昇と肝内 GSH レベルが上昇していることを示した。

田妻研究協力者は, 胆汁中 lysophosphatidylcholine(lysoPC)が胆管上皮細胞に与える細胞障害とそのメカニズムの解明を目的とした検討を行った。lysoPC

は胆管上皮細胞に対し apoptosis を主体とする細胞障害性を有すること, lysoPC は G2A の発現を誘導し, G2A のリガンドである ox-FFA は lysoPC との併用で強い細胞障害性を有することを示した。lysoPC 及び ox-FFA は PC を基質とした PLA2の加水分解産物であることから, 胆汁中 PLA2の上昇は病態形成に重要であるとした。

正田研究協力者は, 胆嚢および胆管癌細胞に対する新しいバイオ療法として, 膜融解性ハイブリッドペプチド HER2-lytic の抗腫瘍効果を *in vitro* モデルにおいて検討した。HER2-lytic は用量依存性に胆管癌細胞の増殖を抑制し, また, HER2-lytic の抗腫瘍効果は, gefitinib および GW2974の tyrosine kinase inhibitor であるとはほぼ同等であり, HER2-lytic は胆道系悪性腫瘍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。