

瘤については10-15%ほどに見られており、腹水は10%、肝性脳症は5%ほどに見られた。食道胃静脈瘤については、これを反映する血液検査所見は臨床調査個人票の中には見られなかったが、腹水、肝性脳症についてはアルブミン値が優れたマーカーとしてこれをよく反映しており、3.6 g/dlを下回る場合にそれぞれ感度77.6, 79.4%, 特異度88.2, 87.4%でこれらを発症していた(図4-7)。

つづいて、最も深刻な転帰である死亡を意味している可能性のある更新の終了について、これをイベントとした解析を行い(死亡のサロゲートとして)PBCの重症度との関連を調べた。その結果、重症PBCの定義に用いられた臨床症状を2つ以上呈する例は5年間で60%の症例が更新終了となっており、軽症PBCが20-30であるのと比べ大きな差が見られた($P<0.001$, 図8)。

さらに、重症度の上昇(軽症PBC→重症PBC, 1つの症状を伴う重症PBC→2つの重症PBC)をアウトカムとした検討を行ったところ(はじめから2つ以上の臨床症状をとっている例は除く)、初年度が軽症PBCであった場合には重症PBCとなる例はほとんどなく、追跡開始時点で重症PBCであった例が重症度を上げる例が新規例で5年間に20%、更新例で5年間に50%であった(新規・更新ともに $P<0.001$, 図9)。

申請された全症候性PBCの地理的分布と重症PBCの分布には違いがみられ(標準化有病比により比較)、北海道北部・西部(札幌圏を除く)に多いという結果が見られた(図10)。これは、難病の死亡統計データブック:地理的分布(平成19年度厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業)によるPBCによる死亡の多い地域と共通している可能性も示唆された。

D. 考 察

今回の検討により、PBCの特定疾患医療受給者の約20%の重症PBC例については進行性であり、更新終了となるリスクが高いことが明らかとなった。特に「黄疸」「食道胃静脈瘤」「腹水」「肝性脳症」のうち2つ以上の臨床症状を呈する例においては、際立って更新終了のリスクが高く、195名を数えるこれらの例は5年間で約60%、すなわち $195 \times 0.6 = 117$ 名ほどが更新終了となっているものと推定される。更新の終了をどうとらえるかについては、死亡・転居・軽症化などが上げられるが、上述の難病の死亡統計データブックによると2000-2004年には北海道において平均18人/年のPBCによる死亡が見られており、5年間では90人と推定される。これは先ほどの117人と大きな乖離の見られるものではなく、重症例における更新終了は多くが「PBCによる死亡」を意味しているとも考えられる。その根拠としては、人数が似通っていることに加え、重症PBCを経ずにPBCによる死亡を来すことは考えにくいことも挙げられる。軽症PBCについては、重症化の進展がまれであることも含めPBCによる死亡が発生するとは考えにくいいため、他疾患による死亡、あるいは軽症化(無症候化)や転居といった例

が多いと推察される。更新終了例について、今後死亡の有無を確認することは意義があると思われる。

今回の結果からは、重症例と軽症例は大きくことなつた経過をたどり、別々のサブタイプが存在するかなのような印象を受けるが、重症例が単に著しい発見の遅れであるという可能性もある。また、治療の奏功や自然経過による重症PBCから軽症PBCへの変化については今回検討していないため、今後の課題としたい。また、班会議において質問を受けたウルソ、ベザフィブラート等の薬剤と臨床経過の関連についても今後検討していく予定である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 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

図1-3 (重症PBCとなることがイベント)

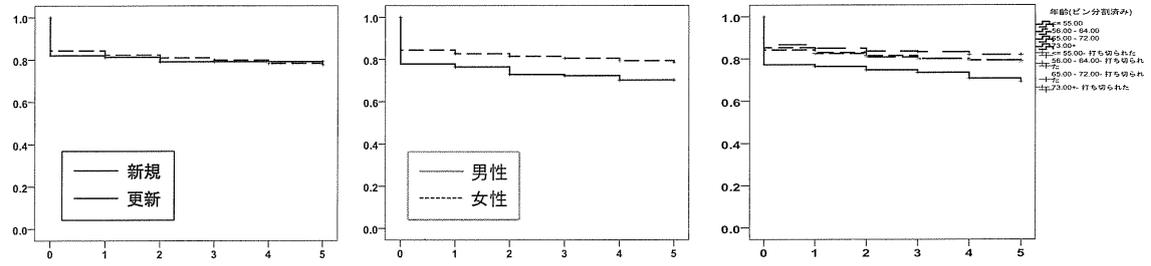


図4-7 (左上黄疸、右上静脈瘤、左下腹水、右下肝性脳症の発症がイベント)

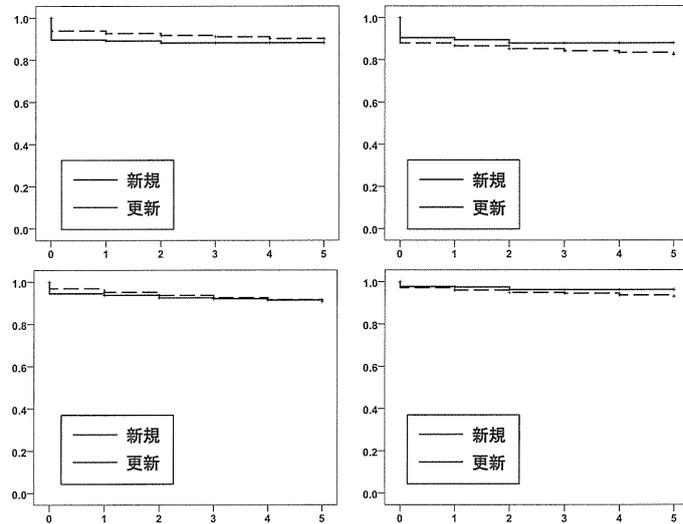


図8 (更新の終了がイベント)

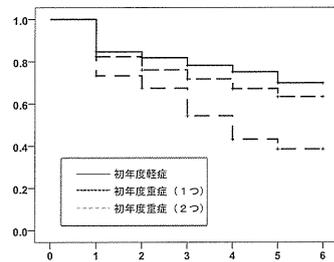


図9 (左新規・右更新, 更新の終了がイベント)

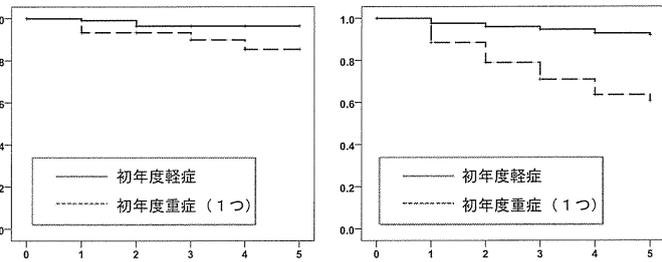
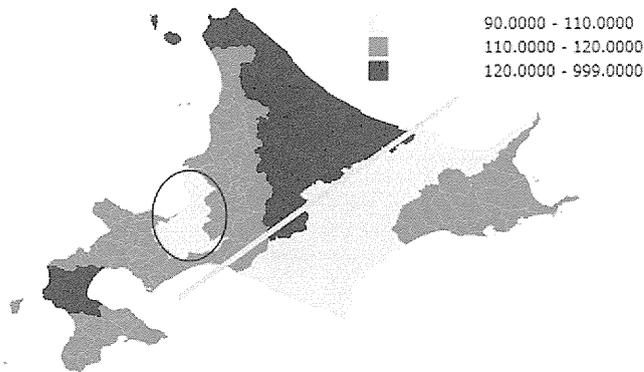


図10 重症PBCの標準化有病比



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)

分担研究報告書

原発性胆汁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

研究協力者 江川 裕人 東京女子医科大学消化器外科 教授

研究要旨：日本肝移植研究会が行った2010年末の時点の集計によると535名が初回生体肝移植をうけている。成績は欧米の脳死肝移植症例に比較し、長期予後が劣っている点が特徴である。これまで我々は、本研究班として、生体肝移植では血縁からの臓器提供により再発が予後に寄与するという仮説をたて、肝移植後再移植に至った症例の摘出肝を詳細に検討したところ、術後10年までの再移植では再発が原因ではないことを明らかにし、報告した (Hepatology Research 2012)。そこで、日本移植学会・日本肝移植研究会に登録されたPBC肝移植症例において長期予後に影響する因子を検討し、予後改善に寄与することを目的として調査研究を行う。

共同研究者

向坂彰太郎 福岡大学消化器内科 教授
竹山 康章 福岡大学消化器内科 講師
江川 裕人 東京女子医科大学消化器外科 教授

A. 研究目的

PBC肝移植症例において長期予後に影響する因子を検討し、予後改善に寄与すること。

B. 研究方法

1) 研究の種類・デザイン

後ろ向き観察研究
アンケート

2) 研究・調査項目

対象患者について、以下の項目の調査をおこなう。

- ①患者：年齢、性別、PBC診断時期と診断時検査結果、術前検査結果、血液型、身長、体重、術前PBC治療、HLA
- ②臓器提供者：年齢、性別、術前検査結果、血液型、身長、体重、HLA
- ③グラフト種類、手術時間、出血量、術式、摘出肝病理所見
- ④免疫抑制療法、術後PBC治療
- ⑤術後拒絶反応有無・程度・種類、合併症有無・程度・種類
- ⑥グラフト生存、患者生存
- ⑦肝生検の有無、所見

C. 研究結果

現在データ収集中

D. 考察

未

E. 結論

未

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Disease recurrence plays a minor role as a cause for retransplantation after living-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis: A multicenter study in Japan. Egawa H, et al. Hepatology Research doi: 10. 1111/j. 1872-034X. 2012. 01108

2. 学会発表

日本肝移植研究会 2012年6月 福岡

H. 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 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

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

研究分担者 石橋 大海 国際医療福祉大学 教授 / NHO 長崎医療センター 客員研究員

研究要旨: 国立病院機構肝疾患共同研究グループ (NHOSLJ) による多施設共同研究から、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の予後予測や病型分類に、自己抗体 (抗 gp210抗体, 抗セントロメア抗体), 免疫関連分子 (HLA-DRB1, CTLA4 etc) や胆汁酸代謝・肝線維化関連分子 (MDR3, integrin $\alpha V \beta 6$ etc) 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。今年度は、日本人 PBC-GWAS 多施設共同研究を実施し、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。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 (CYP7A1, 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。

共同研究者

中村 稔 長崎大学大学院肝臓病学講座
小森 敦正 長崎医療センター臨床研究センター
相葉 佳洋 長崎医療センター臨床研究センター

A. 研究目的

我々は、国立病院機構肝疾患共同研究グループ (NHOSLJ) による多施設共同研究から、自己抗体 (抗 gp210抗体, 抗セントロメア抗体) の測定や HLA-DRB1, multidrug resistance protein 3 (MDR3) などの遺伝子多型の解析が、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の予後予測や病型分類に有用であることを報告してきた。今年度は、“NHOSLJ (31施設)” と“難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班・PBC 分科会・抗 gp210抗体の有用性の検証ワーキング (27施設)” と共同で、多施設共同研究“日本人原発性胆汁性肝硬変の発症・進展に関わる遺伝子の網羅的遺伝子解析 (GWAS)” を実施した。また、コリン代謝や胆汁酸代謝関連分子の遺伝子多型と PBC の進展との関連についても検討した。

B. 研究方法

初回 GWAS は、NHOSLJ に登録された PBC 512 症例 (臨床病期 I : 343, II : 114, III : 55, AMA 陽性 88.6%, gp210抗体陽性 34.5%, centromere 抗体陽性 26.7%, AIH 合併 5.1%, 他の自己免疫性疾患合併 24.2%) と健常人コントロール 500 例を用いて、Affymetrix Axiom Genome-wide ASI 1 Array により実施した。replication study は、gp210ワーキングに登録された PBC 815 症例, 健常人コントロール 620 例を加えて、総計 PBC 1327 症例と健常人 1120 例を用いて、DigTag2法で行った。

候補遺伝子法による一塩基多型 (SNPs) の解析は、NHOSLJ に登録された PBC 症例の中で、1982 年から 2008 年 9 月までに遺伝子解析の同意の得られた 315 症例 (男 45, 女 270, 年齢 64.1+11.5 歳, early stage (clinical stage 1) 228 例, late stage (clinical stage 2+3) 87 例) を対象として行った。胆汁酸代謝関連分子 (胆汁酸合成酵素: CYP7A1, 胆汁酸合成 activator:

HNF4a, PGC1a, 胆汁酸合成の repressor: FXR, SHP, GPS2, PXR, FGF19, FGFR4, KLB, FOXO1) の SNPs は、GenBank の遺伝子多型情報を HapMap Website より入手し、Haploview 4.1 を用いて Tag SNPs を各 1-11 ヶ所, 計 52 ヶ所を選択した後、genotype を PCR-RFLP 法, PCR-HRM 法, PCR-sequencing 法で決定した。

C. 研究結果

- 1) 日本人の 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 つの新規疾患感受性遺伝子 (*TNFSF15*, *POU2AF1*) は、欧米人で報告された疾患感受性遺伝子 (*IL12A/IL12RB2*, *SPIB*) とは異なるが、同一の疾患発症経路 (disease-pathway) に位置すること、即ち、T リンパ球の Th1 への分化 (*TNFSF15*, *IL12A/IL12RB2*, *STAT4*) や B リンパ球の形質細胞への分化 (*POU2AF1*, *IKZF3*, *SPIB*) に関与していることが示された。
- 2) 欧米で同定された 25 個の疾患感受性遺伝子の内 10 遺伝子 (CD80, *IKZF3*, *IL7R*, *NFKB1*, *STAT4*, *TNFAIP2*, *CXCR5*, *MAP3K7IP1*, *rs6974491*, *DENND1B*) が日本人でも PBC の疾患感受性遺伝子であることが確認された。
- 3) 今回日本人で同定された PBC 疾患感受性遺伝子の多くが炎症性腸疾患の疾患感受性遺伝子と重複しており、PBC と炎症性腸疾患の間には共通の disease-pathway の存在が疑われた。
- 3) コリンの取り込みや胆汁酸代謝に関連した OCT1, CYP7A1, HNF4A, PPARGC1A の遺伝子多型が PBC の進行と関連することも明らかとなった。

D. 考察

今後は、さらに解析対象を増やして、PBC の発症や進行に関連した遺伝子多型やバイオマーカーの同定を、世界規模の共同研究として実施する必要がある。

E. 結論

PBC の長期予後予測のためのバイオマーカーの同

定を、多数の症例を用いて血清、局所、遺伝子レベルで行うことにより、より詳細なPBCの病型分類と予後予測が可能となり、さらには病因解明へとつながることが期待される。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura M, Nishida N, Kawashima M, Aiba Y, Tanaka A, Yasunami M, Nakamura H, Komori A, Nakamuta M, Zeniya M, Hashimoto E, Ohira H, Yamamoto K, Onji M, Kaneko S, Honda M, Yamagiwa S, Nakao K, Ichida T, Takikawa H, Seike M, Umemura T, Ueno Y, Sakisaka S, Kikuchi K, Ebinuma H, Yamashiki N, Tamura S, Sugawara Y, Mori A, Yagi S, Shirabe K, Taketomi A, Arai K, Monoe K, Ichikawa T, Taniai M, Miyake Y, Kumagi T, Abe M, Yoshizawa K, Joshita S, Shimoda S, Honda K, Takahashi H, Hirano K, Takeyama Y, Harada K, Migita K, Ito M, Yatsushashi H, Fukushima N, Ota H, Komatsu T, Saoshiro T, Ishida J, Kouno H, Kouno H, Yagura M, Kobayashi M, Muro T, Masaki N, Hirata K, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Hirashima N, Komeda T, Sugi K, Koga M, Ario K, Takesaki E, Maehara Y, Uemoto S, Kokudo N, Tsubouchi H, Mizokami M, Nakanuma Y, Tokunaga K, Ishibashi H. Genome-wide association study identifies TNFSF15 and POU2AF1 as susceptibility loci for primary biliary cirrhosis in the Japanese population. *Am J Hum Genet* 2012 Oct 5; 91(4): 721-8.
2. Shimoda S, Tsuneyama K, Kikuchi K, Harada K, Nakanuma Y, Nakamura M, Ishibashi H, Hisamoto S, Niuro H, Leung PS, Ansari AA, Gershwin ME, Akashi K. The role of natural killer (NK) and NK T cells in the loss of tolerance in murine primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 2012 Jun; 168(3): 279-84.
3. Haruta I, Kikuchi K, Nakamura M, Hirota K, Kato H, Miyakawa H, Shibata N, Miyake Y, Hashimoto E, Shiratori K, Yagi J. Involvement of commensal bacteria may lead to dysregulated inflammatory and autoimmune responses in a mouse model for chronic nonsuppurative destructive cholangitis. *J Clin Immunol* 2012 Oct; 32(5): 1026-37.
4. Inamine T, Higa S, Noguchi F, Kondo S, Omagari K, Yatsushashi Y, Tsukamoto K, Nakamura M. Association of genes involved in bile acid synthesis with the progression of primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol* 2013

Jan11 (Epub ahead of print).

5. Ohishi H, Nakamuta M, Ishikawa N, Saitoh O, Nakamura H, Aiba Y, Komori K, Migita K, Yatsushashi H, Fukushima N, Kohjima M, Yoshimoto T, Fukuizumi K, Ishibashi M, Nishino T, Shirabe K, Taketomi A, Maehara Y, Ishibashi H, PBC Study Group of NHOSLJ, Nakamura M. Genetic polymorphisms of *OCT-1* confer susceptibility to severe progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* 2013 in press
 6. 中村 稔. PBCの疾患感受性遺伝子による病態の解明. *Jpn. J. Clin. Immunol* (日本臨床免疫学会会誌) 35(6): 503-510, 2012.
 7. 中村 稔. PBCの疾患感受性遺伝子による病態の解明. 特集:ゲノムワイド関連解析からみえてきた消化器疾患. *G. I. Research* 20(3):27-32, 2012.
 8. 大平弘正, 原田憲一, 下田慎治, 中村 稔. PBCの最近の話題(座談会). *日本消化器病学会誌* 第110巻, 第1号 p29-43
- ### 2. 学会発表
1. Kohjima M, Ohishi Y, Fukushima N, Nakamura T, Kurokawa M, Iwata M, Yoshimoto T, Fukuizumi K, Nakamura M, Ishibashi H, Honda A, Matsuzaki Y, Nozaki Y, Nakajima A, Enjoji M, Nakamuta M. Roles of a choline uptake transporter, the organic cation transporter 1 (OCT1), in pathogenesis of primary biliary cirrhosis: OCT1 expression and its single-nucleotide polymorphism. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, USA, 2012.11.13. *Hepatology* 56 (Suppl. 4), 1128A, 2012.
 2. Joshita S, Umemura T, Nakamura M, Katsuyama Y, Yoshizawa K, Tanaka E, Ota M. Signal transducer and activator of transcription 4 gene polymorphisms are associated with production of antinuclear antibody in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, USA, 2012.11.13. *Hepatology* 56 (Suppl.4), 1134A, 2012.
 3. 城下 智, 梅村 武司, 中村 稔. Signal Transducer and Activator of Transcription 4 遺伝子多型と日本人の原発性胆汁性肝硬変発症に関する検討. 第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. *肝臓* 53 (suppl. 1): A290, 2012. 4.
 4. 下田慎治, 隅田幸佑, 中村 稔, 原田憲一, 中沼安二, 石橋大海. 原発性胆汁性肝硬変における胆管上皮の疾患特異的自己抗原発現条件の探索. 第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. *肝臓* 53 (suppl. 1): A291, 2012. 4.
 5. 原田憲一, 角田優子, 中村 稔, 下田慎治, 中

- 沼安二. 原発性胆汁性肝硬変の患者血清中 Fractalkine 値と臨床病理学的因子との関連性. 第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. 肝臓 53 (suppl. 1): A290, 2012. 4.
6. 小森敦正, 中村 稔, 伊東正博, 釘山有希, 戸次鎮宗, 福島真典, 橋元 悟, 大谷正史, 斐 成寛, 佐伯 哲, 長岡進矢, 阿比留正剛, 八橋 弘, 石橋大海. 原発性胆汁性肝硬変の治療におけるフィブレート製剤の効果と限界. 「我が国における自己免疫性肝疾患の現状と展開」第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. 肝臓 53 (suppl. 1): A125, 2012. 4.
7. 中牟田 誠, 国府島庸之, 大石裕樹, 中村 稔, 吉本剛志, 山崎晃裕, 中村 吏, 福嶋伸良, 福泉公仁隆, 石橋大海, 本多 彰, 野崎雄一, 松崎靖司, 中島 淳, 遠城寺宗近. 原発性胆汁性肝硬変症の病態形成における organic cation transporter 1 の重要性. 「我が国における自己免疫性肝疾患の現状と展開」第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. 肝臓 53 (suppl. 1): A123, 2012. 4.
8. 中村 稔, 西田奈央, 川嶋実苗, 田中 篤, 中牟田 誠, 太田 肇, 竿代丈夫, 高野弘嗣, 吉澤要, 小森敦正, 梅村武司, 銭谷幹男, 恩地森一, 橋本悦子, 大平弘正, 山本和秀, 金子周一, 山際訓, 中尾一彦, 市田隆文, 滝川 一, 前原喜彦, 上本伸一, 國土典宏, 坪内博仁, 溝上雅史, 徳永勝士, 中沼安二, 石橋大海. 日本人原発性胆汁性肝硬変のゲノムワイド関連解析. 「我が国における自己免疫性肝疾患の現状と展開」第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. 肝臓 53 (suppl. 1): A123, 2012. 4.
9. 相葉佳洋, 安波道郎, 小森敦正, 右田清志, 八橋 弘, 中牟田誠, 福嶋伸良, 太田 肇, 石田仁也, 平田啓一, 渡部幸夫, 小松達司, 矢倉道泰, 高野弘嗣, 室 豊吉, 島田昌明, 米田俊貴, 山下晴弘, 竹崎英一, 古賀満明, 小林正和, 杉 和洋, 正木尚彦, 古澤 要, 蒔田富士雄, 高木 均, 西村英夫, 石橋大海, 中村 稔. 日本人原発性胆汁性肝硬変の病態形成に関与する HLA-A, -B, -DP, -DR 遺伝子多型と CTLA-4, SLC4A2, IL12A, IRF5 遺伝子多型の検討. 「PBC1」第48回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07. 肝臓 53 (suppl. 1): A289, 2012. 4.
10. 原田憲一, 中村 稔, 下田慎治, 中沼安二. 原発性胆汁性肝硬変における血清中 Fractalkine の意義. 「自己免疫性肝胆膵疾患の病態解明の進歩」第49回日本消化器免疫学会総会. 鹿児島, 2012. 07. 05.
11. 相葉佳洋, 小森敦正, 長岡進矢, 阿比留正剛, 右田清志, 伊東正博, 石橋大海, 八橋 弘, 中村稔. 原発性胆汁性肝硬変における TL1A と DcR3 の臨床学的意義. 「自己免疫性肝胆膵疾患の病態解明の進歩」第49回日本消化器免疫学会総会. 鹿児島, 2012. 07. 05.
12. 中村 稔, 西田奈央, 川嶋実苗, 相葉佳洋, 小森敦正, 八橋 弘, 徳永勝士, 国立病院機構肝ネットワーク PBC 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. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の疾患感受性遺伝子による病態の解明. 「ゲノム情報の臨床応用」第20回浜名湖シンポジウム. 浜松, 2012. 12. 22.
- H. 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
- I. 国立病院機構肝疾患共同研究班 (NHOSLJ) PBC 共同研究参加施設 (31施設)
- 旭川医療センター, 北海道医療センター, 仙台療センター, 東京病院, 東京医療センター, 災害医療センター, 西埼玉中央病院, 横浜医療センター, 相模原病院, まつもと医療センター松本病院, 信州上田医療センター, 高崎総合医療センター, 西群馬病院, 金沢医療センター, 名古屋医療センター, 東名古屋病院, 京都医療センター, 大阪医療センター, 南和歌山医療センター, 岡山医療センター, 米子医療センター, 呉医療センター, 東広島医療センター, 小倉医療センター, 九州医療センター, 大分医療センター, 別府医療センター, 嬉野医療センター, 熊本医療センター, 国立国際医療研究センター戸山病院, 長崎医療センター

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)

分担研究報告書

硬化性胆管炎の全国調査結果

研究分担者 滝川 一 帝京大学医学部内科 主任教授

研究要旨: 今回われわれは、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。PSC 197例, IgG4-SC 43例が集計された。PSC と比較して IgG4-SC は有意に男性, 高齢者に多かった。PSC の年齢分布は前回全国調査同様若年者・高齢者に2つのピークがあった。IgG4-SC の診断に対する血清 IgG4値の感度・特異度は89.5%・87.6%であった。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%にとどまっており, 前回全国調査同様比較的低率であった。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った。

共同研究者

田中 篤 帝京大学医学部内科 教授

A. 研究目的

原発性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis; PSC) は肝内外の胆管に多発性・びまん性の狭窄が生じ, 胆汁うっ滞を来す慢性肝疾患であり, 病理学的には胆管壁の線維性肥厚を特徴とする。われわれは, 過去1997年・2003年の2回にわたって原発性硬化性胆管炎についての全国調査を行い, 本邦のPSC症例の年齢分布は欧米とは異なり二峰性であり, 高齢者において欧米にはみられないピークが存在すること, および炎症性腸疾患の合併が少なく, その反面高齢者に自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis; AIP) の合併がみられることを報告した。しかしその後, 主として本邦の研究者によって, IgG4関連硬化性胆管炎 (IgG4-related sclerosing cholangitis; IgG4-SC) の疾患概念が報告・確立されるに伴い, 過去2回の全国調査においてPSCとして報告された症例の中にIgG4-SCが混入しており, ことにAIPを合併した症例は実際にはIgG4-SCである可能性が指摘された。この両疾患は治療が大きく異なることから, PSCとIgG4-SCとの臨床像の類似点・相違点を把握し, 治療開始前に両疾患を適切に鑑別することは極めて重要である。しかし2003年当時には未だIgG4-SCという疾患概念が広く知られておらず, 診断基準も存在しなかったことから, 前回の全国調査時にはPSCとIgG4-SCとを鑑別することは困難であった。

しかし, その後IgG4-SCについての報告が相次ぎ, PSCとの画像診断および病理学的な差異についての知見も集積された。2012年には「IgG4関連硬化性胆管炎臨床診断基準2012」が公表され, 統一した基準によってPSCとIgG4-SCとの鑑別診断が可能となった。これに伴い, われわれは本邦におけるPSC, およびPSCとの鑑別が困難であるAIPを合併していないIgG4-SCの実態, および両者の臨床像の相違を把握するため, 改めて全国調査を行った。

B. 研究方法

本調査は前々回・前回の全国調査と同様, 日本全国の各施設にPSCおよびIgG4-SCについてのアンケートを送付し, 調査対象に該当する症例が存在する場合にはその臨床情報を記入・送付いただく方式をとった。アンケートの送付先は, 日本胆道学会評議員, 厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班班員, および「IgG4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」班班員の所属する施設とし, 全国で計144施設であった。

調査対象は, 本邦においてIgG4-SCの疾患概念がおおむね広く認識されたと推定される2005年1月以降に各施設で診断されたPSC, およびAIPを合併していないIgG4-SC症例とした。AIPを合併したIgG4-SCについては, 臨床的にPSCとの鑑別はさほど困難ではないと考えられるため, 調査対象から外した。PSCの診断にはMayo Clinicによる診断基準を本邦の実情にあわせて改訂した基準, IgG4-SCの診断には2012年に公表された診断基準を用いた。AIPの合併・非合併の診断は各施設における画像診断によって行った。

統計解析にはIBM® SPSS® Statistics, version 19を用いた。PSCとIgG4-SCの間の比較では, 連続量ではMann-Whitney's U test, 非連続量ではカイ二乗検定を用い, 多重比較を考慮して $P < 0.01$ を有意とした。生存曲線の作成にはKaplan-Meier法を用いた。本調査は帝京大学医学部倫理委員会の審査・承認を得た上で実施された。

C. 研究結果・考察・結論

全国144施設のうち, 46施設からアンケートが返送された。その結果, PSC 197例, IgG4-SC 43例が集計された。

診断時情報: PSCおよびIgG4-SCの診断時所見では, 男女比は, PSCでは男性106例・女性91例とやや男性が多かったのに対し, IgG4-SCは男性33例に対して女性10例であり, PSCと比較してIgG4-SCは有意に男性に多かった ($p=0.006$)。診断時年齢の中央値はPSC 48.1歳, IgG4-SC 69.3歳で, IgG4-SC症例は有意に高

齢であった ($p < 0.001$)。診断時年齢の分布を図1に示す。PSCでは20歳から40歳にかけてなだらかなピークがあり、40歳から60歳にかけて症例数が減少した後、高齢層で再び増加して65歳から70歳にかけて症例数が最高となるという、二峰性の年齢分布をとった。一方、IgG4-SCでは45歳以下での発症例はなく、発症のピークは65歳から75歳であり年齢分布は一峰性となった。診断時症状では両者の間に有意な差異はみられず、症状がなかった症例がPSC 55%、IgG4-SC 54%と最も高頻度であった。

診断時の血液所見では、PSCで有意に高値だったのがアルブミンとIgM、IgG4-SCで有意に高値だったのがIgGとIgG4であった。アルブミンはPSCでは中央値が3.9 g/dlであり、3.5 g/dlを下回っている症例が193例中62例(32%)であったのに対し、IgG4-SCでは中央値3.5 g/dlで、3.5 g/dlを下回っている症例が38例中16例(42%)であった。IgMはPSCで有意に高値であり、基準値範囲内 (≤ 200 mg/dl) の症例は、PSCではIgMが測定されていた169例中129例(76%)であったのに対し、IgG4-SCでは36例中35例(97%)であり、IgG4-SCでIgMが基準値を超えていたのは1例のみであった。IgG4はIgG4-SCで有意に高値であったが、135 mg/dlをカットオフとした場合、PSCで135 mg/dlを超えていた症例が15例(12%)存在した一方、IgG4-SCで135 mg/dl以下だった症例は4例(11%)であった(表1)。このことから、カットオフ135 mg/dlとした場合の血清IgG4値のIgG4-SC診断に対する感度・特異度は、それぞれ89.5%、87.6%となった。IgEについては、平均値はPSCで177mg/dl、IgG4-SCで703mg/dlであり、IgG4-SCで高値ではあったものの、測定されていた症例がPSCでは73例、IgG4-SCでは19例と少なかったこともあり、 $P=0.056$ となり有意水準には達しなかった。ALP値の分布は両者ともほぼ同等であり、基準値上限の2倍以内であった症例がPSC 86例(全体の44%)・IgG4-SC 20例(47%)、基準値範囲内であった症例もPSCで27例(14%)・IgG4-SCで9例(21%)存在した。

画像・病理所見：病変部位については、簡略化して「肝内のみ」「肝内外」「肝外のみ」の3つの選択肢から回答するという形式とした。その結果、PSCでは「肝内外」との回答が52%と最も多かったのに対し、IgG4-SCでは「肝内のみ」との回答が58%を占め、最も多かった。生検による病理組織診断は、PSC 197例中125例(64%)、IgG4-SC 43例中31例(72%)で施行されており、肝生検はPSC 97例(49%)・IgG4-SC 16例(37%)、胆道生検はPSC 44例(22%)、IgG4-SC 23例(53%)で行われていた。PSCのLudwig分類では、I期・II期・III期・IV期それぞれ、24例・23例・18例・5例であった。IgG4-SCの胆管像分類では、今回AIPを合併していない症例を対象としたこともあり、Type I～Type IIIは比較的少数であり、Type IVがもっとも高頻度であった(43例中22例、51%)。PSCの合併症：PSCにおける炎症性腸疾患(inflammatory bowel diseases; IBD)の有無について

は、IBDの合併ありとの回答は68例で、PSC全体の34%にとどまっていた(図2)。大腸内視鏡検査(colonoscopy; CF)を施行した上でIBDが確認されなかった症例は46例(23%)、CFを行わずIBDなしとした症例が41例(21%)であった。IBDの具体的な診断名は、潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis; UC)が55例、非特異性腸炎が10例、記載のなかったものが3例であった。その他PSCの合併症として肝胆道系疾患および結腸癌について回答を求めたところ、胆管細胞癌が14例(7.3%)、胆嚢・胆管結石36例(19%)、胆嚢ポリープ3例(2%)、結腸癌4例(2%)であった。胆嚢癌の合併例はなかった。胆管癌発症時期の記載のあった13例のうち、11例ではPSCとの診断後1年以内に胆管細胞癌の診断がなされていた。結腸癌4例のうち、2例はUCを合併していたが、1例はCFを施行した上でIBD合併なし、1例はCF施行なしでIBD合併なしとの症例であった。

IgG4-SCの合併症：IgG4-SCの合併症としては、IgG4関連疾患である涙腺・唾液腺炎、および後腹膜線維症がそれぞれ6例(14%)、4例(9%)に合併していた。胆嚢・胆管結石と胆嚢ポリープはそれぞれ1例のみ、胆道系悪性腫瘍の合併はなかった。

薬物治療：PSCでは、197例のうち159例(81%)で何らかの薬物治療がなされているという記載があった。もっとも高頻度だったのはウルソデオキシコール酸(ursodeoxycholic acid; UDCA)単独投与であり、次いでUDCA+ベザフィブラート併用であったが、UDCA+ステロイドがその次に多かった。UDCAはPSC全体のうち150例(76%)で使用されており、ステロイドは40例(20%)、ベザフィブラートは39例(20%)であった。ただし、ステロイド投与40例のうち18例はUCを合併していた。

IgG4-SCについては、薬物治療についての回答のあった36例中27例(75%)でステロイドが投与されていた。初期投与量は30 mgが最も多く20例、40 mgが5例、15 mgとミニパルスとの回答が各1例であった。治療効果は、記載のあった23例全例で「あり」という回答であった。

内視鏡的治療：PSCでは24例で内視鏡的胆管拡張術、46例でステント挿入が行われ、内視鏡的治療効果について記載された52例中39例で良好な結果であった。一方IgG4-SCでも4例で胆管拡張術、15例でステント挿入がなされ、14例中12例で結果は良好と記載されていた。

予後：2005年以降の診断例に限定したこともあり、今回集積された症例の平均観察期間は比較的短く、PSCでは 2.74 ± 2.00 年、IgG4-SCでは 2.29 ± 1.80 年であった。PSCの累積生存曲線を図3Aに示す。3年生存率は85.0%、5年生存率は71.5%であった。肝移植はPSC 197例中20例で施行されており、エンドポイントを死亡+肝移植とした場合、3年生存率は77.3%、5年生存率は66.0%となった。一方IgG4-SCではもともと症例数が少ないため5年生存率の計算はできないが、3年生存率は90.0%となった(図3B)。最終転帰確認

時に死亡と報告された症例は3例であり、診断時からの経過年数および死因は、それぞれ0.7年（乳房外Paget病）、1.4年（膵癌）、1.7年（感染症）であった。

D. 健康危険情報
なし

E. 研究発表

1. 論文発表

田中 篤, 田妻 進, 岡崎和一, 坪内博仁, 乾 和郎, 滝川 一. 硬化性胆管炎の全国調査. 胆道, 印刷中.

2. 学会発表

田中 篤, 滝川 一. 硬化性胆管炎の全国調査. 第48回日本胆道学会 シンポジウム1, 硬化性胆管炎をめぐる諸問題. 東京, 2012. 9. 21.

田中 篤, 滝川 一. 本邦における硬化性胆管炎の現状～全国調査の結果から～. 第99回日本消化器病学会総会 ワークショップ11, 硬化性胆管炎の現状と問題点. 鹿児島, 2013. 3. 22

H. 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

図1 PSC・IgG4-SC 症例の年齢分布

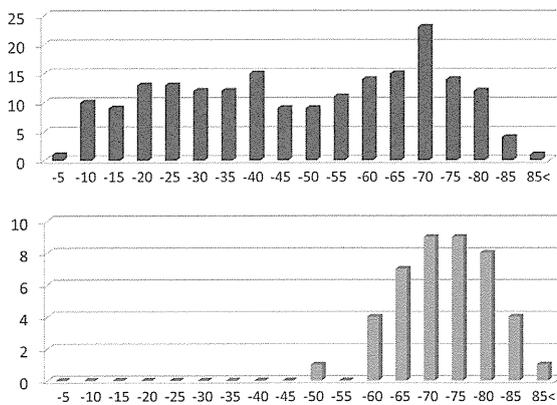


表1 PSC と IgG4-SC における血清 IgG4値の比較

	PSC	IgG4-SC
≤135 mg/dl	105	4
>135 mg/dl	15	34

図2 PSC における IBD の有無

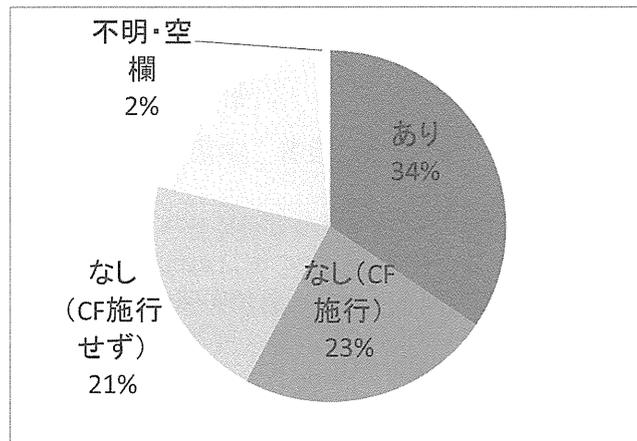
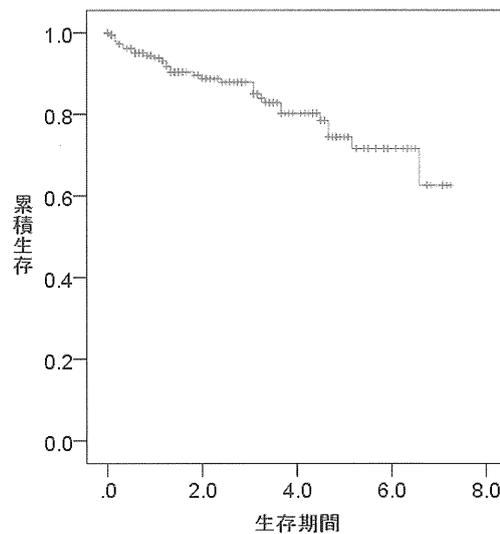
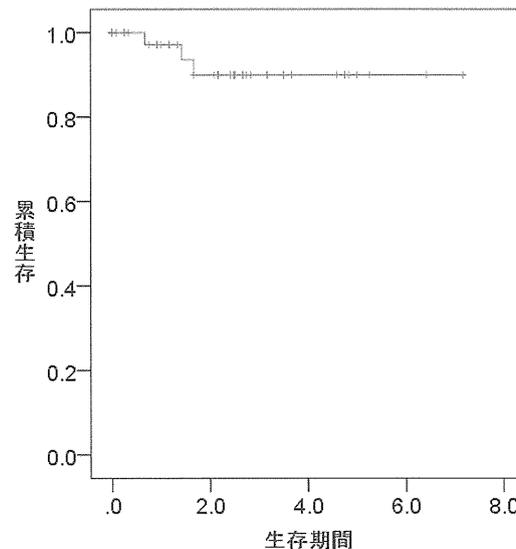


図3 累積生存期間

A. PSC における生存期間



B. IgG4-SC における生存期間



肝炎性変化の目立つ PBC と AIH の比較

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

研究要旨: 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た。AIH と比較して PBC では組織学的に実質炎, 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った。門脈域周囲における形質細胞について, AIH では IgG 優位であるのに対し, PBC では IgM 優位の症例が見られ, 両疾患の形質細胞サブクラスの相違がうかがわれた。また PBC において CD38+ 細胞の浸潤程度と AST に相関が見られたが, 両疾患において自己抗体と浸潤細胞に相関は見られなかった。

共同研究者

小林 水緒 金沢大学形態機能病理

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) は慢性非化膿性破壊性胆管炎と抗ミトコンドリア抗体 (AMA) 陽性が特徴的であるが, 自己免疫性肝炎 (AIH) でみられる抗核抗体 (ANA) 陽性およびリンパ球・形質細胞主体のインターフェイス肝炎を伴う症例が度々経験される。

今回我々は PBC と AIH における肝炎の相違について病理組織学的, 免疫組織学的に検討した。また PBC および AIH の肝炎における炎症細胞の浸潤程度と生化学検査値との関連を検討した。

B. 研究方法

症例は1998~2012年に当施設及び関連医療施設において経験した未治療 PBC, AIH 症例肝針生検。病理組織学的にインターフェイス肝炎の程度をスコア化し, スコア 0 (インターフェイス肝炎なし), 1 (門脈域に局限した炎症細胞浸潤) を除くスコア 2 (軽度), 3 (中等度), 4 (高度のインターフェイス肝炎) の症例のみ (PBC41例 (女性35例, 年齢 59.21 ± 13.29), AIH43例 (女性39例, 年齢 61.74 ± 10.75)) を対象とした。また実質炎 (スコア 0-4), 肝細胞ロゼット (スコア 0-3), エンペリポレーシス (スコア 0-3) の程度をそれぞれ評価した。

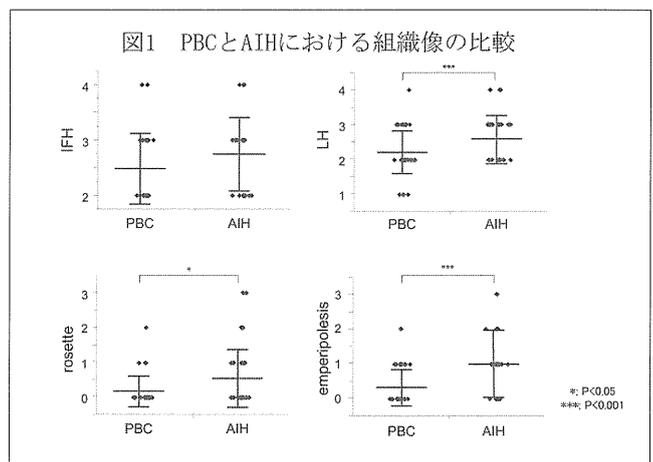
免疫組織学的検討として, CD3, CD4, CD8, CD20, CD38, CD68, IgG, IgM, IgA の免疫染色を行い, 門脈域周囲および肝実質における陽性細胞の浸潤程度を半定量的 (スコア 0-6) に評価した。

また生化学検査値との比較として血清 AST, ALT, ALP, IgG, IgM, IgA, AMA, M2, ANA 値と炎症細胞浸潤の程度を比較した。

C. 研究結果

今回の検討ではインターフェイス肝炎を伴う症例のみを対象としており, インターフェイス肝炎の程度は両疾患で有意差は見られなかった。しかし実質炎, 肝細胞ロゼット形成は AIH で有意に高度であり, エン

ペリポレーシスも AIH で有意に高度であった (図 1)。



免疫染色では, 門脈域周囲における CD3, CD38, CD4, CD8陽性細胞の浸潤程度はいずれも PBC と比較して AIH で有意に高度であった (図 2 A)。また PBC, AIH 両疾患において, インターフェイス肝炎の程度と CD3, CD38陽性細胞の浸潤程度にいずれも正の相関が見られた (図 2 B)。門脈域周囲における浸潤形質細胞のサブクラスの検討では, IgG+ cell の浸潤程度は AIH で有意に高度であり, IgM+ cell の浸潤程度は PBC で有意に高度であった (図 3 A)。IgG+cell と IgM+cell の浸潤程度を症例ごとに比較すると, AIH では IgG 優位の症例が18/43例で42%であり, IgM 優位の症例は見られなかったのに対し, PBC では IgM 優位の症例が5/40例で13%, IgG 優位の症例が12/40例で30%, IgM, IgG 陽性細胞の浸潤が同程度の症例が23/40例で58%であり, IgM 優位の症例の他, IgG 優位の症例も多くみられた (図 3 B)。

次に血清肝酵素値と浸潤細胞の関連について検討した。PBC では AST と CD38陽性細胞, IgM 陽性細胞の門脈域周囲での浸潤程度に正の相関が見られた。AIH では CD38陽性細胞, IgG 陽性細胞の浸潤程度と肝酵素に相関は見られなかった。また血清自己抗体値と炎症細胞浸潤の程度には両疾患でいずれも相関が見られなかった (図 4)。

図2 インターフェイス肝炎における浸潤細胞の免疫組織学的検討

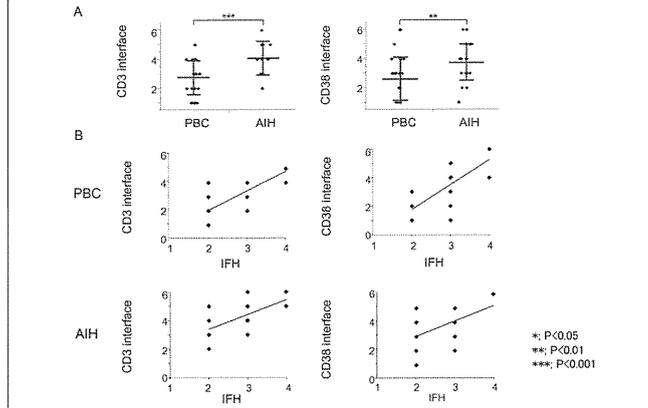


図3 インターフェイス肝炎における形質細胞サブクラスの検討

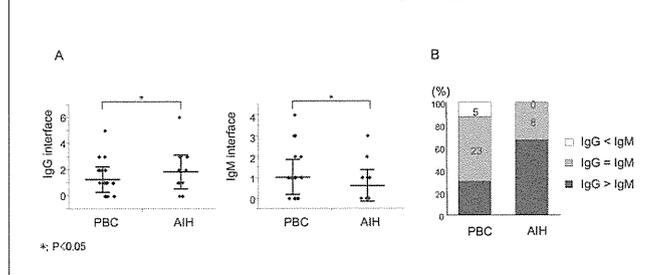
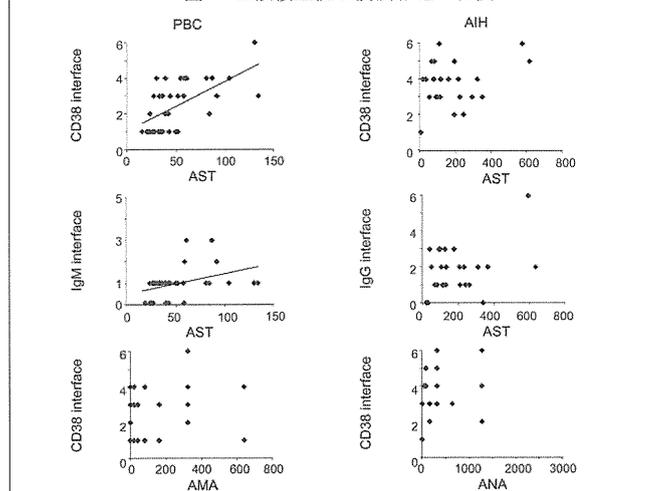


図4 血液検査値と浸潤細胞の相関



D. 考 察

PBCではAIHに類似したリンパ球・形質細胞主体のインターフェイス肝炎を伴う症例が度々経験されるが、各々の炎症細胞浸潤の程度およびエンペリポレーシスの程度はAIHと比較して軽度であり、インターフェイス肝炎の活動度はAIHより軽度と考えられた。また実質炎およびロゼット形成の程度はAIHより軽度と考えられた。

PBCとAIHでみられるインターフェイス肝炎では免疫組織学的にはいずれもCD3+細胞およびCD38+細胞が主体と考えられ、PBCとAIHでこれらの細胞の分布に大きな相違は見られなかった。しかしAIHではIgG+細胞が優位であるのに対し、PBCでは

IgM+細胞の浸潤程度が高い症例が見られた。血液検査値においてPBCではIgM上昇、AIHではIgG上昇が特徴的であり、免疫組織化学的にもこれを反映する両疾患の形質細胞のサブクラスの相違がうかがわれた。

PBCで血清肝酵素値とCD38+、IgM+細胞の浸潤程度に正の相関が見られ、肝細胞傷害の程度と門脈域周囲におけるIgM産生細胞の浸潤程度に関連があると考えられた。PBC、AIH両疾患において、AMA、M2、ANAと炎症細胞浸潤の程度はいずれも関連性が見られなかった。

E. 結 論

PBCではAIHに類似したインターフェイス肝炎を伴う症例がみられるが、実質炎および肝細胞のロゼット形成、エンペリポレーシスの程度はAIHと比較して軽度である。PBCとAIHのインターフェイス肝炎における浸潤細胞はCD3+T細胞およびCD38+形質細胞が主体であり、AIHではIgG+形質細胞が主体であるのに対し、PBCではIgM+形質細胞の肝炎への関与が示唆される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Harada K, Nakanuma Y. Cholangiopathy with respect to biliary innate immunity International Journal of Hepatology, Vol. 2012 (2012).
 - Harada K, Nakanuma Y. Innate immunity in the pathogenesis of cholangiopathy, A recent update. Inflamm Allergy Drug Targets. 2012 Aug 23.
 - Harada K, Hsu M, Ikeda H, Zeniya M, Nakanuma Y. Application and validation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis. J Clin Gastroenterol. 2013; 47(2): 174-81.
 - Harada K, Hirohara J, Ueno Y, Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, Ichida T, Nakanuma Y. Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan. Hepatology. 2012 Nov 29.
 - 原田憲一, 中沼安二. 病理像から見たIgG4硬化性胆管炎. 胆と膵 2012; 33(6): 485-90
 - 原田憲一, 中沼安二. 原発性硬化性胆管炎とIgG4関連硬化性胆管炎の病態と線維化の異同. 肝胆膵 2012; 65(2): 343-9
 - 中沼安二, 原田憲一. 自己免疫性肝炎・原発性胆汁性肝硬変・硬化性胆管炎(IgG4関連硬化性胆管炎を含む)の病理診断における最新の知見. 最新医学 2012; 8(67): 19-26(1803-10)
- ##### 2. 学会発表
- 原田憲一, 中沼安二. 原発性胆汁性肝硬変(PBC)

の障害胆管におけるエストロゲン関連受容体 α と活性化補助因子の発現. 第101回日本病理学会総会 (2012年4月26日~28日, 東京)

- ・原田憲一, 角田優子, 中村稔, 下田慎治, 中沼安二. 原発性胆汁性肝硬変の患者血清中 Fractalkine 値と臨床病理学的因子との関連性. 第48回日本肝臓学会総会 (2012年6月7日~8日, 金沢)
- ・原田憲一, 下田慎治, 中沼安二. 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の障害胆管におけるエストロゲン関連受容体 α と活性化補助因子の発現. 第48回日本肝臓学会総会 (2012年6月7日~8日, 金沢)
- ・角田優子, 岡藤啓史, 原田憲一, 水腰英四郎, 金子周一, 中沼安二. オルセイン染色を含めた原発性胆汁性肝硬変の新病期・活動度分類の有用性の検討. 第48回日本肝臓学会総会 (2012年6月7日~8日, 金沢)
- ・原田憲一, 中村稔, 下田慎治, 中沼安二. 原発性胆汁性肝硬変における血清中 Fractalkine の意義. 第49回日本消化器免疫学会総会 (2012年7月5日~6日, 鹿児島)
- ・Kakuda Y, Harada K, Sawada-Kitamura S, Ikeda H, Sato Y, Sasaki M, Nakanuma Y. Validation of a new histological staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. AASLD The Liver Meeting 2012 (2012. Nov. 9-13, Boston, USA)

H. 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

PBC モデルマウスにおける NK/NKT 細胞の関与

研究協力者 下田 慎治 九州大学病態修復内科学 講師

研究要旨: 今までの我々の研究から胆管は自己NK細胞により攻撃されることが明らかになったため、今回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なった。しかし病初期の病理像では炎症が軽微でありNK/NKT細胞除去群とPBC発症マウスを比較することは困難であり、また病態が完成してからの病理像を比較した場合、両群ともに同等の病理像を呈していた。

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) は抗ミトコンドリア抗体の出現と肝内胆管細胞の免疫学的な傷害が病変の首座と考えられている。我々は移植時のヒト摘出肝を用いて病態再現に必要な胆管上皮細胞と免疫細胞集団の組み合わせを ex vivo で再構築し、NK細胞が自然免疫刺激下で活性化されて自己胆管細胞を破壊することを報告してきた。そこで実際の生体内でのNK細胞の役割をPBCモデルマウスで解析することとした。

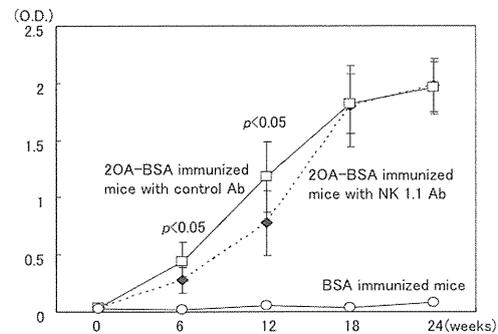
B. 研究方法

PBCモデルマウスとして、既報のとおり20A-BSAをB6マウスに定期的に免疫し作成した。モデル作成時NK1.1抗体を継続的に投与してNK/NKT細胞を除去する群と、NK/NKT細胞を除去しない群で比較検討した。6週毎に血清と脾臓リンパ球を採取し、最終的には24週で胆管炎の有無を病理学的に検討した。

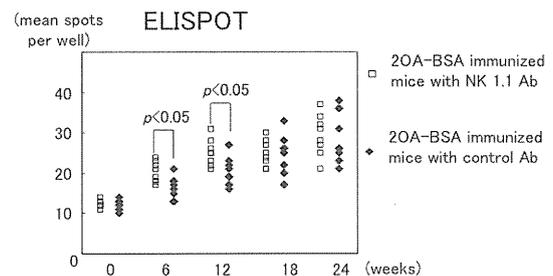
ミトコンドリア抗体対応抗原の代表的なPDC-E2, OGDC-E2, BCOADC-E2タンパクを用いて、抗ミトコンドリア抗体の産生をELISAで(MIT3-ELISA), PDC-E2の主要エピトープを網羅する形で計8種類の合成ペプチド (aa 232-246 (GTVQRWEKKVGEKLS) aa 236-250 (RWEKKVGEKLSEGDLL) aa 240-254 (KVGEKLSEGDLLAEI) aa 244-258 (KLSEGDLLAEIETDK) aa 248-262 (GDLLAEIETDKATIG) aa 252-266 (AEIETDKATIGFEVQ) aa 256-270 (TDKATIGFEVQEEGY) aa 260-274 (TIGFEVQEEGYLAKI) を用いて脾臓T細胞の産生するIFN- γ をELISPOTで検討した。

C. 研究結果

6週, 12週というPBC誘導初期において, NK/NKT細胞を除去した群は除去しなかった群と比較して下図のように抗体産生は低下していた。



また, T細胞によるIFN- γ 産生も次頁の図に示すように低下していた。



18週, 24週というPBC病態完成期では, 両群の抗体, IFN- γ 産生に差を認めなくなっていた。24週での肝臓は両群ともに胆管炎は軽微であり差を認めなかった。また, 下表のごとく6週と12週では両群とも門脈の炎症, 実質の炎症, 胆管傷害, 肉芽腫, 胆管炎ははっきりせず, 病理学的な比較は困難であった。

	Degree of liver inflammation	Portal inflammation	Bile duct damage	Parenchymal inflammation	Granuloma
PBC model					
1	2	2	1	1	1
2	1	1	1	1	0
3	2	2	1	1	2
4	2	2	1	1	1
5	2	2	1	2	1
6	2	2	1	2	1
7	2	2	1	2	1
8	2	2	1	1	1
PBC model with NK cells deletion					
11	1	1	1	1	1
12	2	2	1	2	1
13	3	3	1	2	1
14	2	2	1	1	1
15	3	3	1	2	1
16	2	2	1	2	1
17	2	1	1	1	1
18	2	2	1	1	1

0: none	0: none	0: none	0: none	0: none
1: minimal	1: minimal	1: scatteredly	1: minimal	1: scatteredly
2: mild	2: mild	2: frequently	2: mild	2: frequently
3: moderate	3: moderate		3: moderate	
4: severe	4: severe		4: severe	

D. 考 察

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可能性が示唆された。その一方で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が示唆された。

E. 結 論

NK/NKT 細胞は初期の PBC 病態形成に関与する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

The role of natural killer(NK)and NK T cells in the loss of tolerance in murine primary biliary cirrhosis.

Shimoda S, et al.

Clin Exp Immunol. 2012 Jun; 168(3): 279-84.

Significance of immunoglobulin G4(IgG4)-positive cells in extrahepatic cholangiocarcinoma: molecular mechanism of IgG4 reaction in cancer tissue.

Harada K, Shimoda S, et al.

Hepatology. 2012 Jul; 56(1): 157-64.

Genome-wide association study identifies TNFSF15 and POU2AF1 as susceptibility loci for primary biliary cirrhosis in the Japanese population.

Nakamura M, et al.

Am J Hum Genet. 2012 Oct 5; 91(4): 721-8.

Fractalkine and other chemokines in primary biliary cirrhosis.

Shimoda S, et al.

Int J Hepatol. 2012; 2012: 102839.

2. 学会発表

原発性胆汁性肝硬変における胆管上皮の疾患特異的
自己抗原発現の探索

第48回 日本肝臓学会総会

原発性胆汁性肝硬変モデルマウスにおける NK/
NKT 細胞の役割

第98回 日本消化器病学会総会

H. 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 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

PBC 患者肝におけるトランスポーターの変化

研究協力者 向坂 彰太郎 福岡大学消化器内科 教授

研究要旨:我々はこれまで、PBC 患者肝のトランスポーターが病状の進行につれて変化することを報告してきた。昨年、PBC 肝硬変患者では肝内 OATP1 (Gd-EOB-DTPA を取り込む) の発現が低下する事を報告した。今回は、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) を比較した。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ていた。これは 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ものと考えられた。結論:EOB-MRI 検査は PBC の病期評価に有用である可能性が事が示された。

共同研究者

竹山 康章 福岡大学医学部消化器内科

A. 研究目的

我々は、原発性胆汁性肝硬変症 (PBC) 患者肝の胆汁酸トランスポーターの発現が早期と晩期によって変化することを報告した。MRI の造影剤である Gd-EOB-DTPA (gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine pentaacetic acid) 製剤は、肝細胞の類洞側細胞膜に存在する OATP 1 (organic anion transporter 1) により肝臓内に取り込まれ、毛細胆管膜の MRP2 (multidrug resistance associated protein2) により毛細胆管内に排出される性質がある。我々は PBC 患者肝では、病状が進行すると OATP1 の発現が減弱してゆく事を証明してきた (Fig. 1)。今回は Gd-EOB-DTPA MRI 法を用いて PBC の進行期を客観的に評価する事が可能かどうかについて検討した。

B. 研究方法

福岡大学臨床研究指針に基づき研究をおこなった。PBC 肝硬変患者 Child Pugh A 三人、正常肝患者 (脂肪肝、血管腫) 三人について以下の検討を行った。

1. MRI 画像 (Gd-EOB-DTPA) 造影前と肝細胞造影相 (造影後15分) で、肝内左葉、S4, S5, S6, S7, S8での信号強度を測定した。値は Relative Enhancement (Fig. 2) で算出した。
2. OATP1B3の免疫組織化学的局在の検討は、(Anti-SLCO1B3抗体:Sigma) を用い、また類洞側細胞側マーカーとして Desmoplakin 抗体 (PROGEN) を用いて、共焦点レーザー顕微鏡「Zeiss 社 LSM5 PASCAL」で観察した。

C. 研究結果

- ① PBC 肝硬変患者の Relative enhancement 値は正常者に比べて有意に低下していた。(Table 1, Fig. 3)
- ② PBC 肝硬変患者肝の OATP1B3発現は、PBC の早期患者肝に較べて減弱していた。(Fig. 4, 5)。

D. 考察

今回は MRI の「Relative Enhancement」による比

較検討を行ったが、客観的比較には信号強度と造影剤濃度に平行な関係が必要である。

それゆえ、今回の検討はあくまでも半定量といえる。また施設、機械によって異なる結果が生まれるという問題点あり、今後さらに詳細な条件、設定を必要とする。

E. 結論

- ① PBC 肝硬変患者における肝 EOB MRI 画像で Relative enhancement 値は低下していた。ゆえに EOB-MRI 検査は PBC の病期評価に有用である可能性がある。
- ②これは本疾患肝における EOB の取り込みに関わるトランスポーター (OATP1B) の発現低下によるものと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
 1. 石橋大海, 中沼安二 他, 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の診療ガイドライン (2012年) 肝臓, 53, 633-686, 2012
 2. Nakamura M, Nishida N, et al. Genome-wide association study identifies TNFSF15 and POU2AF1 as susceptibility loci for primary biliary cirrhosis in the Japanese population. Am J Hum Genet. 91, 721-728, 2012
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

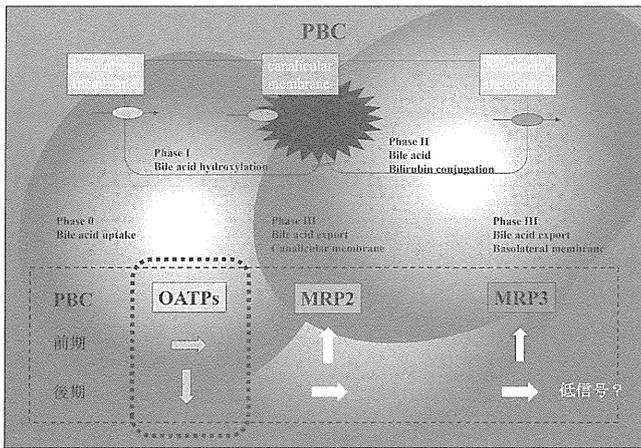


Fig.1

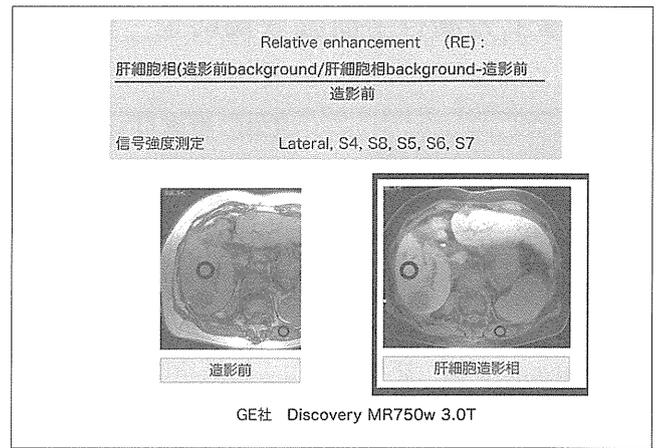


Fig.2

Table 1

Relative enhancement

PBC LC (n=3)	0.40 ± 0.05	* * P < 0.05
Normal (n=3)	0.96 ± 0.21	

Table.1

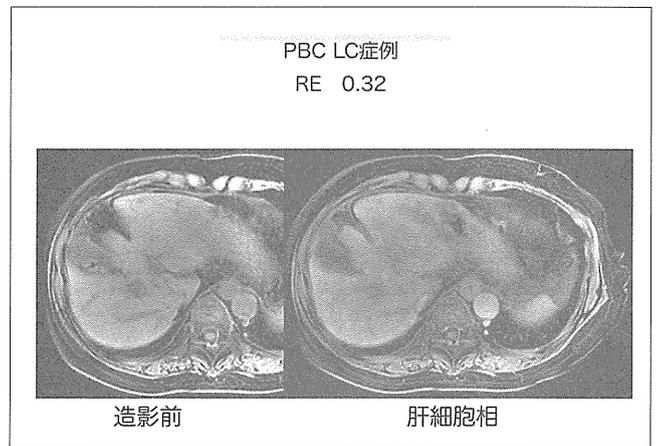


Fig.3

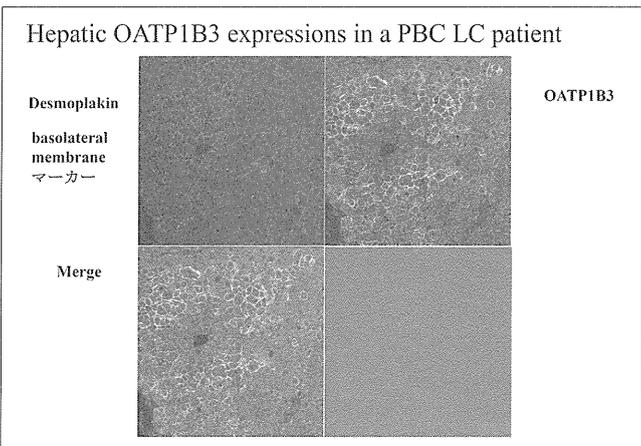


Fig.4

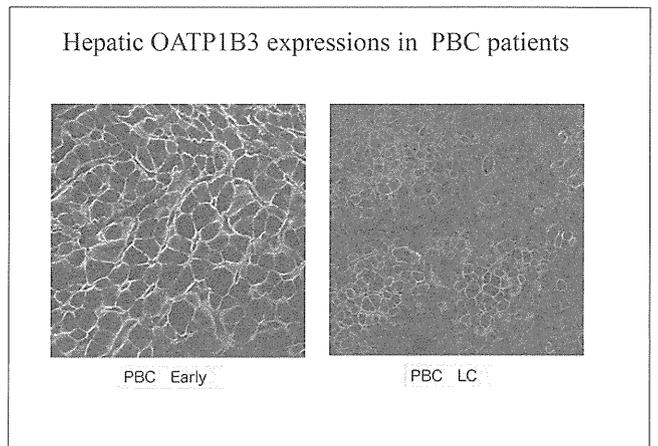


Fig.5

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)

分担研究報告書

PBC 病態形成におけるコリントランスポーター OCT1の関与

研究協力者 中牟田 誠 国立病院機構九州医療センター 医長

研究要旨：我々は PBC 肝細胞において、フォスファチジルコリン (PC) の過剰消費のために PC の材料である細胞内コリンが枯渇していること、一方、血清コリン値は PBC 症例で上昇していることを報告してきた。コリンはそのトランスポーターである OCT1によって細胞内に取り込まれる。また、メトフォルミンなどある種の薬剤も OCT1によって取り込まれ、OCT1の SNPs がその取り込みに影響することが報告されている。そこで今回我々は OCT1の 4つの SNPs (rs683369, rs2282143, rs622342, 1443844) が PBC の発症・病態進行に関与するかを検討した。PBC の発症には rs683369 が関与し、病態の進行 (黄疸の有無による比較) に関しては、rs683369, rs2282143, rs622342 が関与した。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が確認された。以上より、PBC の発症・病態進行にコリンの取り込み、コリン～PC 代謝が関与していることが考えられた。

共同研究者

- 国府島庸之 九州医療センター
- 大石 祐樹 九州医療センター
- 福島 伸良 九州医療センター
- 中村 稔 長崎医療センター
- 本多 彰 東京医科大学茨城医療センター
- 松崎 靖司 東京医科大学茨城医療センター
- 野崎 雄一 横浜市立大学
- 中島 淳 横浜市立大学
- 調 憲 九州大学消化器・総合外科
- 前原 喜彦 九州大学消化器・総合外科

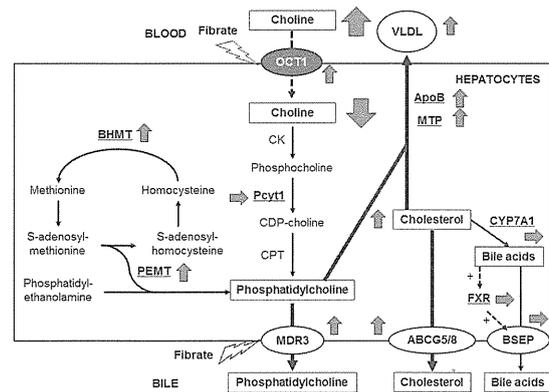


図 1

A. 研究目的 (図 1)

PBC の治療においては免疫抑制は無効であり、ウルソ酸やベザフィブレートによる胆汁の親水化がなされている。ベザフィブレートの作用機序としては、幹細胞の毛細胆管側にある MDR3 (リン脂質排出ポンプ) を活性化させ、胆汁中へフォスファチジルコリン (PC) (リン脂質) を排出し、胆管障害を惹起する疎水性胆汁酸をミセル化することが考えられており、事実、MDR3の発現は PBC において亢進しており、PC がより消費されている。一方、PC はリポ蛋白 (VLDL) の膜成分であり、PBC においては胆汁排出障害に伴う細胞内コレステロールの貯留に伴い、VLDL によるコレステロールの排出が亢進しており、ここでも PC の消費がなされている。PC はコリン (CDP コリン経路) とエタノールアミン (メチル化経路) より合成される。PBC では、CDP コリン経路の亢進はなく、メチル化経路の代償性の亢進が認められる。また、組織中のコリン濃度は極めて低下しており、これらのことは、PC 消費に伴う細胞内コリンの枯渇を示唆している。コリンは血中よりそのトランスポーターである OCT1より取り込みがなされる。PBC においては正常に比べて、大きく OCT1の遺伝子発現は増加しているが、一方、血中コリン濃度は PBC において低下せず上昇している。

OCT1はメトフォルミンのトランスポーターでもあり、その SNPs が蛋白レベルを左右し、メトフォルミンの取り込みに関与していることが報告されている。そこで今回我々は、OCT1の SNPs が PBC の発症とその病態進行に関与するかを検討した。

B. 研究方法

OCT1の SNPs としては、rs683369, rs2282143, rs622342, 1443844の4つを選択した (表1)。

SNP ID	wild > variant	アミノ酸変異	関連する報告
rs683369	C > G	Phe 160 Leu	タンパク発現量の減少
rs2282143	C > T	Phe 341 Leu	MPP ⁺ の輸送活性の低下
rs622342	A > C	Intron	メトホルミンの効果が减弱
rs1443844	A > G	Intron	連鎖領域から選出

表 1

PBC 症例275例と健常人195例を比較検討の対象とした (表2)。

Characteristics	Control Subjects	PBC Patients (Total)	Stage I	Stage II	Stage III
Total number of patients	194	275	194	66	15
Mean age (years)	39.8 ± 9.28	65.0 ± 11.7	63.5 ± 11.05	70.4 ± 9.62	59.8 ± 9.39
Male/female (%)	17 / 177 (8.8 / 91.2)	39 / 236 (14.1 / 85.9)	22 / 172 (11.3 / 88.7)	11 / 55 (16.7 / 83.3)	6 / 9 (40.0 / 60.0)

表2

SNPsの解析はTaqMan probe methodにより行った。

C. 研究結果

PBCの発症に関しては、rs683369が関与することが判明した(表3)。

Gene Symbol	Tag SNP (Major > Minor)	Genotype	Number of Genotypes (%)		Inheritance Model*	P-value	OR	95% CI
			Control Subjects	PBC				
OCT1 (SLC22e1)	rs683369 (C > G)	MAF	0.10	0.10	Allele	0.909	0.69	0.48-0.98
		C/C	141 (72.6)	223 (81.1)	Dominant	0.951	0.62	0.49-0.96
		C/G	48 (25.7)	19 (6.9)	Recessive	0.025	0.29	0.01-0.95
		G/G	7 (3.7)	3 (1.1)				
		C/T	153 (77.1)	184 (66.9)	Dominant	0.331	1.22	0.81-1.82
		T/T	6 (3.2)	9 (3.3)	Recessive	0.526	0.71	0.27-1.91
	rs2282143 (C > T)	MAF	0.16	0.17	Allele	0.902	1.11	0.79-1.55
		C/C	138 (71.1)	184 (66.9)	Dominant	0.331	1.22	0.81-1.82
		C/T	48 (25.7)	32 (11.6)	Recessive	0.025	0.29	0.01-0.95
		T/T	7 (3.7)	3 (1.1)				
		A/A	153 (77.1)	199 (72.4)	Dominant	0.372	0.83	0.57-1.24
		A/C	38 (20.0)	69 (25.1)	Recessive	0.339	0.61	0.21-1.70
rs1443844 (A > G)	MAF	0.29	0.39	Allele	0.963	1.02	0.76-1.35	
	A/A	97 (50.0)	135 (49.1)	Dominant	0.359	1.19	0.82-1.70	
	A/G	79 (40.5)	115 (41.8)	Recessive	0.941	0.95	0.51-1.81	
	G/G	18 (9.2)	25 (9.1)					

表3

次に、SNPsと病態の進行との関連を検討するために、PBC症例を非黄疸型(Stage I + II)と黄疸型(Stage III)に分けて比較検討を行ったところ、rs683369, rs2282143, rs622342が関与していた(表4)。

Gene Symbol	Tag SNP (Major > Minor)	Genotype	Number of Genotypes (%)		Inheritance Model*	P-value	OR	95% CI
			Non-Jaundice Stage	Jaundice Stage				
OCT1 (SLC22e1)	rs683369 (C > G)	MAF	0.09	0.20	Allele	0.054	2.46	0.95-6.31
		C/C	214 (87.3)	9 (66.0)	Dominant	0.012	1.10	1.05-1.14
		C/G	44 (16.9)	6 (40.0)	Recessive	0.723	2.34	0.15-22.98
		G/G	2 (0.8)	0 (0.0)				
		C/T	175 (67.3)	9 (66.0)	Dominant	0.558	1.37	0.47-3.98
		T/T	9 (3.4)	3 (20.0)	Recessive	0.0002	18.58	2.16-17.54
	rs2282143 (C > T)	MAF	0.16	0.20	Allele	0.991	2.02	0.99-4.55
		C/C	153 (77.1)	9 (66.0)	Dominant	0.271	1.91	0.62-5.27
		C/T	85 (25.0)	4 (26.7)	Recessive	0.006	7.84	1.39-44.56
		T/T	5 (1.5)	2 (15.4)	Allele	0.413	0.70	0.29-1.65
		A/A	126 (48.5)	9 (66.0)	Dominant	0.384	0.63	0.32-1.21
		A/G	110 (40.3)	5 (35.3)	Recessive	0.737	0.70	0.09-5.57
rs622342 (A > G)	MAF	0.30	0.23	Allele	0.886	1.05	0.92-1.20	
	A/A	190 (73.1)	9 (66.0)	Dominant	0.271	1.91	0.62-5.27	
	A/G	65 (23.0)	4 (26.7)	Recessive	0.006	7.84	1.39-44.56	
	G/G	5 (1.5)	2 (15.4)	Allele	0.413	0.70	0.29-1.65	

表4

この再現性を検討するために、黄疸型として移植例35例を用いてreplication studyを行ったところ、rs683369, rs622342が関与していることが確認された(表5)

Gene symbol	Tag SNP (Major > Minor)	Genotype*	Number of Genotypes (%)		Inheritance Model*	P-value	OR	95% CI
			Non-Jaundice Stage	Liver Transplantation				
rs683369 (C > G)	rs683369 (C > G)	MAF	0.09	0.20	Allele	0.0028	2.46	1.28-4.74
		C/C	214 (87.3)	23 (66.7)	Dominant	0.021	2.42	1.12-5.23
		C/G	44 (16.9)	10 (28.6)	Recessive	0.017	7.82	1.06-57.40
		G/G	2 (0.8)	2 (5.7)				
		C/T	175 (67.3)	22 (62.9)	Dominant	0.969	1.22	0.59-2.53
		T/T	9 (3.4)	0 (0.0)	Recessive	0.764		
rs2282143 (C > T)	rs2282143 (C > T)	MAF	0.16	0.24	Allele	0.403	1.90	1.05-3.48
		C/C	153 (77.1)	23 (66.7)	Dominant	0.361	1.42	0.67-3.00
		C/T	85 (25.0)	7 (20.0)	Recessive	0.0001	8.59	2.13-71.08
		T/T	5 (1.5)	5 (14.3)	Allele	0.380	0.92	0.43-1.99
		A/A	126 (48.5)	16 (45.7)	Dominant	0.760	1.11	0.54-2.26
		A/G	110 (40.3)	19 (54.3)	Recessive	0.263	0.29	0.04-2.21
rs1443844 (A > G)	rs1443844 (A > G)	MAF	0.29	0.29	Allele	0.886	1.05	0.92-1.20
		A/A	126 (48.5)	16 (45.7)	Dominant	0.760	1.11	0.54-2.26
		A/G	110 (40.3)	19 (54.3)	Recessive	0.263	0.29	0.04-2.21
		G/G	18 (6.6)	1 (2.9)				

D. 考察

今回の解析では、OCT1のSNPs, 特にrs683369がPBCの発症とその病態進行に関与していることが示唆された。rs683369はOCT1のアミノ酸置換をもたら

し、その蛋白レベルを減少させることが報告されているので、PBC進行症例(CGまたはGG)では、OCT1の蛋白レベルの低下が推測される。事実、Preliminaryではあるが、CC・CG症例では遺伝子レベルはCC症例より増加しているにもかかわらず蛋白レベルでは逆に減少しており、OCT1によるコリンの取り込みが低下しているものと思われる。

生理的な状況においては、疎水性胆汁酸による胆管障害をMDR3を介したPCの排出によりミセル化して防御しているものと思われる。そこに何らかの原因(細菌性胆管炎, LPS, 年齢, 化学物質など)で胆管障害が加わった場合に、よりPCを分泌して代償しているものと思われるが、OCT1によるコリンの取り込みが不十分な遺伝的背景をもつ場合には、コリンとPCが枯渇して胆管障害に対応できないことが想像される。胆管障害はOCT1そのものの発現を低下させることが報告されているので、いったんそのような状況に陥ると悪循環に入ってしまう、さらなるコリン~PC不足が生じて胆管障害が悪化する可能性がある。このような胆管障害はひいては胆管上皮の変性を生じて、最終的に免疫応答(慢性非化膿性破壊性胆管炎: CNSDC)や胆管上皮のアポトーシスを惹起しているかもしれない(図2)。胆道系酵素上昇がありAMA陽性であるが、組織学的に明らかなCNSDCがまだ出現していない症例において、CNSDCのある症例と同様にMDR3の発現がすでに亢進していることは興味をもたれる点である。

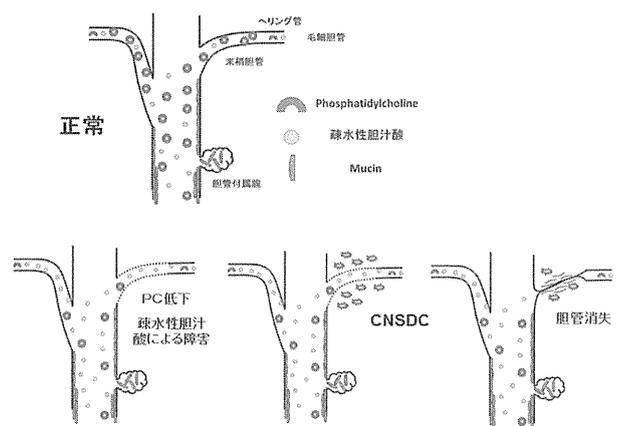


図2

OCT1~コリン~PC~MDR3の経路の観点からPBCを考えた場合に、セカンドラインであるベザフィブレートはMDR3のみならずOCT1の発現も増加させることが報告されており、PBCにおいてはMDR3はすでに代償性に発現が亢進しており、ベザフィブレートはむしろOCT1に強く作用している可能性があり、ベザフィブレートの投与によりPBC症例の血清コリン値は有意に低下する。OCT1はPPARγにより正に制御されているので、ピオグリタゾンも効果があるかもしれない。PBCにおいては、コレステロールをVLDLとして排出するためにPCが消費されているので、細胞内コレステロールを減少させるスタチン

やエゼチミブも効果が期待される。最後に脂肪肝の治療薬でPCそのものであるEPLの投与もよいのかもしれない。多くの症例は、ウルソ酸またはウルソ酸+ベザフィブレードの投与により胆道系酵素の上昇は正常化されるが、治療抵抗性の症例に関しては、今後、これらの薬剤の効果が期待される。

E. 結 論

PBCの発症とその病態進行にOCT1のSNPsが関与することが明らかとなり、PBCの病態形成にコリン～PC代謝が重要であることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1 Nakamuta M, et al. Roles of a choline uptake transporter, the organic cation transporter 1 (OCT1), in pathogenesis of primary biliary cirrhosis: OCT1 expression and its single-nucleotide polymorphism. The International Liver Congress™ 2010, 46th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). Poster. Barcelona, Spain, 2012/04/20

2 Kohjima M, et al. Roles of a choline uptake transporter, the organic cation transporter 1 (OCT1), in pathogenesis of primary biliary cirrhosis: OCT1 expression and its single-nucleotide polymorphism.

The 63th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) Boston, MA, USA. November 1, 2009. AASLD Presidential Poster of Distinction.

3 中牟田誠 その他：原発性胆汁性肝硬変症の病態形成における organic cation transporter 1の重要性 第48回日本肝臓学会総会 ワークショップ
14 我が国における自己免疫性肝疾患の現状と展開 金沢 2012/06/05

H. 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 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

PBCにおける脂質代謝の検討(6): ベザフィブラートの胆汁うっ滞改善機序

研究協力者 松崎 靖司 東京医科大学茨城医療センター 病院長 消化器内科教授

研究要旨: 昨年度までの 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が明らかになった。

A. 研究目的

UDCA 単独治療で効果が不十分な PBC の胆汁うっ滞には、ベザフィブラートの併用が有効である。しかしベザフィブラートの作用機序には不明な点が多く、それが我が国以外であまり積極的に使用されていない理由の1つにもなっている。我々は昨年度までに、PBC 患者の血清バイオマーカー解析によって、ベザフィブラートが胆汁酸合成を抑制すること、および肝臓の CYP3A4活性を上昇させることを見出した。そこで今年度は、培養肝細胞系を用いて、血清バイオマーカー解析の結果をもとに、ベザフィブラートの胆汁うっ滞改善機序を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

実験1: HepaRG細胞を用いた遺伝子発現定量

薬物代謝、トランスポーター系が比較的保持され、正常肝細胞と同様の制御を受けていると報告されている細胞株 HepaRG を用いた。培養液に10~200 μ M のベザフィブラートを添加し、48時間培養した。核内レセプター PXR のリガンドで CYP3A4活性を上昇させることが既にわかっているポジティブコントロールとして、リファンピシン10 μ M またはカルバマゼピン50 μ M を添加した細胞も同時に作成した。細胞回収後に RNA を抽出し、cDNA を作成した。その一部を用いて Real-time PCR を施行し、CYP3A4のほか、核内レセプター、トランスポーター、コレステロール・胆汁酸代謝系酵素など合計26種類の遺伝子発現を mRNA の定量によって評価した。

実験2: HepaRG細胞を用いた CYP3A4活性測定

HepaRG細胞を実験1と同様にベザフィブラート、リファンピシン、カルバマゼピン添加下で48時間培養し、cell-based P450-Glo CYP3A4 Assay Kit (Promega) を用いて CYP3A4活性を測定した。

実験3: DPX2細胞を用いた PXR の Reporter-Gene Assay

CYP3A4のプロモーターが結合したルシフェラーゼ遺伝子を強制発現させたヒト HepG2由来の DPX2細胞 (Puracyp) を用いて、ベザフィブラート、リファンピシン、カルバマゼピンの PXR 活性化能を比較した。

C. 研究結果

- 1) ベザフィブラートの CYP3A4活性化メカニズムの解明: HepaRG細胞を用いた実験において、ベザフィブラートは用量依存的に CYP3A4の活性と mRNA の発現を上昇させた。また、Reporter-Gene Assay において、ベザフィブラートが PXR のリガンドであることが証明された。ベザフィブラートの CYP3A4誘導能、PXR の活性化能は、強力な PXR リガンドであるリファンピシンには遠く及ばなかったが、既に PXR のリガンドとして認知されているカルバマゼピンよりやや劣る程度であった。
- 2) ベザフィブラートが核内レセプター遺伝子の発現に与える影響: ベザフィブラートは、PXR の発現を有意に亢進させ、その亢進作用はリファンピシンよりも大きかった。また、SHP と LXR α の発現を有意に抑制し、その抑制作用はリファンピシンよりも弱かった。その他 PPAR α 、FXR、FTF、HNF4 α の発現には、有意な影響を与えなかった。
- 3) ベザフィブラートがトランスポーター遺伝子の発現に与える影響: ベザフィブラートは、MDR1、MDR3、MRP2、ABCG5、ABCG8の発現を有意に亢進し、NTCP の発現を有意に低下させた。MDR1と MRP2に対する作用はリファンピシンよりも弱かったが、MDR3、ABCG5、ABCG8、NTCP に対する作用はリファンピシンでは認められなかった。
- 4) ベザフィブラートが胆汁酸合成酵素の発現に与える影響: ベザフィブラートは、CYP7A1、CYP7B1、CYP27A1の発現を有意に抑制し、CYP8B1の発現を有意に亢進させた。CYP7A1と CYP7B1に対する作用はリファンピシンよりも弱かったが、CYP8B1、CYP27A1に対する作用はリファンピシンと同等かそれ以上であった。

D. 考察

- 1) 肝トランスポーターの制御メカニズム: 今回の細胞を用いた研究により、ベザフィブラートは従来から知られている PPAR α 、PPAR δ 、PPAR γ のリガンドであるだけでなく、PXR のリガンドでもあることが証明された。PPAR α が活性化されると、リン脂質を毛細胆管に排泄する MDR3が誘導される